

MOISÉS QUADROS

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA NA RAÇÃO DE
TILÁPIA DO NILO SOBRE O DESEMPENHO E RESISTÊNCIA À
INFECÇÃO BACTERIANA**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, para obtenção do título
de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

MOISÉS QUADROS

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA NA RAÇÃO DE
TILÁPIA DO NILO SOBRE O DESEMPENHO E RESISTÊNCIA À
INFEÇÃO BACTERIANA**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, para obtenção do título
de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 23 de junho de 2010.

Prof. Paulo César Brustolini
(Co-orientador)

Prof. Juarez Lopez Donzele
(Co-orientador)

Prof. Leandro Licursi de Oliveira

Prof. Charles Kiefer

Prof. Eduardo Arruda Teixeira Lanna
(Orientador)

A Deus, sem o qual nada seria possível.

Aos meus pais Élvio (*in memoriam*) e Luiza, pelo amor, carinho, incentivo, apoio e, principalmente, pela formação de vida.

À minha esposa Maria Helena e ao meu filho Giuliano, pelo amor, pela paciência, dedicação e compreensão.

“Quando uma criatura humana desperta para um grande sonho e sobre ele lança toda a força de sua alma, todo o universo conspira a seu favor”.

Johann Wolfgang von Goethe

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), por intermédio do Departamento de Zootecnia (DZO), pela oportunidade de realização deste curso.

À empresa Ajinomoto Biolatina Ind. & Com. Ltda pelo apoio que tem fornecido à condução dos trabalhos do Laboratório de Nutrição de Peixes do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Ao professor orientador Eduardo Arruda Teixeira Lanna, pela orientação, amizade, paciência e incentivo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Aos professores co-orientadores Juarez Lopes Donzele e Paulo César Brustolini, bem como os professores Henrique César Pereira Figueiredo, Simone Eliza F. Guimarães e Leandro Licursi de Oliveira pelas informações, auxílio, sugestões e críticas apresentadas durante o curso de pós-graduação e condução desta pesquisa que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos professores Luiz Fernando Teixeira Albino, Paulo Cezar Gomes e Maria Ignez Leão pela amizade e contribuição na minha formação desde o período de graduação.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, em especial aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, pela ajuda nas análises químicas e pela amizade durante todo o período do curso.

A todos os meus amigos e amigas, em especial a Sylvia Sanae Takishita, Rafael Alves Vianna, Fabrício Pereira Rezende, Carlos de Souza do Nascimento, Guilherme Moura, Patrícia de Souza Lima Cunha, Alexmiliano Vogel de Oliveira e Wagner Azis Garcia de Araújo pela ajuda, pelo incentivo e pela leal amizade.

A todos os pesquisadores citados, cujas pesquisas serviram de base para o presente trabalho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho e não foram citados.

BIOGRAFIA

MOISÉS QUADROS, filho de Élvio Quadros e Luiza Leci Vitória Quadros, nasceu em Rio Grande, Estado do Rio Grande do Sul, no dia 21 de setembro de 1969.

Em 2001, ingressou no curso de graduação em Zootecnia, na Universidade Federal de Viçosa - UFV, colando grau em 29 de julho de 2005.

Em agosto de 2005, foi admitido no programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, da Universidade Federal de Viçosa - UFV, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Monogástricos (Piscicultura).

Em dezembro de 2006, foi aprovado para iniciar o curso, em nível de Doutorado, no primeiro semestre de 2007, no programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa - UFV, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Monogástricos (Piscicultura).

Em 23 de junho de 2010, submeteu-se aos exames finais de defesa de tese.

ÍNDICE

| | Página |
|---|--------|
| LISTA DE TABELAS..... | v |
| LISTA DE FIGURAS..... | vi |
| RESUMO..... | vii |
| ABSTRACT..... | ix |
| 1. INTRODUÇÃO GERAL..... | 1 |
| 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 9 |
| SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA NA RAÇÃO DE TILÁPIA DO NILO..... | 14 |
| INTRODUÇÃO..... | 16 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 18 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 22 |
| CONCLUSÃO..... | 26 |
| LITERATURA CITADA..... | 27 |

| | Página |
|--|--------|
| EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA NA RAÇÃO DE TILÁPIA DO NILO SOBRE A RESISTÊNCIA À INFECÇÃO BACTERIANA..... | 31 |
| INTRODUÇÃO..... | 33 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 35 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 40 |
| CONCLUSÃO..... | 47 |
| LITERATURA CITADA..... | 48 |
| 3. CONCLUSÕES GERAIS..... | 51 |

LISTA DE TABELAS

| | Página |
|---|--------|
| 001. Composição percentual e química das rações experimentais (matéria natural)..... | 19 |
| 002. Desempenho de adultos de tilápia do Nilo em função da suplementação de glutamina na ração..... | 23 |
| 003. Composição corporal, deposições de proteína e gordura corporais e eficiência de retenção de nitrogênio de adultos de tilápia do Nilo em função da suplementação de glutamina na ração..... | 24 |
| 001. Composição percentual e química das rações experimentais (matéria natural)..... | 37 |
| 002. Comportamento alimentar e sintomas clínicos observados durante o experimento..... | 39 |

LISTA DE FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| 001. Representação gráfica do consumo de ração na superfície da água por adultos de tilápia do Nilo, em função do nível de suplementação de glutamina da ração..... | 41 |
| 002. Representação gráfica da ocorrência de anorexia em adultos de tilápia do Nilo, em função do nível de suplementação de glutamina da ração..... | 42 |
| 003. Representação gráfica da ocorrência de natação errática em adultos de tilápia do Nilo, em função do nível de suplementação de glutamina da ração..... | 43 |
| 004. Representação gráfica da ocorrência de exoftalmia em adultos de tilápia do Nilo, em função do nível de suplementação de glutamina da ração..... | 44 |
| 005. Representação gráfica da ocorrência de letargia em adultos de tilápia do Nilo, em função do nível de suplementação de glutamina da ração..... | 45 |
| 006. Representação gráfica da mortalidade de adultos de tilápia do Nilo, em função do nível de suplementação de glutamina da ração..... | 46 |

RESUMO

QUADROS, Moisés, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, junho de 2010. **Efeitos da suplementação de glutamina na ração de tilápia do Nilo sobre o desempenho e resistência à infecção bacteriana.** Orientador: Eduardo Arruda Teixeira Lanna. Co-orientadores: Juarez Lopes Donzele e Paulo César Brustolini.

