

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA PARA TILÁPIAS DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS COM RAÇÕES COM
SUBSTITUIÇÃO DE MILHO POR FARELO DE ALGAROBA (*Prosopis
juliflora*)**

ADAILTON THIAGO SILVA DOS SANTOS

SALVADOR – BAHIA

ABRIL – 2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA PARA TILÁPIAS DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS COM RAÇÕES COM
SUBSTITUIÇÃO DE MILHO POR FARELO DE ALGAROBA (*Prosopis
juliflora*)**

ADAILTON THIAGO SILVA DOS SANTOS

SALVADOR – BAHIA

ABRIL – 2019

ADAILTON THIAGO SILVA DOS SANTOS

Zootecnista

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2016

**SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA PARA TILÁPIAS DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS COM RAÇÕES COM
SUBSTITUIÇÃO DE MILHO POR FARELO DE ALGAROBA
(*Prosopis juliflora*)**

Dissertação apresentada ao programa de Mestrado em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição de não ruminantes

Orientador: Dr. Luiz Vítor Oliveira Vidal

Coorientador: Dr. Rodrigo Fortes da Silva

SALVADOR - BA

ABRIL - 2019

ADAILTON THIAGO SILVA DOS SANTOS

**SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA PARA TILÁPIAS DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS COM RAÇÕES COM
SUBSTITUIÇÃO DE MILHO POR FARELO DE ALGAROBA
(*Prosopis juliflora*)**

Dissertação defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em de abril de 2019.

Comissão Examinadora:

Dr. Luiz Vítor Oliveira Vidal
Presidente

Dr. Cláudio Vaz Di Mambro Ribeiro
Universidade Federal da Bahia

Dra. Denise Soledade Peixoto Pereira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

SALVADOR – BA

ABRIL - 2019

DEDICATÓRIA

“Mesmo que eu esteja por minha conta, eu sei que não estou sozinho, porque há alguém, em algum lugar, orando para que eu chegue em casa”

Asking Alexandria

Este trabalho é dedicado a minha mãe, Suely Silva dos Santos, a pessoa mais corajosa e inspiradora que eu já conheci na minha vida. O homem que sou hoje é reflexo da grande mulher que sempre vi nela, e este trabalho não seria possível sem a força, garra e resiliência que sempre enxerguei em minha mãe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe, Suely Silva dos Santos pelo apoio e força que sempre transmitiu a mim, e que me fez o homem que sou hoje, sem o apoio dela esta dissertação não seria possível. Agradeço ao meu orientador Dr. Luiz Vítor Oliveira Vidal, por todo o apoio, conhecimento transmitido, paciência e a oportunidade de ter trabalhado com um tema que me agrada tanto. Agradeço também ao meu coorientador Dr. Rodrigo Fortes da Silva e ao grupo AquaUFRB, por me receber de braços abertos em seu laboratório e deixar o AquaUFRB a minha disposição, sem todo o apoio que recebi do grupo AquaUFRB esta dissertação não seria possível.

Gostaria de agradecer também a todos meus amigos que direta e indiretamente me ajudaram neste percurso, em especial a Matheus, que sempre me ouviu e aguentou meus desabafos nos momentos de estresse e desespero; Jéssica, que foi minha companheira em toda minha jornada em Cruz das Almas; e Vanessa meu braço direito durante o período experimental.

Também agradeço a todos que me ajudaram também durante meu experimento, em especial a Charlle, que me ajudou a montar o sistema e sempre transmitia grandes conhecimentos; a Denise, sempre a disposição para me ajudar com as análises; Bartira que veio de Feira de Santana para ajudar na coleta final; ao professor Bibiano que me recebeu em seu laboratório e a Altiery que me ajudou nas análises enzimáticas; a Marilúcia e Márcia do laboratório de Patologia da UFRB que me auxiliaram imensamente na realização das análises histológicas. Enfim, gostaria de agradecer a todas as pessoas citadas acima e aos muitos outros envolvidos neste trabalho e aos que me ajudaram a conquistar mais essa vitória, dedico a vocês meu futuro título de mestre em Zootecnia.

Por final, gostaria de agradecer a UFBA pelos conhecimentos transmitidos durante meu período do mestrado e a CAPES pela concessão da bolsa.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Formulação das rações experimentais utilizadas.....	20
Tabela 2 – Dados dos parâmetros de desempenho zootécnico de tilápias do Nilo alimentadas com dietas experimentais.....	27
Tabela 3 – Análise histomorfométrica das vilosidades do intestino anterior de tilápias do Nilo alimentadas com dietas experimentais	28
Tabela 4 – Composição centesimal das tilápia do Nilo alimentadas com dietas experimentais (em base de matéria natural).....	30
Tabela 5 – Perfil hematológico e bioquímico de tilápias do Nilo alimentadas com dietas experimentais.....	30
Tabela 6 – Atividade das enzimas hepáticas e digestivas de tilápias do Nilo alimentadas com dietas experimentais.....	31

LISTA DE IMAGENS

	Páginas
Imagem 1 – Vilosidades intestinais ao início do experimento.....	23
Imagem 2 – Vilosidades de dois animais diferentes alimentados com a dieta controle.....	28
Imagem 3 – Vilosidades de dois animais diferentes alimentados com a dieta com substituição de milho por farelo de algaroba.....	29
Imagem 4 – Vilosidades de dois animais diferentes alimentados com a dieta com substituição de milho por farelo de algaroba e adição de glutamina.....	29

**SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA PARA TILÁPIAS DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS COM RAÇÕES COM
SUBSTITUIÇÃO DE MILHO POR FARELO DE ALGAROBA (*Prosopis
juliflora*)**

RESUMO: O crescimento do setor aquícola estimula pesquisas na utilização de alimentos alternativos, como o farelo de algaroba (*Prosopis juliflora*), que vezes possuem a presença de fatores antinutricionais (FAN) que prejudicam o desempenho zootécnico e o trato gastrointestinal. A glutamina é notória por apresentar a capacidade de estimular o crescimento e restauração do trato. Desta forma, objetivou-se com este trabalho, avaliar se a glutamina é capaz de neutralizar os efeitos indesejáveis dos FANs. Foram utilizadas 264 tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com peso inicial de $37,85 \pm 3,75$ g, divididas em 12 tanques de 100 l de capacidade. As dietas experimentais foram compostas de: DC - dieta controle, DA - dieta com substituição de 30% do milho por farelo de algaroba, e DAG - dieta com substituição de 30% do milho por farelo de algaroba e adição de 1,2% de glutamina. Foram avaliados os parâmetros de desempenho zootécnico, parâmetros bioquímicos sanguíneos, de atividade enzimática, composição centesimal da carcaça, e análise histomorfométrica. Em relação aos parâmetros de desempenho zootécnico, foi observado que com a suplementação da glutamina os peixes da dieta DAG foram capazes de obter um desempenho semelhante estatisticamente aos peixes da dieta controle. Quanto à composição da carcaça, pode-se observar que a algaroba foi responsável por aumentar os níveis de umidade, proteína bruta e matéria mineral, já o extrato etéreo foi menor nas dietas com presença de algaroba. Os dados enzimáticos e hematológicos e bioquímicos sanguíneos mostraram que a algaroba diminuiu a atividade da AST, aumentou a concentração de glicose no sangue, enquanto a glutamina diminuiu a atividade da sacarase e a concentração de HDL no sangue. A análise histomorfométrica mostrou que a glutamina foi responsável por aumentar tanto a altura da vilosidade quanto a espessura do epitélio no ápice da vilosidade, mesmo com a substituição do milho pela algaroba. Desta forma, a glutamina influenciou positivamente, no desempenho dos animais, em função da melhora no trato gastrointestinal através do aumento da altura das vilosidades, além de que a glutamina é um aminoácido importante na síntese proteica, na proliferação dos enterócitos e está intimamente ligada ao metabolismo energético, através da conversão de glutamina em glutamato. Conclui-se que a suplementação de 1,2% de glutamina foi capaz de neutralizar os efeitos indesejáveis dos FANs presentes no farelo de algaroba.

Palavras Chave: nutrição de peixes, alimentos alternativos, aminoácidos condicionalmente essenciais, histologia

GLUTAMINE SUPPLEMENTATION FOR NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) FED RATION WITH SUBSTITUTION OF CORN BY MESQUITE MEAL (*Prosopis juliflora*)

ABSTRACT: The growth in the aquaculture sector stimulates research in the utilization of alternative feed, as mesquite (*Prosopis juliflora*) meal, which in many occasions have the presence of antinutritional factors (ANF) that jeopardize the performance and the gastrointestinal tract. Glutamine is notorious for presenting the capacity to stimulate the growth and to restore the tract. Thus, the aim of this study was to evaluate if glutamine is capable of neutralize the undesired effects of ANF. It was utilized 264 Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) with initial weight of $37,85 \pm 3,75$ g, divided in 12 tanks with 100 L capacity. The experimental diets were composed of: CD – control diet, MD – diet with the substitution of 30% of corn by mesquite meal, and MGD – diet with the substitution of 30% of corn by mesquite meal and addition of 1.2% of glutamine. It was evaluated the zootechnical performance, hematological and biochemical blood parameters, enzymatic activity, centesimal composition of carcass, and histomorphometric analysis. For zootechnical performance parameters, it was observed that the supplementation of glutamine the fish of diet MGD was capable of obtaining a statistically similar performance as the fish from the CD. Regarding the carcass composition, it could be observed that mesquite was responsible for increasing the humidity, crude protein, and mineral matter levels, for ethereal extract it was lower in the diets with the presence of mesquite. Enzymatic, hematological and biochemical blood data showed that mesquite decreased the activity of AST, increased the blood glucose concentration, while glutamine decreased the activity of sucrose and the HDL concentration in the blood. Histomorphometric analysis showed that glutamine was responsible for increasing both villus height and apex epithelium thickness, even with the substitution of corn by mesquite. In this manner, glutamine influenced positively the performance of the animals, because of the improvement in the gastrointestinal tract by means of the villus height increase, besides glutamine is an amino acid important in proteic synthesis, enterocytes proliferation, and it is intimately related to the energetic metabolism, through the conversion of glutamine to glutamate. It can be concluded that the supplementation of 1.2% of glutamine was capable of neutralize the undesirable effects of ANF present in the mesquite meal.

Keywords: fish Nutrition, alternative feed, conditionally essential amino acids, histology

Sumário

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. <i>Integridade intestinal</i>	14
2.2. <i>Algaroba</i>	14
2.3. <i>Fatores antinutricionais</i>	15
2.4. <i>Glutamina</i>	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. <i>Condições experimentais e animais utilizados</i>	19
3.2. <i>Dietas experimentais</i>	19
3.3. <i>Desempenho Zootécnico</i>	21
3.4. <i>Análise histomorfométrica</i>	21
3.5. <i>Enzimas digestivas</i>	23
3.6. <i>Análises hematológicas e bioquímicas sanguíneas</i>	24
3.7. <i>Análises de composição da carcaça</i>	25
3.8. <i>Análise estatística</i>	26
4. RESULTADOS	27
4.1. <i>Desempenho zootécnico</i>	27
4.2. <i>Histologia</i>	28
4.3. <i>Composição centesimal de carcaça (em base de matéria natural)</i>	29
4.4. <i>Dados hematológicos e bioquímicos</i>	30
4.5. <i>Atividade enzimática hepática e intestinal</i>	31
5. DISCUSSÃO	32
6. CONCLUSÕES	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1. INTRODUÇÃO

O aumento no setor aquícola nos últimos anos tem impulsionado pesquisas, que visam o aperfeiçoamento da utilização de alimentos alternativos na nutrição de peixes, sobretudo a tilápia. É importante levar em consideração diversos fatores na escolha de um alimento alternativo, como por exemplo, sua similaridade nutricional aos alimentos tradicionais. Neste sentido, a algaroba apresenta-se como uma boa alternativa ao milho, pois apresenta valores semelhantes quando se trata de energia e proteína (Pezzato *et al.*, 2004; Rostagno *et al.*, 2017). Entretanto, alimentos de origem vegetal apresentam fatores antinutricionais (FANs), que se complexam com os nutrientes presentes nos alimentos, como proteínas, vitaminas e minerais, os deixando indisponíveis para absorção no intestino.

