

**ALFREDO RUBÉN PALOMINO RAMOS**

**NÍVEIS DE INCLUSÃO DE L-GLUTAMINA EM DIETAS PARA  
JUVENIS DE TRAIRÃO (*Hoplias lacerdae*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2014**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

Palomino Ramos, Alfredo Rubén, 1975-

P181n Níveis de inclusão de l-glutamina em dietas para juvenis de  
2014 trairão (*Hoplias lacerdae*) / Alfredo Rubén Palomino Ramos. –  
Viçosa, MG, 2014.  
xv, 59f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Ana Lúcia Salaro.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Trairão (Peixes). 2. Nutrição animal. 3. Aminoácido.  
4. Desempenho. 5. Peixe - Histologia. 6. Peixe - Crescimento.  
7. Peixe - Absorção. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Biologia Animal. Programa de Pós-graduação  
em Biologia Animal. II. Título.

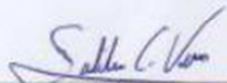
CDD 22. ed. 597.4

ALFREDO RUBÊN PALOMINO RAMOS

NÍVEIS DE INCLUSÃO DE L-GLUTAMINA EM DIETAS PARA  
JUVENIS DE TRAIRÃO (*Hoplias lacerdae*)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
Viçosa, como parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do  
título de *Magister Scientiae*.

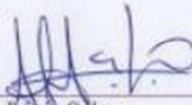
APROVADA: 06 de agosto de 2014



Galileu Crovatto Veras



Sérgio Luiz Pinto da Matta  
(Coorientador)



Ana Lúcia Sálaro  
(Orientadora)

## DEDICATÓRIA

Ao meu pai **Alfredo Palomino Ipenza**, “*in memoriam*”, por ter sido além de pai dedicado, um exemplo de ser humano, parâmetro para todos os meus atos, pelo incentivo e suporte para que eu pudesse estudar e realizar meus sonhos, a quem tudo devo e que ainda guia meu caminho, sendo meu protetor e minha fortaleza. *Agradecimentos e saudades eternas, porque entre nós nunca existirá o adeus!*

À **Deus** e ao **Senhor Jesus Cristo**, pelo dom da vida e pela presença em todos os momentos, e que permitiu que as alegrias e realizações superassem as tristezas e frustrações, fazendo com que esta jornada fosse compensadora e esta minha segunda vida tenha sentido. *Caminhos nem sempre retos, mas ricos de ensinamentos.*

Aos meus queridos irmãos e irmãs, **Valentín “Pachi” Palomino Ramos, Elsa Palomino Ramos, Evelyn Palomino Ramos, Frida Palomino Ramos e Ilan Palomino Ramos**, pelo amor, carinho, incentivo e apoio. *Obrigado por estarem sempre presentes na minha vida.*

Aos meus sobrinhos **André Serpa, Aldana Serpa, Alexa Palomino, Jimena Ríos, Matteo Palomino, Rafaella Mora, Salvador Ríos e Yanella Palomino**, pelo carisma e sinceridade repassados em suas rissadas, atos e palavras.

À minha avozinha **Cleofé Ccoicca**, “*in memoriam*”, a minha mãe **Elsa Ramos**, “*in memoriam*”, e ao meu tio **Alcides Palomino** (Achi), “*in memoriam*”, por toda dedicação, paciência, carinho e amor que sempre tiveram pela minha pessoa durante seus anos de vida; e às minhas avozinhas **Inés Ipenza** “*in memoriam*” e **Benedicta Zevallos** “*in memoriam*”. *Feliz por tê-los tido!*

À minha tia e “mãe do coração” **Sonia Flores** e minha tia-mamãe **Rina Pedraza**, por todos os anos de amor, carinho e dedicação. *O meu muito obrigado!*

A **meus cunhados, minhas cunhadas** e a todos meus **familiares e amigos**.

*Ofereço e dedico*

**À Profa. Dra. Ana Lúcia Salaro**

Á você professora, meu muito obrigado, pela oportunidade de trabalhar ao seu lado e de crescer não só profissionalmente, mas também como pessoa. Agradeço de todo coração pela confiança, dedicação, preocupação e compreensão durante todo este tempo, e só espero ter correspondido a sua confiança. Por todo tempo dedicado, por cada momento de alegria e raiva, palavra de conforto e alguma vezes de “xingamentos”, pelo incentivo a trabalhar com afinco e dedicação, e pelo simples fato de fazer parte da minha vida nesta etapa de meu desenvolvimento profissional. Pode ter certeza que levarei tudo o ensinamento e tentarei sempre me esforçar para atingir meus objetivos e superar meus desafios.

*Muchas Gracias!!!*

## AGRADECIMENTOS

À **Deus** por ter-me possibilitado chegar ao final da realização desta etapa, com a disposição e a certeza de que muito ainda tenho a fazer.

Ao **Senhor Jesus Cristo**, filho de Deus, por cuidar bem de mim, dos meus sonhos e de todas as pessoas que são luz no meu caminho. Obrigado pelas bênçãos concedidas e por ajudar-me a vencer os obstáculos da minha vida.

À **Universidade Federal de Viçosa** e ao **Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Departamento de Biologia Animal**, pela oportunidade de melhorar meus conhecimentos e por ter possibilitado desenvolver este trabalho.

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão da bolsa de estudos.

A **Profa. Dra. Ana Lúcia Salaro**, por sua confiança, orientação, ensinamentos, estímulo, críticas, auxílio, paciência e grande amizade demonstrada durante a realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Sérgio Luis Pinto da Matta**, pela coorientação e apoio em todas as coletas, processamento e interpretação de dados histológicos e também por sua amizade e dedicação ao presente trabalho.

Ao **Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya**, pela disponibilidade de seu tempo, competente coorientação e correções deste trabalho.

Ao grupo **Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda. – Divisão Nutrição Animal**, em especial ao senhor **Edgar Ishikawa**, pela parceria na

realização do projeto, disponibilizando o ingrediente para as dietas testes, L-Glutamina, além como para a realização das análises.

Ao **Prof. Dr. Jener Alexandre Sampaio Zuanon**, pelo apoio, sugestões e amizade durante o tempo de estudos.

Ao **Prof. Dr. Jorge Abdala Dergam dos Santos** por toda atenção e por disponibilizar o Laboratório de Sistemática Molecular – BEAGLE, do Departamento de Biologia Animal da UFV para a realização das microfotografias dos cortes histológicos deste trabalho, assim como a atenção e auxílio de sua equipe e seus alunos.

Ao **Prof. Dr. Edênio Detmann** por disponibilizar o Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia da UFV, para realização das análises de composição química das amostras.

**A todos os professores da Universidade Federal de Viçosa** que de certa forma contribuíram para minha formação durante o período que permaneci na Universidade.

Ao Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV, por possibilitar a confecção dos cortes histológicos, especialmente aos pós-graduandos do programa de doutorado em Biologia Geral, **Marcos de Lucca Moreira Gomes, Lidiane da Silva Nascimento e Ana Luiza Pereira Martins**, pelo apoio prestado durante o processamento das análises histológicas.

Aos Mestres em Biologia Animal **Daniel Abreu Vasconcelos Campelo e Frederico Werneck Lima**; aos pós-graduandos do programa de mestrado em Biologia Animal (DBA/UFV), **Márcio Yoshiyuki Kanashiro, Uyara Duarte Vieira, Renato Barbosa Ferraz, Sendy Moreira Reis, Isabel Gertrudes Arrigui de Araújo Neves e Mariana Molica Silveira**; ao Zootecnista **José Carlos de Oliveira Junior**; ao Engenheiro Agrônomo **Victor Vicentin Bentes** e aos bolsistas e estagiários do Setor de Piscicultura do Departamento de Biologia Animal, **André Luis Fialho Ladeira, Cristiana Leonor da**

**Silva Carneiro, Raully Lucas Silva, José Francisco Luciano e William Chaves**; pelo apoio, convivência, amizade, carinho e bons momentos vividos durante a realização deste trabalho; e aos meus amigos do programa de doutorado em Zootecnia, **Guisela Mónica Rojas Tuesta, Thiago Bernardes Fernandes Jorge e Alexmiliano Voguel de Oliveira**.  
*Gracias Totales!*

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da UFV **Adnílson Brasileiro**, pela ajuda e pelos vários esclarecimentos durante minha formação;

Aos funcionários do Setor de Piscicultura da UFV, **João Antônio de Oliveira e José Francisco Delfino** pelos auxílios e pela ajuda prestada durante os manejos de rotina do setor.

Ao técnico do Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia da UFV, **Faustino Pereira Monteiro**, pelo apoio para a realização das Análises Bromatológicas.

Aos Professores da Universidad Nacional Agraria La Molina (Perú), M. Sc. **Julio Gonzales Fernandez** e Dr. **César Pizardi Diaz**, pelas valiosas sugestões, idéias, conversas, apoio, ensinamentos valiosos e atenções que sempre tiveram comigo durante minha formação na Universidade e em meu desenvolvimento profissional.

Ao Dr. **José Augusto Senhorini** (ICMBIO/IBAMA) pela valiosa ajuda para fazer o mestrado, mas principalmente por sua grande amizade e ter-me recebido na sua casa como um parente. *A sua querida família, também muito obrigado por me receber na sua casa.*

Ao **meu pai, minha mãe, minhas avozinhas e meu tio**, mesmo estando longe, ficam atentos de mim, e durante seus anos de vida me ajudaram muito nessa batalha e incentivaram-me nos estudos. *Essa conquista é nossa!*

Aos **meus irmãos, minhas irmãs, meus sobrinhos, minhas sobrinhas, meus cunhados e minhas cunhadas**. *Obrigado por tudo! O apoio de vocês foi fundamental. Essa conquista também é nossa!*

Aos meus amigos e minhas amigas de sempre, **Roberto Araujo, Hugo Muñoz, Carlos Supo, Claudio Angles, Julio Góngora, Alfredo Pino, Christian Ramos, Mauricio Rosas, Rita Saenz, Amelia Muñoz, Dora Martínez, Eyme Untiveros, Tania Loza, Sethi Molero e Kátia Rodrigues**, que me proporcionaram muitas alegrias ao longo deste tempo, pela amizade, companhia, torcida, afeto e confiança. *Valeu mesmo!*

À **Flávia Rodrigues de Souza** e toda sua família, **Maria Clara Rodrigues, Silvana Rodrigues Pereira, Júlio Barbosa Neto e Euvanho Costa de Souza**, pelo carinho familiar com que fui acolhido na sua casa durante minha morada em Viçosa, e que diminuíram minha saudade de casa. *Muito obrigado!*

À meus chefes e amigos, companheiros das rotinas profissionais durante meus anos de trabalho, **Pablo Xandri, Blanca Morales, Kalen Su, José Allemant e Flor de María Velasco**, por acreditar em mim e pelo inestimável apoio que foram fundamentais, bem por sempre estar ao meu lado quando precisei. *Muito obrigado!*

Agradeço também aos **meus parentes**, e em especial aos **meus tios, minhas tias, meus primos e minhas primas**, que sempre torceram por mim e me ajudaram em tudo que precisei.

Também vai para “Goleo” e “Oso”, pelas lealdades de sempre!

*Minha gratidão sincera a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, participando de todos os momentos bons e difíceis, assim como a todos que fizeram parte da minha vida. Novamente, muito obrigado!*

## **BIOGRAFIA**

ALFREDO RUBÉN PALOMINO RAMOS, filho de Alfredo Palomino Ipenza e Elsa Ramos de Palomino, nasceu em 26 de agosto de 1975 na cidade de Lima – Perú.

Graduou-se em Ciências – Engenharia de Pesca, em junho de 2000 pela Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), Lima – Perú.

Ingressou no programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, em nível de Mestrado, em julho de 2012, pelo Departamento de Biologia Animal na Universidade Federal de Viçosa (UFV), Minas Gerais – Brasil, defendendo a dissertação em 06 de agosto de 2014.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE ANEXOS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	3
Glutamina e seu metabolismo.....	3
Tubo digestivo dos peixes.....	8
Mucosa intestinal.....	11
Vilosidades intestinais.....	13
Tubo digestivo e a glutamina.....	15
Utilização da glutamina em dietas para animais.....	16
Trairão <i>Hoplias lacerdae</i> .....	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
CAPÍTULO I.....	31
INTRODUÇÃO.....	33
MATERIAL E MÉTODOS.....	35
Dietas-teste.....	35
Peixes e delineamento experimental.....	37
Análise de desempenho produtivo.....	39
Composição química dos peixes.....	39
Avaliação histomorfométrica da mucosa intestinal.....	40
Análise estatística.....	41
RESULTADOS.....	42
DISCUSSÃO.....	47
CONCLUSÃO.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
ANEXOS.....	59

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da glutamina .....	3
Figura 2. Esquema simplificado da síntese de glutamina no músculo esquelético e degradação da glutamina nos leucócitos. 1) utilização de glicose, ácidos graxos ou aminoácidos (leucina); 2) síntese de glutamato e glutamina; 3) degradação de glutamato e glutamina; 4) síntese de aspartato. Abreviações: OAA: oxaloacetato, 2-OXO: 2-oxoglutarato. ....	5
Figura 3. Catabolismo da glutamina .....	6

### Capítulo I – L-glutamina em dietas para juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*)

Figura 1. Altura das vilosidades da porção mediana do intestino de juvenis de trairão ( <i>Hoplias lacerdae</i> ) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-glutamina.....	45
Figura 2. Espessura da túnica muscular da porção mediana do intestino de juvenis de trairão ( <i>Hoplias lacerdae</i> ) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-glutamina.	45
Figura 3. Espessura da túnica muscular da porção posterior do intestino de juvenis de trairão ( <i>Hoplias lacerdae</i> ) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-glutamina.	46

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo I – L-glutamina em dietas para juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*)

Tabela 1. Composição percentual das dietas teste contendo diferentes níveis de L-glutamina .....	36
Tabela 2. Composição química e perfil de aminoácidos das dietas teste contendo diferentes níveis de L-glutamina .....	37
Tabela 3. Valores médios e desvio padrão do desempenho produtivo de juvenis de trairão ( <i>Hoplias lacerdae</i> ) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-glutamina.....	43
Tabela 4. Valores médios e desvio padrão da composição química de juvenis de trairão ( <i>Hoplias lacerdae</i> ) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-glutamina.....	44
Tabela 5. Valores médios e desvio padrão da altura, largura e base das vilosidades e espessura da túnica muscular ( $\mu\text{m}$ ) do intestino de juvenis de trairão ( <i>Hoplias lacerdae</i> ) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-glutamina.....	44

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 - Certificado do Comitê de Ética para Uso de Animais .....	59
--	----

## RESUMO

PALOMINO RAMOS, Alfredo Rubén, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2014. **Níveis de inclusão de L-Glutamina em dietas para juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*)**. Orientadora: Ana Lúcia Salaro. Coorientadores: Wilson Massamitu Furuya e Sérgio Luis Pinto da Matta.

A determinação das exigências nutricionais por aminoácidos para cada espécie animal, e seus efeitos sobre o crescimento e a composição corporal, assim como sobre a qualidade da carne, é de fundamental importância para se estabelecer dietas de alto valor nutricional. A glutamina é um aminoácido do grupo dos aminoácidos não essenciais, em função dos animais terem a capacidade de sintetizá-la. Estudos recentes evidenciaram que a glutamina pode ser considerada condicionalmente essencial, ou seja, essencial quando os peixes são submetidos a situações de desafios, onde ocorre elevada degradação proteica. A glutamina participa de importantes funções metabólicas como a síntese dos nucleotídeos purina e pirimidina, o transporte e doação do nitrogênio, a regulação do equilíbrio ácido-base, a integridade tecidual, além de estimular a síntese proteica muscular. A glutamina também atua no desenvolvimento de células intestinais, estimulando o desenvolvimento das vilosidades, promovendo aumento na superfície de contato do intestino, melhorando a digestão e a absorção dos nutrientes pelo intestino e conseqüentemente o ganho de peso dos animais. Assim, com o presente estudo objetivou-se avaliar a utilização de L-glutamina em dietas para juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*). Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa CEUA/UFV, como parte do processo Nº 24/2013. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (0,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 g/kg de L-glutamina) e cinco repetições. Quinhentos e dez juvenis de trairão com peso médio de  $1,69 \pm 0,10$  g e comprimento

padrão médio de  $4,67 \pm 0,10$  cm, previamente condicionados a aceitar dietas artificiais, foram distribuídos em 30 aquários circulares de polietileno (100 L) contendo 20 litros de água, em sistema de recirculação, na densidade de 0,85 peixe/litro. Os peixes dos diferentes tratamentos foram alimentados até a saciedade nos horários de 8, 12 e 18 horas. Ao final do experimento, 12 semanas, foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho produtivo: taxa de sobrevivência, ganho de peso, ganho de comprimento, conversão alimentar, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica, uniformidade de comprimento e de peso final, rendimento de carcaça, comprimento do intestino, e os índices viscerossomático, hepatossomático e intestinosomático. Também foi avaliada a composição química das dietas e dos peixes, em relação aos teores de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, cinzas totais e energia bruta, e o perfil de aminoácidos das dietas. Amostras da parte mediana e posterior do intestino dos peixes foram coletadas para análises histomorfométricas, quando foi mensurada a espessura da túnica muscular, e as medidas de altura, espessura da base e espessura mediana das vilosidades. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA,  $P < 0,05$ ), e em caso de diferenças significativas, foi realizada análise de regressão polinomial ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença significativa entre os níveis de glutamina da dieta e os parâmetros de desempenho produtivo e de composição química dos peixes. Houve efeito quadrático apenas para a altura das vilosidades da porção mediana e para a espessura da túnica muscular das duas porções do intestino dos peixes dos diferentes tratamentos. Os níveis de glutamina que proporcionaram os maiores valores para esses parâmetros foram estimados em 5,42 g/kg, 5,40 g/kg e 5,21 g/kg, respectivamente. Conclui-se que a suplementação de L-glutamina para juvenis de trairão encontra-se na faixa de 5,21 a 5,42 g/kg.