Objetivando-se determinar os efeitos da suplementação de glutamina em rações para adultos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), da linhagem tailandesa, sobre o desempenho e resistência à infecção por *Streptococcus agalactiae* foram realizados dois experimentos no laboratório de nutrição de peixes, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. No primeiro experimento, com duração de 32 dias, objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação de L-glutamina na dieta. Foram utilizados 300 adultos, com peso inicial de $201 \pm 1,51$ g. Os peixes foram mantidos em 25 aquários de 320 litros dotados de abastecimento de água, temperatura controlada e aeração individuais e alimentados por seis refeições diárias. Os tratamentos foram constituídos por cinco níveis de suplementação de glutamina (0, 1, 2, 3 e 4%), sendo rações isoenergéticas e isolisínicas digestíveis, cinco repetições por tratamento e doze peixes por unidade experimental. Avaliaram-se os parâmetros de desempenho, a composição corporal, a deposição de proteína e gordura corporais e a eficiência de retenção de nitrogênio dos peixes. A suplementação de L-glutamina na ração não afeta o ganho de peso, a taxa de crescimento específico, o teor de proteína corporal, as taxas de deposição de gordura e de proteína, relação de deposição de gordura:proteína, eficiência de retenção de nitrogênio, a conversão alimentar, eficiência de lisina e protéica para ganho, umidade corporal e gordura corporal. No segundo experimento, com duração de 55 dias, objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação dietética de glutamina sobre a resistência à infecção causada por *Streptococcus agalactiae*. Foram utilizados 144 adultos, com peso inicial de $201 \pm 1,51$ g em um delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos, duas repetições e 12 animais por unidade experimental. Os peixes foram mantidos em 12 aquários de 320 litros dotados de abastecimento de água, temperatura controlada e aeração individuais e alimentados com seis refeições diárias. Os animais foram alimentados por um período de 32 dias com cinco rações experimentais isoproteicas e isolisínicas, com cinco níveis de suplementação de glutamina (0, 1, 2, 3 e 4%). Ao final deste período todos os peixes

foram desafiados através de uma injeção intraperitoneal com 0,1 mL de inóculo de *Streptococcus agalactiae* 4×10^5 UFC/mL, com exceção do grupo controle, o qual foi inoculado com 0,1 mL de (BHI) e recebeu a ração contendo 0% de suplementação. Os peixes infectados continuaram recebendo as rações com os cinco níveis de suplementação de glutamina. Os animais foram monitorados por um período de vinte e três dias após a infecção. Foi registrado o comportamento alimentar dos animais e a ocorrência de sintomas clínicos da meningoencefalite, tais como letargia, anorexia, natação errática e exoftalmia. O nível de 2% de suplementação de glutamina na ração proporciona a menor taxa de mortalidade e maior redução dos sintomas de infecção causada por *Streptococcus agalactiae* em adultos de tilápia do Nilo.

ABSTRACT

QUADROS, Moisés, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, June 2010. **Effects of glutamine supplementation in the ration of Nile tilapia on performance and resistance to bacterial infection.** Advisers: Eduardo Arruda Teixeira Lanna. Co-advisers: Juarez Lopes Donzele and Paulo César Brustolini.

The current study was aimed at evaluate the effect of dietary glutamine supplementation in diets of Nile tilapia adults (*Oreochromis niloticus*) on the performance and resistance to infection by *Streptococcus agalactiae*. Two trials were carried out at the fish nutrition laboratory of the Animal Science Department of the Federal University of Viçosa. In the first experiment, aimed at evaluate the effect of L-glutamine supplementation in the diet. Three hundred reverted Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), thailand line (201 ± 1.51 g), were allotted at a completely randomized design, with five treatments (0, 1, 2, 3 and 4% of glutamine supplementation in the diet), all of them were isoenergetic and digestible isolysinic, and minimum ratios between the other amino acids with the lysine, five replicates by treatment and twelve fishes per experimental unit. Fishes were maintained in 25 aquariums of 320 liters supplied with single-pass flow-through water and aeration, controlled temperature and they were fed six daily meals during 32 days. Performance, corporal composition, corporal protein and fat deposition and nitrogen retention efficiency of the fishes were evaluated. L-glutamine supplementation in the diet does not affect weight gain, specific growth rate, the amount of body protein, fat and protein deposition rates, fat:protein ratio, nitrogen retention efficiency, feed:gain ratio, lysine and protein efficiency for growth, body water and fat. In the second one, aimed at investigate effects of dietary supplementation of glutamine on resistance to infection caused by *Streptococcus agalactiae*, 144 adults reverted Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), of the Thailand line, with initial weight of 201 ± 1.51 g were used in an experiment with completely randomized design, six treatments, two replicates and 12 animals per experimental unit. Fishes were fed during 32 days with five experimental diets isonitrogenous, isoenergetic, and five levels of glutamine supplementation (0, 1, 2, 3 and 4%). At the end of this period all fish were challenged by an intraperitoneal injection with 0.1 mL inoculum of *S. agalactiae* 4×10^5 CFU / mL, except for the control group, which was inoculated with 0.1 ml of sterile Brain Heart infusion (BHI) and fed a diet containing 0% supplementation. The infected fish continued to receive diets with five levels of glutamine supplementation. The animals

were observed during twenty-three days after infection. Fishes were maintained in 12 aquariums of 320 liters supplied with single-pass flow-through water and aeration, controlled temperature and they were fed six daily meals during 55 days. During the feeding period was recorded animals feeding behavior and the occurrence of clinical symptoms of meningoencephalitis, such as lethargy, anorexia, erratic swimming and exophthalmia. The level of 2% L-glutamine supplementation in diet provides the lowest mortality rate and greater reduction of symptoms of infection caused by *Streptococcus agalactiae* in adults of Nile tilapia.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A piscicultura, até o final da década passada, era praticada quase exclusivamente em viveiros escavados e em pequenas represas, hoje os tanques-rede despontam como grande aposta para o crescimento da piscicultura. As principais razões para isso são os baixos investimentos, se comparados aos voltados para as práticas tradicionais de produção, as facilidades de implantação e a disponibilidade de locais para sua instalação (Escorvo, 2004).

Estima-se que o investimento necessário para a produção de uma tonelada de peixe em tanque rede seja da ordem de 30-40% daquele para viveiros convencionais. Este fato, aliado às altas produtividades que este sistema de criação de peixes pode proporcionar, tem sido responsável pela grande expansão que se tem observado no país (Bozano & Cyrino, 1999). No entanto este sistema de cultivo pode gerar maior estresse devido ao espaço limitado dentro das gaiolas e à alta taxa de estocagem utilizada, tornando os animais susceptíveis às doenças causadas por agentes infecciosos.

Assim como para espécies terrestres, a sanidade é um dos aspectos mais relevantes para a produção comercial de animais aquáticos. Os riscos do surgimento de enfermidades aumentam proporcionalmente ao aumento das densidades de estocagem de animais, da quantidade de alimento oferecido, de excretas produzidas, dos manejos e transportes frequentes. A flutuação dos parâmetros de qualidade da água em sistemas de cultivo gera estresse, que afeta o sistema imunológico dos peixes deixando-os susceptíveis ao ataque de patógenos.

Doenças comprometem sobremaneira o bom desempenho zootécnico dos animais gerando prejuízos consideráveis ao piscicultor. Dentre elas, as de origem bacteriana são as principais responsáveis pelas perdas em piscicultura comercial.

Outro aspecto importante relacionado à intensificação dos sistemas de criação de peixes é o uso crescente de antimicrobianos na profilaxia e no tratamento de doenças, o que tem gerado um aumento global da resistência bacteriana a múltiplas drogas (Chaudhury et al., 1996), além de acarretarem aumento nos custos de produção.

Os animais criados em condições de cultivo intensivo estão sujeitos a estresse crônico, o qual é um importante agente imunossupressor, tornando-os vulneráveis a várias doenças.

Em todos os setores da produção animal tem-se adotado medidas visando proteger os organismos cultivados contra o desencadeamento de doenças contagiosas. A imunonutrição, termo usado na nutrição clínica humana, pode ser uma importante ferramenta para prevenir doenças e até mesmo minimizar os seus efeitos na cadeia produtiva da aquicultura.