Além de impactos negativos à nutrição, os FANs também provocam efeitos deletérios para o trato gastrointestinal, causando anomalias às vilosidades intestinais. As principais mudanças causadas pelos FANs são a diminuição das vilosidades e atrofia da mucosa, o que reflete em menor absorção e maior permeabilidade à patógenos através da mucosa epitelial. Sendo assim, faz-se necessário utilizar algum componente que possa combater os efeitos indesejados causados pelos FANs, sendo a glutamina uma das alternativas que podem ser verificadas quanto a sua eficácia em reverter este processo.

A glutamina é um aminoácido condicionalmente essencial, utilizado em diversas situações pelo organismo animal, seja no metabolismo energético, síntese proteica ou na reversão de prejuízos ao trato gastrointestinal (Schröder *et al.*, 1995). Desta forma, é necessário verificar se a glutamina é capaz de recuperar e neutralizar os efeitos delírios provocados pelos FANs presentes na algaroba, sobretudo no que diz respeito a arquitetura intestinal.

O objetivo desta pesquisa foi verificar a capacidade da glutamina em reverter o quadro de danos às vilosidades intestinais, além de verificar os parâmetros de desempenho, atividade das enzimas digestivas, parâmetros hematológicos e de composição da carcaça de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com farelo de algaroba em substituição ao milho e com suplementação de glutamina na ração.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Integridade intestinal

O papel do intestino é fundamental na digestão e absorção dos nutrientes (Trushenski, 2015), e a manutenção da integridade e funções do trato gastrointestinal refletem no crescimento (Pohlenz *et al.*, 2012) e saúde dos animais, uma vez que o trato funciona como uma barreira física contra patógenos (Salinas e Parra, 2015). Além disso, o bom funcionamento do sistema gastrointestinal é fundamental para a homeostase nutricional dos animais, a manutenção do sistema imune e síntese de diversos fatores importantes como enzimas e imunoglobulinas (Trushenski, 2015).

Os peixes possuem incontáveis projeções no trato gastrointestinal conhecidas como vilosidades (Genten *et al.*, 2009), que são as principais estruturas responsáveis pela absorção dos nutrientes (Kuperman e Kuz'mina, 1994; Honorato *et al.*, 2011). De acordo com D'mello (2006), uma vilosidade morfológicamente normal deve ser delgada e longa, enquanto vilosidades que apresentam anomalias fazem com que a morfologia desta estrutura se tornar curtas e mais largas, com desorganização da arquitetura dos enterócitos. Além disto, as vilosidades apresentam em sua estrutura células calciformes, responsáveis por secretarem muco, que age protegendo a mucosa intestinal, impedindo a ligação de possíveis antígenos presentes nos alimentos à mucosa epitelial (D'mello, 2006), sendo que a diminuição de células calciformes presentes nas vilosidades está intimamente ligada à diminuição da imunidade dos animais (Wang, F. *et al.*, 2018). Desta forma, a altura das vilosidades é um dos parâmetros que pode ser utilizado para avaliar a absorção e utilização dos nutrientes (Qiyu *et al.*, 2011), uma vez que quanto maior estas estruturas forem maiores será a superfície de contato para absorção.

Assim, é de fundamental importância que na formulação das rações sejam utilizados ingredientes que promovam a saúde do trato gastrointestinal dos animais, desta forma, mantendo um bom funcionamento do trato, e refletindo em uma absorção mais eficaz de nutrientes.

2.2. Algaroba

Dentre as fontes alternativas de origem vegetal que podem ser utilizadas na formulação de deitas, as leguminosas, principalmente suas sementes, podem representar uma ótima alternativa para alimentação de peixes, uma vez que são ricas em proteínas, lipídios e carboidratos (Bhatt *et al.*, 2011). A algaroba (*Prosopis juliflora*) é uma leguminosa de origem africana que se desenvolve bem em regiões áridas e semiáridas do planeta (Mahgoub *et al.*, 2005). No Brasil, a algaroba é amplamente utilizada na região Nordeste do Brasil para a alimentação animal (Stein *et al.*, 2005), sobretudo para ruminantes. A algaroba também apresenta produtividade grande mesmo em épocas de seca, devido à boa adaptação à escassez de chuva (Silva *et al.*, 2007), e ao fato de que sua estação de maior produção coincide com a estação de menor produção de outros alimentos comumente utilizados na alimentação animal (De Souza *et al.*, 2018), tornando uma ótima alternativa à alimentação animal em épocas que os alimentos comumente utilizados estão escassos.

Na formulação de rações, a algaroba pode ser utilizada na forma de farelo, através de secagem e moagem das vagens. Segundo Pezzato *et al.* (2004) o farelo de algaroba pode ser considerado um alimento energético, apresentando composição química semelhante ao milho, com 8,79% de proteína bruta e 4.501 Kcal/kg de energia bruta, em comparação com os valores de 8,26% para proteína bruta e 4.216 Kcal/kg para energia bruta encontrados no milho (Rostagno *et al.*, 2017), além do perfil de aminoácidos semelhante, sendo assim uma boa alternativa à utilização do milho. Segundo De Souza *et al.* (2018) a algaroba pode ser utilizada na alimentação de tilápias, substituindo o milho, entretanto, sua utilização está limitada a uma substituição de no máximo 20%, sem causar maiores danos ao desempenho dos animais, porém além desta proporção, há uma queda no desempenho dos animais.

2.3. Fatores antinutricionais

Alimentos de origem vegetal, de forma geral contem componentes naturais que dificultam sua absorção (Trushenski, 2015). Desta forma, a utilização da algaroba na alimentação animal encontra uma limitação nos fatores antinutricionais (FANs) presentes nesta leguminosa, que diminuem o crescimento e podem provocar danos à saúde dos animais. Fatores antinutricionais são moléculas capazes de se ligar a nutrientes presentes nos alimentos, de forma a torna-los indisponíveis à absorção pelos

organismos. Os FANs são produtos do metabolismo das plantas podem ser classificados de acordo com sua composição química ou levando em consideração suas propriedades físicas (D'mello, 2006).

Os FANs são propensos a exercer efeitos deletérios sobre utilização de nutrientes pelos peixes (Glencross *et al.*, 2007), prejudicando assim o desenvolvimento e desempenho dos animais. De acordo com Krogdahl *et al.* (2010), os fatores antinutricionais encontrados nos alimentos de origem vegetal são capazes de afetar os peixes de diversas formas, diminuindo a utilização dos nutrientes para o crescimento, alterando o balanço de nutrientes e inibindo o crescimento, podendo provocar também danos ao fígado, hipertrofia pancreática, hipoglicemia, bócio, disfunções intestinais, alteração e diminuição da mucosa intestinal. De acordo com D'mello (2006), os FANs também podem causar grande impacto sobre funções digestivas, podendo agir de forma direta, diminuindo o consumo dos animais e alterando o suprimento de nutrientes; de forma indireta, provocando dano aos órgãos, como fígado, rins e o sistema nervoso, pode provocar também alterações nas funções endócrinas e prejudicar o sistema imune; ou de forma conjunta, englobando tanto os impactos diretos e indiretos.

De acordo com os dados obtidos por Bhatt *et al.* (2011) os principais fatores antinutricionais encontrados na algaroba são o tanino (0,83%), os inibidores de tripsina (6,03%) e o ácido fítico (0,34%).

Os taninos são derivados fenólicos de flavonas, ocorrendo como glicosídeos em estado natural, estando presente na maioria das plantas (Mandal e Ghosh, 2010), e são compostos de alto peso molecular (D'mello, 2006). Os taninos podem ocorrer em duas formas, hidrolisável e condensada, sendo a condensada a mais predominante em grãos e legumes, e ocorrendo principalmente em sementes e cascas de cereais (Reddy e Pierson, 1994). Os taninos são solúveis em soluções polares e possuem a capacidade de precipitar as proteínas, formando um complexo com fortes ligações cruzadas com as proteínas (Silanikove *et al.*, 2001), tornado este nutriente indisponível para absorção. Desta forma, os taninos podem ser responsáveis pela diminuição da eficiência alimentar, crescimento e absorção de ferro, além de causar danos à mucosa gastrointestinal e aumentar a excreção de proteínas e aminoácidos essenciais (Reddy e Pierson, 1994).

Inibidores de tripsina fazem parte dos inibidores de proteinases, que inibem enzimas importantes no processo digestivo dos animais. Os inibidores de proteinases formam complexos estequiométricos com enzimas específicas, inibindo sua capacidade de ser absorvidas no trato gastrointestinal (Krogdahl *et al.*, 2010). A presença de inibidores de tripsina pode causar inibição de crescimento, hipertrofia pancreática, secreção excessiva de enzimas pancreáticas e distúrbios metabólicos na utilização de aminoácidos sulfurados (Reddy e Pierson, 1994). Além disso, inibidores de tripsina, podem causar interferência na digestão de proteínas, as deixando mais propícias à excreção sem serem absorvidas (Nikmaram *et al.*, 2017).

O ácido fítico, ou fitato, presente na algaroba, também assume características antinutricionais. Está intimamente ligado ao fósforo, podendo representar até 85% do fósforo presente em grãos, legumes e alguns tubérculos (Reddy e Pierson, 1994). Segundo Bhatt *et al.* (2011), o ácido fítico reduz a biodisponibilidade de minerais e proteínas, reduzindo também a digestibilidade aparente das proteínas e a atividade da tripsina (Robaina *et al.*, 1995), ao formar quelatos com tais nutrientes (Raes *et al.*, 2014). Os peixes não secretam fitase, enzima fosfatase que é responsável por remover o grupo fosfato do fitato e ajudar na quebra da molécula, desta forma os peixes não são capazes de digerir e impedir que este fator antinutricional se complexe com proteínas, lipídios, amido e cátions, tornando a maioria destes nutrientes indigestível para os peixes (Gonçalves *et al.*, 2005), e reduzindo assim o crescimento dos animais (Spinelli *et al.*, 1983).

2.4. Glutamina

Os aminoácidos (AAs) são comumente classificados em essenciais e não essenciais. Entretanto, há outras duas classificações para os AAs, sendo classificados em AAs condicionalmente essenciais e AAs funcionais. A primeira classificação diz respeito aos aminoácidos que podem ser sintetizados pelo organismo, mas que é necessária sua suplementação em situações nas quais a demanda destes aminoácidos é maior que sua síntese (Wu *et al.*, 2009). Já a segunda classificação, diz respeito aos aminoácidos que além de servirem na síntese proteica, também são importantes para o crescimento, imunidade dos organismos (Wu *et al.*, 2009; Wu, 2010; Pereira *et al.*, 2017) e participam em rotas metabólicas, como a via glicolítica no qual a glutamina

participa através de enzimas como glicoquinase, piruvato quinase, frutose 1,6-bifosfato, entre outras enzimas (Caballero-Solares *et al.*, 2015).

Dentre os aminoácidos funcionais/condicionalmente essenciais, um que se destaca é a glutamina, podendo ser encontrada em abundância no plasma sanguíneo (Wu *et al.*, 1995), e no espaço intracelular, funcionando na síntese de aminoácidos, proteínas, nucleotídeos, entre outras moléculas biológicas importantes (Smith, 1990; Silva *et al.*, 2010). A glutamina é virtualmente sintetizada em todos os tecidos do corpo, podendo ser sintetizada a partir de amônia e glutamato, catalisada pela ação da enzima glutamina sintetase (Souba *et al.*, 1985). Além disso, a glutamina é um aminoácido com alta capacidade energética, devido a sua capacidade de poder ser convertida em glutamato, que posteriormente pode ser convertido em α -cetoglutarato, um dos produtos do ciclo do ácido cítrico (Xiao *et al.*, 2016).