## ABSTRACT

PALOMINO, Alfredo Rubén, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2014. **Inclusions levels of L-Glutamine in diets for giant trahira juvenile (*Hoplias lacerdae*).** Adviser: Ana Lúcia Salaro. Co-advisers: Wilson Massamitu Furuya and Sérgio Luis Pinto da Matta.

The determination of nutritional requirements of amino acids for each animal species, and their effects on growth and body composition, as well as on meat quality, is of fundamental importance to establish diets of high nutritional value. Glutamine is an amino acid of the group of non-essential amino acids, due to the capacity animals have to synthesize it. Recent studies evidenced that glutamine may be considered conditionally essential, in other words, essential when fish are subjected to situations of challenges, in which high protein degradation occurs. Glutamine participates in important metabolic functions such as the synthesis of the nucleotides purine and pyrimidine, the transport and donation of nitrogen, the regulation of acid-base balance, the tissue integrity and stimulates muscle protein synthesis. Glutamine is also active in the development of intestinal cells by stimulating the development of the villi, and promoting an increase in the contact surface of the intestine, improving digestion and absorption of nutrients by the intestine and consequently the weight gain of the animals. Thus, the present study aimed to evaluate the use of L-glutamine in diets for juvenile giant trahira (*Hoplias lacerdae*). This project was approved by the Ethics Committee on Animal Use, Federal University of Viçosa CEUA/UFV, as part of Case No. 24/2013. It was used a completely randomized design with six treatments (0.0; 2.0; 4.0; 6.0; 8.0; and 10.0 g/kg of L-glutamine) and five replicates. Five hundred and ten giant trahira juvenile with an average weight of  $1.69 \pm 0.10$  g and average length of  $4.67 \pm 0.10$  cm, previously trained to accept artificial diets, were divided into 30 circular

polyethylene tanks (100 L) containing 20 liters of water, in recirculating system, at a density of 0.85 fish/liter. Fish from different treatments were fed to satiation during the hours of 8, 12 e 18 h. At the end of the experiment, 12 weeks, the following fish growth performance were analyzed: survival rate, weight gain, length gain, feed conversion, specific growth rate, protein efficiency ratio, length and final weight uniformity, carcass yield, intestine weight, and viscerosomatic, hepatosomatic and intestinesomatic index. The chemical composition of the diets and fish whole-body was assessed in relation to content of dry matter, crude protein, ether extract, total ash and crude energy, and the amino acid profile of the diets. Intestine samples of fish were collected for histomorphometric analysis, which was measured the thickness of the tunica muscularis, and measurements height, base thickness and median thickness of the villi, in the middle and posterior portion of the intestine. The results were submitted to analysis of variance (5%) and in the case of significant differences, polynomial regression analysis (5%) was performed. There was no significant difference between the dietary L-glutamine levels and the growth performance and chemical composition of the fish whole-body. There was a quadratic effect only for villi height of the middle portion and the thickness of the tunica muscularis of the two portions of the intestine. Glutamine levels that yielded the highest values for these parameters were estimated at 5.42 g/kg, 5.40 g/kg and 5.21 g/kg, respectively. It is concluded that the supplementation of L-glutamine for giant trahira juveniles is in the range of 5.21 to 5.42 g/kg.

## INTRODUÇÃO GERAL

Nos animais, a glutamina é o aminoácido livre mais abundante na circulação e no espaço intracelular, participando de importantes funções metabólicas como a síntese dos nucleotídeos purina e pirimidina, o transporte e doação do nitrogênio, a regulação do equilíbrio ácido-base, a integridade tecidual, além de estimular a síntese proteica muscular (STRYER, 1992; CYNOBER, 1999; ZAVARIZE *et al.*, 2010).

A glutamina é um aminoácido não essencial, em função da capacidade dos animais em sintetizá-la a partir de outros aminoácidos (BERTECHINI, 2006). Entretanto, estudos recentes evidenciaram que a glutamina pode ser considerada condicionalmente essencial, quando os peixes são submetidos a situações de desafios, onde ocorre elevada degradação proteica (ZAVARIZE *et al.*, 2010) como, por exemplo, no caso de altas densidades de estocagem em sistema de alto fluxo. Nestas situações, a glutamina atua como regulador metabólico, aumentando a síntese de proteína e reduzindo seu catabolismo (SMITH, 1990; LOBLEY *et al.*, 2001). O aumento do número de células e da altura das vilosidades intestinais, a formação de tecido proteico e a recuperação de outros tecidos, como os tecidos intestinal e hepático, também são funções da glutamina (ZAVARIZE *et al.*, 2010).

A atuação da glutamina no sistema digestório dos peixes pode ser benéfica, uma vez que o intestino está diretamente relacionado com a digestão e a absorção de nutrientes, o que poderá levar a melhorias no desempenho do animal. Portanto, o conhecimento do sistema digestório dos peixes é de extrema importância para a elaboração de dietas que atendam as exigências nutricionais dos animais (ZIMMERMANN e JOST, 1998). Assim, vários componentes da dieta têm sido estudados com o objetivo de promover o crescimento da mucosa intestinal destacando-se a glutamina.

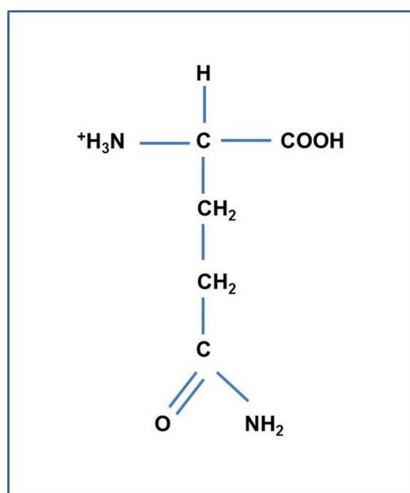
Os peixes carnívoros apresentam grande importância na piscicultura pelo potencial produtivo e pela qualidade da carne para consumo humano. Dentre as espécies carnívoras neotropicais com potencial para produção em cativeiro, o trairão (*Hoplias lacerdae*) se destaca em razão de sua rusticidade, rápido ganho de peso, baixa demanda energética resultante do seu comportamento sedentário (LUZ *et al.*, 2002; VERAS *et al.*, 2010; SALARO *et al.*, 2013), reprodução sem necessidade de indução hormonal e mercado consumidor em expansão (SALARO *et al.*, 2013).

Estudos têm demonstrado que essa espécie se adapta bem à alimentação artificial, desde que condicionadas a aceitar dietas processadas nas fases de larvicultura e alevinagem, apresentando boas taxas de sobrevivência, crescimento e conversão alimentar (SALARO *et al.*, 2003; NOGUEIRA *et al.*, 2005; SALARO *et al.*, 2008, SALARO *et al.*, 2012). Entretanto, pela característica própria da espécie, são comuns confrontos pela disputa de território ou alimentação, o que poderá levar a situação de estresse dos peixes. Assim, a glutamina pode se tornar um aminoácido essencial reduzindo os efeitos causados pelo estresse, garantindo o bem estar dos peixes e melhorando seu desempenho produtivo. Portanto, com este estudo, objetivou-se avaliar os efeitos de suplementação de diferentes níveis de L- glutamina em dietas para o trairão (*Hoplias lacerdae*) por meio do desempenho produtivo, composição química dos peixes e histomorfometria da mucosa intestinal.

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

### Glutamina e seu metabolismo

A glutamina é um aminoácido glicogênico neutro, com dois grupos nitrogenados facilmente mobilizáveis, sendo um grupo  $\alpha$ -amino e um grupo amida (Figura 1). Esses grupos nitrogenados diferenciam a glutamina dos demais aminoácidos, e atuam como veículo de transporte do nitrogênio e amônia para os diversos tecidos do organismo (DARMAUN e HUMBERT, 2000).



**Figura 1.** Estrutura da glutamina (MURRAY *et al.*, 2002)

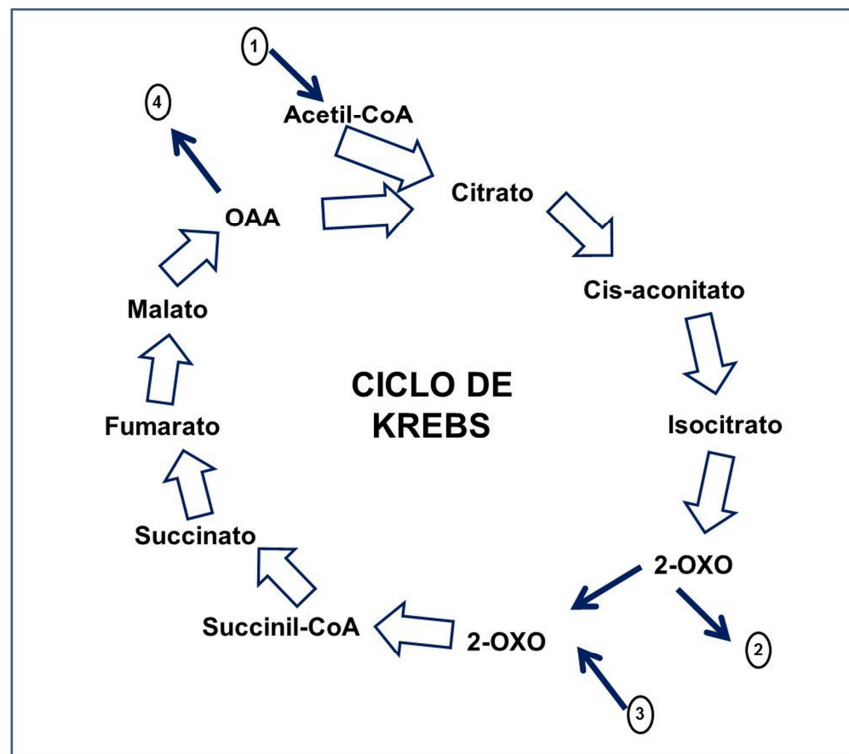
A glutamina é sintetizada principalmente no fígado e no músculo esquelético, a partir do glutamato, valina ou isoleucina. Outros órgãos como pulmões, cérebro, placenta, tecido adiposo e intestino também são capazes de sintetizar a glutamina. Nos locais de síntese, a enzima glutamina sintetase é responsável por promover a interação entre o glutamato e a amônia (KOWALCHUCK *et al.*, 1988; CURI e NEWSHOLME, 1989; FRYAN *et al.*, 1991; FORTI *et al.*, 2003; SELF *et al.*, 2004). O catabolismo da glutamina ocorre principalmente nos rins e no fígado, por meio da enzima glutaminase. Locais como o intestino, linfonodos, e tecido adiposo, além dos macrófagos, também podem promover o

catabolismo da glutamina. A presença e a atividade da enzima glutaminase irão determinar se o tecido é consumidor ou produtor de glutamina (FORTI *et al.*, 2003).

O fígado desempenha papel central no metabolismo da glutamina, uma vez que, é capaz de sintetizar e/ou degradar a glutamina de acordo com as necessidades metabólicas do organismo. Os hepatócitos peri-venosos apresentam concentrações elevadas de glutamina sintetase, enquanto os hepatócitos peri-portais de glutaminase (HAUSSINGER, 1990). O fígado também poderá se tornar um consumidor da glutamina, em função da necessidade do organismo do animal, como em situações de reduzido aporte de carboidratos (ROWBOTTOM *et al.*, 1996; ROGERO e TIRAPEGUI, 2000; ROGERO e TIRAPEGUI, 2003). No fígado, a glutamina é hidrolisada gerando glutamato e amônia. O glutamato pode ser transaminado e, assim, seu grupo amino irá participar da síntese de outros aminoácidos, ou será desaminado formando a amônia, a qual irá gerar a 2-oxoglutarato, ou reagir com piruvato, originando um oxoácido e alanina, os quais participam diretamente da gliconeogênese (HALL *et al.*, 1996; REEDS E BURRIN, 2001; NEWSHOLME, 2003; NELSON e COX, 2005). Da mesma forma, o excesso de amônia de outros tecidos pode ser convertido no grupo amida da glutamina no citosol, reagindo com o glutamato, e formando novamente a glutamina, e transportado para a mitocôndria do hepatócito (NELSON e COX, 2005).

No músculo esquelético a principal via para a síntese da glutamina é metade direita do ciclo de Krebs, que compreende desde o citrato (formado a partir de acetil-CoA e oxaloacetato) até o 2-oxoglutarato (Figura 2). O 2-oxoglutarato é um oxoácido e pode ser transaminado com os aminoácidos de cadeia ramificada, recebendo o grupo amina e formando o glutamato (RODRIGUES *et al.*, 2000). Por sua vez, o glutamato pode também vir a formar glutamina ao receber outro grupo amina, seja de outro aminoácido ou da

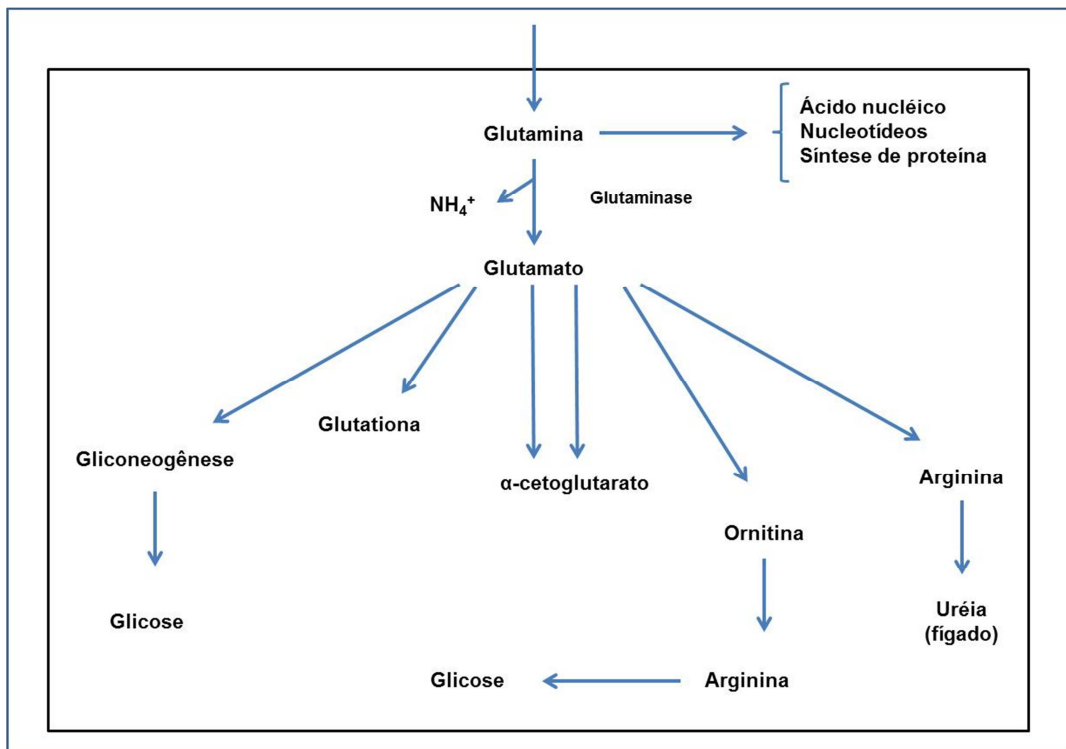
reação de desaminação do monofosfato de adenosina em monofosfato de inositol na via das purinas (RODRIGUES *et al.*, 2000). A metade esquerda do ciclo de Krebs (do 2-oxoglutarato até oxaloacetato) é importante para a degradação da glutamina nos leucócitos (Figura 2).