Streptococcus agalactiae é uma bactéria relacionada, no Brasil, a surtos de meningoencefalite e septicemia em tilápia do Nilo. Embora haja relatos de infecções por *Streptococcus agalactiae* em diferentes espécies de peixes, de água salgada e de água doce, no Brasil, os relatos são limitados a tilápia do Nilo, não sendo conhecida ainda a susceptibilidade de espécies nativas de peixe a essa bactéria (Figueiredo, 2007). A doença ataca principalmente animais na fase de engorda, sendo a bactéria causadora altamente virulenta (DL50 inferior a 10^2 bactérias/peixe).

Centenas de espécies de bactérias podem ser patogênicas, tanto para os animais selvagens quanto para os cultivados ou representar uma ameaça potencial sob condições favoráveis (Buller, 2004). Além disso, os custos para os governos e aquicultura privada devido às doenças causadas por bactérias e as tentativas de controlá-las chegam a milhões de dólares anualmente como resultado de perdas de recursos pesqueiros.

A resposta imune dos peixes pode ser dividida em dois tipos: resposta inata ou não específica, que consiste em impedir que os agentes patogênicos tenham acesso ao organismo hospedeiro, podendo eliminar os patógenos e bloquear sua entrada; a resposta imune específica, caracterizada pela especificidade e memória imunológica, induzida por substâncias denominadas imunógenos (Bernstein et al., 1998).

A resposta imune adaptativa em teleósteos tem um tempo de duração curto e acontece após o desenvolvimento completo do sistema imune, o que varia de acordo com a espécie e temperatura do ambiente (Bly & Clem, 1992; Tatner, 1996). Fora destas condições, os peixes são completamente dependentes do sistema imune inato para manutenção da integridade homeostática contra patógenos ou microorganismos oportunistas.

Imunidade inata inclui inflamação, fagocitose, produção de citocinas, atividade de células assassinas, ativação dos complementos, liberação de proteínas de fase aguda e a produção de um amplo espectro de substâncias antimicrobianas, frequentemente mediadas pelos leucócitos do sangue periférico.

O sistema imunitário não específico ou inato em peixes possui grande versatilidade, desempenhando papel importante na resposta imune, visto que o sistema

específico responde lentamente quando comparado ao de mamíferos, principalmente em temperaturas da água abaixo da faixa de conforto para a espécie (Bly & Clem, 1994).

A pele do peixe é a primeira linha de defesa contra patógenos, bem como as membranas mucosas que revestem as brânquias e o trato gastrointestinal. Além das escamas, espinhas e secreção de substâncias tóxicas que podem ocorrer na superfície do peixe, o muco que recobre a pele é um importante mecanismo defensivo, pois contém uma grande variedade de compostos antimicrobianos e anti-parasitários: lisozima, proteases, fatores do complemento, proteína C-reativa, lecitinas, interferons, eicosanóides, transferrina e de vários carboidratos (Manning, 1998; Buchmann et al., 2001; Magnadottir, 2006).

Vários produtos presentes no muco da pele são encontrados também no soro de onde podem ser transportados para a superfície do peixe. Alternativamente, estes componentes podem ser sintetizados pelas células epiteliais ou membranas mucosas (Buchmann, 1999).

As mucosas são extensas em peixes, sendo que suas áreas externas e internas são revestidas por muco. Por este motivo, é importante a relação entre componentes mucosos e sistêmicos do sistema imune. É evidente que ambos estão relacionados, pois os peixes desenvolvem níveis detectáveis de anticorpos após terem sido submergidos em soluções de antígenos e estes anticorpos podem ser detectados no intestino, bile, muco das brânquias e na pele (Nakanishi & Ootake, 1997; Moore et al., 1998). Embora haja evidências de que a estrutura dos anticorpos no muco é ligeiramente diferente dos anticorpos séricos, não foi encontrado em peixes uma classe de Ig secretora análoga ao isotipo IgA dos mamíferos (Clobb & Clem, 1981).

A maioria das espécies de água doce apresenta maior produção de muco em comparação com espécies marinhas. Além disso, a produção de muco é significativamente maior quando submetidos a situações estressantes, tais como agressões químicas, que induzem maior expressão e atividade de agentes antibacterianos (Demers & Boyne, 1997). Em casos especiais, como nos mixinídeos, a produção de muco pode ser tão alta quanto 40% do peso corporal, usando este sistema tanto para a função imune quanto anti-predação. Estes animais, provavelmente terão maiores exigências de glutamina, mesmo em condições adequadas de cultivo.

No entanto, é necessário determinar as características desta atividade antibacteriana e seus mecanismos de ação (Smith et al., 2000). Portanto, este é um campo promissor na imunoterapia de peixe e, provavelmente, uma característica

diferente em comparação com os mamíferos em termos de variedade e sensibilidade contra ação microbiana.

A glutamina é um dos mais abundantes aminoácidos livres no plasma e músculo do peixe, enquanto o glutamato e o produto de sua descarboxilação são neurotransmissores presentes em altas concentrações no cérebro. Além disso, a glutamina é essencial para a síntese de purina e nucleotídeos de pirimidina em todas as células. Através da amoniogênese renal, a glutamina desempenha também um papel importante na regulação do equilíbrio ácido-base no organismo. Por outro lado, a glutamina estimula a síntese protéica muscular em mamíferos (Wu et al., 2007), mas essa informação ainda não está disponível para os peixes. Como principal substrato energético para leucócitos e modulador-chave da produção de citocinas e Óxido Nítrico, a glutamina é crucial para a resposta imune em peixes (Buentello & Gatlin, 1999, Li et al., 2007).

Segundo Singleton et al. (2005), a glutamina pode estimular a síntese de uma proteína inibidora do fator nuclear κ B, conhecida como I κ B. O κ B é um fator fundamental na expressão de genes relacionados com a resposta inflamatória, tais como Óxido Nítrico Sintetase induzível e citocinas inflamatórias. Desta forma a glutamina pode atenuar a resposta inflamatória de animais em desafio imunológico.

A maior parte do glutamato e glutamina no plasma pode ser sintetizada a partir de aminoácidos de cadeia ramificada e acetoglutarato no músculo esquelético. O glutamato é um substrato para síntese de glutamina pela glutamina sintetase ATP-dependente, enquanto que a glutamina é hidrolisada por glutaminase fosfatodependente para gerar glutamato (Anderson et al., 2002). Ambos glutamato e glutamina são importantes substratos para energia em peixes e o metabolismo dos tecidos específicos dos dois aminoácidos está totalmente definido para animais aquáticos.

A glutamina desempenha um importante papel na proliferação dos linfócitos, produção de citocinas pelos linfócitos e macrófagos, fagocitose e produção de superóxidos pelos macrófagos e neutrófilos (Newsholme et al., 1999). A glutamina é pouco oxidada por estas células e pode produzir importantes precursores para o DNA, RNA e síntese protéica.

Monócitos e macrófagos desempenham um papel importante na resposta do sistema imune inato como uma primeira linha de defesa e são capazes de ingerir e eliminar agentes infecciosos. Os macrófagos são células diferenciadas terminais derivados de monócitos circulantes no sangue, mas são muito ativos e caracterizados

por altas taxas de secreção de proteínas, no entanto eles são incapazes de sintetizar glutamina.

Taxas muito elevadas de utilização de glutamina ocorrem em macrófagos (Newsholme et al., 1987). Estudos conduzidos por Parry-Billings et al. (1990), com macrófagos da cavidade peritoneal de ratos demonstraram que as taxas de fagocitose diminuíram em todas as concentrações de glutamina *in vitro* abaixo de 0,6 mmol / L e que a proliferação de linfócitos humanos foram igualmente reduzidas com as diminuições das concentrações de glutamina.