A suplementação melhora as características produtivas dos peixes, como ganho de peso, através do aumento da síntese de aminoácidos e deposição de proteína corporal (Silva *et al.*, 2010), além de melhorar a taxa de eficiência alimentar (Yan e Qiu-Zhou, 2006), retenção de proteína (Caballero-Solares *et al.*, 2015) e eficiência proteica, com inclusão variando de 1% a 2% (Pereira *et al.*, 2017). Uma dessa melhora no desempenho é devido a glutamina promover deposição de proteína através do aumento de síntese de aminoácidos não essenciais (Silva *et al.*, 2010). Desta forma, a inclusão de glutamina às dietas de peixe aumenta o desempenho produtivo (Pereira *et al.*, 2017).

Além de exercer função no crescimento, a suplementação da glutamina promove aumento dos enterócitos (Pohlenz *et al.*, 2012) e aumento das vilosidades intestinais (Silva *et al.*, 2010), o que resulta em maior absorção. De acordo com Schröder *et al.* (1995) a glutamina tem a capacidade de restaurar a arquitetura das vilosidades e reverter atrofia da mucosa, diminuindo a permeabilidade da mucosa, assim aumentando a saúde dos animais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Condições experimentais e animais utilizados

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição e Comportamento Alimentar de Peixes (AQUA-UFRB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, localizado na cidade de Cruz das Almas – BA, no período de janeiro a março de 2018. O modelo experimental utilizado foi a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), obtida na piscicultura Lago Dourado, localizada no município de Cabaceiras do Paraguaçu. Antes do começo do período experimental, os animais foram acondicionados em um tanque com capacidade de 3000 l por duas semanas com fornecimento da dieta comercial antes de serem alocados no sistema experimental. Foram acondicionadas 264 tilápias do Nilo com peso inicial de $37,85 \pm 3,75$ g em 12 tanques de polietileno com capacidade de 100 l de água e com uma densidade de 22 peixes por tanque, em um sistema com filtro biológico e recirculação de água contínua. Os peixes foram alimentados 3 vezes ao dia, às 09:00, 13:00 e 17:00. Os parâmetros de água foram mensurados 1 hora antes de cada alimentação, com médias para temperatura de $29,6 \pm 2,03$ °C, pH de $6,67 \pm 0,28$, oxigênio dissolvido de $5,77 \pm 0,46$ mg/L⁻¹ e para mensuração da concentração de amônia tóxica foi utilizado semanalmente o teste colorimétrico LabconTest®, obtendo concentração abaixo de $0,002 \pm 0,001$ ppm de amônia.

3.2. Dietas experimentais

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), composto de três tratamentos e quatro repetições. Cada tratamento representou uma das três dietas experimentais (Tabela 1), que foram formuladas para serem isoenergéticas, isofibrosas e isoprotéicas, com 3050 Kcal/kg⁻¹ de energia digestível. Os tratamentos foram compostos de dieta controle (DC); dieta com a substituição do milho e do trigo pelo Farelo de Algaroba (DA); e dieta com a substituição do milho e trigo pelo FA e suplementação de glutamina na proporção de 1,2% da dieta (DAG). Para manter as dietas isoproteicas foi adicionada Alanina nas demais dietas sem glutamina, e para manter isofibrosa foi adicionado celulose à ração controle.

Tabela 1 – Formulação das rações experimentais utilizadas.

Ingredientes	DC	DA	DAG
Farelo de soja 45%	20,00	20,00	20,00
Farinha de vísceras de aves	10,00	10,00	10,00
Glúten de milho 60%	9,00	9,00	9,00
Farelo de trigo	28,15	22,19	22,19
Milho moído	24,85	4,13	4,13
Farelo de algaroba	0,00	30,00	30,00
Celulose	3,24	0,00	0,00
L-alanina	1,20	1,20	0,00
L-glutamina	0,00	0,00	1,20
L-lisina	0,43	0,47	0,47
DL-metionina	0,08	0,10	0,10
L-treonina	0,21	0,27	0,27
L-triptofano	0,04	0,04	0,04
Óleo de soja	1,19	0,98	0,98
Fosfato bicálcico	0,80	0,80	0,80
Premix vitamínico e mineral	0,50	0,50	0,50
Vitamina C	0,20	0,20	0,20
Antifúngico	0,10	0,10	0,10
B H T	0,02	0,02	0,02
TOTAL	100,00	100,00	100,00
Composição centesimal calculada das rações			
Energia Digestível	3.050	3.050	3.050
Proteína Digestível	27,00	27,00	27,00
Fibra Bruta	6,73	7,00	7,00
Extrato Etéreo	5,00	4,02	4,02
Fósforo Disponível	0,56	0,54	0,54
Lisina Digestível	1,55	1,53	1,53
Metionina Digestível	0,54	0,52	0,52
Tronina Digestível	1,20	1,18	1,18
Triptofano Digestível	0,33	0,30	0,30

3.3. Desempenho Zootécnico

Os parâmetros de desempenho zootécnicos avaliados foram obtidos a partir dos dados coletados durante o período experimental, através de biometrias periódicas e dos seguintes cálculos:

Ganho de peso (g) = peso inicial – peso final

Ganho em biomassa (g) = biomassa inicial – biomassa final

$$\text{Coeficiente térmico de crescimento} = \left[\frac{(\sqrt[3]{\text{Peso final}} - \sqrt[3]{\text{Peso inicial}})}{(\text{Temperatura média} \times \text{Dias})} \right] \times 1000$$

$$\text{Consumo (g)} = \frac{\text{Total de ração consumida por tratamento}}{\text{Número de parcelas por tratamento}}$$

$$\text{Conversão alimentar aparente} = \frac{\text{Ração consumida}}{\text{Ganho de peso}}$$

$$\text{Índice hepatossomático (\%)} = \left(\frac{\text{Peso do fígado}}{\text{Peso corporal}} \right) \times 100$$

$$\text{Índice gorduroviscerossomático (\%)} = \left(\frac{\text{Peso da gordura visceral}}{\text{Peso corporal}} \right) \times 100$$

$$\text{Taxa de eficiência proteica (\%)} = \frac{\text{ganho de peso}}{\text{proteína consumida}}$$

$$\text{Taxa de retenção proteica (\%)} = [(Pf \times PBCf) - (Pi \times PBCi)] \times 100$$

Onde, Pf = peso final; Pi = peso inicial; PBCf = proteína bruta da carcaça final; PBCi = proteína bruta da carcaça inicial.

3.4. Análise histomorfométrica

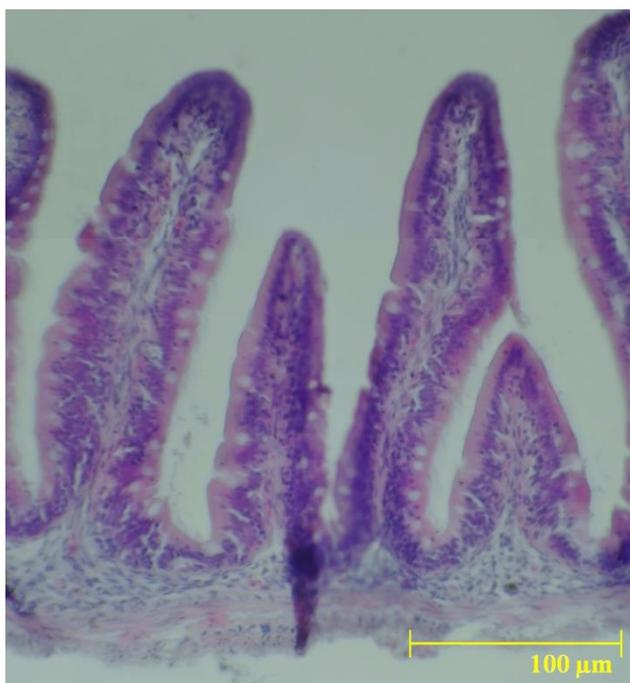
No início do período experimental 10 animais foram anestesiados com eugenol em concentração de 75 ppm (Vidal *et al.*, 2008), eutanasiados por secção medular, e foi coletada a porção anterior do intestino, e em seguida as amostras foram fixadas em formol tamponado 10% (Carvalho *et al.*, 2011) para posterior análise histológica. Ao final do experimento foram eutanasiados 24 animais, dois por parcela (oito por tratamento), e foi repetido o mesmo processo de coleta do intestino anterior e fixação em formol.

As amostras foram processadas de acordo com a metodologia de Genten *et al.* (2009). Após o processamento do tecido as amostras foram emblocadas em parafina utilizando um Módulo de inclusão em parafina aquecida (Leica® EG1150 H), e posteriormente resfriados em uma placa refrigeradora (Leica® EG1150 C). Os blocos de parafina sólida com as amostras então foram cortados em uma espessura de 4 µm utilizando um micrótomo rotativo de parafina (Zeiss® Hyrax M 40). As amostras foram dispostas em lâminas individuais e levadas à estufa a uma temperatura de 58 °C para que ocorresse a desparafinização.

Para o processo de coloração, as amostras passaram por um banho quente e um banho frio de xilol, para remoção da parafina remanescente da lâmina e da amostra, seguidas por banhos decrescentes de álcool, até o álcool 70%, para reidratação das amostras. Após lavagem em água corrente, as lâminas foram coradas com hematoxilina, seguindo de lavagem em água corrente e álcool absoluto, e posteriormente coradas com eosina. Após quatro banhos em álcool absoluto e dois banhos em xilol, as lâminas foram limpas e com a utilização de meio de fixação (Entellan®), houve a colagem das lamínulas para preservação das lâminas.

A visualização das lâminas foi feita em microscópio biológico trinocular de ótica finita acromática (Global Optics®), com as lentes objetivas de 40x para observação minuciosa das vilosidades. Foi utilizada a metodologia adaptada de Carvalho *et al.* (2011) para determinar a quantidade de observações das lâminas. Para cada animal, foram observadas 10 microvilosidades íntegras, mensurando a altura e largura média das vilosidades. As fotos foram feitas com a câmera acoplada ao microscópio, foram tiradas fotos com o programa computacional *ToupView*, e através do aplicativo Image J (National Institutes of Health, Bethesda, MD), foi possível mensurar a morfometria das vilosidades intestinais (Imagem 2), com intuito de comparar o desenvolvimento das mesmas em razão das diferentes raças.

Imagem 1 – Vilosidades intestinais ao início do experimento.



3.5. Enzimas digestivas

Para as análises da atividade das enzimas digestivas, ao final do experimento foi coletada a porção anterior do intestino para análise das enzimas amilase, protease e sacarase, e também foi coletado o fígado dos animais, para análise das enzimas Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST). Para o processamento dos tecidos, as amostras foram homogeneizadas sob refrigeração com tampão (10 mM fosfato/20 mM tris-pH 7,0), utilizando um homogeneizador tipo Potter (Marconi®), seguindo o homogeneizado para as análises subsequentes. Foi obtido o valor da proteína total das amostras através do kit de Proteínas totais (Labtest®), seguindo o protocolo recomendado para o kit.

Para AST e ALT, o homogeneizado do fígado foi transferido para microtubos (Eppendorf®) de 2 ml e centrifugado a 8.000 G por 10 minutos em centrífuga (Eppendorf® 5430 R) refrigerada a 4°C. Após centrifugação o sobrenadante foi coletado para procedimento de análise conforme a marcha analítica dos kits de Transaminase (TGO K034 Bioclin®) (AST) e Transaminase (TGP K035 Bioclin®) (ALT). Para a análise da amilase, o microtubo com o homogeneizado de intestino foi

centrifugado sob refrigeração de 4° C a 6.000 RPM por 10 minutos, e o sobrenadante foi coletado e seguiu-se o procedimento do kit de análise de Amilase (K003 Bioclin®).