**Figura 2.** Esquema simplificado da síntese de glutamina no músculo esquelético e degradação da glutamina nos leucócitos.1) utilização de glicose, ácidos graxos ou aminoácidos (leucina); 2) síntese de glutamato e glutamina; 3) degradação de glutamato e glutamina; 4) síntese de aspartato. Abreviações: OAA: oxaloacetato, 2-OXO: 2-oxoglutarato. (adaptado de RODRIGUES *et al.*, 2000)

O catabolismo da glutamina segue duas rotas principais (Figura 3). Na primeira, o nitrogênio da porção amida e amino da glutamina são utilizados para a síntese de purinas e pirimidinas. Na segunda, a cadeia de carbono e o grupo  $\alpha$ -amino da glutamina são

destinados a diferentes vias metabólicas, como por exemplo, para a gliconeogênese, síntese de glutatona, ciclo de Krebs ( $\alpha$ -cetogluturato) e para a síntese de outros aminoácidos, como ornitina e arginina (WU, 1998).



**Figura 3.** Catabolismo da glutamina (NEWSHOLME *et al.*,2003).

Nos rins, a glutamina atua como principal doador de amônia proveniente da quebra da glutamina em glutamato, por intermédio da ação da enzima glutaminase, bem como a hidrólise de glutamato em  $\alpha$ -cetogluturato, por intermédio da enzima glutamato desidrogenase. Essa amônia é eliminada pela urina, mantendo o equilíbrio ácido-base do organismo (NEWSHOLME *et al.*, 2003). No caso dos peixes, a eliminação da amônia ocorre nas brânquias (BALDISSEROTTO, 2013). A cadeia de carbono formada depois da desaminação segue para a gliconeogênese, através da formação de  $\alpha$ -cetogluturato,

succinato, fumarato, malato e oxaloacetato em fosfoenolpiruvato e, finalmente em glicose, a qual representa 25% da glicose formada (NEWSHOLME *et al.*, 2003). Portanto, a geração de energia, vinda da glutamina, por meio da glicose, torna-se importante em situações de emergência do animal.

A glutamina participa de outras funções importantes no organismo animal, como precursora da síntese dos nucleotídeos, das purinas e pirimidinas. É também usada como principal substrato energético por células de proliferação rápida, como enterócitos e linfócitos ativados (SOUBA, 1993; LABOW E SOUBA, 2000; NEWSHOLME *et al.*, 2003; LI *et al.*, 2007; CHAMORRO *et al.*, 2010), além de outros tipos de células, como linfócitos intraepiteliais, células embrionárias e células trofoblásticas, fibroblastos, macrófagos e células renais (CURI *et al.*, 2005). A energia gerada pela oxidação do  $\alpha$ -cetoglutarato no ciclo de Krebs leva à produção de 30 moles de ATP, o que torna a glutamina substrato energético tão importante quanto à glicose (MINAMI *et al.*, 1992). A glutamina também fornece ATP para o *turnover* de proteínas intracelulares, participa no transporte de nutrientes através da membrana plasmática, no crescimento e migração celular, assim como na manutenção da integridade da célula (LI *et al.*, 2007).

A glutamina aumenta a expressão de genes relacionados ao metabolismo de nutrientes e à sobrevivência das células. Estes genes são responsáveis pela síntese da ornitina descarboxilase (ODC), das proteínas do choque térmico, e do óxido nítrico sintetase. A ornitina descarboxilase é uma enzima chave para a síntese de poliaminas que estimulam a síntese de DNA e a síntese proteica. As proteínas do choque térmico são essenciais por reduzir a mortalidade celular, enquanto a óxido nítrico sintetase converte a arginina em ácido nítrico, uma molécula de sinalização que regula praticamente todas as funções celulares (CURI *et al.*, 2005).

A glutamina estimula a secreção de hormônios anabólicos como o hormônio do crescimento (GH) e a insulina, e inibe a produção de hormônios catabólicos, como os glicocorticoides, favorecendo, portanto, a deposição de proteína e o crescimento celular nos animais (CURTHOYS e WATFORD, 1995). Em situações de elevada degradação proteica como infecção, inflamação ou subnutrição, a glutamina pode atuar como regulador metabólico, aumentando a síntese de proteína e reduzindo seu catabolismo (SMITH, 1990; LOBLEY *et al.*, 2001). Portanto, em diversas situações de estresse, a suplementação na dieta com glutamina pode ser uma alternativa para que os animais possam sair desta condição.

### **Tubo digestivo dos peixes**

O tubo digestivo dos peixes é similar ao dos demais vertebrados, variando em alguns aspectos fisiológicos e morfológicos de acordo com os hábitos alimentares (FAGBENRO *et al.*, 2000; TENGGJAROENKUL *et al.*, 2000). Os peixes apresentam grande plasticidade alimentar, podendo ser classificados de forma geral em herbívoros, carnívoros e onívoros, sendo que este hábito pode mudar ao longo da vida. Além disso, os peixes apresentam diversas adaptações no aparelho digestório conforme a especialização requerida para ingerir, digerir e absorver os diferentes tipos de alimentos (BALDISSEROTO, 2013).

O aparelho digestório dos peixes compreende desde a boca até o ânus e pode ser dividido anatomicamente em quatro partes: intestino cefálico (cavidade bucofaringeana), intestino anterior (esôfago e estômago), intestino médio (intestino propriamente dito) e intestino posterior (reto ou válvula ileorretal) (RODRIGUES e MENIN, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2008), sendo esta separação, em muitos casos, apenas feita pela

divisão do segmento em cerca de um quarto para cada região (FARRELL, 2011). O pâncreas, vesícula biliar e fígado são órgãos acessórios ao tubo digestivo e, juntamente com o mesmo, irão formar o aparelho digestório (RUST, 2002). Esses órgãos acessórios apresentam funções importantes, como produção de enzimas digestivas ou funções metabólicas relacionadas aos alimentos já digeridos (ROMER e PARSONS, 1985).

O intestino cefálico, também conhecido como cavidade bucofaringeana, é compartilhado com o sistema respiratório, sendo limitado anteriormente pela boca (orifício bucal e lábios) e posteriormente pelo último par de arcos branquiais. O intestino cefálico é importante na apreensão, seleção e condução dos alimentos até o esôfago (GODINHO, 1970).

O intestino anterior é composto pelo esôfago e estômago, sendo o esôfago geralmente uma área curta e mal definida, ligando a faringe (intestino cefálico) ao estômago ou diretamente ao intestino, no caso dos peixes sem estômago (HIBIYA, 1982). Quando definido, apresenta epitélio rico em células produtoras de muco, para facilitar a passagem dos alimentos e é frequentemente ciliado (SMITH, 1980; ROMER e PARSONS, 1985). O estômago pode apresentar grandes variações de forma, as quais estão relacionadas ao hábito alimentar da espécie. Anatomicamente, o estômago pode ser classificado em: a) contínuo, com o lúmen aumentado; b) em forma de “U”, com o lúmen aumentado e c) em forma de “Y”, com ceco apontado para a porção caudal (SMITH, 1978). Nos peixes de fundo, como o curimatá *Prochilodus lineatus*, pode-se observar no lugar do estômago um órgão de trituração (moela), com tamanho reduzido, mas com paredes espessas e de musculatura forte (SMITH, 1978), porém com função apenas mecânica. Alguns peixes não apresentam estômago, apenas uma dilatação na parte inicial do intestino (SMITH, 1980). As principais funções do estômago são: armazenamento, redução física e digestão química

dos alimentos (ROMER e PARSONS, 1985). Vários autores dividem o estômago em três regiões: cárdica, fúndica e pilórica, tomando como critério para determinar essas regiões à estrutura anatômica e a presença ou não de glândulas gástricas (GODINHO, 1970; GOMES, 1981; KUCHINSKI, 1985; ROMER e PARSONS, 1985).

Denomina-se intestino médio a porção compreendida entre o esfíncter pilórico e a região retal. A estrutura anatômica do intestino médio dos peixes e o comprimento relativo do mesmo dependem do hábito alimentar da espécie. Os peixes com hábito alimentar herbívoro apresentam o intestino mais longo, enquanto os peixes com hábito alimentar carnívoro possuem o intestino mais curto (KAPOOR *et al.*, 1975). A principal função do intestino médio é continuar o processo digestivo que se iniciou no estômago e absorver os nutrientes, íons e água liberados da dieta. Pode também desempenhar outras funções, como auxiliar na osmorregulação e na respiração (ROTTA, 2003).

O intestino médio pode ser subdividido em porção anterior (intestino delgado, ascendente ou íleo), porção mediana e porção posterior (intestino grosso ou descendente). Segundo o critério histofisiológico, o intestino médio pode ser dividido em: primeiro segmento ou segmento proximal (60-75% do comprimento total), segundo segmento ou segmento médio (20-25%) e terceiro segmento ou distal (5-15%) (MAKINO, 2010). Além das regiões acima citadas, muitas espécies possuem estruturas denominadas cecos pilóricos, cuja estrutura básica é semelhante ao epitélio intestinal e sua função é otimizar a absorção de nutrientes, através do aumento do tempo de permanência da digesta no lúmen intestinal (GODINHO, 1970; SMITH, 1980). Na porção anterior e mediana do intestino médio ocorre a mistura do alimento com o suco pancreático e sais biliares, e a absorção de nutrientes em suas formas menores (monossacarídeos, aminoácidos e ácidos graxos), enquanto a porção posterior é responsável pela entrada de macromoléculas por pinocitose, mecanismo de

penetração de fluidos na célula através da invaginação da membrana celular (GARGIULO *et al.*, 1998; ROTTA, 2003).

O intestino posterior nos peixes (chamado reto) é, normalmente, separado do restante do intestino por uma válvula (ileorretal) e distingue-se na aparência da mucosa, terminando no esfíncter anal (FARRELL, 2011). O intestino posterior caracteriza-se por apresentar uma parede muscular muito mais grossa que a do restante do intestino e com uma grande capacidade de distensão (ROTTA, 2003). Diferencia-se do intestino médio pelo decréscimo da vascularização e do número de células secretoras e pelo aumento do número de células produtoras de muco. Sua principal função é a absorção de água (ROTTA, 2003).

### **Mucosa intestinal**

A mucosa intestinal é considerada de grande importância nos processos digestivos, absorptivos e metabólicos em peixes teleósteos, por estabelecer uma superfície de contato com o lúmen intestinal, responsável pelo final da digestão iniciada no estômago, absorção de nutrientes, água e íons. (KUPERMAN e KUZ'MINA, 1994; ROTTA, 2003). A mucosa intestinal é constituída por quatro túnicas denominadas de: mucosa, submucosa, muscular e serosa. As células presentes na mucosa intestinal regulam a entrada de nutrientes e protegem o organismo contra os agentes nocivos presentes no lúmen (MAIORKA, 2002). A mucosa intestinal tem crescimento contínuo e é afetada pelos hormônios metabólicos (insulina, hormônio do crescimento, tiroxina e glicocorticoides), assim como por características físicas e químicas dos nutrientes e a microbiota intestinal (ZHAO *et al.*, 1998).

A primeira camada da mucosa intestinal, a túnica mucosa, é constituída pelo epitélio que está diretamente em contato com a luz do tubo digestivo e contém células absorptivas e secretoras, e a lâmina própria. A lâmina própria, camada delgada de tecido conjuntivo frouxo, se projeta junto com o epitélio e a submucosa, em forma de pregas, para formar as vilosidades intestinais. Estas pregas se ramificam paralelamente na forma de uma superfície reticular (GARGIULO *et al.*, 1998).

A túnica submucosa encontra-se logo abaixo da lâmina própria, sendo constituída por tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado, sendo caracterizada por numerosos vasos sanguíneos, formando uma rede capilar e nervosa que se conecta com a parte basal do enterócito, grande quantidade de fibras colágenas e de glicoproteínas neutras e ácidas (GARGIULO *et al.*, 1998).

A túnica muscular da mucosa intestinal, formada pela camada circular interna e a longitudinal externa, é responsável pelo movimento peristáltico contínuo do intestino delgado, pelo volume, tamanho do lúmen intestinal, assim como a capacidade de contração do tubo digestivo (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008). Ambas as camadas são constituídas por fibras musculares lisas, de contração involuntária, controlada pelo sistema nervoso parassimpático. Entre essas duas camadas de músculo liso existe uma pequena quantidade de tecido conjuntivo (GARGIULO *et al.*, 1998). A camada muscular circular interna varia de acordo com a região intestinal, porém apresenta-se sempre mais espessa que a longitudinal externa (JOBBLING, 1995).

A túnica muscular é um forte indicativo da saúde e nutrição dos animais (SHIRAIISHI *et al.*, 2009), uma vez que é constituída por uma rede densa de macrófagos, mastócitos e também alguns leucócitos (BAUER, 2008), que estão relacionadas com a

defesa do organismo. Portanto, a avaliação da túnica muscular pode ser um parâmetro da boa nutrição do animal (TORREJAIS *et al.*, 1995; MOLINA *et al.*, 2009).

A túnica serosa está constituída por uma camada de células epiteliais pavimentosas, conhecida como mesotélio, e por uma pequena quantidade de tecido conjuntivo (TAKASHIMA e HIBIYA, 1995).

### **Vilosidades intestinais**

A superfície da mucosa intestinal dos peixes tem numerosas projeções, denominadas vilosidades intestinais. As vilosidades intestinais são evaginações da mucosa (epitélio e lâmina própria) que se projetam na luz do intestino para aumentar a área de superfície para a digestão e absorção intestinal (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2005). São constituídos por três tipos de células: as caliciformes, os enterócitos e as enteroendócrinas (BOLELI *et al.*, 2002). As células caliciformes, que possuem um citoplasma vacuolizado, são secretoras de glicoproteínas (muco), que lubrificam e protegem o epitélio do intestino. Os enterócitos são células relacionadas com a digestão e absorção intestinal, e as células enteroendócrinas são produtoras de hormônios como gastrina, colecistoquinina, secretina e polipeptídeo inibidor gástrico (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2005).

Os enterócitos são células polarizadas que constituem a maior população de células epiteliais que revestem o intestino, formando uma monocamada de células em íntimo contato, com formato colunar. A superfície livre do enterócito, voltada para o lúmen intestinal, apresenta numerosas microvilosidades, as quais formam a chamada borda em escova dos enterócitos. Durante o processo de diferenciação e migração para a região apical da vilosidade, ocorre aumento no tamanho absoluto das células e no tamanho relativo do citoplasma, no número de mitocôndrias, do retículo endoplasmático e de microvilosidades

dos enterócitos. Ao mesmo tempo, os enterócitos passam a apresentar receptores e transportadores relacionados com o processo de absorção e secreção de enzimas digestivas (VAN DONGEN *et al.*, 1976). Outro fator relevante para a absorção dos nutrientes na membrana luminal é a quantidade de microvilos existentes nos enterócitos. O número de microvilos atua como um amplificador de área para a absorção dos nutrientes (MAIORKA *et al.*, 2002).

Histologicamente, a porção anterior do intestino, caracteriza-se por apresentar mucosa bem desenvolvida, pregas estreitas e altas, com células caliciformes grandes e bem evidentes em toda a extensão das pregas. Na porção média, as pregas da mucosa são maiores e mais altas. Estas pregas são mais desenvolvidas do que na porção anterior, além de portarem um maior número de células caliciformes e menor número de células enteroendócrinas. A porção posterior apresenta redução no comprimento e complexidade das vilosidades, com pregas baixas e com muitas células caliciformes, onde sua função primordial passa a ser a secreção de muco para a lubrificação do epitélio intestinal (SMITH, 1980; TAKASHIMA e HIBIYA, 1995).

A digestão e absorção intestinal estão relacionadas com a proliferação celular que ocorre nas criptas. À medida que as células das criptas sofrem mitoses vão sendo deslocadas para a região basal da vilosidade para que ocorra a diferenciação celular. Após essa diferenciação, as células são deslocadas para a região apical da vilosidade para exercerem sua função de digestão e absorção (BOLELI *et al.*, 2002). No entanto, os peixes não apresentam criptas e a função de proliferação celular ocorre na base da vilosidade. Desse modo, a função de proliferação celular é realizada por células indiferenciadas, que realizam inúmeras mitoses para formação de novas células (JOBBLING, 1995).

O desenvolvimento da mucosa intestinal consiste no aumento da altura e densidade das vilosidades, o que corresponde a um aumento no número de suas células epiteliais (enterócitos, células caliciformes e enteroendócrinas). Isso ocorre, devido à renovação celular (proliferação e diferenciação) com mitoses, que ocorre na base das vilosidades intestinais dos peixes, ou por perda de células (extrusão), que ocorre normalmente no ápice das vilosidades, mantendo desta forma a estrutura da mucosa intestinal (MAIORKA *et al.*, 2002)

### **Tubo digestivo e a glutamina**

O principal local de consumo e utilização da glutamina é o tubo digestivo (BURRIN *et al.*, 2000), sendo a glutamina um dos principais substratos energéticos da mucosa do intestino delgado, na estimulação da proliferação das células intestinais (RHOADS *et al.*, 1997). O mecanismo sugerido para explicar essa proliferação é que a oxidação da glutamina estimula a troca de sódio/hidrogênio ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$ ) na membrana luminal do enterócito, levando à maior absorção iônica na membrana plasmática e ao aumento da atividade específica da enzima ornitina descarboxilase (RHOADS *et al.*, 1997). Esse aumento da atividade enzimática leva ao aumento da produção de poliaminas, as quais vão atuar na maturação e na regeneração da mucosa intestinal (WANG *et al.*, 1998), promovendo o aumento da atividade da proteína quinase e ativação da mitogênese (BLIKSLAGER e ROBERTS, 1997). A ornitina descarboxilase é a enzima chave para a síntese de poliaminas que estimulam a síntese de DNA e de proteína (CURI *et al.*, 2005).