Wallace & Keast (1992) observaram, em macrófagos de camundongos, que uma redução em meio de cultura com glutamina de 0,5 mmol / L de 0,125 mmol / L foi acompanhada por uma diminuição de 25% na síntese de RNA, demonstrando a importância da glutamina para a síntese de nucleotídeos.

A secreção de interleucina 1 (IL-1) a partir de macrófagos foi dependente da presença da glutamina no meio. Também foi demonstrado que neutrófilos de rato cultivados em culturas isoladas utilizaram glutamina em taxas mais elevadas do que glicose (Pithon Curi et al., 1997).

A expressão de antígenos derivados de macrófagos e a sua função em voluntários saudáveis foi influenciada *in vitro* por glutamina (Spittler et al., 1995). A glutamina atua como precursor da síntese de nucleotídeos e combustível primário para linfócitos, e altas taxas de utilização ocorre mesmo em linfócitos em repouso (Ardawi, 1988). O'Riordain et al. (1994) constataram que a síntese de DNA das células T foi aumentada em pacientes no pós-operatório que receberam suplementação de glutamina na nutrição parenteral total.

Estudos realizados por Chang et al. (1999) demonstraram que a adição de glutamina em cultura de linfócitos *in vitro* desafiados com vírus vivo atenuado favorece a produção de interferon gama (IFNg). Outra evidência de que a glutamina é importante na resposta da interleucina 2 (IL-2) provém de estudos com ratos alimentados com dietas suplementadas com glutamina (Kew et al., 1999). Camundongos que receberam suplementação de glutamina apresentaram maior produção de IL-2 em linfócitos desafiados comparados com os ratos alimentados com dieta controle, isenta de glutamina.

A importância da glutamina para o funcionamento ideal dos neutrófilos não é tão bem definida, comparando com o que é conhecido sobre as exigências para o ótimo funcionamento de linfócitos e macrófagos.

Os neutrófilos desempenham um importante papel na defesa do hospedeiro, fagocitando e destruindo bactérias invasoras. Embora o substrato energético para neutrófilos seja a glicose, é sugerido por Vlessis et al. (1995) que os neutrófilos são capazes de utilizar a glutamina quando a concentração de glicose é limitada. Um estudo conduzido por Ogle et al. (1994) sobre o efeito da glutamina na função de neutrófilos em pacientes pediátricos queimados mostrou evidências da melhora de sua função bactericida in vitro pela suplementação de glutamina.

Em um estudo com pacientes no pós-operatório, Furukawa et al. (1997) investigaram o papel da glutamina na morte de *Escherichia coli* por neutrófilos. Os neutrófilos foram cultivadas com *Escherichia coli* opsonizada em meios suplementados com diferentes concentrações de glutamina. O número de *Escherichia coli* viável diminuiu 26% quando o meio foi suplementado com 1 mmol / l de glutamina, comparado com meios suplementados com 0,5 mmol / l de glutamina. No entanto, diferentes concentrações de suplementação de glutamina in vitro não causaram mudança significativa no número de *E. coli* viável quando cultivadas com neutrófilos de voluntários saudáveis. As concentrações plasmáticas de glutamina foram significativamente menores nos pacientes do que no grupo controle.

Um estudo mais aprofundado por Furukawa et al. (2000) examinou o papel da glutamina na fagocitose in vitro de neutrófilos dos pacientes no pós-operatório. Observou-se diminuição significativa dos níveis de glutamina no soro. Usando uma técnica de cultura, os pesquisadores observaram que a fagocitose de neutrófilos de grânulos fluorescentes foi significativamente maior na presença de 2 mmol glutamina / l do que com pouco ou nenhuma suplementação glutamina.

Foi descoberto recentemente o efeito da diminuição plasmática da glutamina na expressão de proteínas de choque térmico dos neutrófilos. A resposta de choque térmico em células inflamatórias supostamente fornece autoproteção para células do sistema imune contra os radicais livres.

Estudando o efeito da glutamina na dieta de juvenis de carpa comum (*Cyprinus carpio* var. Jian), Yan & Qiu-Zhou (2006) forneceram dietas contendo 0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 e 2% de L-glutamina durante 80 dias, e observaram que os peixes alimentados com 1,2% de L-glutamina apresentaram melhora no desempenho, aumento da altura das vilosidades intestinais e melhora na função intestinal com aumento da atividade das enzimas do intestino. Dessa forma a suplementação de L-glutamina pode ter importância para a produção de peixes e a prevenção de danos ao epitélio intestinal.

Utilizando a suplementação de Aminogut®, fonte de L-glutamina e L-glutamato, na proporção de 0, 1, 2, 3% da dieta para juvenis de tilápia do Nilo, Silva (2008) não observou efeitos nos peixes alimentados com dietas suplementadas com L-glutamina e L-glutamato para desempenho, altura dos vilos e composição química da carcaça.

Estes resultados podem ter ocorrido em função das ótimas condições de cultivo, visto que os parâmetros de desempenho nem sempre são satisfatórios para determinar os níveis de suplementação de L-glutamina na dieta (House et al., 1994).

Os aminoácidos da família da arginina, a glutamina, glutamato, prolina, aspartato, asparagina, ornitina e citrulina são interconvertíveis e recentes estudos bioquímicos revelaram que estes aminoácidos desempenham funções reguladoras no metabolismo dos nutrientes e resposta imune (Fu et al., 2005; Rhoads et al., 2006; Morris, 2006; Li et al., 2007).

A glutamina tem funções metabólicas específicas e importantes, e é considerado um aminoácido condicionalmente essencial em algumas espécies, quando há condições inflamatórias, como infecção ou ferimento (Newsholme, 2001) ou no caso de quadros de doença com catabolismo (Smith & Wilmore, 1990).

O glutamato e a glutamina tem uma via metabólica comum no enterócito. Wu et al. (1995) relataram que, no intestino delgado, a glutamina é metabolizada principalmente via hidrólise da glutamina em glutamato mais amônia pela glutaminase e a degradação subsequente do glutamato via transaminação.

O glutamato, especialmente o derivado da dieta, pode substituir a glutamina na geração de energia e síntese de aminoácidos não-essenciais. Do ponto de vista estritamente metabólico, a glutamina e o glutamato são intercambiáveis como importante substrato para o sistema celular da mucosa (Reeds & Burrin, 2001). Entretanto, foi observado recentemente que as células da mucosa intestinal das criptas e das vilosidades sintetizam simultaneamente glutamina, sugerindo que esta pode não ter um papel estritamente metabólico no intestino (Reeds & Burrin, 2001). Esta observação e outras linhas de evidência indicam que a glutamina tem um papel mais regulatório que metabólico ao ativar uma série de genes associados com o ciclo de progressão das células na mucosa e que a inibição da síntese de glutamina inibe tanto a proliferação, quanto a diferenciação de culturas de células da mucosa (Rhoads et al., 1997; Blikslager et al., 1999; Reeds & Burrin, 2001).

A glutamina além do importante papel no desenvolvimento da mucosa intestinal possui também outras funções na estrutura da mucosa, como precursora de n-

acetilglucosamina e n-acetilgalactosamina para a síntese de mucina e também garantindo a eficiência das junções de oclusão, componentes estes usados para garantir a manutenção da barreira passiva de entrada bacteriana na mucosa (Wu et al., 1995).