A análise da protease alcalina foi realizada de acordo com a metodologia de Walter (1984), com a utilização de uma solução de caseína 1% que serviu de substrato para a reação. Para a mistura de incubação, 250-400 µl de azocaseína foi utilizada juntamente com tampão Tris/HCl 0.1 M (pH 8.0), seguido se incubação das amostras por 30 minutos a 35°C. Após incubação houve a interrupção da reação com adição de 1 ml de ácido tricloroacético 15% (TCA 15%), seguido de centrifugação a 1.800 G por 10 minutos. Tirosina foi utilizada como padrão e a atividade da enzima foi estabelecida como a quantidade necessária de enzima para catalisar o processo de formação de 1 µg de tirosina por minuto.

A análise da sacarose, foi adicionado a um microtubo de 400 µl de tampão malato 0,1 M (malato de sódio 0,1 ml/L) com solução de sacarose 0,3 M (0,3 mol/L), em seguida foi adicionado 100 µl do homogeneizado de intestino, e posteriormente sendo incubado a 37 °C por 60 minutos. A reação foi interrompida com adição de 200 µl de solução a 1,8% de Ba(OH)₂, e depois neutralizada com 200 µl de solução a 2% de ZnSO₄. Foi utilizado kit de glicose (Liquiform Labtest®) para finalizar a reação. A atividade da enzima é expressa em µmoles de glicose/minuto/mg de proteína da amostra.

3.6. Análises hematológicas e bioquímicas sanguíneas

No final do período experimental, os peixes foram mantidos em decúbito lateral e contidos com a utilização de tecido úmido, o sangue foi coletado através de punção venocaudal, utilizando agulhas heparinizadas, e foi obtida uma alíquota de 1,5 ml de sangue. Foi retirada uma quantidade de sangue para ser realizada a análise de volume globular, através de centrifugação a 12.000 RPM por 5 minutos em centrífuga microhematócrito (SPIN 1000 Microspin®), e posteriormente foram mensurados os valores do volume globular. A proteína total do sangue foi obtida com a utilização de um refratômetro. As amostras restantes de sangue foram centrifugadas a 12.000 RPM para obtenção de soro para as demais análises hematológicas e bioquímicas sanguíneas.

As análises de glicose, colesterol total, HDL e triglicérides foram obtidas por kits colorimétricos, sendo seguidas suas respectivas marchas analíticas e os valores expressos em mg/dL. Para análise de glicose, foi utilizado o kit de Glicose Enzimática Líquida (Doles®), para colesterol total o kit de Colesterol Enzimático Líquido (Doles®), para triglicérides o kit de Triglicérides Enzimático Líquido (Doles®), e para HDL o kit Colesterol HDL (Doles®). Os valores de LDL foram obtidos subtração dos valores de triglicérides pela soma dos valores de HDL e VLDL.

3.7. Análises de composição da carcaça

Foram anestesiados e eutanasiados 10 animais no início do experimento, e ao final do experimento foram anestesiados e eutanasiados 4 animais por repetição (cada tanque foi considerado uma repetição), para constituir um *pool* de amostras para a realização da análise centesimal da carcaça.

Para a análise de matéria seca e matéria mineral, foi utilizada a metodologia da AOAC (2005) com a pré-secagem de 2 g de amostra em estufa de circulação forçada de ar a 55 °C, seguido de secagem definitiva em estufa a 105 °C por 16 horas. O valor de matéria seca então foi calculado gravimetricamente. Para a matéria mineral, a amostra foi queimada em Forno Mufla Microprocessado 3000-10P EDG® a 600 °C por 4 horas, com a obtenção do valor de matéria mineral por gravimetria.

A análise do conteúdo de proteína bruta (PB) nas amostras foi obtido através do método de Kjeldahl, seguindo protocolo adaptado do protocolo 955.04 de AOAC (2005), em que uma alíquota de 0,2 g de amostra, 5 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 98% e 1 g de mistura digestora (proporção de 1:10 de CuSO₄ e Na₂SO₄) foi digerida a 400 °C por 4 horas, para converter o nitrogênio da amostra em sulfato de amônio [(NH₄)₂SO₄]. A amostra digerida então foi destilada em um destilador de nitrogênio TE-0363 Tecnal®, com a adição de solução de hidróxido de sódio (NaOH), este processo libera a amônia, que é incorporada por uma solução de ácido bórico (H₃BO₃), que é posteriormente titulado com ácido clorídrico (HCl) (AOAC, 2005). O resultado do protocolo 955.04 então é submetido ao protocolo 954.01, multiplicando o valor de N da amostra por 6,25 para obter o valor de proteína bruta.

O percentual de extrato etéreo das amostras foi obtido através de adaptação do protocolo 920.39 da AOAC (2005), com lavagem de 2 g de amostra, enrolada em cartucho de papel filtro, em éter de petróleo a 100 °C por 2 horas, utilizando um Determinador de gordura TE-044-8/50 Tecnal®. O valor de extrato etéreo foi obtido pela diferença de peso entre a amostra e o extrato etéreo remanescente no copo de vidro borossilicato em que a amostra foi lavada com éter.

3.8. Análise estatística

Todos os dados foram testados quanto à normalidade e homogeneidade. Foi realizada uma análise variância (ANOVA) a 5% de significância ($P < 0,05$) para os dados, e posteriormente foi realizado teste de Duncan para comparar as médias dos tratamentos. A análise estatística dos dados foi feita utilizando o *software* SAS University Edition®.

4. RESULTADOS

4.1. Desempenho zootécnico

Foi observada diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis de desempenho (Tabela 2). De forma geral os tratamentos DC e DA diferiram entre si e foram semelhantes aos DAG.

Tabela 2 – Dados dos parâmetros de desempenho zootécnico de tilápias do Nilo alimentadas com dietas experimentais.

	Controle	Algaroba	Algaroba + Glutamina	EMP
PI (g)	37,88 ± 0,08	37,84 ± 0,11	37,81 ± 0,16	-
BI (g)	833,41 ± 1,74	832,52 ± 2,37	831,88 ± 3,53	-
CI (cm)	13,24 ± 0,02	13,24 ± 0,05	13,19 ± 0,04	-
PF (g)	115,90 ^a	104,21 ^b	113,61 ^{ab}	5,97
BF (g)	2137,44 ^a	1902,67 ^b	2057,05 ^{ab}	113,82
CF (cm)	18,29	18,00	18,40	0,35
GP (g)	78,02 ^a	66,28 ^b	75,80 ^{ab}	5,96
GB (g)	1304,03 ^a	1070,15 ^b	1225 ^{ab}	113,77
GPR (g)	156,49 ^a	128,55 ^b	147,25 ^{ab}	13,66
CTC	2,79 ^a	2,40 ^b	2,66 ^{ab}	0,19
CR (g)	1675,37 ^b	1799,09 ^b	2091,85 ^a	126,19
CAA	1,29 ^a	1,68 ^b	1,71 ^b	0,09
TEP (%)	3,42 ^a	2,75 ^b	2,65 ^b	0,19
TRP (%)	42,06 ^a	31,46 ^b	31,82 ^b	8,11
IVS (%)	8,60	8,00	8,24	0,56
IHS (%)	2,42 ^a	1,89 ^b	2,09 ^{ab}	0,23
IGVS (%)	1,53 ^a	0,90 ^b	0,94 ^b	0,31

Siglas: PI – Peso Inicial; BI – Biomassa Inicial; CI – Comprimento Inicial; PF – Peso Final; BI – Biomassa Inicial; GP – Ganho de Peso; GB – Ganho em Biomassa; GPR – Ganho de Peso Relativo; CTC – Coeficiente Térmico de crescimento; CR – Consumo de ração; CAA – Conversão Alimentar Aparente; TEP – Taxa de Eficiência Proteica; TRP – Taxa de Retenção Proteica; IVS – Índice Viscerosomático; IHS – Índice Hepatosomático; IGVS – Índice Gorduroviscerossomático. EMP – Erro Médio Padrão.

Para os parâmetros de retenção proteica e taxa de eficiência proteica, houve diferença ($P < 0,05$), com os tratamentos DC e DA sendo diferentes entre si e semelhantes ao DAG. Em relação ao consumo de ração, o tratamento DAG apresentou os maiores valores, e para a conversão alimentar aparente, a DC apresentou os menores valores. Quanto aos índices, para o hepatossomático DC e DA obtiveram valores estatisticamente diferentes entre si e semelhantes em comparação à DAG. Já para o índice gorduroviscerossomático o maior valor obtido foi no tratamento DC.

4.2. Histologia

Para os valores encontrados com a análise histomorfométrica do intestino das tilápias (Tabela 3), em relação às vilosidades (Imagens 3, 4 e 5), houve diferença significativa ($P < 0,05$) apenas na altura da vilosidade, com os tratamentos DC e DA sendo diferentes entre si, e similares ao DAG.

Tabela 3 - Análise histomorfométrica das vilosidades do intestino anterior de tilápias do Nilo alimentadas com dietas experimentais.

	Controle	Algaroba	Algaroba + Glutamina	EMP
AV (μm)	229,90 ^a	149,66 ^b	184,63 ^{ab}	40,61
EVM (μm)	85,08	76,52	79,34	7,77

Siglas: AV – Altura de Vilosidade; LVM – Largura da Vilosidade. EMP – Erro Médio Padrão.

Imagem 2 – Vilosidades de dois animais diferentes alimentados com a dieta controle.

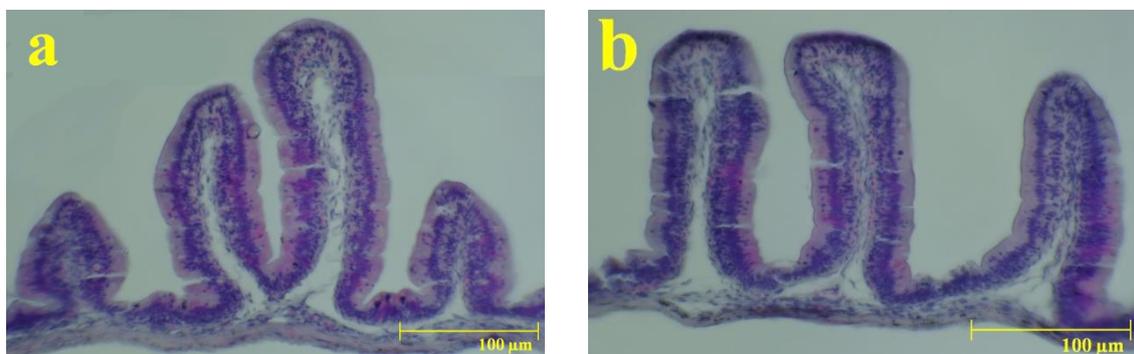


Imagem 3 – Vilosidades de dois animais diferentes alimentados com a dieta com substituição de milho por farelo de algaroba.