A absorção de glutamina pelo intestino ocorre a partir do lúmen em estado pós-prandial, através da membrana da borda em escova do enterócito (SOUBA *et al.*, 1990). Quanto maior a concentração de glutamina no lúmen, maior a sua absorção através do

sistema transportador de nitrogênio dependente de sódio, e sua liberação no sangue é via sistema porta (SOUBA *et al.*,1990). O tubo digestivo extrai ao redor de 20% da glutamina circulante em estado pós-absortivo, e cerca de 90% da extração de glutamina feita pelo intestino delgado ocorre nas células da mucosa (SOUBA *et al.*,1990). Portanto, a glutamina tem papel fundamental na manutenção das funções da mucosa intestinal (REEDS e BURRIN, 2001).

A suplementação de glutamina em dietas para animais promove a síntese de nucleotídeos, o que leva ao melhor desenvolvimento da mucosa intestinal e conseqüentemente a um aumento na altura e densidade das vilosidades, aumentando desta forma a taxa de transporte nas microvilosidades intestinais (FISCHER DA SILVA, 2001). Além disso, a glutamina reduz a morte celular (CHOW e ZHANG, 1998), estimula a atividade metabólica dos enterócitos, aumentando sua proliferação, maturação e migração, e também influência na manutenção das funções dos linfócitos no intestino (ALVERDY *et al.*, 1992).

Em mamíferos se observou que as células da mucosa intestinal, das criptas e das vilosidades, sintetizam glutamina, sugerindo que seu papel no intestino não seja estritamente metabólico, mas também regulatório, pois ativa uma série de genes associados com o ciclo de crescimento das células da mucosa e que, a inibição da síntese de glutamina inibe tanto a proliferação, quanto a diferenciação de células da mucosa (REEDS e BURRIN, 2001).

### **Utilização da glutamina em dietas para animais**

A ação de produtos com atividade trófica, na mucosa intestinal e no sistema imune dos animais de produção, pode conferir melhores condições para realizar os processos de

digestão e absorção de nutrientes da dieta e, conseqüentemente, melhorem o desempenho, principalmente em situações de estresse (ZAVARIZE *et al.*, 2010).

A utilização de glutamina em dietas para os animais já foi descrita para suínos, perus e frangos de corte, resultando em melhorias no desempenho produtivo dos mesmos (WU *et al.*, 1996; KITT *et al.*, 2001; YI *et al.*, 2001; MURAKAMI *et al.* 2007; SAKAMOTO, 2009). A glutamina também se mostrou eficiente em prevenir atrofia das vilosidades do jejuno de leitões, que receberam dietas suplementadas com 10,0 g/kg de L-glutamina (WU *et al.*, 1996). Em estudos com frangos de corte, a suplementação com glutamina melhorou a eficiência alimentar (KITT *et al.*, 2001), o ganho de peso, a taxa de eficiência proteica e o desenvolvimento da mucosa intestinal (MURAKAMI *et al.*, 2007).

Em carpa comum (*Cyprinus carpio*), a inclusão de 12,0 g/kg desse aminoácido na dieta, proporcionou aumento na altura das vilosidades intestinais e melhorou a eficiência alimentar, o ganho de peso e a taxa de eficiência proteica (YAN e QIU-ZHOU, 2006). Em bagre de canal (*Ictalurus punctatus*), 20,0 g/kg de L-glutamina na dieta, resultou em aumento do comprimento das dobras da mucosa intestinal e da altura das vilosidades intestinais (POHLENZ *et al.*, 2012). A adição de L-glutamina, conjuntamente com L-glutamato, em dietas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), melhorou o ganho de peso e aumentou a altura das vilosidades intestinais, sendo o nível de 16,7 g/kg na dieta o mais indicada para promover o desenvolvimento da mucosa intestinal (DA SILVA *et al.*, 2010). Em estudos com adição da glutamina e arginina em dietas para juvenis de “red drum” (*Sciaenops ocellatus*) e do híbrido “striped bass” (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*), foi observado melhora no ganho de peso, na eficiência alimentar, e em algumas respostas imunológicas, além de promover o desenvolvimento do intestino (CHENG *et al.*, 2011; CHENG *et al.*, 2012). Dessa forma a suplementação da glutamina pode ter influência

benéfica significativa nos parâmetros produtivos e na mucosa intestinal dos animais monogástricos e peixes.

### **Trairão** *Hoplias lacerdae*

O trairão, *Hoplias lacerdae*, é um peixe carnívoro de água doce, nativo da bacia Amazônica, pertencente à família Erythrinidae (Ordem Characiformes). Os peixes desta família são popularmente conhecidos como “trairões”, “traíras”, “jejus” e “marobás” e distribuem-se nas regiões tropicais e subtropicais da América do Sul e Central, ocorrendo em vários tipos de ambientes fluviais e lacustres (PAIVA, 1974; NAKATANI *et al.*, 2001).

O gênero *Hoplias* distingue-se, dos outros gêneros da família Erythrinidae, por apresentar dentes caninos no maxilar e na porção anterior e posterior do dentário (BRITSKI *et al.*, 1988). Este gênero possui taxonomia bastante confusa, em razão da grande quantidade de espécies descritas e do uso de características não precisas para a sua classificação (OYAKAWA, 1993).

O trairão vem recebendo especial atenção dos pesquisadores pela sua complexa filogenia e situação taxonômica não evidente e por seu potencial zootécnico e econômico. Essa espécie adapta-se bem as condições de cativeiro apresentando bom desenvolvimento e reprodução natural em cativeiro sem a necessidade de indução hormonal (AZEVEDO e GOMES, 1943; PAIVA, 1972; CARAMASCHI, 1979; OYAKAWA, 1993; LUZ e PORTELLA, 2005; VERAS *et al.*; 2010; SALARO *et al.*, 2013). Acrescido a isso o trairão destaca-se pelo seu valor de mercado, pela carne de excelente qualidade, podendo ser comparada a carne de outras espécies nobres como os surubins ou pelas características desejáveis à pesca esportiva (LUZ *et al.*, 2002; SALARO *et al.*, 2013). Também

apresentam importância social, uma vez que são peixes comumente capturados por pescadores, servindo de alimento para população ribeirinha (BRISTKI *et al.*, 1988).

Os trairões adaptam-se a alimentação artificial, desde que sejam condicionados a aceitar o alimento inerte na fase larval, de alevinos e de juvenis. Elevadas taxas de sobrevivência, boas taxas de crescimento e bons índices de conversão alimentar são observados em animais de cativeiro, quando condicionados a aceitar dietas processadas (LUZ *et al.*, 2001; SALARO *et al.*, 2003; NOGUEIRA *et al.*, 2005; SALARO *et al.*, 2008). O condicionamento alimentar de alevinos de trairão apresenta diversas vantagens, além de diminuir os índices de canibalismo, facilita o tratamento dos animais, possibilitando melhor controle nutricional, uma vez que esses animais passam a comer ração comercial e não alimento vivo (LUZ *et al.* 2001).

Nos últimos anos, pesquisas sobre essa espécie estão relacionadas ao condicionamento alimentar dos peixes a aceitar dietas processadas (LUZ *et al.*, 2002; SALARO *et al.*, 2012a), à determinação dos níveis de arraçamento (SALARO *et al.*, 2008), à frequência alimentar, à densidade de estocagem (SALARO *et al.*, 2003), à determinação das exigências nutricionais por proteína e energia (VERAS *et al.*, 2010), à inclusão de vitaminas (KASAI *et al.*, 2011), ao desempenho produtivo (LUZ *et al.*, 2001; NOGUEIRA *et al.*, 2005), assim como, a influência de fatores físicos e químicos, como luminosidade e salinidade, sobre o desempenho produtivo (SALARO *et al.*, 2006; SALARO *et al.*, 2011; SALARO *et al.*, 2012a). No entanto, são incipientes os estudos com enfoque nos aspectos relativos às exigências nutricionais por aminoácidos.

Essas considerações evidenciam que os estudos sobre os aspectos relacionados à nutrição e alimentação do trairão, nas fases iniciais, de alevinagem e de juvenis, são de fundamental importância para promover a criação desse peixe em várias regiões do país,

por meio da geração dos conhecimentos básicos e aplicados, proporcionando importantes informações que viabilizem a eficiente produção dessa espécie.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVERDY, J.A.; AOYS, E.; WEISS-CARRINGTON, P. The effect of Glutamine enriched TPN on gut immune cellularity. *Journal Surgery Research*, v.52, p.34–38, 1992.

AZEVEDO, P.; GOMES, A.L. Contribuição ao estudo da biologia da traíra *Hoplias malabaricus*. *Boletim da Indústria Animal*. Nova Odessa, v.5; p.14-64, 1943.

BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. Santa Maria: 3º Ed. UFSM, 352p., 2013.

BERTECHINI, A.G. Metabolismo de proteínas. In: *Nutrição de monogástricos*. 1º edição. Lavras: Universidade Federal de Lavras – UFLA, p.101-127, 2006.

BAUER, A.J. Mentation on the immunological modulation of gastrointestinal motility. *Neurogastroenterol Motility*, v.20, n.1, p.81-90, 2008.

BLIKSLAGER, A.T.; ROBERTS, C. Mechanisms of intestinal mucosa repair. *Journal American Veterinary Medical Association*, v.9, p.1437-1441, 1997.

BRITSKI, H.A.; SATO, Y.; ROSA, A.B.S. Manual de identificação de peixes da Região de Três Marias. 3º Ed. Brasília: Câmara dos Deputados, Coordenação de Publicações/ CODEVASF, Divisão de Piscicultura e Pesca, 115p., 1988.

BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZÁLES, E.P. (Ed.) *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*, Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p.75-96,2002.

BURRIN, D.G.; STOLL, B.; JIANG, R. Minimal enteral nutrient requirements for intestinal growth in neonatal pigs: how much is enough. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.71, p.1603-1610, 2000.

CARAMASHI, E.P. Reprodução e alimentação de *Hoplias malabaricus* (traíra) na Represa do Rio Pardo, Botucatu, São Paulo. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais). Universidade Federal de São Carlos, 1979.

CHAMORRO, S.; DE BLAS, C.; GRANT, G.; BADIOLA, I.; MENOYO, D.; CARABAÑO, R. Effect of dietary supplementation with glutamine and a combination of glutamine–arginine on intestinal health in twenty-five-day-old weaned rabbits. *Journal of Animal Science*, v.88, p.170–180, 2010.

CHENG, Z.; BUENTELLO, A.; GATLIN III, D. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*, v.319, p.247–252, 2011.

CHENG, Z.; GATLIN III, D.; 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.

CHOW, A.; ZHANG, R. Glutamine reduces heat shock-induced cell death in rat intestinal epithelial cells. *Journal of Nutrition*, v.128, p.1296-1301, 1998.

CURI, R.; LAGRANHA, C.J.; DOI, S.Q. Molecular mechanisms of Glutamine action. *Journal Cell Physiology*, v.204, p.392-401, 2005.

CURI, R.; NEWSHOLME, E.A. The effect of adenine nucleotides on the rate fate of glutamine utilization by incubated mitochondria isolated from rat mesenteric lymphnodes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v.86, p.71-76, 1989.

CURTHOYS, N.P.; WATFORD, M. Regulation of Glutaminase activity and Glutamine metabolism. *Annual Review of Nutrition*, v.15, p.133–159, 1995.

DA SILVA, L.C.R.; W.M. FURUYA; NATALI, M.R.M.; SCHAMBER, C.R.; DOS SANTOS, L.D.; VIDAL, L.V.O. Desempenho e morfometria intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas suplementadas com L-glutamina e L-glutamato. Revista Brasileira de Zootecnia, v.39, n.6, p.1175-1179, 2010.

DARMAUN, D.; HUMBERT, B. Does the fate of enterally administered glutamine depend on its molecular form? Bound versus free amino acid. Nutrition, v.16(11- 12), p.1101-1102, 2000.

FAGBENRO, O.; ADEDIRE, C.O.; AYOTUNDE, E.O; FAMINE, E.O. Haematological profile, food composition and digestive enzyme assay in the gut of the African bony-tongue *Clupisudis niloticus* (Cuvier 1829) (Osteoglossidae). Tropical Zoology, v.13, p.1-9, 2000.

FARRELL, A. P. (ED). Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment. Academic Press, 2011.

FISCHER DA SILVA, A.V. Efeitos da restrição alimentar precoce e da glutamina no desempenho e na mucosa intestinal em frangos. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

FORTI, F.; CANCELLIERO, K.M.O.; SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J.O. Efeito da glutamina no músculo esquelético desnervado. Saúde Revista, v.5, n.9, p.59-65, 2003.

FRYAN, K.N.; KHAN, K.; COPPACK, S.W.; ELIA, M. Amino acid metabolism in human subcutaneous adipose tissue in vivo. Clinical Science, v.80, n.5, p.471-474, 1991.

GARGIULO, A.M.; CECCARELLI, P.; DALL'AGLIO, C. Histology and ultrastructure of the gut of the tilapia (*Tilapia spp.*), a hybrid teleost. Anatomia, Histologia, Embryologia, v.27, p.89-94, 1998.

GODINHO, H. M. Considerações gerais sobre anatomia de peixes, 118 – 122. In: Poluição e piscicultura. São Paulo, Faculdade de Saúde Pública e Instituto de Pesca, CPRN – Secretaria da Agricultura, 216p., 1970.

GOMES, R.M. Estudo morfológico e histoquímico (Carboidratos) do trato digestivo de *Rhamidia branneri* (Hasemman, 1911) Pisces. Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1981.

HALL, J.C.; HEEL, K.; MC CAULEY, R. Glutamine. *British Journal of Surgery*, v.83, p.305-312, 1996.

HAUSSINGER, D. Nitrogen metabolism in liver: structural-functional organization and physiological relevance. *Biochemical Journal*, v.267: p.289-290, 1990.

HIBIYA, T. An atlas of fish histology, normal and pathological features. New York. Gustav Fischer Verlag, 1982.

JOBLING, M. Environmental Biology of fishes. Fish and Fisheries Series 16, 455p., 1995.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Biologia Celular*. 8º Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 302p., 2005.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 11º Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 488p., 2008.

KAPOOR, B.G.; SMITH, H.; VERIGHINA, I.A. The alimentary canal and digestion in teleosts. *Advances Marine Biology*, v.13, p.109-139, 1975.

KASAI, R.Y.D.; SALARO, A.L.; ZUANON, J.A.S; SABARENSE, C.M.; TAVARES, M.M., CAMPELO, D.A.V. Feed training of giant trahira fingerlings fed diets containing different levels of vitamin C. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, n.3, p.463-468. 2011.

KITT, S.J.; MILLER, P.S.; LEWIS, A.J. Effects diet and crystalline glutamine supplementations of growth performance and small intestine morphology of weanling pigs. *Journal Animal Science*, v.79, p.10, 2001.

KOWALCHUCK, J.M.; CURI, R.; NEWSHOLME, E.A. Glutamine metabolism in isolated incubated adipocytes of the rat. *Biochemistry Journal*, v.249, n.3, p.705-708, 1988.

KUCHINSKI, F.B. Anatomia, Histologia e Histoquímica do Estômago de *Colossoma mitrei*, Berc, 1895 (Pacu-Caranha) nos Estágios Alevino Jovem, Peixe Jovem e Adulto. Tese, Universidade Mackenzie, São Paulo, 1985.

KUPERMAN, B.I.; KUZ'MINA, V.V. The ultrastructure of the intestinal epithelium in fishes with different types of feeding. *Journal of Fish Biology*; London, v.44, n.2, p.181 - 193, 1994.

LABOW, B.I.; SOUBA, W.W., 2000: Glutamine. *World Journal of Surgery*, v.24, p.1503–1513, 2000.

LI, P.; YIN, Y.L.; LI, D.F.; KIM, S.W.; WU, G. Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*, v.98, p.237-252, 2007.

LOBLEY, G.E.; HOSKIN, S.O.; MCNEIL, C.J. Glutamine in animal science and production. *Journal of Nutrition*, v.131, p.255S- 2531S, 2001.

LUZ, R.K.; SALARO, A.L.; SOUTO, E.F. Desenvolvimento de alevinos de trairão com dietas artificiais em tanques de cultivo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.4, p.1159-1163, 2001.

LUZ, R.K.; SALARO, A.L.; SOUTO, E.F.; OKANO, W.Y.; LIMA, R.R. Condicionamento alimentar de alevinos de trairão (*Hoplias cf. lacerdae*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.5, p.1881-1885, 2002.