O trato gastrintestinal é o principal órgão de consumo e de utilização de glutamina. A mucosa intestinal contém células secretórias, imunes e neuro-endócrinas, além dos inúmeros enterócitos absorptivos. Portanto, o intestino percebe o ambiente nutricional e antigênico e atua na triagem imunológica e na defesa, assim como gera respostas endócrinas ao ambiente do lúmen (Burrin et al., 2000).

A suplementação de glutamina na dieta proporciona aumento no ganho de peso, consumo de ração, eficiência alimentar, desenvolvimento intestinal e atividade das enzimas digestivas em carpas (Yan & Qiu-Zhou, 2006).

Os resultados de estudos avaliando os efeitos de fontes alternativas de proteínas na resposta e resistência às doenças em peixes não são consistentes, porém alguns estudos têm sugerido que a suplementação dietética com aminoácidos melhora a resistência às doenças infecciosas (Lim et al., 2007).

A utilização de glutamina e glutamato em dietas já foi descrita por diversos autores para suínos e frangos de corte, mas existem poucos estudos com peixes. Desta forma, existem lacunas quanto aos níveis de L-glutamina e L-glutamato e os efeitos que estes aminoácidos podem causar para as diferentes espécies de peixes.

Portanto, o estudo dos efeitos da glutamina na imunidade inata e na resistência dos peixes às infecções bacterianas pode gerar alternativas para a prevenção de doenças e aumento da biosegurança na produção de peixes no Brasil. Assim, justifica-se a necessidade de avaliar os efeitos da suplementação de glutamina na ração de tilápia do Nilo sobre o desempenho e resistência à infecção bacteriana.

A presente tese foi elaborada seguindo-se as normas para redação da Tese (UFV, 2000) em forma de capítulos e o capítulo foi elaborado com base nas normas para elaboração e publicação de artigos técnicos científicos na Revista Brasileira de Zootecnia.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON P.M.; BRODERIUS M.A.; FONG K.C.; TSUI K.N.T.; CHEW S.F.; IP Y.K. Glutamine synthetase expression in liver, muscle, stomach and intestine of *Bostrichthys sinensis* in response to exposure to a high exogenous ammonia concentration. **Journal of Experimental Biology**, v.205, p.2053–2065, 2002.
- ARDAWI, M.S.M. Glutamine and glucose metabolism in peripheral blood lymphocytes. **Metabolism**, v. 37, p. 99–103, 1988.
- BERNSTEIN, R.M.; SCHLUTER, S.F.; MARCHALONIS, J.J. Immunity. In: EVANS, D.H. *The physiology of fishes*. 2ed. Boca Raton: **CRC Press**, 1998. p.215-242.
- BLIKSLAGER, A.T.; RHOADS J.M.; BRISTOL, D.G.; ROBERTS, M.C.; ARGENZIO R.A. Glutamine and transforming growth factor- α stimulate extracellular regulated protein kinase and enhance recovery of villous surface area in porcine ischemic-injured intestine. **Surgery**, v. 125, p.186-194, 1999.
- BLY, J.E.; CLEM, L.W. Temperature adaptation of lymphocyte function in fish. In: COSSINS, A.R. (Ed.). *Temperature adaptation of biological membranes*, London: **Portland Press**, 1994. p.169-184.
- BLY, J.E.; CLEM, L.W. Temperature and teleost immune functions. **Fish & Shellfish Immunology**; v. 2, p.159-171, 1992.
- BOZANO, G.L.N.; CYRINO, J.E.P. Produção intensiva de peixes em tanques-rede e gaiolas - Estudos de casos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 3, 1999, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, p 53-60. 1999.
- BUCHMANN, K. Immune mechanisms in fish skin against monogeneans—a model. **Folia Parasitol**, v. 46, p. 1-9, 1999.
- BUCHMANN, K; LINDENSTROM, T; BRESCIANI, J. Defence mechanisms against parasites in fish and the prospect for vaccines. **Acta Parasitol**, v. 46, p.71-81, 2001.
- 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. 513–521, 1999.
- BULLER, N.B. **Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual**. CABI, UK. 361p., 2004.
- BURRIN, D.G.; STOLL, B.; JIANG, R.; Chang, X.; Hartmann, B.; Holst, J.J.; Greeley, G.H.; Reeds, P.J. 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.

- CHANG, W.K.; YANG, K.D.; SHAIQ, M.F. Lymphocyte proliferation modulated by glutamine: involved in the endogenous redox reaction. **Clinical and Experimental Immunology**, V.117, P.482–488, 1999.
- CHAUDHURY, A.; NATH, G.; SHUKLA, B.N.; SANYAL, S.C. Biochemical characterization, enteropathogenicity and antimicrobial resistance plasmids of clinical and environmental *Aeromonas* isolates. **Journal of Medical Microbiology**, v.44, p. 434–437, 1996.
- CLOBB, CJ; CLEM, LW. Phylogeny of immunoglobulin structure and function. XII. Secretory immunoglobulins in the bile of the marine teleost *Archosargus probatocephalus*. **Molecular Immunology**, v.18, p.615-619, 1981.
- DEMERS, NE; BAYNE, CJ. The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. **Developmental and Comparative Immunology**, v.21, p.63-73, 1997.
- ESCORVO, J.D. 2004. **O agronegócio da aqüicultura: perspectivas e tendências. (Zootecnia e o Agronegócio – Zootec. Brasília, 28-31 maio 2004)**. Disponível em: ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/agronegocio_aquicultura.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2007.
- FIGUEIREDO, H.C.P. Avanços e desafios na sanidade de peixes no Brasil. In: Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes. Botucatu, 2, 2007, Botucatu. **Anais...Botucatu 2007 (CD ROM)**.
- FU, W.J.; HAYNES, T.E.; KOHLI, R.; HU, J.B.; SHI, W.; SPENCER, T.E.; CARROLL, R.J.; MEININGER, C.J.; WU, G. Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. **Journal of Nutrition**, v.135, p. 714–721, 2005.
- FURUKAWA, S.; SAITO, H.; FUKATSU, K.; HASHIGUCHI, Y.; INABA, T.; LIN, M.T.; Inoue, T.; Han, I.; Matsuda, T.; Muto, T. Glutamine enhanced bacterial killing by neutrophils from postoperative patients. **Nutrition**, v. 13, p.863–869, 1997.
- FURUKAWA, S.; SAITO, H.; Inoue, T.; MATSUDA, T.; FUKATSU, K.; HAN, I.; IKEDA, S.; HIDEMURA, A. Supplemental glutamine augments phagocytosis and reactive oxygen intermediate production by neutrophils and monocytes from postoperative patients in vitro. **Nutrition**, v. 16, p. 323–329, 2000.
- HOUSE, J.D.; PENCHARZ, P.B.; BALL, R.O. Glutamine supplementation to total parenteral nutrition promotes extracellular fluid expansion in piglets. **The Journal of Nutrition**, v.131, p.396-404, 1994.
- KEW, S.; WELLS, S.; YAQOUB, P.; WALLACE, F.A.; MILES, E.A.; CALDER, P.C. Dietary glutamine enhances murine T-lymphocyte responsiveness. **Journal of Nutrition**, v. 129, p.1524–1531, 1999.
- LI, P.; YIN, Y.L.; LI, D.F.; KIM, S.W.; WU, G. Amino acids and immune function. **The British Journal of Nutrition**, v. 98, p. 237–252, 2007.

- LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M.; KLESIUS, P.; SHOEMAKER, C. Relationship between nutrition and fish health. In: Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes, 2, Botucatu. **Anais...Botucatu 2007** (CD ROM).
- MAGNADOTTIR, B. Innate immunity of fish (overview). **Fish Shellfish Immunology**, v.20, p.137-151, 2006.
- MANNING, MJ. Immune defence systems. In: **Black KD, Pickering AD editors. Biology of farmed fish**. Sheffield: Sheffield Academic Press; 1998. p.180-221.
- MOORE, JD; OTOTAKE, M.; NAKANISHI, T. Particulate antigen uptake during immersion immunisation of fish: The effectiveness of prolonged exposure and the roles of skin and gill. **Fish Shellfish Immunology**, v. 8, p.393-407, 1998.
- MORRIS Jr., S.M. Arginine: beyond protein. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, p. 508S–512S, 2006.
- NAKANISHI, T.; OTOTAKE, M. Antigen uptake and immune responses after immersion vaccination. **Developments in Biological Standartization**, v. 90, p.59-68, 1997.
- NEWSHOLME, P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? **Journal of Nutrition**, v. 131, p.2515S-2522S, 2001.
- 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. 316–324, 1999.
- NEWSHOLME, E.A.; CRABTREE, B.; ARDAWI, M.S.M. Rates of utilisation and fates of glucose, glutamine, pyruvate, fatty acids and ketone bodies by mouse macrophages. **Biochemical Journal**, v.242, p.631–636, 1987.
- OGLE, C.K.; OGLE, J.D.; MAO, J.X.; SIMON, J.; NOEL, J.G.; LI, B.G.; ALEXANDER, J.W. Effect of glutamine on phagocytosis and bacterial killing by normal and paediatric burn patient neutrophils. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v.18, p. 128–133, 1994.
- O’RIORDAIN, M.G.; FEARON, K.C.H.; ROSS, J.A.; ROGERS, P.; FALCONER, J.S.; BARTOLO, D.C.C.; GARDEN, O.J.; CARTER, D.C. Glutaminesupplemented total parenteral nutrition enhances T-lymphocyte response in surgical patients undergoing colorectal resection. **Annals of Surgery**, v. 220, p.212–221,1994.
- PARRY-BILLINGS, M.; EVANS, J.; CALDER, P.; NEWSHOLME, E.A. Does glutamine contribute to immunosuppression after major burns? **Lancet**, v.336, p. 523–525, 1990.
- PITHON-CURI, T.C. P.; PIRES, M.M.; AZEVEDO, R.; ZORN, T.M.T.; CURI, R. Glutamine utilization by rat neutrophils: Presence of phosphate-dependent glutaminase. **American Journal of Physiology**, v. 273, p.C1124–C1129, 1997.

- REEDS, P.J.; BURRIN, D.G. Glutamine and the bowel. **Journal of Nutrition**, v. 131, p.2505 -2508, 2001.
- RHOADS, J.M.; NIU, X.M.; ODLE, J.; GRAVES, L.M. Role of mTOR signaling in intestinal cell migration. **American Journal of Physiology**, v. 291, p.510–517, 2006.
- RHOADS, J.M.; ARGENZIO, R.A.; CHEN, W.; RIPPE, R.A.; WESTWICK, J.K.; COX, A.D.; BERSCHNEIDER, H.M.; BRENNER, D.A. L-glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates motogen-activated protein kinase. **American Journal of Physiology**, v. 272, p.943-953, 1997.
- SILVA, L.C. **L-glutamina e L-glutamato em dietas para tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá/UEM, 2008. 50p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Produção Animal/UEM, 2008.
- SINGLETON, K. D.; BECKEY, V. E.; WISCHMEYER, P. E. Glutamine prevents activation of nf-[kappa]b and stress kinase pathways, attenuates inflammatory cytokine release, and prevents acute respiratory distress syndrome (ARDS) following sepsis. **Shock**, v. 24, p. 583-589, 2005.
- SMITH, V.J.; FERNANDES J.M.O.; JONES S.J.; KEMP G.D.; TATNER, M.F. Antibacterial proteins in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Fish Shellfish Immunology**, v. 10, p.243-260, 2000.
- SMITH, R.J; WILMORE, D.W. Glutamine nutrition and requirements. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 14, p.94 -99, 1990.
- SPITTLER, A.; WINKLER, S.; GOTZINGER, P.; OEHLER, R.; WILLHEIM, M.; TEMPFER, C.; WEIGEL, G.; FUGGER, R.; BOLTZ-NITULESCU, G.; ROTH, E. Influence of glutamine on the phenotype and function of human monocytes. **Blood**, v. 86, p.1564–1569, 1995.
- TATNER, M.F. Natural changes in the immune system of fish. In: G. Iwama and T. Nakanishi, Editors, **The Fish Immune System**, Academic Press, p. 255–288.1996.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Normas para redação de teses**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 2p.
- VLESSIS, A.A.; GOLDMAN, R.K.; TRUNKEY, D.D. New concepts in the pathophysiology of oxygen metabolism during sepsis. **British Journal of Surgery**, v. 82, p.870–876, 1995.
- WALLACE, C.; KEAST, D. Glutamine and macrophage function. **Metabolism**, v. 41, p.1016–1020, 1992.
- 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 nutrition and production. **Livestock Science**, v.112, p.8–22, 2007.

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.37, p.R334-R342, 1995..

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.

Suplementação de glutamina na dieta de tilápia do Nilo

RESUMO - Objetivando-se avaliar o efeito da suplementação de L-glutamina na dieta, 300 adultos revertidos de tilápia (*Oreochromis niloticus*), da linhagem tailandesa, com peso inicial de $201 \pm 1,51$ g, foram utilizados em um experimento com delineamento inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos (0, 1, 2, 3 e 4% de suplementação de glutamina na dieta), sendo rações isoenergéticas e isolisínicas digestíveis, mantendo-se as relações mínimas dos demais aminoácidos com a lisina constantes; cinco repetições por tratamento e doze peixes por unidade experimental. Os peixes foram mantidos em 25 aquários de 320 litros dotados de abastecimento de água, temperatura controlada e aeração individuais; e alimentados por seis refeições diárias durante 32 dias. Avaliaram-se os parâmetros de desempenho, a composição corporal, a deposição de proteína e gordura corporais e a eficiência de retenção de nitrogênio dos peixes. A suplementação de L-glutamina na ração não afeta o ganho de peso, a taxa de crescimento específico, o teor de proteína corporal, as taxas de deposição de gordura e de proteína, relação de deposição de gordura:proteína eficiência de retenção de nitrogênio, a conversão alimentar, eficiência de lisina e protéica para ganho, umidade corporal e gordura corporal.

Palavras-chave: aminoácido, desempenho, *Oreochromis niloticus*

Glutamine supplementation in the diet of Nile tilapia

ABSTRACT - The current study was aimed at evaluate the effect of L-glutamine supplementation in the diet. Three hundred reverted Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), thailand line ($201 \pm 1,51g$), were allotted at a completely randomized design, with five treatments (0, 1, 2, 3 and 4.00% of glutamine supplementation in the diet), all of then were isoenergetic and digestible isolysinic, and minimum rations between the other amino acids with the lysine, five replicates by treatment and twelve fishes per experimental unit. Fishes were maintained in 25 aquariums of 320 liters supplied with single-pass flow-through water and aeration, controlled temperature and they were fed six daily meals during 32 days. Performance, corporal composition, corporal protein and fat deposition and nitrogen retention efficiency of the fishes were evaluated. L-glutamine supplementation in the diet does not affect weight gain, specific growth rate, the amount of body protein, fat and protein deposition rates, fat:protein ratio, nitrogen retention efficiency, feed:gain ratio, lysine and protein efficiency for growth, body water and fat.