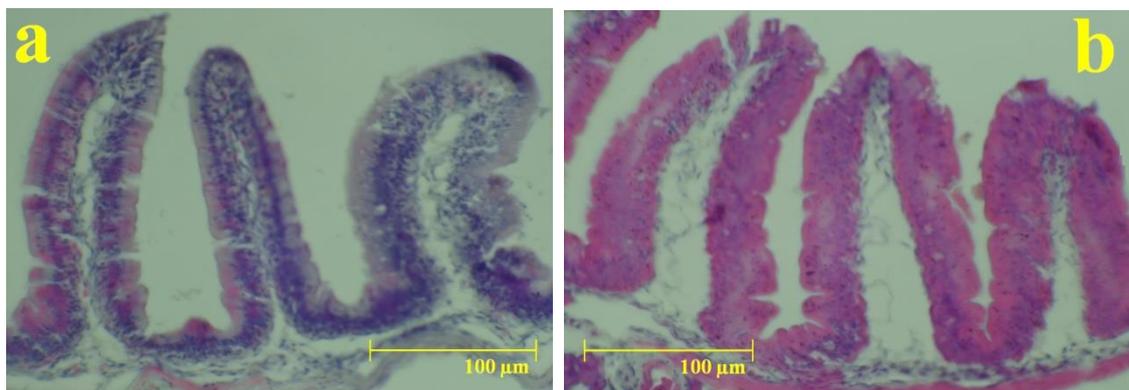
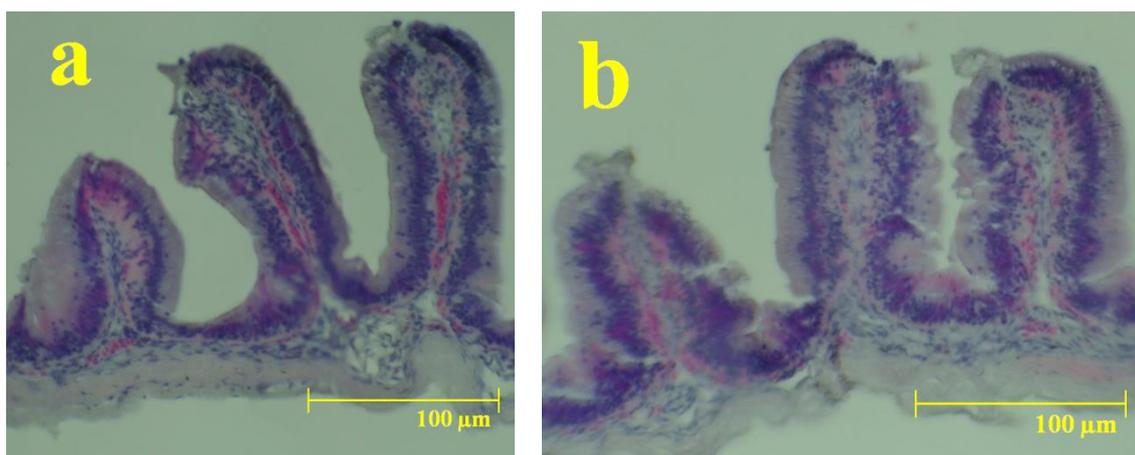


Imagem 4 – Vilosidades de dois animais diferentes alimentados com a dieta com substituição de milho por farelo de algaroba e adição de glutamina.



4.3. Composição centesimal de carcaça (em base de matéria natural)

A análise de composição centesimal da carcaça dos peixes baseada na matéria natural (Tabela 4) obteve diferença estatística significativa ($P < 0,05$) para todos os parâmetros, exceto proteína bruta. Umidade, matéria seca e matéria mineral obtiveram resultados similares, com DA e DAG diferindo estatisticamente da dieta controle. Já para o extrato etéreo (EE), a dieta controle apresentou os maiores valores.

Tabela 4 – Composição centesimal das tilápia do Nilo alimentadas com dietas experimentais (em base de matéria natural).

	Controle	Algaroba	Algaroba + Glutamina	EMP
MS (g kg ⁻¹)	283,7 ^a	267,1 ^b	267,7 ^b	0,90
UM (g kg ⁻¹)	716,3 ^b	732,9 ^a	732,3 ^a	0,90
PB (g kg ⁻¹)	162,5	160,5	162,2	1,19
MM (g kg ⁻¹)	43,9 ^b	51,8 ^a	50,7 ^a	1,06
EE (g kg ⁻¹)	63,8 ^a	49,7 ^b	52,7 ^b	1,39

Siglas: MS – Matéria Seca; UM – Umidade; PB – Proteína Bruta; MM – Matéria Mineral; EE – Extrato Etéreo. EMP – Erro Médio Padrão.

4.4. Dados hematológicos e bioquímicos

Nos resultados para os parâmetros do perfil hematológico e bioquímico (Tabela 5) houve apenas diferença significativa ($P < 0,05$) nos níveis de glicose e HDL (High Density Lipoprotein, Lipoproteína de Alta Densidade). Para glicose o tratamento DC e DAG foram diferentes entre si e semelhantes a DA, e para o HDL o menor valor encontrado foi no tratamento DAG.

Tabela 5 – Perfil hematológico e bioquímico de tilápias do Nilo alimentadas com dietas experimentais

	Controle	Algaroba	Algaroba + Glutamina	EMP
Glicose (mg dL ⁻¹)	67,74 ^b	84,65 ^{ab}	93,53 ^a	13,49
CT (mg dL ⁻¹)	166,56	146,66	133,66	20,81
VG (%)	41,69	41,65	40,08	3,07
PT (g dL ⁻¹)	7,14	6,97	7,54	0,51
Triglicérides (mg dL ⁻¹)	127,03	125,31	105,20	18,70
HDL (mg dL ⁻¹)	92,99 ^a	86,80 ^a	76,87 ^b	5,16
VLDL (mg dL ⁻¹)	25,41	25,06	21,04	3,74
LDL (mg dL ⁻¹)	57,15	55,65	35,75	23,66

CT – Colesterol total; VG – Volume Globular; PT – Proteína Total; HDL – Lipoproteína de Alta Densidade; VLDL – Lipoproteína de Muito Baixa Densidade; LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade. EMP – Erro Médio Padrão.

4.5. Atividade enzimática hepática e intestinal

Para os dados das atividades enzimáticas, houve diferença significativa ($P < 0,05$) apenas para AST e Sacarase, com o maior valor de AST sendo encontrado na dieta controle, e já para a sacarase os tratamentos DA e DAG diferiram entre si e foram semelhantes a DC.

Tabela 6 – Atividade das enzimas hepáticas e digestivas de tilápias do Nilo alimentadas com dietas experimentais

U/mg de proteína	Controle	Algaroba	Algaroba + Glutamina	EMP
ALT	89,75	76,56	73,16	25,17
AST	62,05 ^a	46,60 ^b	43,82 ^b	29,81
Amilase	1,70	1,73	1,26	0,61
Protease	24,65	23,22	19,51	13,31
Sacarase	0,12 ^{ab}	0,16 ^a	0,11 ^b	0,05

ALT – Alanina Aminotransferase; AST – Aspartato Aminotransferase. EMP – Erro Médio Padrão.

5. DISCUSSÃO

Os resultados de crescimento encontrados corroboram com o que foi observado anteriormente para a tilápia do Nilo (Pereira *et al.*, 2017) e outras espécies como *Sciaenops ocellatus* (Cheng *et al.*, 2011), *Morone chrysops* × *Morone saxatilis* (Cheng *et al.*, 2012), *Scophthalmus maximus* (Gu *et al.*, 2017), *Cynoglossus semilaevis* Günther (Liu *et al.*, 2015), *Cyprinus carpio* var. Jian (Yan e Qiu-Zhou, 2006), e *Acipenser schrenckii* ♀ × *Huso dauricus* ♂ (Qiyu *et al.*, 2011), com aumento dos parâmetros de crescimento dos animais com a adição de em média 1% de glutamina à dieta. A literatura comprova que a adição de glutamina à dieta de peixes proporciona um aumento nos parâmetros de crescimento, isto está relacionado à capacidade da glutamina estimular a síntese proteica nos enterócitos (Higashiguchi *et al.*, 1993) e aumentar a altura das vilosidades (Pohlenz *et al.*, 2012), o que reflete em melhor crescimento. A glutamina também serve como fonte de nitrogênio em diversas rotas biosintéticas, e até na formação de DNA, fornecendo os átomos de nitrogênio para a formação de purinas e pirimidinas (Windmueller, 1980).

Contrário aos resultados obtidos no presente experimento, Graciano *et al.* (2014) trabalhando com larvas de tilápia do Nilo, observaram que a adição da glutamina provocou aumento linear nos valores da taxa de eficiência proteica. Por sua vez, Caballero-Solares *et al.* (2015) e Coutinho *et al.* (2016) trabalhando com o dourada (*Sparus aurata*), observaram que a suplementação de glutamina elevou a retenção de proteína e taxa de eficiência proteica, respectivamente. Estas diferenças na literatura em relação ao presente trabalho estão provavelmente relacionadas à diferença entre espécies e fase de vida, além do fato de que nenhum dos autores supracitados trabalhou com a presença de fatores antinutricionais (tanino, inibidores de tripsina e ácido fítico).

Corroborando com este trabalho, foi observado na literatura que para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Pereira *et al.*, 2017) e bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) (Pohlenz *et al.*, 2012), não houve efeito em relação à adição de glutamina à dieta, não interferindo na retenção e eficiência proteica, quando comparado com a dieta controle. Desta forma, comparando a divergência entre os resultados encontrados na literatura, é possível creditar os fatores antinutricionais (FANs) como a principal causa da ausência de efeito entre as dietas com substituição de milho por farelo de algaroba deste trabalho, sob a taxa de retenção e a eficiência proteica. Fatores antinutricionais como o tanino, inibidores de tripsina e ácido fítico podem desempenhar papel

prejudicial à retenção e eficiência proteica, se precipitando as proteínas presentes nos alimentos, formando ligações que os peixes não são capazes de quebrar e tornando a proteína indisponível (Robaina *et al.*, 1995; Silanikove *et al.*, 2001; Krogdahl *et al.*, 2010), diminuindo sua absorção e incorporação ao organismo dos peixes.

Quanto ao parâmetro de consumo há uma divergência quanto à capacidade de a glutamina influenciar estatisticamente os resultados. Autores trabalhando com a carpa Jian (*Cyprinus carpio* var. Jian) (Yan e Qiu-Zhou, 2006) e o *Paralichthys olivaceus* (Han *et al.* (2014), observaram que a adição de glutamina induziu a um aumento do consumo dos peixes, o que está de acordo com o que foi observado nesta pesquisa. O consumo dos peixes pode ser influenciado pelo estímulos, que substâncias como os aminoácidos podem causar sob o sistema gustatório e olfativo dos peixes (Mauri e Caprio, 1992). É possível que o aumento do consumo apresentado neste trabalho tenha relação a este estímulo, uma vez que Kasumyan e Døving (2003) relataram que a glutamina é um dos aminoácidos que mais estimula o consumo de ração por parte dos peixes. Por outro lado, autores trabalhando com inclusão da glutamina à dieta para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Silva *et al.*, 2010; Graciano *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2017) e o dourada (*Sparus aurata*) (Caballero-Solares *et al.*, 2015; Coutinho *et al.*, 2016), não observaram diferença estatística em relação ao consumo, divergindo com os dados obtidos com este trabalho. É interessante salientar que a algaroba é rica em sacarose, que é o carboidrato com maior presença nesta leguminosa (Sawal *et al.*, 2004) e foi reportado que a sacarose pode levar a um maior consumo de ração (Salau *et al.*, 2011). Desta forma, é provável que a combinação da sacarose presente na algaroba e do estímulo que a glutamina, tenham sido os responsáveis pelo aumento do consumo de ração na DAG.