LUZ, R.K.; PORTELLA, M.C. Frequência alimentar na larvicultura do trairão (*Hoplias lacerdae*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.5, p.1442-1448. 2005.

MAIORKA, A. Efeitos da idade da matriz, do jejum, da energia da ração e da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte. Jaboticabal. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista, 2002.

MAIORKA, A.; BOLELI, I.C.; MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, cap. 1, p. 1-17, 2002.

MAKINO, L.C. Estrutura, ultraestrutura e histoquímica do aparelho digestório do *Prochilodus lineatus*. Análise da diversidade da microbiota intestinal de *Prochilodus lineatus* e *Pterygoplichthys anisitsi*. Dissertação (Tese de Doutorado). Centro de Aquicultura CAUNESP – Campus de Jaboticabal. Universidade Estadual Paulista, 2010.

MINAMI, H.; MORSE, E.L.; ADIBI, S.A. Characteristics and mechanism of glutamine-dipeptide absorption in human intestine. *Gastroenterology*, v.103(1), p.3-11, 1992.

MOLINA G., PELISSARI F.M., FEIRHMANN A.C. Consequências da desnutrição proteica para o trato gastrintestinal. *Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar da Universidade Estadual de Maringá*, v.13(1), 2009.

MURAKAMI, A.E.; SAKAMOTO, M.I.; NATALI, M.R.M. Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. *Poultry Science*, v.86, p.488-495, 2007.

MURRAY, R.K.; GRANNE, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. In: Harper, *Bioquímica* (São Paulo: Editora Atheneu), 860p., 2002.

NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A.A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P.V.; MAKRAKIS, M. C.; PAVANELLI, C.S. Ovos e larvas de peixes de água doce: Desenvolvimento e manual de identificação. EDUEM, Maringá, Brasil, 378p., 2001.

NELSON, D.L.; COX, M.M. *Lehninger – Princípios da Bioquímica*. 4º Ed. São Paulo: Editora Sarvier, 1119p., 2005.

NEWSHOLME, P.; LIMA, M.M.R.; PROCOPIO, J.T.C; PITHON-CURI, T.C.; DOI, S.Q.; BAZOTTE, R.B.; CURI, R. Glutamine and Glutamate as vital metabolites. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.36, p.153-163, 2003.

NOGUEIRA, G.C.C.B.; SALARO, A.L.; LUZ, R.K.; ZUANON, J.A.S.; LAMBERTUCCI, D.M.; SALERNO, R.A.; SAKABE, R.; ARAÚJO, W.A.G. Desempenho produtivo de juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*) alimentados com rações comerciais. Revista Ceres, v.52, n.302, p.401-497, 2005.

OYAKAWA, O.T. Revisão das espécies do gênero *Hoplias* (grupo lacerdae) da Amazônia brasileira e região leste do Brasil (Teleostei: Erythrinidae). In Encontro Brasileiro de Ictiologia. Resumos. Sociedade Brasileira de Ictiologia, p.76. 1993.

PAIVA, M. P. Crescimento, alimentação e reprodução de traíra *Hoplias malabaricus* no nordeste brasileiro. Fortaleza: Imprensa Universitária UFC, 32p. 1974.

POHLENZ, C.; BUENTELLO, A.; BAKKE, A.M.; GATLIN III, D. Free dietary glutamine improves intestinal morphology and increases enterocyte emigration 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.

REEDS, P.J.; BURRIN, D.G. Glutamine and the bowel. Journal of Nutrition, v.131, p.2505S -2508S, 2001.

RHOADS, J.M.; ARGENZIO, R.A.; CHEN, W. L-Glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates mitogen-activated protein kinases. American Journal Physiology, v.272, p.949-953, 1997.

RODRIGUES, S.S.; MENIN, E. Anatomia do tubo digestivo de *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1817) (Pisces, Characidae, Salmininae). Biotemas, v.21(2), p.65-75, 2008.

RODRIGUES, S.S.; NAVARRO, R.D.; MENIN, E. Anatomia do tubo digestório de *Leporinus macrocephalus* Garavello e Britski, 1988 (Characiformes, Anostomidae) em relação ao seu hábito alimentar. Bioscience Journal, v.24(3), p.86-95, 2008.

RODRIGUES GARCIA JR., J.; PITHON-CURI, T.C.; CURI, R. Consequências do exercício para o metabolismo da glutamina e função imune. Revista Brasileira de Medicina do Esporte, v.6, n.3, 2000.

ROGERO, M.M; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre glutamina, atividade física e sistema imune. *Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas*, v.36, n.2, p.201-212, 2000.

ROGERO, M.M; TIRAPEGUI, J. Aspectos nutricionais sobre glutamina e exercício físico. *Nutrire*, v.25, p.87-112, 2003.

ROMER, A.S.; PARSONS, T.S. *Anatomia comparada dos vertebrados*. Atheneu Ed. Ltda. São Paulo, 559p., 1985.

ROTTA, M. A. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003.

ROWBOTTOM, D.G.; KEAST, D.; MORTON, A.R. The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining. *Sports Med*, v.21:80-97, 1996.

RUST, M. B. Nutritional physiology. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*. Academic Press, Florida, USA, p. 368–446, 2002.

SALARO A.L.; LUZ, R.K; SAKABE, R.; KASAI, R.Y.D.; LAMBERTUCCI, D.M. Diferentes densidades de estocagem na produção de alevinos de trairão (*Hoplias cf. lacerdae*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.5, p.1033-1036, 2003.

SALARO, A.L.; LUZ, R.K.; ZUANON, J.A.S.; SIROL, R.N.; SAKABE, R.; ARAÚJO, W.A.G.; SOUTO, E.F. Desenvolvimento de alevinos de trairão (*Hoplias lacerdae*) na ausência de luz. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, Maringá, v.28, n.1, p.47-50, 2006.

SALARO A.L.; LUZ, R.K; SAKABE, R.; KASAI, R.Y.D.; LAMBERTUCCI, D.M. Níveis de arraçoamento para juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.6, p.967-970, 2008.

SALARO, A.L.; TAVARES, M.M.; CHAVES, W.; CAMPELO, D.A.V; ZUANON, J.A.S.; LUZ, R.K. Feed training of juvenile giant trahira under different light intensities. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, n.11, p.2290-2293, 2011.

SALARO, A.L.; CAMPELO, D.A.V; PONTES, M.D.; TAVARES, M.M.; ZUANON, J.A.S.; LUZ, R.K. Saline water for juvenile giant trahira during feed training. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.41, n.6, p.1342-1345, 2012a.

SALARO, A.L.; OLIVEIRA JUNIOR, J.C.; PONTES, M.D.; OLIVEIRA, K.R.B.; NEVES, I.G.A.A.; FERRAZ, R.B.; HISANO, H.; ZUANON, J.A.S. Replacement of moist ingredients in the feed training of carnivorous fish. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.41, p.2294-2298, 2012b.

SALARO, A.L.; KASAI, R.Y.D.; CARNEIRO, A.P.S; SABARENSE, C.M.; HAGE, M.C.F.N.S; TAVARES, M.M.; ZUANON, J.A.S. Suplementação de vitamina C em dietas para juvenis de trairão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.48, n.8, p.1096-1102, 2013.

SAKAMOTO, I.M. Desempenho, desenvolvimento e atividade enzimática da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com glutamina e nucleotídeos. (Tese de doutorado). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo, 2009.

SELF, J.T.; SPENCER, T.E.; JOHNSON, G.A., HU, J., BAZER, F.W.; WU, G. Glutamine synthesis in the developing porcine placenta. *Biology of Reproduction*, v.70, p.1444-1451, 2004.

SHIRAISHI, C.S.; AZEVEDO, J.F. DE.; SILVA, A.V. DA.; SANT'ANA, D. DE M.G.; ARAÚJO, E.J.A. Análise morfométrica da parede intestinal e dinâmica de mucinas secretadas no íleo de frangos infectados por *Toxoplasma gondii*. *Ciência Rural*, v.39, p.2146-2153, 2009.

SMITH, L. S. Digestion in teleost fishes. In: HALVER, J.E. (Ed.). *Fish feed technology*. San Diego: Academic Press, p.9-21, 1978.

SMITH L.S. Digestion in Teleost fishes. In *Fish Feed Technology*, ADCP/ REP/80/11, Food and Agriculture Organization, p.4–18, 1980.

SMITH; R.J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, v.14, p.40S-44S, 1990.

SOUBA, W.W. Intestinal glutamine metabolism and nutrition. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v.4, p.2-9, 1993.

SOUBA, W.; KLIMBERG, V. The role of Glutamine in maintaining a healthily gut and supporting the metabolic response to injury and infection. *Journal Parenteral and Enteral Nutrition*, v.48, p.383-391, 1990.

STRYER, L. *Bioquímica*. Trad. João Paulo de Campos. 3º edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 881p., 1992.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. An atlas of fish histology – normal and pathological features. 2º Ed. Tokyo: Kondansha Ltda., 195p., 1995.

TENGJAROENKUL, B.; SMITH B.J.; CACECI, T. SMITH S.A. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, v.182, p.317-327, 2000.

TORREJAIS M. M.; NATALI M. R. M.; CONEGEROCI, MIRANDA-NETO M. H. Effects of proteic malnutrition after breast-feeding on the morphology of the intestinal wall and myenteric neurons of the ileum of rats. *Revista Unimar*, v.17(2), p.315-327,1995.

VAN DONGEN, J.M.; VISSER, W.J.; DAEMS, W. The relation cell proliferation and ultrastructural development in rat intestinal epithelium. *Cell Tissue Research*, v.174, p.183-199, 1976.

VERAS, G.C.; SALARO, A.L.; ZUANON, J.A.S; CARNEIRO, A.P.S., CAMPELO, D.A.V.; MURGAS, L.D.S. Growth performance and body composition of giant trahira fingerlings fed diets with different protein and energy levels. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, Brasília, v.45, n.9, p.1021-1027. 2010.

WANG, J.Y.; LI, J., PATEL, A.R. Synergistic induction of ornithine decarboxylase by asparagine and gut peptides in intestinal crypt cells. *American Journal of Physiology*, v.274(43), p.1476-1484, 1998.

WHITNEY, E.; CATALDO, A. *Understanding normal and clinical nutrition*. New York: West Publishing Co., 220p., 1983.

WU, G.; MEIER, S.A.; KNABE, D.A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. *Journal of Nutrition*, v.126, p.2578–2585, 1996.

WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *Journal of Nutrition*, v.128, p.1249–1252, 1998.

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, p.389-394, 2006.

YI, G.F.; ALLEE, G.L.; LIU, H.J.; FRANK, J.W.; SPENCER, J.D. Apparent ileal digestibility of amino acids in soybean meal, menhaden fish meal, catfish meal and spray dried plasma in young broilers. *Poultry Science*, v.80, p.1, 2001.

ZAVARIZE, K.C.; MENTEN J.F.M; TRALDI A.B.; SANTAROSA, J.; DA SILVA, C.L.S. Utilização de glutamina na nutrição de monogástricos. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v.109, n.573-576, p.5-10, 2010.

ZHAO, F.; OKINE, E.K.; CHEESEMAN, C.I. Glucose transport gene expression in lactating bovine gastrointestinal tract. *Animal Science*, v.76, p.2921-2929, 1998.

ZIMMERMANN, S.; JOST, H. C. Recentes avanços na nutrição de peixes: a nutrição por fases em piscicultura intensiva. In: *SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES*, 1., 1998, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Conselho Brasileiro de Nutrição Animal, p. 123-162, 1998.

## CAPÍTULO I

### L-GLUTAMINA EM DIETAS PARA JUVENIS DE TRAIRÃO (*Hoplias lacerdae*)

#### RESUMO

Com este experimento objetivou-se avaliar a utilização de L-glutamina em dietas para juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*). Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (0,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 g/kg de L-glutamina) e cinco repetições. Quinhentos e dez juvenis de trairão ( $1,69 \pm 0,10$  g e  $4,67 \pm 0,10$  cm) foram distribuídos em 30 aquários circulares (20 L) na densidade de 0,85 peixe/L, em sistema de recirculação de água. Após 12 semanas, foram avaliados os seguintes parâmetros: taxa de sobrevivência, ganhos de peso e comprimento, conversão alimentar, taxas de crescimento específico e eficiência proteica, uniformidades de comprimento e peso final, rendimento de carcaça, comprimento do intestino, índices viscerossomático, hepatossomático e intestinosomático e composição química dos peixes. Amostras do intestino dos peixes foram coletadas para análises histomorfométricas. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA,  $P < 0,05$ ), e em caso de diferenças significativas, análise de regressão polinomial ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença significativa entre os níveis de glutamina na dieta e os parâmetros avaliados. Houve efeito quadrático apenas para altura das vilosidades da porção mediana e para a espessura da túnica muscular das porções mediana e posterior do intestino dos peixes dos diferentes tratamentos. Os níveis de glutamina que proporcionaram os maiores valores para esses parâmetros foram estimados em 5,42 g/kg, 5,40 g/kg e 5,21 g/kg, respectivamente. Conclui-se que a suplementação de L-glutamina para juvenis de trairão encontra-se na faixa de 5,21 a 5,42 g/kg.

**Palavras-chave:** absorção, aminoácido, crescimento, desempenho, histologia

## **L-GLUTAMINE IN DIETS FOR GIANT TRAHIRA JUVENILE (*Hoplias lacerdae*)**

### **ABSTRACT**

This experiment aimed to evaluate the use of L-glutamine in diets for juvenile giant trahira (*Hoplias lacerdae*). It was used a completely randomized design with six treatments (0.0; 2.0; 4.0; 6.0; 8.0; and 10.0 g/kg of L-glutamine) and five replicates. To this, five hundred and ten giant trahira juvenile ( $1.69 \pm 0.10$  g and  $4.67 \pm 0.10$  cm) were divided into 30 circular polyethylene tanks (20 liters of water) at a density of 0,85 fish/liter, in recirculating system. After 12 weeks, fish growth performance were analyzed: survival rate, weight and length gain, feed conversion, specific growth rate, protein efficiency ratio, length and final weight uniformity, carcass yield, intestine length, and viscerosomatic, hepatosomatic and intestinesomaticindex, and the chemical composition of fish whole-body. Intestine samples of fish were collected for histomorphometric analysis. The results were submitted to analysis of variance ( $P < 0.05$ ) and in the case of significant differences, polynomial regression analysis ( $P < 0.05$ ) was performed. There was no significant difference between the dietary L-glutamine levels and parameters analyzed. There was a quadratic effect only for villi height of the middle portion and the thickness of the tunica muscularis of the two portions of the intestine. Glutamine levels that yielded the highest values for these parameters were estimated at 5.42 g/kg, 5.40 g/kg and 5.21 g/kg, respectively. It is concluded that the supplementation of L-glutamine for giant trahira juveniles is in the range of 5.21 to 5.42 g/kg.

**Keywords:** absorption, amino acid, growth, performance, histology

## INTRODUÇÃO

A glutamina está incluída no grupo dos aminoácidos não essenciais, mas estudos recentes evidenciaram que ela pode ser considerada condicionalmente essencial durante processos inflamatórios e situações de estresse (ZAVARIZE *et al.*, 2010). A glutamina é o aminoácido livre mais abundante na circulação e no espaço intracelular, sendo um importante regulador do metabolismo celular, atuando como fonte de energia para a proliferação celular, com importantes funções metabólicas, como síntese dos nucleotídeos purina e pirimidina, transporte e doação de nitrogênio, regulação do equilíbrio ácido-base, integridade tecidual, além de estimular a síntese proteica muscular (NEWSHOLME, 2001; NAKAJO *et al.*, 2005; WU *et al.*, 2007).

A glutamina também atua no desenvolvimento de células intestinais, promovendo a proliferação dos enterócitos, melhorando a renovação celular e estimulando o desenvolvimento das vilosidades intestinais (BARTELL e BATAL, 2007; RHOADS e WU, 2009; WU *et al.*, 2011). Dessa forma, a glutamina promove aumento na superfície de contato do intestino, o que poderá levar a melhorias na digestão e na absorção dos nutrientes, e conseqüentemente aumento no ganho de peso dos animais (ALVEARDY *et al.*, 1992; WU *et al.*, 1995).

Em peixes, vários efeitos positivos são atribuídos à glutamina, como por exemplo, sua essencialidade na proliferação dos enterócitos (JIANG *et al.*, 2011). Aumento no ganho de peso e melhoria na eficiência alimentar foram observados em juvenis híbridos de esturjão (*Acipenser schrenckii* × *Huso dauricus*), quando alimentados com dietas contendo níveis crescentes de 6,0 a 15,0 g/kg de L-glutamina (QIYOU *et al.*, 2011), e em juvenis de truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas com dietas contendo 5,0 g/kg de L-

glutamina (XU *et al.*, 2009). A L-glutamina também levou ao aumento na altura das vilosidades intestinais em juvenis de carpa comum (*Cyprinus carpio*) quando alimentados com dietas contendo 12,0 g/kg de L-glutamina (YAN e QIU-ZHOU, 2006) e em juvenis híbridos de “striped bass” (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) alimentados com dietas contendo 10,0 g/kg de L-glutamina (CHENG *et al.*, 2012).