Key words: amino acid, performance, *Oreochromis niloticus*

Introdução

Tem-se registrado uma rápida transformação dos sistemas cultivo na piscicultura brasileira, principalmente com a implementação de projetos de produção intensiva em reservatórios, através do uso de tanques-rede e gaiolas (Ostrensky et al., 2008).

A intensificação da criação de tilápias com o uso de rações como principal fonte de nutrientes, elevou o teor de nitrogênio excretado no meio. A formulação de rações utilizando a suplementação de aminoácidos industriais com base no conceito de proteína ideal pode minimizar este problema, uma vez que pode aumentar as taxas de retenção de nitrogênio dos peixes (Bomfim et al., 2008a; Quadros et al., 2009; Takichita et al., 2009).

A glutamina é um dos mais abundantes aminoácidos livres no plasma e músculo do peixe, além disso, é essencial para a síntese de purina e nucleotídeos de pirimidina em todas as células. Por outro lado, a glutamina estimula a síntese protéica muscular em mamíferos (Wu et al., 2007), mas essa informação ainda não está disponível para os peixes.

A maior parte do glutamato e glutamina no plasma pode ser sintetizada a partir de aminoácidos de cadeia ramificada e acetoglutarato no músculo esquelético. O glutamato é um substrato para síntese de glutamina pela glutamina sintetase ATP-dependente, enquanto que a glutamina é hidrolisada por glutaminase fosfatodependente para gerar glutamato (Anderson et al., 2002). Ambos, glutamato e glutamina são importantes substratos para energia em peixes e o metabolismo dos tecidos específicos dos dois AA está totalmente definido para animais aquáticos.

Yan & Qiu-Zhou (2006) em estudo com juvenis de carpa comum (*Cyprinus carpio* var. Jian), forneceram dietas contendo 0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 e 2% de L-glutamina durante 80 dias, e observaram que os peixes alimentados com 1,2% de L-glutamina apresentaram melhora no desempenho, aumento da altura das vilosidades intestinais e

melhora na função intestinal com aumento da atividade das enzimas do intestino. Dessa forma a suplementação de L-glutamina pode ter importância para a produção de peixes e a prevenção de danos ao epitélio intestinal dos animais.

O glutamato e a glutamina tem uma via metabólica comum no enterócito. Wu et al. (1995) relataram que, no intestino delgado, a glutamina é metabolizada principalmente via hidrólise da glutamina em glutamato mais amônia pela glutaminase e a degradação subsequente do glutamato via transaminação.

Do ponto de vista estritamente metabólico, a glutamina e o glutamato são intercambiáveis como importante substrato para o sistema celular da mucosa (Reeds & Burrin, 2001). Entretanto, foi observado recentemente que as células da mucosa intestinal das criptas e das vilosidades sintetizam simultaneamente glutamina, sugerindo que esta pode não ter um papel estritamente metabólico no intestino (Reeds & Burrin, 2001). Esta observação e outras linhas de evidência indicam que a glutamina tem um papel mais regulatório que metabólico ao ativar uma série de genes associados com o ciclo de progressão das células na mucosa e que a inibição da síntese de glutamina inibe tanto a proliferação, quanto a diferenciação de culturas de células da mucosa (Rhods et al., 1997; Blikslager et al., 1999; Reeds & Burrin, 2001).

A utilização de glutamina e glutamato em dietas já foi descrita por diversos autores para suínos e frangos de corte, mas poucos trabalhos foram feitos com peixes, não se sabendo ainda quais os níveis adequados da L-glutamina e os efeitos que este aminoácido pode causar para as diferentes espécies de peixes.

Desta maneira, realizou-se este estudo com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação dietética de glutamina no desempenho de adultos de tilápia do Nilo.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido entre os meses de agosto e setembro de 2009, no Laboratório de Nutrição de Peixes do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizado no município de Viçosa, Minas Gerais, com duração do período experimental estipulado em 32 dias.

Foram utilizados 300 adultos revertidos de tilápia (*Oreochromis niloticus*), da linhagem tailandesa, com peso inicial de $201 \pm 1,51$ g, em um experimento com delineamento inteiramente casualizado, composto por cinco níveis de suplementação de glutamina, cinco repetições por nível e doze peixes por unidade experimental.

Os tratamentos foram constituídos de cinco rações experimentais isoproteicas (30,50% de proteína bruta), isoenergéticas, isocálcicas e isofosfóricas, de forma a atender as exigências nutricionais mínimas sugeridas pelo NRC (1993) e isolisínicas digestíveis, constituindo cinco tratamentos. Para tanto, uma dieta basal foi suplementada com quatro níveis de L-glutamina, resultando nas cinco dietas experimentais (0, 1, 2, 3 e 4% de suplementação de glutamina na ração).

A ração basal foi formulada para atender as exigências nutricionais mínimas sugeridas pelo NRC (1993), exceto para a lisina digestível (Tabela 1). O nível de lisina digestível usado foi de 1,40%, conforme estabelecido por Jackson & Capper (1982) e para que a ração fosse isolisínica digestível, a lisina sintética (L-lisina-HCl) foi adicionada. Os demais aminoácidos foram suplementados às rações para que as relações da treonina:lisina digestível ficasse em 96,0% e metionina+cistina em 66% (seis pontos percentuais acima do preconizado por Bomfim et al. (2010) e Bomfim et al. (2008b), de modo a garantir que não houvesse deficiência desses aminoácidos. A relação dos demais aminoácidos:lisina foram mantidas no mínimo seis pontos acima daquelas estimadas a partir dos valores de exigência contidos no NRC (1993), garantindo, assim,

o suprimento mínimo das suas exigências. As rações foram mantidas isonitrogenadas por meio da substituição da L-alanina por L-glutamina, à medida que o nível de suplementação aumentou.

Tabela 1 – Composição percentual e química da ração basal (matéria natural)

| | |
|--|------------|
| Ingredientes (%) | |
| Farelo de soja | 27,73 |
| Milho | 45,02 |
| Glúten de milho 60 | 15,00 |
| Óleo de soja | 2,60 |
| L-Lisina-HCl | 0,60 |
| DL-Metionina | 0,11 |
| L-Treonina | 0,51 |
| L-Triptofano | 0,14 |
| L-Arginina | 0,07 |
| L-Glutamina | 0,00 |
| L-Alanina | 4,00 |
| Fosfato bicálcico | 3,21 |
| Suplemento Vitaminico e Mineral ¹ | 0,50 |
| Vitamina C ² | 0,05 |
| Sal comum | 0,44 |
| BHT (Antioxidante) | 0,02 |
| Total | 100 |
| Composição calculada ³ | |
| Proteína Bruta (%) | 30,50 |
| Energia Digestível (kcal/kg) | 2990,00 |
| Fibra Bruta (%) ⁴ | 2,44 |
| Ca Total (%) ⁴ | 0,88 |
| P Disg (%) | 0,59 |
| Lisina (%) Digest | 1,40 |
| Met. + Cist (%) Digestível | 0,92 |
| Treonina Digestível (%) | 1,34 |
| Triptofano Digestível (%) | 0,36 |
| Arginina Digestível (%) | 1,39 |

¹ Composição por quilograma do produto: Vit. A, 1.200.000 UI; Vit. D₃, 200.000 UI; Vit. E, 1.200 mg; Vit. K₃, 2.400 mg; Vit. B₁, 4.800 mg; Vit. B₂, 4.800 mg; Vit. B₆, 4.800 mg; Vit. B₁₂, 4.800 mg; Vit. C, 48 g; ác. Fólico, 1.200 mg; pantotenato de Ca, 12.000 mg; Vit. C, 48.000 mg; biotina, 48 mg; cloreto de colina, 108 g; niacina, 24.000 mg; Fe, 50.000 mg; Cu, 3.000 mg; Mn, 20.000 mg; Zn, 30.000 mg; I, 100 mg; Co, 10 mg; Se, 100 mg.