A conversão alimentar aparente também apresenta dados divergentes na literatura, (Graciano *et al.*, 2014) trabalhando com tilápia do Nilo observou tendência linear de diminuição da conversão alimentar aparente, o que também foi observado por Caballero-Solares *et al.* (2015) em trabalho com o dourada, já Silva *et al.* (2010) trabalhando também com a tilápia não observaram diferença significativa com o aumento da inclusão de glutamina à dieta. Desta forma, mais trabalhos se fazem necessários para definir a capacidade da glutamina de influenciar no consumo de ração e conversão alimentar aparente em peixes. Entretanto, observando os dados obtidos neste trabalho, fica clara a influência do consumo e ganho de peso sob a conversão

alimentar. A DC apresentou os menores valores de conversão alimentar, pois foi a dieta com menor consumo e que refletiu em maior ganho de peso, por outro lado a DAG, apesar de ter apresentado ganho de peso estatisticamente similar à DC, apresentou um consumo muito maior que a dieta referência, refletindo desta forma em uma conversão alimentar aparente estatisticamente maior. Porém no caso da DA, apesar de ter tido um consumo menor que a DAG, os fatores antinutricionais provocaram danos ao desenvolvimento dos peixes e absorção dos nutrientes, resultando em um menor ganho de peso, refletindo desta forma em uma conversão alimentar com valores maiores, se assimilando à DAG. Assim, pode-se inferir que a glutamina exerceu efeito positivo em relação à substituição do milho pela algaroba.

Em relação aos índices, os resultados encontrados para o índice viscerossomático (IVS) estão de acordo com a literatura para espécies como o *Paralichthys olivaceus* (*Paralichthys olivaceus*) (Han *et al.*, 2014) e o dourada (*Sparus aurata*) (Coutinho *et al.*, 2016), não apresentando diferença com a inclusão de glutamina à dieta. Quanto aos índices hepatossomático e gorduroviscerossomático, para o IHS há informações mistas na literatura, não foi observada diferença no valor com a adição de glutamina à dieta para tilápia do Nilo (Silva *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2017), bagre do canal (Pohlenz *et al.*, 2012), *Paralichthys olivaceus* (Han *et al.*, 2014) e dourada (Coutinho *et al.*, 2016). Entretanto, outros autores observaram uma tendência de aumento nos valores do IHS com a adição de glutamina à dieta em espécies como *Scophthalmus maximus* (Gu *et al.*, 2017) e *Cyprinus carpio* var. Jian (Yan e Qiu-Zhou, 2006). O índice hepatossomático é calculado a partir do peso do fígado em função do peso do peixe. Dentre os componentes do tecido hepático, encontra-se o glicogênio, que serve como forma de reserva de glicose (Hilton, 1982), e os lipídios, desta forma os valores mais altos significam que os peixes tiveram um maior desenvolvimento do fígado e/ou houve mais armazenamento de energia na forma de glicogênio hepático e lipídios, o que pode provocar hipertrofia do tecido hepático. A ausência de FANs pode ser relacionada a um melhor desenvolvimento da mucosa intestinal (Sena *et al.*, 2012), bem como a ação da glutamina sob o trato (Silva *et al.*, 2010), fatores que estão relacionados a uma melhor absorção de nutrientes. Os nutrientes não utilizados na manutenção das funções corporais, podem ser armazenados na forma de glicogênio, principalmente em dietas com alto nível de inclusão de carboidratos (Bergot, 1979), que também contribui para deposição de lipídios no fígado da tilápia (Xie *et al.*, 2017). É

provável que o melhor aproveitamento da ração que houve pelos peixes alimentados com a dieta controle, que não apresentava os FANs, e com a dieta com adição de glutamina, refletiu em um maior armazenamento energético no tecido hepático, provando a hipertrofia, e conseqüentemente os valores mais altos do IHS em comparação à DA.

Para o IGVS, Pereira *et al.* (2017) e Pohlenz *et al.* (2012) observaram para a tilápia do Nilo e para o bagre do canal, respectivamente, que a adição de glutamina não foi capaz de afetar os valores de gordura visceral nem positivamente, nem negativamente, o que segue a mesma tendência do presente trabalho, uma vez que a DAG e DA obtiveram valores inferiores que a DC. Entretanto, é interessante salientar que a gordura visceral, vem da deposição do excesso de energia na forma de lipídios, e no tratamento DC, não há a presença de fatores antinutricionais, desta forma, os nutrientes estão disponíveis para serem absorvidos e incorporados, sendo a sobra convertida em reservas energéticas, como glicogênio e lipídios.

Para os tratamentos com a algaroba, houve a presença dos FANs, que indisponibilizam nutrientes essenciais à manutenção das atividades metabólicas como proteínas e energia (Hossain *et al.*, 2001). É possível que a presença dos FANs diminuiu a quantidade de energia que seria transformada em energia nas dietas com algaroba. De Souza *et al.* (2019) observaram que o aumento da substituição do milho pelo farelo de algaroba resultou em uma maior quantidade da atividade sacarase, enzima responsável por quebrar as moléculas de sacarose. Entretanto, no presente trabalho, a atividade da sacarase foi menor no tratamento com a glutamina. Desta forma, pode-se inferir que no tratamento DA, mesmo com a alta atividade da sacarase, a diminuição das vilosidades e a indisponibilidade de nutrientes, fez com que os níveis de gordura visceral não fossem tão altos quanto do tratamento DC. Já para a DAG, mesmo com a presença da glutamina melhorando a mucosa intestinal, este aminoácido provocou uma diminuição na atividade da sacarase, desta forma, não sendo tão eficiente na quebra das moléculas de sacarose, o que pode ter influenciado na deposição de gordura visceral.

O baixo desempenho apresentado pela DA, pode ser creditado aos fatores antinutricionais presentes na algaroba, como foi observado por (De Souza *et al.*, 2019) para tilápia do Nilo, ao qual valores de inclusão acima de 20% de algaroba em substituição ao milho representaram uma diminuição nos parâmetros de desempenho zootécnico dos peixes. A presença de fatores antinutricionais como taninos, inibidores

de tripsina e ácido fítico na dieta de peixes é reportada na literatura por resultar em desempenho comprometido, sobretudo quando a substituição é realizada em níveis altos (Hossain *et al.*, 2001; Bhatt *et al.*, 2011). O tanino e inibidores de tripsina agem de forma parecida, se ligando a proteínas e enzimas, de forma a deixá-las indisponíveis à absorção (Silanikove *et al.*, 2001; Krogdahl *et al.*, 2010), além disso, o tanino também indisponibiliza a vitamina B₁₂ (Francis *et al.*, 2001). Pode-se concluir que a substituição de 30% de milho por farelo de algaroba, utilizada no presente trabalho, sem a adição de glutamina pode ser considerada alta e teve influência direta sobre o desempenho zootécnico das tilápias, prejudicando o crescimento dos animais que receberam a DA. Entretanto, apesar da conversão alimentar ter sido mais alta e a retenção e eficiência proteica terem sido menores que da dieta controle, a inclusão de glutamina à dieta com algaroba teve influência benéfica sobre os demais parâmetros de desenvolvimento dos peixes, provando a capacidade da algaroba de neutralizar os efeitos indesejáveis provocados pelos fatores antinutricionais.

As vilosidades da mucosa intestinal são responsáveis por favorecer a absorção e digestão dos nutrientes da ração (Silva *et al.*, 2010). Os dados observados para a altura da vilosidade corroboram com a literatura para espécies como *Oreochromis niloticus* (Silva *et al.*, 2010), *Sciaenops ocellatus* (Cheng *et al.*, 2011), *Ictalurus punctatus* (Pohlenz *et al.*, 2012), *Scophthalmus maximus* (Gu *et al.*, 2017) e *Cyprinus carpio* var. Jian (Yan e Qiu-Zhou, 2006), com um aumento significativo da altura das vilosidades com a inclusão de glutamina à dieta a partir de 1%, comprovando a capacidade deste aminoácido de estimular o crescimento das vilosidades intestinais. A glutamina é um aminoácido condicionalmente essencial, que é considerado como essencial para o crescimento e integridade da mucosa epitelial, atuando em diversos processos no trato intestinal, entre eles na proliferação de enterócitos e a absorção de fluidos e eletrólitos (Rao e Samak, 2012). Além disto, a glutamina é um importante combustível para o tecido intestinal, através da rota de conversão de glutamina em glutamato, que entra no ciclo de Krebs gerando energia (Newsholme *et al.*, 1985). É interessante ressaltar o papel da glutamina sob a imunidade dos animais, pois o epitélio das vilosidades do intestino possuem células chamadas calciformes, que secretam mucina (Taupin e Podolsky, 2003), substância que protege a mucosa intestinal, e a diminuição deste tipo de célula pode provocar diminuição da imunidade dos animais (Wang, Fengyuan *et al.*, 2018).

Desta forma, a presença da glutamina na dieta proporcionou um bom crescimento e altura de vilosidades mesmo na presença dos fatores antinutricionais, pois este aminoácido age na restauração da arquitetura das vilosidades e na reversão de atrofia da mucosa intestinal (Schröder *et al.*, 1995). Os fatores antinutricionais presentes na algaroba são capazes de provocar danos à mucosa intestinal, com a diminuição da altura das vilosidades (Sena *et al.*, 2012), como foi observado neste trabalho, onde a DA que não contava com a ação antagonista aos fatores antinutricionais que a glutamina proporciona, obteve os menores valores de altura de vilosidade, em comparação ao tratamento DC que não tinha a presença da algaroba. De forma geral, foi possível observar que além de melhorar o desempenho dos animais, a inclusão de glutamina pode refletir em melhoria na sanidade dos peixes, uma vez que a diminuição dos impactos causados pelos fatores antinutricionais às vilosidades, aumenta a quantidade de células calciformes, que por sua vez mantem a mucosa intestinal sempre protegida de elementos externos que poderiam causar danos às vilosidades.

A literatura mostra que a glutamina não é capaz de (Silva *et al.*, 2010; Graciano *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2017), dourada (Coutinho *et al.*, 2016) e *Paralichthys olivaceus* (Han *et al.*, 2014), a inclusão de glutamina à dieta, não provocou diferença significativa para nenhum dos parâmetros de composição de carcaça. Desta forma, é possível inferir que a diferença encontrada no presente trabalho está relacionada à presença ou não da algaroba. Bhatt *et al.* (2011) trabalhando com a algaroba e a carpa Rohu (*Labeo rohita*), encontraram influência da algaroba à composição da carcaça dos peixes, com a umidade e MM aumentando e EE diminuindo com a substituição pela algaroba, corroborando com o presente trabalho, já para PB os resultados dos autores diferiram com o presente trabalho, onde com a substituição pela algaroba, o valor de PB diminuiu. Também trabalhando com algaroba para tilápia do Nilo, Sena *et al.* (2012) não observaram nenhuma diferença estatística em comparação à ração controle e ração com substituição pela algaroba, entretanto, estes autores trabalharam com animais maiores e maior duração de experimento do que o presente trabalho, além de que valor de substituição foi menor, com 20% *versus* 30% utilizado neste experimento, desta forma tais fatores podem ser creditados pela falta de diferença significativa.

A glicose sanguínea encontrada no presente estudo mostra que a inclusão da algaroba à ração aumentou os níveis de glicose circulante no sangue. Ainda são escassos os dados sobre a influência da glutamina sob a glicose sanguínea para peixes, porém Hu

et al. (2016) trabalhando com frangos de corte avaliaram tal relação, observando que não houve diferença significativa para a influência da glutamina sobre a glicose sanguínea, entretanto, é importante salientar que o nível de adição de 0,5% de glutamina utilizado pelos autores foi baixo, o que pode ter influenciado para que não houvesse diferença significativa, sendo que já foi reportado que a glutamina tem seu melhor potencial com adição de 1% ou mais à dieta (Cheng *et al.*, 2011; Cheng *et al.*, 2012; Gu *et al.*, 2017). É interessante levar em consideração que a quebra dos carboidratos em monossacarídeos eleva a concentração de glicose sanguínea (Akinleye *et al.*, 2012), e que no presente trabalho a algaroba é rica em sacarose. Desta forma, uma vez que dissacarídeos como a sacarose são altamente digestíveis (Krogdahl *et al.*, 2010) é possível que a algaroba na ração foi responsável por elevar os níveis de glicose sanguínea, visto que o amido presente no milho da dieta controle, é uma molécula maior que a sacarose, e a atividade da amilase não foi significativamente diferente entre os tratamentos.