Entre as espécies carnívoras neotropicais com potencial para produção em cativeiro, o trairão (*Hoplias lacerdae*) se destaca em razão de sua rusticidade, ganho de peso, baixa demanda energética resultante do seu comportamento sedentário (LUZ *et al.*, 2002; LUZ e PORTELLA, 2005; VERAS *et al.*, 2010; SALARO *et al.*, 2013), reprodução sem necessidade de indução hormonal e mercado consumidor em expansão (SALARO *et al.*, 2013). Elevadas taxas de sobrevivência, boas taxas de crescimento, bons índices de conversão alimentar e adaptar-se a alimentação artificial, após o condicionamento alimentar de suas larvas e alevinos, são características próprias dessa espécie entre as espécies carnívoras (SALARO *et al.*, 2003; NOGUEIRA *et al.*, 2005; SALARO *et al.*, 2006; SALARO *et al.*, 2008, SALARO *et al.*, 2012).

Esta espécie apresenta canibalismo e comportamento agressivo desde os primeiros dias de vida, o que resulta em constantes confrontos para estabelecer as relações hierárquicas, o que pode levar às baixas taxas de sobrevivência (LUZ *et al.*, 2000) e criar situações de estresse, desfavoráveis para o desenvolvimento dos peixes. Nesse sentido a glutamina, poderá se tornar um aminoácido condicionalmente essencial, e atuar reduzindo o estresse e melhorar o bem estar dos peixes. Assim, com este estudo, objetivou-se avaliar a suplementação de L- glutamina em dietas para trairão (*Hoplias lacerdae*) sobre o desempenho produtivo, composição química corporal e da histomorfometria da mucosa intestinal.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, processo N° 24/2013, por estar de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por este Comitê em 15 de julho de 2013 (Anexo 1).

### **Dietas-teste**

Foram confeccionadas dietas com 442 g/kg de proteína bruta e 4764 kcal/kg de energia bruta. A L-glutamina (Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda.- Divisão Nutrição Animal) foi adicionada às dietas nas proporções de 0,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 g de L-glutamina/kg de ração (Tabela 1). Os ingredientes utilizados na confecção das dietas foram moídos em moinho de faca, com abertura de malha de 0,5 mm, misturados manualmente e acrescido água a 70°C (30% do peso da mistura seca). As dietas foram peletizadas em máquina de moer carne, seca em estufa de ventilação forçada, a 50°C por 24 horas, triturada em moinho manual e peneirada para obtenção de péletes entre 1,0 a 3,0 mm.

Amostras das dietas foram coletadas para análises de composição química quanto aos teores de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, cinzas totais e energia bruta e perfil aminoacídico (Tabela 2). As análises de teores de proteína bruta e matéria seca foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, enquanto, as análises de extrato etéreo, cinzas totais e energia bruta foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. O perfil de aminoácidos foi analisado

pelo Laboratório da Ajinomoto Biolatina em Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPLC), modelo Shimatzu.

**Tabela 1.** Composição percentual das dietas teste contendo diferentes níveis de L-glutamina

Ingredientes	Tratamentos (g/kg de L-glutamina)					
	0,0	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
Farinha de peixe	640,00	640,00	640,00	640,00	640,00	640,00
Farelo de soja	80,00	72,00	64,00	56,00	48,00	40,00
Glúten de milho	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00
Farelo de trigo	60,00	64,60	69,10	73,70	78,20	82,80
Amido de milho	86,20	86,20	86,30	86,30	86,40	86,40
Óleo de soja	60,00	60,90	61,80	62,80	63,70	64,60
DL-metionina	0,00	0,10	0,20	0,20	0,30	0,40
L-lisina	0,00	0,30	0,60	0,80	1,10	1,40
L-treonina	0,00	0,10	0,20	0,40	0,50	0,60
L-glutamina	0,00	2,00	4,00	6,00	8,00	10,00
Sal	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Premix <sup>1</sup>	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Vitamina C	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
<b>TOTAL</b>	<b>1000,00</b>	<b>1000,00</b>	<b>1000,00</b>	<b>1000,00</b>	<b>1000,00</b>	<b>1000,00</b>

<sup>1</sup>Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 1.200.000 UI ; Vit. D3 ; 200.000 gUI ; Vit. E, 12.000 mg ;Vit. K3, 2.400 mg ;Vit. B1, 4.800 mg ;Vit. B2, 4.800 mg ;Vit. B6, 4.000 mg; Vit. B12, 4.800 mg; Ac. Fólico, 1.200 mg; Pantotenato Ca, 12.000 mg; Vit. C, 48.000 mg; Biotina, 48 mg; Colina, 65.000 mg; Niacina, 24.000 mg; Ferro, 10.000 mg; Cobre, 6.000 mg; Manganês, 4.000 mg; Zinco, 6.000 mg; Iodo, 20 mg; Cobalto, 2 mg; Selênio, 20 mg.

**Tabela 2.** Composição química e perfil de aminoácidos das dietas teste contendo diferentes níveis de L-glutamina

Parâmetros	Nível de L-Glutamina (g/kg)					
	0,0	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
Matéria seca(g/kg) <sup>1</sup>	939,30	939,70	938,80	931,80	939,70	935,00
Proteína bruta(g/kg) <sup>1</sup>	445,50	442,10	448,00	436,30	443,40	438,90
Energia bruta (kcal/kg) <sup>2</sup>	4839,00	4727,00	4786,00	4661,00	4865,00	4704,00
Cinzas(g/kg) <sup>2</sup>	9,34	7,12	10,65	7,87	10,40	8,06
Extrato etéreo(g/kg) <sup>2</sup>	186,08	180,79	181,01	170,28	185,62	163,46
<b>Aminoácidos essenciais<sup>3</sup></b>						
Lisina	28,00	27,52	28,55	27,42	28,98	27,91
Metionina	9,94	10,09	10,16	9,96	10,76	10,18
Treonina	19,70	19,31	19,75	19,07	19,75	19,29
Triptofano	3,69	3,58	3,33	3,36	3,55	3,33
Arginina	28,87	28,42	29,08	27,15	27,96	26,92
Fenilalanina	18,05	17,93	18,20	17,42	18,53	17,49
Histidina	9,29	9,72	9,65	8,51	9,31	9,43
Isoleucina	16,13	15,82	15,85	15,14	16,16	15,09
Leucina	33,08	32,62	32,69	31,36	33,21	31,28
Valina	19,10	18,77	18,74	18,54	19,35	18,28
<b>Aminoácidos não essenciais<sup>3</sup></b>						
Alanina	34,66	32,52	33,69	33,96	35,31	34,18
Ácido aspártico	38,92	38,20	38,74	37,01	38,65	36,42
Ácido glutâmico	66,77	66,92	68,21	69,17	73,72	71,82
Cistina	3,51	3,51	3,50	3,58	3,81	3,70
Glicina	49,10	48,99	49,72	49,50	49,76	49,07
Serina	19,30	19,05	19,31	18,59	19,14	18,29
Tirosina	13,11	13,08	12,52	12,47	13,01	12,48

<sup>1</sup>Valores determinados no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

<sup>2</sup>Valores determinados no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

<sup>3</sup>Valores determinados no Laboratório da Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda., São Paulo, Brasil.

## Peixes e delineamento experimental

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição de Peixes, do Setor de Piscicultura do Departamento de Biologia Animal, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa – Minas Gerais, em delineamento inteiramente casualizado, com seis

tratamentos (0,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 g/kg de L-glutamina) e cinco repetições, sendo o aquário de capacidade de 100 L, contendo 20 L de água, a unidade experimental.

Foram selecionados 510 juvenis de trairões (*Hoplias lacerdae*), previamente treinados a aceitar dietas processadas, com peso médio de  $1,69 \pm 0,10$  g e comprimento padrão médio de  $4,67 \pm 0,10$  cm, os quais foram distribuídos, na densidade de 0,85 peixe/litro, em 30 aquários circulares de polietileno (100 L), contendo 20 litros de água. Os aquários foram mantidos em sistema de recirculação de água, com vazão de 0,8 litro/min, equipados com filtro mecânico, filtro biológico, filtro ultravioleta, termostato e aquecedores (20 watts), e sistema de aeração por pedras porosas ligadas a um aerador central. Os aquários foram cobertos com tela de nylon branca (2 mm), para evitar a fuga dos peixes. O laboratório foi mantido em fotoperíodo de 12 h.

Os peixes foram alimentados por 12 semanas até a saciedade aparente nos horários de 08:00, 12:00 e 18:00 horas. Semanalmente os aquários foram sifonados para renovação da água e retirada de fezes, trocando 1/3 da água.

Durante todo o período experimental, a temperatura da água foi mantida em  $26,0 \pm 0,78^\circ\text{C}$ , o oxigênio dissolvido em  $5,74 \pm 0,50$ , o pH em  $6,56 \pm 0,13$ , amônia tóxica em  $0,0013 \pm 0,0003$  mg/L e o nitrito em  $0,25 \pm 0,10$  mg/L. Para a avaliação de parâmetros de qualidade de água utilizou-se termômetro de mercúrio de imersão total (HG®, Brasil), medidor de oxigênio (YSI F-1550A, YSI®, Estados Unidos), caneta medidor de pH (EcoSense YSI pH10N, YSI® China), teste de amônia para aquários de água doce (Labcon Test Amônia Tóxica Água Doce, Alcon Ltda., Brasil) e teste de nitrito para aquários de água marinha e de água doce (Labcon Test Nitrito  $\text{NO}_2^-$ , Alcon Ltda., Brasil), respectivamente.

### **Análise de desempenho produtivo**

Ao final do experimento todos os peixes de cada unidade experimental foram contados, pesados e medidos, para avaliação dos seguintes parâmetros de desempenho produtivo: taxa de sobrevivência, ganho de peso, ganho de comprimento, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica, conversão alimentar, uniformidade de comprimento final e uniformidade de peso final. Em seguida, cinco animais de cada unidade experimental, totalizando 25 animais por tratamento, foram eutanasiados em solução de benzocaína (100 mg/L) diluída em água, para determinar o rendimento de carcaça. As vísceras, o fígado e o intestino de cada animal, foram pesados separadamente para a obtenção do comprimento do intestino e dos índices viscerossomático, hepatossomático e intestinosomático, respectivamente. Foram considerados como víscera os seguintes órgãos: estômago, intestino, cecos pilóricos, gônadas, coração, fígado, vesícula biliar e bexiga natatória.

### **Composição química dos peixes**

Para avaliar a composição química dos peixes, foram coletados três peixes por unidade experimental, totalizando 15 peixes por tratamento. Os peixes foram eutanasiados em solução de benzocaína (100 mg/L) diluída em água, liofilizados e triturados em moinho de faca. Os teores de matéria seca, extrato etéreo e cinzas totais dos peixes, foram determinados no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia/UFV, segundo AOAC (2000). A proteína bruta do peixe foi avaliada pelo método semi-micro Kjeldahl, segundo protocolo descrito por SILVA e QUEIROS (2002) e a energia bruta do peixe foi obtida em bomba calorimétrica, ambas as análises foram

realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

### **Avaliação histomorfométrica da mucosa intestinal**

Dois peixes por unidade experimental, totalizando 10 animais por tratamento, foram eutanasiados para coleta das porções média e posterior do intestino. As amostras foram fixadas em placa de isopor, abertas longitudinalmente, lavadas com solução salina, fixadas em solução de formol 10% por 12 horas, desidratadas em série ascendente de álcool e incluídas em resina, para a obtenção de cortes histológicos semisseriados. Foram realizados cortes de 4 µm de espessura, que foram corados com azul de toluidina. Os cortes histológicos foram feitos no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral/UFV. A fotodocumentação (captura de imagens) foi realizada no Laboratório de Sistemática Molecular BEAGLE do Departamento de Biologia Animal/UFV, através de uma câmara digital de alta resolução (Pro-Series da Media Cybernetics; Olympus, Japão), acoplada ao microscópio (Olympus Bx53, Japão) em objetiva de 4X, utilizando-se software cellSens. A morfometria intestinal foi realizada em 20 vilosidades por animal, perfazendo um total de 200 medidas por tratamento, sendo mensurada a espessura da túnica muscular (ETM), e as medidas de altura (AV), espessura da base (EBV) e espessura mediana (EMV) das vilosidades, presentes na porção média e posterior do intestino. Para a morfometria foi utilizado o programa Image Pro-Plus (Media Cybernetics).

## **Análise estatística**

Os dados obtidos foram submetidos às análises de normalidade, de homocedasticidade e de variância, ao nível de 5% de significância, e em caso de diferença significativa, foi realizada análise de regressão polinomial, ao nível de 5%, por meio do programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas). Para escolha do modelo de regressão mais adequado foi considerado a significância dos coeficientes de regressão, a magnitude dos coeficientes de determinação bem como o comportamento das variáveis em estudo. Inicialmente as variáveis foram testadas quanto à normalidade (Kolmogorov-Smirnov,  $P > 0,05$ ) e homocedasticidade (Barlett,  $P > 0,05$ ) por meio do programa MiniTab Pro 12.6.

## **RESULTADOS**

### **Análise de desempenho produtivo**

Não foi observada diferença significativa ( $P>0,05$ ) nos parâmetros de desempenho produtivo: taxa de sobrevivência, ganho de peso, ganho de comprimento, rendimento de carcaça, conversão alimentar, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica, índice viscerossomático, índice hepatossomático, índice intestinosomático, e uniformidade de comprimento final dos peixes alimentados com diferentes níveis de L-glutamina na dieta (Tabela 03). Houve diferença significativa ( $P<0,05$ ) para uniformidade do peso final dos peixes alimentados com diferentes níveis de L-glutamina na dieta.

### **Composição química dos peixes**

Os níveis crescentes de L-glutamina incorporados nas dietas teste não influenciaram ( $P>0,05$ ) os teores de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, cinza totais e energia bruta dos peixes (Tabela 04).

### **Avaliação histomorfométrica da mucosa intestinal**

Foi observado efeito quadrático na altura das vilosidades da porção mediana ( $y = -3,57401x^2 + 38,7403x + 434,971$ ;  $R^2 = 0,60$ ). O mesmo efeito foi observado para a espessura da túnica muscular da porção mediana e posterior ( $y = -0,801024x^2 + 8,26585x + 58,9034$ ;  $R^2 = 0,77$ ;  $y = -0,916576x^2 + 9,54642x + 57,8855$ ;  $R^2 = 0,71$ , respectivamente) dos peixes dos diferentes tratamentos ( $P<0,05$ ) (Tabela 5). Os níveis de glutamina que proporcionaram os maiores valores para altura das vilosidades e espessura das túnicas (mediana e posterior) foram estimados em 5,42 g/kg, 5,40 g/kg e 5,21 g/kg de L-glutamina, respectivamente.

O nível estimado de 5,42 g/kg de L-glutamina proporcionou a vilosidade mais alta, 539,95  $\mu\text{m}$  (Figura 1), e os níveis estimados de 5,40 g/kg e 5,21 g/kg de L-glutamina proporcionaram as maiores espessuras da túnica, 80,18  $\mu\text{m}$  para a túnica da porção mediana (Figura 2) e 82,74  $\mu\text{m}$  para a túnica da porção posterior (Figura 3), respectivamente.

**Tabela 3.** Valores médios e desvio padrão do desempenho produtivo de juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-glutamina

Parâmetros	Tratamentos (g/kg de L-glutamina)						CV(%)
	0,0	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0	
TS(%)	100,00±0,0	100,0±0,0	96,47±5,26	100,00±0,0	96,47±7,89	100,00±0,0	3,92
GP(g)	29,08±4,92	35,10±3,26	32,56±3,97	32,04±3,72	31,56±6,93	27,39±5,26	15,44
GC(cm)	26,08±5,72	32,10±4,61	29,56±5,46	29,04±3,87	28,56±8,00	24,39±6,72	7,11
CA	1,77±0,14	1,96±0,10	1,94±0,04	1,84±0,15	1,89±0,30	1,78±0,19	9,29
TCE(% dia <sup>-1</sup> )	2,81±0,17	2,99±0,15	2,91±0,12	2,88±0,17	2,88±0,08	2,74±0,16	5,12
TEP	2,17±0,20	2,41±0,08	2,28±0,03	2,26±0,22	2,22±0,35	2,19±0,21	9,30
RC(%)	85,37±7,50	88,91±0,35	90,87±2,86	90,79±3,22	89,10±0,35	85,95±7,90	5,59
CI(cm)	8,47±0,92	8,68±0,55	8,20±0,35	8,36±1,64	8,11±0,83	7,91±0,55	10,97
IVS(%)	8,18±0,76	8,51±0,45	8,68±0,22	8,57±0,49	8,61±0,40	8,30±0,69	6,31
IHS(%)	0,90±0,10	0,92±0,07	0,84±0,08	0,86±0,06	0,90±0,14	0,87±0,09	10,75
IIS(%)	1,49±0,13	1,53±0,09	1,65±0,39	1,50±0,09	1,51±0,09	1,51±0,13	12,20
UC (%)	98,82±2,63	98,75±2,80	96,47±3,22	96,47±3,22	97,39±3,59	90,72±6,66	32,22
UP* (%)	51,76±14,7	58,64±9,31	51,62±23,4	50,59±11,5	45,71±19,4	35,88±11,8	5,38

\* = significativo pela análise de variância, teste F (P<0,05)

TS (Taxa de Sobrevivência) = Número final de peixes/Número inicial de peixes x 100

GP (Ganho de peso) = Biomassa média final – Biomassa média inicial

GC (Ganho de comprimento) = Comprimento médio final – Comprimento médio inicial

RC (Rendimento de carcaça) = Peso peixe eviscerado/Peso peixe inteiro x 100

CA (Conversão alimentar) = Consumo total de ração/Ganho de peso total

TCE (Taxa de crescimento específico) = (ln Peso final – ln Peso inicial)/dias x 100

TEP (Taxa de eficiência proteica) = Ganho de peso/Proteína consumida

CI (Comprimento do intestino) = Comprimento do intestino;

IVS (Índice viscerossomático) = Peso da víscera/peso do animal inteiro x 100;

IHS (Índice hepatossomático) = Peso do fígado/peso do animal inteiro x 100;

IIS (Índice intestinosomático) = Peso do intestino/peso do animal inteiro x 100;

UC (Uniformidade de comprimento final) = 80% média ≤ N° final de peixes ≤ 120% média/N° final de peixes x 100

UP (Uniformidade de peso final) = 80% média ≤ N° final de peixes ≤ 120% média/N° final de peixes x 100

**Tabela 4.** Valores médios e desvio padrão da composição química de juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-glutamina

Parâmetros	Tratamentos (g/kg de L-glutamina)						CV(%)
	0,0	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0	
MS(%)	25,13±3,15	29,75±5,37	29,28±8,59	29,50±6,14	28,13±4,77	23,18±5,10	21,64
PB(%)	54,71±0,72	55,30±1,18	54,84±0,68	55,55±1,08	54,90±0,62	54,69±1,42	1,75
EE(%)	26,29±2,76	25,31±1,65	24,54±1,09	25,19±1,86	25,90±1,58	25,71±0,74	6,56
CT(%)	14,55±0,55	14,41±0,28	13,67±0,45	14,12±0,48	14,45±0,89	14,32±0,45	4,07
EB (kcal/Kg)	5300,24±0,0	5318,65±0,0	5486,24±0,0	5375,02±0,0	5407,25±0,0	5359,26±0,0	2,45

MS = Matéria seca; PB = Proteína bruta; EE = Extrato etéreo; CT = Cinza total; EB = Energia bruta

**Tabela 5.** Valores médios e desvio padrão da altura, largura e base das vilosidades e espessura da túnica muscular ( $\mu\text{m}$ ) do intestino de juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-glutamina

Parâmetros	Tratamentos (g/kg de L-glutamina)					
	0,0	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
Porção mediana						
AV* ( $\mu\text{m}$ )	433,49±32,3	504,47±38,3	528,04±29,7	529,72±34,2	530,44±35,9	459,58±26,6
EBV ( $\mu\text{m}$ )	164,23±6,89	162,19±8,13	171,27±23,2	176,27±14,8	175,04±20,5	172,00±9,86
EMV ( $\mu\text{m}$ )	127,80±8,35	128,58±4,44	135,67±17,0	139,84±11,8	135,97±10,1	134,53±9,67
ETM* ( $\mu\text{m}$ )	60,21±2,50	68,90±5,13	80,78±4,32	81,65±4,39	71,67±5,27	61,96±4,34
Porção posterior						
AV ( $\mu\text{m}$ )	567,86±50,5	619,40±28,5	637,73±25,4	601,65±44,2	600,33±78,7	577,33±38,5
EBV ( $\mu\text{m}$ )	161,86±9,38	164,36±12,5	158,79±8,61	160,57±25,1	167,77±19,4	151,16±10,6
EMV ( $\mu\text{m}$ )	131,81±4,88	129,57±6,72	129,89±4,96	130,99±14,0	135,12±5,98	127,10±6,88
ETM* ( $\mu\text{m}$ )	58,18±3,99	71,37±5,33	83,59±4,79	84,31±8,63	71,05±8,32	63,56±2,47

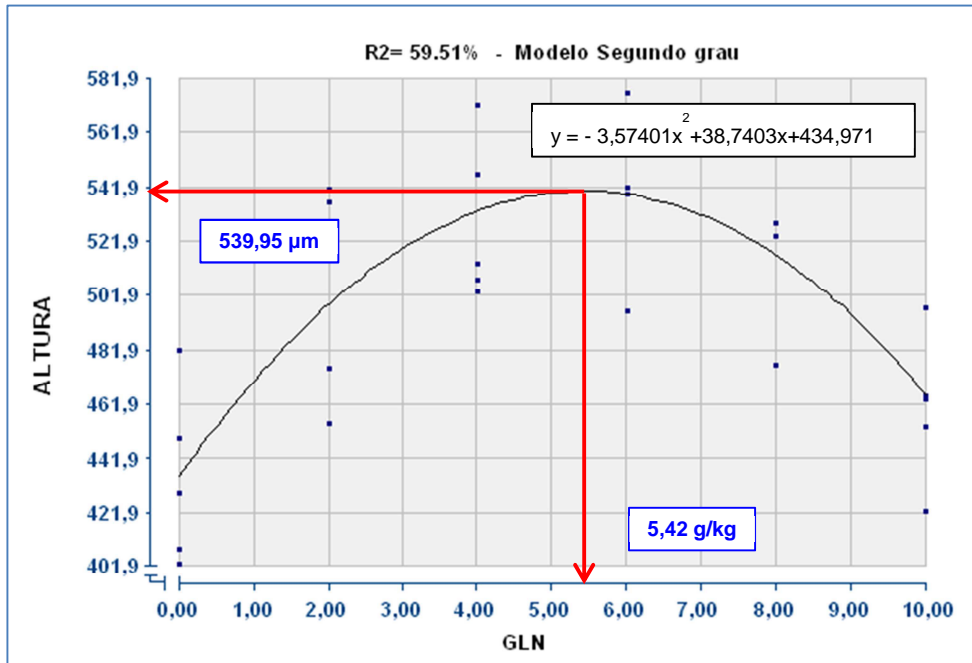
\* = significativo pela análise de variância, teste F (P<0,05)

AV= Altura da vilosidade

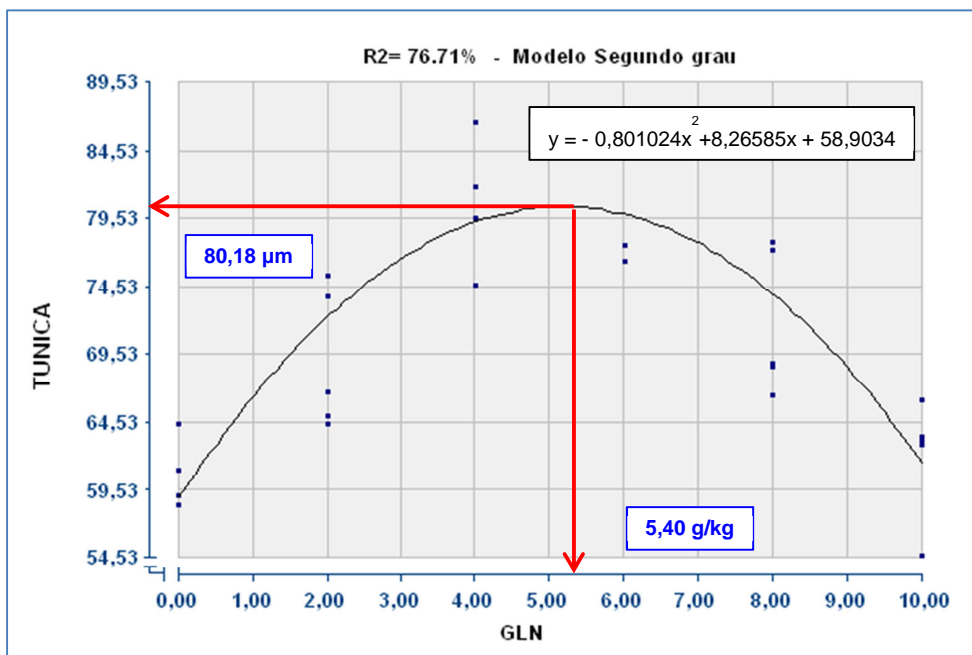
EBV= Espessura da vilosidade

EMV= Espessura mediana da vilosidade

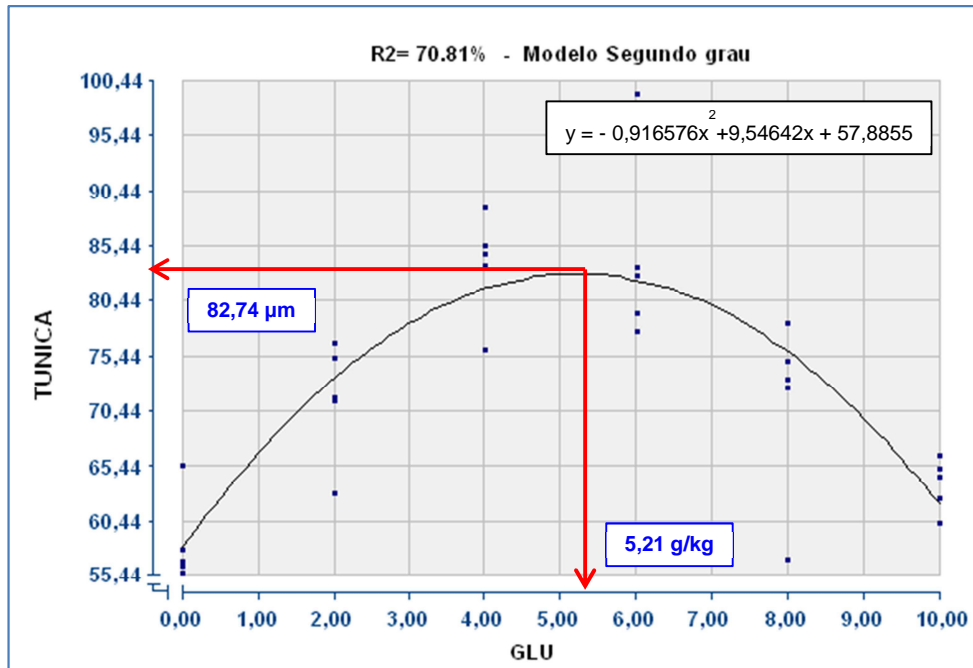
ETM= Espessura da túnica muscular



**Figura 1.** Altura das vilosidades da porção mediana do intestino de juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-glutamina



**Figura 2.** Espessura da túnica muscular da porção mediana do intestino de juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-glutamina.



**Figura 3.** Espessura da túnica muscular da porção posterior do intestino de juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-glutamina.

## DISCUSSÃO

A ausência de diferenças no desempenho produtivo dos animais com a suplementação de L-glutamina pode ser explicada por uma série de hipóteses de caráter fisiológico ou comportamental. Existem diferenças fisiológicas importantes entre as espécies de vertebrados no que se refere ao metabolismo da glutamina. Mesmo dentro da mesma espécie, em diferentes estágios de desenvolvimento, existem diferenças na utilização da glutamina e dos seus metabólitos (LOBLEY *et al.*, 2001). Os peixes representam o grupo mais diverso entre os vertebrados e, portanto, discrepâncias metabólicas devem ser esperadas (POHLENZ *et al.*, 2012). Uma possível hipótese seria os altos valores dos coeficientes de variação das variáveis estudadas, como o ganho de peso e a uniformidade de peso final, apresentando-se maior heterogeneidade de peso dos peixes de cada unidade experimental dos diferentes tratamentos. Esta situação é comum em peixes carnívoros, principalmente nas fases iniciais, de alevinagem e de juvenis, onde são constantes os confrontos para estabelecer as relações hierárquicas (KAUFMANN, 1983; KARAVANICH e ATEMA 1993; LUZ *et al.*, 2000), e seria esperado um maior canibalismo e uma menor taxa de sobrevivência. Contudo, no presente estudo, a maior heterogeneidade de peso dos peixes alimentados com dietas suplementadas com L-glutamina não resultou em diferenças na taxa de sobrevivência, produzido pelo canibalismo. A variabilidade genética de cada indivíduo, em relação a um melhor desenvolvimento do que o grupo, pode também ter influenciado na ausência de diferença significativa. Outra possível hipótese pode ser atribuída à formulação das dietas, onde o perfil de aminoácidos da dieta (controle e suplementadas) ser de alta qualidade, atendendo as exigências nutricionais do trairão.

Resultados semelhantes foram observados em alevinos de bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) alimentados com dietas contendo 20,0 a 30,0 g/kg de L-glutamina (POHLENZ *et al.*, 2012). Da mesma forma, juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas suplementadas com níveis crescentes de 0,0 a 30,0 g de uma mistura de L-glutamina e L-glutamato/kg de ração, não apresentaram diferença nos parâmetros de conversão alimentar, taxa de eficiência proteica, eficiência de retenção de nitrogênio, índice hepatossomático e rendimento de carcaça (SILVA *et al.*, 2010). Entretanto, aumento no ganho de peso e melhoria na eficiência alimentar foram observados em carpa comum (*Cyprinus carpio*) quando alimentadas com dietas contendo 12,0 g/kg de L-glutamina (YAN e QIU-ZHOU, 2006) e em juvenis híbridos de esturjão (*Acipenser schrenckii* × *Huso dauricus*) alimentadas com níveis crescentes de glutamina, de 6,0 a 15,0 g/kg de L-glutamina (QIYOU *et al.*, 2011). A L-glutamina melhorou a taxa de eficiência proteica e índice hepatossomático em juvenis híbridos de tilápia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*), alimentados com 6,0 a 8,0 g/kg de glutamina (YANG *et al.*, 2008). A L-glutamina também atuou de forma positiva para “red drum” (*Sciaenops ocellatus*) alimentados com 20,0 g/kg de L-glutamina (CHENG *et al.*, 2011), e para juvenis híbridos de “striped bass” (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) alimentados com dietas suplementadas com 10 g/kg de L-glutamina (CHENG *et al.*; 2012). A melhora no desempenho produtivo obtida nesses peixes, provavelmente ocorreu pela síntese proteica mais eficiente pelos peixes que receberam dietas suplementadas com glutamina. A glutamina é fonte importante de nitrogênio, responsável por promover a síntese de aminoácidos não essenciais e a deposição proteica, estimulando dessa forma a síntese muscular e reduzindo o catabolismo no músculo esquelético, e conseqüentemente promovendo o aumento do ganho de peso e o crescimento dos animais (FORTI *et al.*, 2003;

NEWSHOLME *et al.*, 2003). Esta melhora também pode estar correlacionada com o aumento na altura das vilosidades nos peixes alimentados com dietas suplementadas com glutamina, permitindo uma maior absorção e utilização de nutrientes, como resultado do aumento da área da superfície de absorção, melhorando desta forma os parâmetros de desempenho, como o ganho de peso e a taxa de eficiência proteica (YAN e QIU-ZHOU, 2006; YANG *et al.*, 2008).

Não foram observadas diferenças na composição química dos juvenis de trairão alimentados com as dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina. A ausência de diferenças na composição química dos animais pode ter ocorrido pelo fato da glutamina se expressar quando os peixes estão em situações de desafio (RIBEIRO *et al.*, 2004), como estresse, transporte (WU, 1998) ou em casos de doenças (SMITH e WILMORE, 1990). Nessas situações, ocorre aumento do catabolismo proteico e a utilização da glutamina do tecido muscular (NEWSHOLME *et al.*, 2003). Outra hipótese pode estar relacionada à que a glutamina, por ser o substrato energético para a proliferação dos enterócitos, é consumida por essas células e outras células intestinais, e uma quantidade significativa de glutamina não alcançou a corrente sanguínea, não sendo suficiente para as funções metabólicas de outros tecidos (ADABI, 2003), como por exemplo, a síntese de proteína muscular e a deposição proteica (FORTI *et al.*, 2003).