O nível de HDL apresentou os maiores valores nas dietas sem a presença da glutamina. O nível de HDL no sangue indica o nível de lipoproteínas de alta densidade, estas lipoproteínas são responsáveis por transportar o colesterol dos tecidos periféricos através da corrente sanguínea de volta para o fígado, retirando o colesterol em excesso e o armazenando no fígado (Chen *et al.*, 2003; Deng *et al.*, 2010; Ma *et al.*, 2016). É importante notar que o maior valor de IHS encontrado foi na DC, isto pode indicar que nesta dieta, houve uma maior quantidade de lipídios no tecido hepático, desta forma é possível inferir que o maior nível de HDL pode ter influenciado na hipertrofia do fígado, conseqüentemente aumentando o IHS pela deposição de colesterol. Contudo, a DA obteve o menor valor de IHS e mesmo assim obteve um valor de HDL estatisticamente semelhante à DC. Pode-se notar que o valor do IHS da DAG foi estatisticamente parecido com o da DC, em teoria isto deveria significar que o nível de HDL da DAG deveria ser tão alto quanto da DC, pois haveria a presença de lipoproteínas de alta densidade transportando o colesterol de volta ao fígado, o que não foi observado neste trabalho. Apesar do LDL da DAG não ter estatisticamente diferido das demais dietas, é interessante levar em consideração que a média deste tipo de lipoproteína encontra-se abaixo das médias das demais dietas, o que pode indicar que a glutamina tem efeito redutor sobre a atividade das lipoproteínas.

Trabalhos com a inclusão de glutamina à dieta de peixes já foram realizados e foi observado que a glutamina não influenciou na atividade enzimática da AST no fígado do dourada (Caballero-Solares *et al.*, 2015) e na corrente sanguínea de *Paralichthys olivaceus* (Han *et al.*, 2014), sendo semelhante à dieta controle. Entretanto, é preciso salientar que os autores supracitados trabalharam com uma espécie e composição de dietas diferentes, quando comparados ao presente trabalho. Já De Souza *et al.* (2019) trabalhando com níveis de substituição de milho por algaroba sem adição de glutamina para tilápia do Nilo, observaram que com o aumento da substituição a atividade da AST aumentou linearmente no tecido muscular. É importante evidenciar que a AST é uma enzima liberada na corrente sanguínea quando há danos ao tecido hepático (Ma *et al.*, 2016), e também é responsável pela conversão de α -cetogluturato e oxalacetado em glutamato, que pode ser convertido em glutamina pela glutamina sintase, sendo o processo inverso também possível (Wicks e Randall, 2002).

Contudo, no presente trabalho as aminotransferases foram avaliadas no fígado, desta forma, não há como inferir diretamente se houve dano ao tecido hepático, baseado apenas nos valores de AST e ALT, uma vez que não foi observado os níveis de AST na corrente sanguínea. Entretanto, Li *et al.* (2014) trabalhando com o robalo japonês (*Lateolabra japonicus* Cuvier, 1828) com níveis crescentes de farelo de soja comercial (FJC) observaram que com o aumento do nível de FJC houve uma diminuição da atividade da AST no fígado, e aumento da atividade desta enzima no sangue, o que indica que com o aumento da substituição, esta espécie de peixe carnívoro começou a apresentar dano ao tecido hepático, liberando AST na corrente sanguínea, resultado obtido, muito provavelmente pela presença de fatores antinutricionais. Assim, com a queda da atividade da AST no fígado dos animais alimentados com o farelo de algaroba, é possível inferir que a glutamina não possui capacidade de influenciar na atividade enzimática da AST. Mais pesquisas relacionadas à relação das aminotransferases em dietas com glutamina se fazem necessárias, para um melhor entendimento de como este aminoácido pode afetar o metabolismo de tais enzimas.

A sacarase é uma dissacaridase presente nos peixes, que atua principalmente no duodeno (Fagbenro, 1990), responsável pela quebra da sacarose em monômeros de glicose e frutose. De Souza *et al.* (2019) trabalhando com o farelo de algaroba na alimentação da tilápia do Nilo observaram que o aumento da substituição de milho pela algaroba refletiu em um aumento da atividade da sacarase nos níveis acima de 60% de

farelo de algaroba. Burrin *et al.* (1991) observaram que a glutamina não promoveu nenhuma diferença significativa sob a atividade da sacarase no intestino de leitões. Por sua vez, Panigrahi *et al.* (1997), trabalhando com privação e reabastecimento de glutamina para *Escherichia coli*, observaram uma queda na atividade da sacarase com a privação e um aumento gradativo na atividade quando a glutamina foi novamente fornecida. Agarwal (1976) avaliando a atividade enzimática da sacarase salivar em *Sesamia inferens*, observou que a glutamina diminui a atividade desta enzima. Apesar de o autor supracitado ter trabalhado com um inseto e avaliado a atividade enzimática em local diferente do presente trabalho, é possível que o mesmo comportamento inibidor que a glutamina exerceu sob a atividade da sacarase salivar, possa ter ocorrido com a adição da glutamina à dieta para a tilápia do Nilo. Entretanto, a discordância entre autores quanto à influência ou não da glutamina sob a atividade da sacarase, e a falta de informações para peixes demanda que mais estudos sejam realizados com o intuito de verificar esta relação.

6. CONCLUSÕES

A suplementação de glutamina foi capaz de neutralizar os efeitos deletérios dos fatores antinutricionais sob a altura das vilosidades, o que refletiu em um desempenho zootécnico superior ao tratamento com glutamina mesmo com a utilização do farelo de algaroba em substituição ao milho. Desta forma, a suplementação de 1,2% de glutamina representa uma boa alternativa quando se está trabalhando com ingredientes de origem vegetal que apresentam fatores antinutricionais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL, A. K. Effect of various factors on the activity of sucrase from hte larvae of *Sesamia inferens*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 20, n. 1, p. 19-30, 1976.
- AKINLEYE, A. O. et al. Jatropha platyphylla kernel meal as feed ingredient for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): growth, nutrient utilization and blood parameters. **J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)**, v. 96, n. 1, p. 119-29, Feb 2012. ISSN 1439-0396 (Electronic) 0931-2439 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21410563> >.
- AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. Gaithersburg, Md.: AOAC International, 2005. ISBN 1080-0344 0935584757 9780935584752.
- BERGOT, F. Carbohydrate in rainbow trout diets: effects of the level and souce of carbohydrate and the number of meals on groth and body composition. **Aquaculture**, v. 18, n. 2, p. 157-167, 1979.
- BHATT, S. S.; CHOVIATIYA, S. G.; SHAH, A. R. Evaluation of raw and hydrothermically processed *Prosopis juliflora* seed meal as supplementary feed for the growth of *Labeo rohita* fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, n. 2, p. e164-e173, 2011. ISSN 13535773.
- BURRIN, D. G. et al. Glutamine or Glutamic Acid Effects on Intestinal Growth and Disaccharidase Activity in Infant Piglets Receiving Total Parenteral Nutrition. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 15, n. 3, p. 262-266, 1991/05/01 1991. ISSN 0148-6071. Disponível em: < <https://doi.org/10.1177/0148607191015003262> >. Acesso em: 2019/03/22.
- CABALLERO-SOLARES, A. et al. Diets supplemented with glutamate or glutamine improve protein retention and modulate gene expression of key enzymes of hepatic metabolism in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. **Aquaculture**, v. 444, p. 79-87, 2015. ISSN 00448486.
- CARVALHO, J. V. et al. Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou mananoligossacarídeo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 1, p. 176-187, 2011. ISSN 1519 9940. Disponível em: < <http://www.repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/2008> >.
- CHEN, J.-Y.; CHEN, J.-C.; WU, J.-L. Molecular cloning and functional analysis of zebrafish high-density lipoprotein-binding protein. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 136, n. 1, p. 117-130, 2003/09/01/ 2003. ISSN 1096-4959. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096495903001817> >.
- CHENG, Z.; BUENTELLO, A.; GATLIN, D. M. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum, *Sciaenops ocellatus*. **Aquaculture**, v. 319, n. 1-2, p. 247-252, 2011. ISSN 00448486.

- CHENG, Z.; GATLIN, D. M.; BUENTELLO, A. Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth performance, immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*). **Aquaculture**, v. 362-363, p. 39-43, 2012. ISSN 00448486.
- COUTINHO, F. et al. Dietary glutamine supplementation effects on amino acid metabolism, intestinal nutrient absorption capacity and antioxidant response of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 191, p. 9-17, 2016/01/01/ 2016. ISSN 1095-6433. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1095643315002445> >.
- D'MELLO, J. P. F. Effects of antinutritional factors and mycotoxins on feed intake and on the morphology and function of the digestive system. In: MOSENTHIN, R.; ZENTEK, J., et al (Ed.). **Biology of Nutrition in Growing Animals**: Elsevier, v.4, 2006. p.419-438. ISBN 9780444512321.
- DE SOUZA, A. M. et al. Mesquite bean (*Prosopis juliflora*) meal in diets of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Nutritional value, growth, physiological responses and health. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 1, p. 49-62, 2019/01/01 2019. ISSN 1355-557X. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/are.13867> >. Acesso em: 2019/03/22.
- DE SOUZA, A. M. et al. Mesquite bean (*Prosopis juliflora*) meal in diets of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Nutritional value, growth, physiological responses and health. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 1, p. 1-14, 2018.
- DENG, J. et al. Interactive effects of dietary cholesterol and protein sources on growth performance and cholesterol metabolism of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 16, n. 4, p. 419-429, 2010.
- FAGBENRO, O. A. Food composition and digestive enzymes in the gut of pond-cultured *Clarias isheriensis* (Sydenham 1980), (Siluriformes: Clariidae). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 6, n. 2, p. 91-98, 1990/06/01 1990. ISSN 0175-8659. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1990.tb00506.x> >. Acesso em: 2019/03/22.
- FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. **Aquaculture**, v. 199, n. 3-4, p. 197-227, 2001.
- GENTEN, F.; TERWINGHE, E.; DANGUY, A., Eds. **Atlas of Fish Histology**: CRC Press, p.224, 1 ed. 2009.
- GLENCROSS, B. D.; BOOTH, M.; ALLAN, G. L. A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. **Aquaculture Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 17-34, 2007/02/01 2007. ISSN 1353-5773. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00450.x> >. Acesso em: 2019/03/22.

- GONÇALVES, G. S. et al. Efeitos da suplementação de fitase sobre a disponibilidade aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em alimentos vegetais para a tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 2155-2163, 2005. ISSN 1516-3598. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982005000700001&nrm=iso >.
- GRACIANO, T. S. et al. Desempenho produtivo e composição corporal de tilápias do Nilo alimentadas com AminoGut® no período de reversão sexual. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4Supl, p. 2779, 2014. ISSN 1679-0359.
- GU, M. et al. Protective effect of glutamine and arginine against soybean meal-induced enteritis in the juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 70, p. 95-105, 2017/11/01/ 2017. ISSN 1050-4648. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105046481730493X> >.
- HAN, Y. et al. Interactive effects of dietary taurine and glutamine on growth performance, blood parameters and oxidative status of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v. 434, p. 348-354, 2014. ISSN 00448486.
- HIGASHIGUCHI, T. et al. Effect of glutamine on protein synthesis in isolated intestinal epithelial cells. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 17, n. 4, p. 307-314, 1993.
- HILTON, J. W. The effect of pre-fasting diet and water temperature on liver glycogen and liver weight in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, during fasting. **Journal of Fish Biology**, v. 20, n. 1, p. 69-78, 1982/01/01 1982. ISSN 0022-1112. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1982.tb03895.x> >. Acesso em: 2019/03/22.
- HONORATO, C. et al. Histologia e histoquímica do intestino anterior de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo silagem de peixe. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 4 SE - NÃO DEFINIDA, 2011. Disponível em: < <http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/34391> >.
- HOSSAIN, M. A.; FOCKEN, U.; BECKER, K. Evaluation of an unconventional legume seed, *Sesbania aculeata*, as a dietary protein source for common carp, *Cyprinus carpio* L. **Aquaculture**, v. 198, n. 1, p. 129-140, 2001/06/15/ 2001. ISSN 0044-8486. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848600005743> >.
- HU, H. et al. Dietary supplementation with glutamine and γ -aminobutyric acid improves growth performance and serum parameters in 22- to 35-day-old broilers exposed to hot environment. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 2, p. 361-370, 2016/04/01 2016. ISSN 0931-2439. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/jpn.12346> >. Acesso em: 2019/03/22.
- KASUMYAN, A. O.; DØVING, K. B. Taste preferences in fishes. **Fish and Fisheries**, v. 4, n. 4, p. 289-347, 2003.