Resultados semelhantes aos encontrados neste estudo para a composição química dos trairões foram obtidos em juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L- glutamato (0,0 a 30,0 g/kg de glutamina e glutamato) (SILVA *et al.*, 2010). Por outro lado, YAN e QIU – ZHOU (2006) em estudos com carpa comum observaram diferença significativa para os teores de proteína e extrato etéreo, sendo que o nível estimado de 12,0 g/kg de glutamina, proporcionou os maiores valores. A

diferença significativa para o teor de proteína desses animais pode ser explicada devido à glutamina ser importante na composição do músculo esquelético, pois atua no transporte de nitrogênio entre os tecidos para a formação de aminoácidos para a síntese de proteína muscular (FORTI *et al.*, 2003). Em alevinos de bagre do canal, 20,0 g/kg de glutamina na dieta proporcionou os maiores teores de extrato etéreo (POHLENZ *et al.*, 2012). Com relação aos teores de extrato etéreo, estes podem ser atribuídos a um possível aumento da digestibilidade dos lipídios no intestino (YAN e QIU - ZHOU, 2006), devido à utilização do carbono da glutamina como um precursor para síntese lipídica nos adipócitos (KOWALCHUK *et al.*, 1988), e/ou a dependência de glutamina por parte de importantes enzimas lipogênicas, tais como o ácido graxo sintase (RUMBERGER *et al.*, 2003).

As diferenças nas análises histomorfométricas da mucosa intestinal provavelmente podem estar relacionadas com a utilização da glutamina como substrato energético para a proliferação dos enterócitos, favorecendo o aumento das mitoses na base das vilosidades, resultando em aumento do número de células e da altura das vilosidades (BOLELI *et al.*, 2002). O aumento na altura das vilosidades da porção mediana do intestino corrobora os resultados obtidos por SILVA *et al.* (2010), com juvenis de tilápia do Nilo. Em estudos com carpa comum, “red drum” e híbrido de “striped bass”, a suplementação de L-glutamina também levou ao aumento na altura das vilosidades intestinais da porção mediana e posterior do intestino (YAN e QIU-ZHOU, 2006, CHENG *et al.*, 2011; CHENG *et al.*, 2012).

O aumento da espessura da túnica muscular pode estar relacionado com o papel da glutamina na proliferação de linfócitos, produção de citocinas e macrófagos, fagocitose e produção de superóxidos pelos macrófagos e neutrófilos (NEWSHOLME *et al.*, 1999). A glutamina atua como principal substrato energético para leucócitos e é modulador chave na

produção de citocinas e óxido nítrico, sendo crucial para a resposta imune dos peixes (BUENTELLO e GATLIN, 1999; LI *et al.*, 2007; BAUER, 2008). Provavelmente a maior proliferação celular ou o recrutamento de células do sistema imune para a mucosa explica o aumento dessa camada, uma vez que é constituída por uma rede densa de macrófagos, mastócitos e também alguns leucócitos (BAUER, 2008), e em função dos possíveis confrontos entre os peixes para se estabelecer a hierarquia, situação comum em peixes carnívoros, se estimulou o sistema imunológico, sendo a glutamina um substrato energético para as células de proliferação rápida como macrófagos e leucócitos.

Esse aumento, também pode estar influenciando na motilidade da mucosa intestinal, uma vez que, a túnica muscular é responsável pelos movimentos peristálticos (KIERSZENBAUM, 2004; BROWN *et al.*, 2007), e os macrófagos residentes na musculatura intestinal ativam a musculatura lisa, no intuito de conduzi-la a um estado de hipercontratibilidade (BAUER, 2008).

Apesar da glutamina passar a borda em escova do enterócito, parte deste aminoácido proveniente da alimentação e/ou da suplementação é consumida pelas próprias células intestinais, e é provável que uma quantidade significativa não alcançou a corrente sanguínea (ADIBI, 2003).

Não foram encontrados trabalhos na literatura que discutem modificações na espessura da túnica muscular em peixes alimentados com dietas suplementadas com glutamina e seus derivados. Entretanto, o uso de alguns probióticos em dietas para peixes, podem exibir efeito sobre a integridade da mucosa intestinal, envolvendo conjuntamente a altura da vilosidade e espessura da túnica muscular, como observado por MELLO *et al.* (2013) em tilápias do Nilo alimentadas com *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*. Este aumento está relacionado com a renovação celular do epitélio, indicando um aumento do

número de suas células epiteliais e caliciformes, e demonstrando que o probiótico favoreceu a renovação do epitélio intestinal (MELLO *et al.*, 2013). Os macrófagos presentes na musculatura intestinal são os primeiros a conduzir e responder aos eventos inflamatórios após contato com endotoxinas secretadas por microrganismos, ativando a musculatura lisa, no intuito de conduzi-la a um estado de hipercontratibilidade para expulsão do parasito (BAUER, 2008).

Com os resultados do presente estudo é possível indicar dietas contendo níveis de 5,21 a 5,42 g/kg de L-glutamina para juvenis de trairão, em função de sua atuação na histomorfometria intestinal dos peixes. Esses valores são similares aos obtidos por XU *et al.* (2009) para truta arco íris, espécie carnívora, quando determinaram o nível ótimo de 5,00 g/kg de glutamina.

## **CONCLUSÃO**

A inclusão de L-glutamina em dietas para juvenis de trairão aumentou a altura das vilosidades na porção mediana do intestino, assim como a espessura da túnica muscular da porção mediana e porção posterior do intestino. A faixa de suplementação de L-glutamina em dietas para juvenis de trairão encontra-se entre 5,21 a 5,42 g/kg.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. Association of Official Analytical Chemists, 17th Ed. (Helric, K. ed.). Association of Analytical Chemist, Inc., Arlington, 2000.

ADIBI, S.M. Regulation of expressions of the intestinal oligopeptide transporter (Pept-1) in health and disease. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, v.285, p.G779-G788, 2003.

ALVERDY, J.A.; AOYS, E.; WEISS-CARRINGTON, P. The effect of Glutamine enriched TPN on gut immune cellularity. *Journal Surgery Research*, v.52, p.34–38, 1992.

BARTELL, S.M.; BATAL, A.B. The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers. *Poultry Science*, v.86, p.1940–1947, 2007.

BAUER, A.J. Mentation on the immunological modulation of gastrintestinal motility. *Neurogastroenterol Motility*, v.20,supplements1, p.81-90, 2008.

BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZÁLES, E.P. (Ed.) *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p.75-96, 2002.

BROWN, C.; BAKER, D.C.; BAKER, I.K. Alimentary System. In MAXI, M.G. (Ed.) *Pathology of Domestic Animals*. 5° Ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, p.3-296, 2007.

BUENTELLO, J.A.; GATLIN III, D.M. Nitric oxide production in activated macrophages from channel catfish *Ictalurus punctatus*: influence of dietary arginine and culture media. *Aquaculture*, v.179, p.513 – 52, 1999.

CHENG, Z.; BUENTELLO, A.; GATLIN III, D.M. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*, v.319, p.247–252, 2011.

CHENG, Z.; GATLIN III, D.; 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.

FORTI, F.; CANCELLIERO, K.M.; SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J. O efeito da glutamina no músculo esquelético desnervado. *Saúde Revista*, v.5, n.9, p.59-65, 2003.

JIANG, J.; FENG L.; HU K.; LIU, Y.; LI S.; ZHOU, X. Glutamine: the relationship with growth and development of digestive system, enterocyte protein synthesis and antioxidant ability in fish. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, v.05, n.23, p.735-739, 2011.

KARANAVICH, C; ATEMA, J. Agonistic encounters in the American Lobster *Homarus americanus*: do they remember their opponents?. *The Biological Bulletin*, v.185, p.321-322, 1993.

KAUFMANN, J.H. On the definitions and functions of dominance and territoriality. *Biological Reviews*, v.58, p.1-20, 1983.

KIERSZENBAUM, A.L. Sistema digestório inferior. In: *Histologia e Biologia Celular: Uma introdução à patologia*. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier, p.449-474, 2004.

KOWALCHUK, J.M., CURI, R., NEWSHOLME, E.A., 1988. Glutamine metabolism in isolated incubated adipocytes of the rat. *Biochemical Journal*, v.249, p.705–708, 1988.

LI, P.; YIN, Y.L.; LI, D.F.; KIM; S.W.; WU, G. Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*, v.98, p.237 – 252, 2007.

LOBLEY, G.E., HOSKIN, S.O., MCNEIL, C.J. Glutamine in animal science and production. *Journal of Nutrition*, v.131, p.2525S–2531S, 2001.

LUZ, R.K.; SALARO, A.L.; SOUTO, E.F. Avaliação de canibalismo e comportamento territorial de alevinos de trairão (*Hoplias lacerdae*). *Acta Scientiarum*, v.22, n.2, p.465-469, 2000.

LUZ, R.K.; PORTELLA, M.C. Frequência alimentar na larvicultura do trairão (*Hoplias lacerdae*). Revista Brasileira de Zootecnia, v.34, p.1442-1448, 2005.

LUZ, R.K.; SALARO, A.L.; SOUTO, E.F.; OKANO, W.Y.; LIMA, R.R.. Condicionamento alimentar de alevinos de trairão (*Hoplias cf. lacerdae*). Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, p.1881-1885, 2002.

MELLO, H.; MORAES, J.R.E.; NIZA, I.G.; MORAES, F.R.; OZÓRIO, R.O.A.; SHIMADA, M.T.; ENGRACIA FILHO, J.R; CLAUDIANO, G.S. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de tilápia-do-Nilo. Pesquisa Veterinária Brasileira v.33, n.6, p.724-730, 2013.

NAKAJO, T.; YAMATSUJI, T.; BAN, H.; SHIGEMITSU, K.;HAISA, M.; MOTOKI, T.; NOMA, K.; NOBUHISA, T.; MATSUOKA, J.; GUNDUZ, M.; YONEZAWA, K.; TANAKA, N.; NAOMOTO, Y. Glutamine is a key regulator for amino acid-controlled cell growth through the TOR signaling pathway in rat intestinal epithelial cells. Biochemical and Biophysical Research Communications, v.326, p.174–180, 2005.

NEWSHOLME, P.; CURI, R.; CURI, T.C.P.; MURPHY, C.J.; GARCIA, C.; DE MELO, M.P. Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages and neutrophils: its importance in health and disease. Journal of Nutritional Biochemistry, v.10, p.310 – 324, 1999.

NEWSHOLME, P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of immune system in health, postinjury, surgery or infection? Journal of Nutrition, v.131, p.2515-2522, 2001.

NEWSHOLME, P.; LIMA, M.M.R.; PROCOPIO, J.T.C; PITHON-CURI, T.C.; DOI, S.Q.; BAZOTTE, R.B.; CURI, R. Glutamine and Glutamate as vital metabolites. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v.36, p.153-163, 2003.

NOGUEIRA, G.C.C.B.; SALARO, A.L.; LUZ, R.K.; ZUANON, J.A.S.; LAMBERTUCCI, D.M.; SALERNO, R.A.; SAKABE, R.; ARAÚJO, W.A.G. Desempenho produtivo de juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*) alimentados com rações comerciais. Revista Ceres, v.52, n.302, p.401-497, 2005.

POHLENZ, C.; BUENTELLO, A.; BAKKE, A.M.; GATLIN III, D. Free dietary glutamine improves intestinal morphology and increases enterocyte emigration 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.

QIYOU, X.; QING, Z.; HONG, X.; CHANG`AN, W.; DAJIANG, S. 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, p.721–726, 2011.

RHOADS, M.J.; WU, G. Glutamine, arginine, and leucine signaling in the intestine. *Amino Acids*, v.37, n.1, p.111–122, 2009.

RIBEIRO, S.R.; PINTO JR., P.E.; MIRANDA, A.C.; BROMBERG, S.H.; LOPASSO, F.P.; IRYA, K. Weight loss and morphometric study of intestinal mucosa in rats after massive intestinal resection. Influence of a glutamine-enriched diet. *Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo*, v.59, n.6, p.349-356, 2004.

RUMBERGER, J.M., WU, T., HERING, M.A., MARSHALL, S. Role of hexosamine biosynthesis in glucose-mediated up-regulation of lipogenic enzyme mRNA levels. *Journal of Biological Chemistry*, v.278, p.28547–28552, 2003.

SALARO A.L.; LUZ, R.K; SAKABE, R.; KASAI, R.Y.D.; LAMBERTUCCI, D.M. Diferentes densidades de estocagem na produção de alevinos de trairão (*Hoplias cf. lacerdae*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.5, p.1033-1036, 2003.

SALARO, A.L.; LUZ, R.K.; ZUANON, J.A.S.; SIROL, R.N.; SAKABE, R.; ARAÚJO, W.A.G.; SOUTO, E.F. Desenvolvimento de alevinos de trairão (*Hoplias lacerdae*) na ausência de luz. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, Maringá, v.28, n.1, p.47-50, 2006.

SALARO A.L.; LUZ, R.K; SAKABE, R.; KASAI, R.Y.D.; LAMBERTUCCI, D.M. Níveis de arraçoamento para juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.6, p.967-970, 2008.

SALARO, A.L.; OLIVEIRA JUNIOR, J.C.; PONTES, M.D.; OLIVEIRA, K.R.B.; NEVES, I.G.A.A.; FERRAZ, R.B.; HISANO, H.; ZUANON, J.A.S. Replacement of moist ingredients in the feed training of carnivorous fish. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.41, p.2294-2298, 2012.

SALARO, A.L.; KASAI, R.Y.D.; CARNEIRO, A.P.S; SABARENSE, C.M.; HAGE, M.C.F.N.S; TAVARES, M.M.; ZUANON, J.A.S. Suplementação de vitamina C em dietas para juvenis de trairão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.48, n.8, p.1096-1102, 2013.

SILVA, D.J., QUEIROS, A.C. *Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. 3º Ed., 235p., Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 2002.

SILVA, L.C.R.; FURUYA, W.M.; NATALI, M.R.M.; SCHAMBER, C.R.; SANTOS, L.D.; VIDAL, L.V.O. Desempenho e morfometria intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo 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.; WILMORE, D.W. Glutamine nutrition and requirements. *Journal Parenteral and Enteral Nutrition*, v.14, p.94-99, 1990.

VERAS, G.C.; SALARO, A.L.; ZUANON, J.A.S; CARNEIRO, A.P.S.; CAMPELO, D.A.V.; MURGAS, L.D.S. Growth performance and body composition of giant trahira fingerlings fed diets with different protein and energy levels. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.45, n.9, p.1021-1027, 2010.

WU, G.; KNABE, D.A, YAN, W.; FLYNN, N.E. Glutamine and Glucose metabolism in enterocytes of the neonatal pig. *American Journal of Physiology*, v.268, p.R334-R342, 1995.

WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *Journal of Nutrition*, v.128, p.1249–1252, 1998.

WU, G.; BAZER, F.W.; DAVIS, T.A.; JAEGER, L.A.; JOHNSON, G.A.; KIM, S.W.; KNABE, D.A.; MEININGER, C.J.; SPENCER, T.E.; YIN, Y.L. Important roles of the arginine family amino acids in swine and production. *Livestock Science*, v.112, p.8-22, 2007.

WU, G.; BAZER, F.W.; JOHNSON, G.A.; KNABE, D.A.; BURGHARDT, R.C.; SPENCER, T.E.; LI, X.L.; WANG, J.J. Important roles for L-glutamine in swine nutrition and production. *Journal of Animal Science*, v.89, p.2017–2030, 2011.

XU, Q.; WANG C.; XU H.; ZHEN Q.; MA, J. Effects of L-Glutamine on growth performance and intestine of *rainbow trout* juveniles (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, v.04, 2009.

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, p.389–394, 2006.

YANG, Q.; ZHOU, Q.; TAN, B.; CHI, S.; DONG, X.; DU, C.; WANG, X. Effects of dietary glutamine on growth performance, feed utilization and anti-disease ability of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*). *Journal of Fishery Sciences of China*, v.06, 2008.

ZAVARIZE, K.C.; MENTEN J.F.M; TRALDI A.B.; SANTAROSA, J.; DA SILVA, C.L.S. Utilização de glutamina na nutrição de monogástricos. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v.109, n.573-576, p.5-10, 2010.

## ANEXOS

### Anexo 1 - Certificado do Comitê de Ética para Uso de Animais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

*Campus Universitário – Viçosa, MG – 36570-000 – Telefone: (31) 3899.2262 – Fax: (31) 3899.2275 – e-mail: dzo@ufv.br*

Comitê de Ética para Uso de Animais/DZO

Viçosa, 15 de julho de 2013

### CERTIFICADO

O Comitê de Ética para Uso de Animais do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa certifica que o **processo nº 24/2013**, intitulado “**L-Glutamina em dietas para juvenis de trairão (Hopliaslacerdae)**”, coordenado pelo **Prof(a). Ana Lúcia Salaro**, está de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por este Comitê em **15/Jul/2013**.

### CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use of Animal Science Department/Universidade Federal de Viçosa certify that the **process number 24/2013**, named “**L-Glutamina in diets for “trairão” juveniles (Hopliaslacerdae)**”, coordinated by **Prof(a). Ana Lúcia Salaro**, is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA) and with actual Brazilian legislation. This Institutional Committee approved this process on **Jul, 15st, 2013**.

Marcos Inácio Marcondes  
Presidente do CEUA/DZO/UFV