- KROGDAHL, Å. et al. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 3, p. 333-344, 2010. ISSN 1355557X 13652109.
- KUPERMAN, B. I.; KUZ'MINA, V. V. The ultrastructure of the intestinal epithelium in fishes with different types of feeding. **Journal of Fish Biology**, v. 44, n. 2, p. 181-193, 1994/02/01 1994. ISSN 0022-1112. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1994.tb01197.x> >. Acesso em: 2019/03/22.
- LI, Y. et al. Comparison of high-protein soybean meal and commercial soybean meal partly replacing fish meal on the activities of digestive enzymes and aminotransferases in juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier, 1828). **Aquaculture Research**, v. 45, n. 6, p. 1051-1060, 2014/05/01 2014. ISSN 1355-557X. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/are.12042> >. Acesso em: 2019/03/22.
- LIU, J. et al. Effects of dietary glutamine on survival, growth performance, activities of digestive enzyme, antioxidant status and hypoxia stress resistance of half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis* Günther) post larvae. **Aquaculture**, v. 446, p. 48-56, 2015. ISSN 00448486.
- MA, F. et al. Effects of extruded and pelleted diets with differing lipid levels on growth, nutrient retention and serum biochemical indices of tilapia (*Oreochromis aureus* × *Tilapia nilotica*). **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 1, p. 61-71, 2016. ISSN 13535773.
- MAHGOUB, O. et al. Evaluation of Meskit (*Prosopis juliflora*) pods as a feed for goats. **Animal Feed Science and Technology**, v. 121, n. 3-4, p. 319-327, 2005. ISSN 03778401.
- MANDAL, S.; GHOSH, K. Accumulation of tannin in different tissues of Indian major carps and exotic carps. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 6, p. 945-948, 2010/05/01 2010. ISSN 1355-557X. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02371.x> >. Acesso em: 2019/03/22.
- MAURI, T.; CAPRIO, J. Teleost gustation. In: HARA, T. J. (Ed.). **Fish Chemoreception**. London: Chapman & Hall, 1992. p.171-1198.
- NEWSHOLME, E. A.; CRABTREE, B.; ARDAWI, M. S. M. The role of high rates of glycolysis and glutamine utilization in rapidly dividing cells. **Bioscience Reports**, v. 5, n. 5, p. 393, 1985. Disponível em: < <http://www.bioscirep.org/content/5/5/393.abstract> >.
- NIKMARAM, N. et al. Effect of extrusion on the anti-nutritional factors of food products: An overview. **Food Control**, v. 79, p. 62-73, 2017.
- PANIGRAHI, P. et al. Role of Glutamine in Bacterial Transcytosis and Epithelial Cell Injury. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 75-80, 1997.
- PEREIRA, R. T.; ROSA, P. V.; GATLIN, D. M. Glutamine and arginine in diets for Nile tilapia: Effects on growth, innate immune responses, plasma amino acid profiles and whole-body composition. **Aquaculture**, v. 473, p. 135-144, 2017. ISSN 00448486.

- PEZZATO, L. E. et al. Digestibilidade aparente da matéria seca e da proteína bruta e a energia digestível de alguns alimentos alternativos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 26, n. 3, p. 329-337, 2004. Disponível em: < <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/1798> >.
- POHLENZ, C. et al. Free dietary glutamine improves intestinal morphology and increases enterocyte migration rates, but has limited effects on plasma amino acid profile and growth performance of channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 370-371, p. 32-39, 2012. ISSN 00448486.
- QIYOU, X. et al. Dietary glutamine supplementation improves growth performance and intestinal digestion/absorption ability in young hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii* ♀ × *Huso dauricus* ♂). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 27, n. 2, p. 721-726, 2011. Disponível em: < <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0426.2011.01710.x> >.
- RAES, K. et al. Role of processing on bioaccessibility of minerals: Influence of localization of minerals and anti-nutritional factors in the plant. **Trends in Food Science & Technology**, v. 37, n. 1, p. 32-41, 2014.
- RAO, R.; SAMAK, G. Role of glutamine in protection of intestinal epithelial tight junctions. **Journal of epithelial biology & pharmacology**, v. 5, n. Suppl 1-M7, p. 47-54, 2012. ISSN 1875-0443. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25810794> >
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/PMC4369670/> >.
- REDDY, N. R.; PIERSON, M. D. Reduction in antinutritional and toxic components in plant foods by fermentation **Food Research International**, v. 27, n. 3, p. 281-290, 1994.
- ROBAINA, L. et al. Soybean and lupin seed meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*): nutritional and histological implications. **Aquaculture**, v. 130, n. 2, p. 219-233, 1995/02/15/ 1995. ISSN 0044-8486. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/004484869400225D> >.
- ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. 4. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa - UFV, 2017. 488-488.
- SALAU, B. A. et al. Implications of Dietary Sucrose on Feed Intake, Bodyweight and Blood Glucose Level of Rats. **Res Bioscientia**, v. 21, n. 3, p. 7-12, 2011. ISSN 2230-9446.
- SALINAS, I.; PARRA, D. Fish mucosal immunity: intestine. In: BECK, B. H. e PEATMAN, E. (Ed.). **Mucosal Health in Aquaculture**: Academic Press, 2015. p.135-170. ISBN 9780124171862.
- SAWAL, R. K.; RATAN, R.; YADAV, S. B. S. Mesquite (*Prosopis juliflora*) Pods as a Feed Resource for Livestock - A Review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 17, n. 5, p. 719-725, 2004.

- SCHRÖDER, J. et al. Glutamine Dipeptide—Supplemented Parenteral Nutrition Reverses Gut Atrophy, Disaccharidase Enzyme Activity, and Absorption in Rats. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 19, n. 6, p. 502-506, 1995/11/01 1995. ISSN 0148-6071. Disponível em: < <https://doi.org/10.1177/0148607195019006502> >. Acesso em: 2019/03/22.
- SENA, M. F. et al. Mesquite bean and cassava leaf in diets for Nile tilapia in growth. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 34, n. 3, p. 231-237, 2012. Disponível em: < <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/13175> >.
- SILANIKOVE, N.; PEREVOLOTSKY, A.; PROVENZA, F. D. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, n. 1, p. 69-81, 2001/05/16/ 2001. ISSN 0377-8401. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840101002346> >.
- SILVA, C. G. M. et al. Caracterização físico-química e microbiológica da farinha de algaroba (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC). **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v. 27, n. 4, p. 733-736, 2007. ISSN 0101-2061.
- SILVA, L. C. R. et al. Desempenho e morfometria intestinal de juvenis de tilápia-do-nylo alimentados com dietas suplementadas com L-glutamina e L-glutamato. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 6, p. 1175-1179, 2010.
- SMITH, R. J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 14, n. 4S, p. 40-44, 1990.
- SOUBA, W. W.; SMITH, R. J.; WILMORE, D. W. Glutamine Metabolism by the Intestinal Tract. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 9, n. 5, p. 608-617, 1985.
- SPINELLI, J.; HOULE, C. R.; WEKELL, J. C. The effect of phytates on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. **Aquaculture**, v. 30, n. 1, p. 71-83, 1983/01/01/ 1983. ISSN 0044-8486. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0044848683901539> >.
- STEIN, R. B. D. S. et al. Uso do farelo de vagem de algaroba (*Prosopis juliflora* (Swartz) D.C.) em dietas para equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 1240-1247, 2005. ISSN 1516-3598. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982005000400020&nrm=iso >.
- TAUPIN, D.; PODOLSKY, D. K. Trefoil factors: initiators of mucosal healing. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 4, n. 9, p. 721-32, Sep 2003. ISSN 1471-0072 (Print) 1471-0072 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14506475> >.

- TRUSHENSKI, J. Dietary considerations. In: BECK, B. H. e PEATMAN, E. (Ed.). **Nutritional impacts on fish mucosa: dietary considerations**: Academic Press, 2015. p.199-209. ISBN 9780124171862.
- VIDAL, L. V. O. et al. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 1069-1074, 2008. ISSN 0100-204X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2008000800017&nrm=iso >.
- WALTER, H. E. Proteinases: methods with hemoglobin, casein, and azocoll as substrates. In: BERGMAYER, H. U. (Ed.): Verlag Chemie, 1984. p.270-277.
- WANG, F. et al. Histopathological injuries, ultrastructural changes, and depressed TLR expression in the small intestine of broiler chickens with aflatoxin B1. **Toxins**, v. 10, n. 4, p. 1-16, 2018.
- WANG, F. et al. Histopathological Injuries, Ultrastructural Changes, and Depressed TLR Expression in the Small Intestine of Broiler Chickens with Aflatoxin B(1). **Toxins (Basel)**, v. 10, n. 4, Mar 21 2018. ISSN 2072-6651 (Electronic)
2072-6651 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29561786> >.
- WICKS, B. J.; RANDALL, D. J. The effect of sub-lethal ammonia exposure on fed and unfed rainbow trout: the role of glutamine in regulation of ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 132, n. 2, p. 275-285, 2002/06/01/ 2002. ISSN 1095-6433. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S109564330200034X> >.
- WINDMUELLER, H. G. Enterohepatic Aspects of Glutamine Metabolism. In: MORA, J. e PALACIOS, R. (Ed.). **Glutamine: Metabolism, Enzymology, and Regulation**: Academic Press, 1980. cap. 13, p.235-257. ISBN 978-0-12-506040-0.
- WU, G. Functional Amino Acids in Growth, Reproduction, and Health. **Advances in Nutrition**, v. 1, n. 1, p. 31-37, 2010. ISSN 2161-8313. Disponível em: < <https://doi.org/10.3945/an.110.1008> >. Acesso em: 3/22/2019.
- WU, G. et al. Glutamine metabolism in chick enterocytes: absence of pyrroline-5-carboxylase synthase and citrulline synthesis. **Biochemical Journal**, v. 306, p. 717-721, 1995.
- WU, R. X. et al. Comparative enzyme activities of the intestinal brush border membranes of the herbivorous mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris* and the carnivorous Chinese black sleeper *Bostrichthys sinensis*. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 25, n. 5, p. 571-575, 2009/10/01 2009. ISSN 0175-8659. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2009.01302.x> >. Acesso em: 2019/03/22.
- XIAO, D. et al. The glutamine-alpha-ketoglutarate (AKG) metabolism and its nutritional implications. **Amino Acids**, v. 48, n. 9, p. 2067-2080, 2016.

XIE, D. et al. Effects of dietary carbohydrate and lipid levels on growth and hepatic lipid deposition of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 479, p. 696-703, 2017. ISSN 00448486.

YAN, L.; QIU-ZHOU, X. Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, v. 256, n. 1-4, p. 389-394, 2006. ISSN 00448486.