² Vit. C: sal cálcica 2-monofosfato de ácido ascórbico, 42% de princípio ativo

³ Valores estimados com base nos coeficientes de digestibilidade dos ingredientes para os aminoácidos e fósforo, de acordo com Rostagno et al. (2005) e Furuya (2000), e de energia, de acordo com Boscolo et al. (2002) e Pezzato et al. (2002).

⁴ Composição calculada segundo Rostagno et al. (2005)

Os animais foram mantidos em 25 aquários de polietileno, com capacidade volumétrica de 320 litros e volume útil de 300 litros, dotados de sistemas individuais de aeração, abastecimento de água e escoamento de fundo, dispostos em sistema de recirculação e renovação mínima de água de 25% por dia.

A água de abastecimento dos aquários foi proveniente do sistema de tratamento de água da Universidade Federal de Viçosa – UFV, previamente declorada e aquecida por resistências elétricas, com temperatura controlada por termostato. A temperatura da água foi mantida em torno de 28°C e aferida diariamente, às 8:00 e 18:00 horas, com o auxílio de um termômetro de bulbo de mercúrio, graduado de 0 a 50°C. Os controles do pH e do teor de oxigênio dissolvido na água foram aferidos a cada sete dias, respectivamente, por intermédio de um potenciômetro e oxímetro.

O fotoperíodo foi mantido em 12 horas de luz, por meio de iluminação proveniente de lâmpadas mistas, controlada por *timer* automático.

As rações experimentais foram peletizadas e, para minimizar o impacto negativo causado pela lixiviação e imbalances pós-absortivos com a utilização de aminoácidos livres, foram fornecidas diariamente, em seis refeições (8:00; 10:00; 12:00; 14:00; 16:00 e 18:00 horas), sendo que, em cada refeição, as dietas foram fornecidas em pequenas quantidades, com sucessivos repasses, em quantidades que possibilitaram a ingestão máxima, reduzindo, assim, as perdas.

Foi realizada a limpeza dos aquários uma vez a cada dois dias após as leituras da temperatura da água, por sifonagem, para retirada das fezes e a limpeza dos filtros mecânicos uma vez por semana.

Para as análises corporais, 60 peixes foram insensibilizados, sacrificados e congelados no início do período experimental e no final, de forma idêntica, seis peixes com pesos mais próximos ao peso médio da respectiva unidade, para análises corporais.

Foram avaliados os seguintes índices zootécnicos: ganho de peso, taxa de crescimento específico, taxa de sobrevivência, conversão alimentar, eficiência protéica para ganho, eficiência de lisina para ganho, deposição diária de proteína e gordura corporais, relação de deposição de gordura:proteína, composição química corporal (teores de umidade, proteína e gordura corporais) e eficiência de retenção de nitrogênio.

Para determinação da taxa de crescimento específico (TCE), foi empregada a equação abaixo, utilizando-se transformações logarítmicas.

$$\text{TCE} = \frac{\log \text{ natural do peso final (g)} - \log \text{ natural do peso inicial (g)}}{\text{Período experimental (dias)}} \times 100$$

A relação de deposição de gordura:proteína foi calculada dividindo-se a taxa de deposição diária de gordura corporal pela taxa de deposição diária de proteína corporal.

As eficiências de utilização de proteína e lisina para ganho foram calculadas dividindo-se o ganho de peso dos peixes pelo consumo de proteína bruta ou de lisina digestível, respectivamente.

As análises bromatológicas das rações e das amostras dos peixes foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (LNA/DZO) da Universidade Federal de Viçosa – UFV, conforme procedimentos descritos por Silva & Queiroz (2003).

As deposições de proteína e de gordura corporais foram calculadas pela diferença da proteína ou gordura corporal final e inicial, respectivamente, em mg, dividido pelo período experimental (dias).

A eficiência de retenção de nitrogênio, expressa em porcentagem, foi calculada pela diferença do nitrogênio corporal final e inicial, dividido pelo nitrogênio total consumido, multiplicado por 100.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SAS - Sistema de Análises Estatísticas, segundo o modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

em que:

Y_{ij} = valor observado para variável estudada;

μ = média geral da característica;

T_i = efeito do tratamento i , sendo $i = 0, 1, 2, 3$ e 4% de suplementação do aminoácido (%);

ϵ_{ij} = erro aleatório associado a cada observação.

Os dados foram submetidos a análises de variância e regressão (linear, quadrático ou descontínuo “Linear Response Plateau”) em nível de 5% de probabilidade, conforme o melhor ajustamento obtido para cada variável, com base na significância dos coeficientes de regressão pelo teste F, no coeficiente de determinação, na soma de quadrado dos desvios e no fenômeno em estudo.

Resultados e Discussão

Durante o período experimental a temperatura da água apresentou os valores de $27,4 \pm 0,86^\circ\text{C}$, o pH de $6,7 \pm 0,15$ e o oxigênio dissolvido de $4,5 \pm 0,40$ ppm, o que caracterizou uma adequação do sistema de abastecimento de água e de aeração, possibilitando o controle da temperatura e da aeração uniformes, durante o período experimental. Estes valores observados encontram-se dentro da faixa recomendada para a criação desta espécie, segundo Furuya (2000) e Kubitza (2000).

O aumento dos níveis de suplementação de glutamina na ração não influenciou ($P > 0,05$) os parâmetros de desempenho e a eficiência alimentar dos peixes (Tabela 2).

Tabela 2 – Desempenho de adultos de tilápia do Nilo em função da suplementação de glutamina na ração

| Parâmetro | Suplementação de glutamina (%) | | | | | CV ¹ (%) |
|--|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|---------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| Peso inicial (g) | 202,9 | 199,3 | 200,2 | 201,6 | 202,4 | 3,86 |
| Ganho de peso (g) | 73,61 | 83,63 | 86,83 | 98,71 | 84,69 | 22,20 |
| Taxa de crescimento específico (%/dia) | 0,96 | 1,05 | 1,11 | 1,24 | 1,27 | 20,21 |
| Taxa de sobrevivência (%) | 96,66 | 100 | 100 | 96,66 | 100 | - |
| Conversão alimentar (g/g) | 1,97 | 1,61 | 1,59 | 1,42 | 1,61 | - |
| Eficiência protéica para ganho (g/g) | 1,81 | 2,06 | 2,14 | 2,43 | 2,08 | 22,20 |
| Eficiência de lisina para ganho (g/g) | 39,44 | 44,80 | 46,52 | 52,88 | 45,37 | 22,20 |

¹CV– coeficiente de variação

De forma semelhante, Silva (2008) também não encontrou diferença nos parâmetros de desempenho de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com rações suplementadas com níveis crescentes de Aminogut (mínimos de 10% de L-glutamina e 10% de L-glutamato) na proporção de 0 a 3% da dieta. No entanto, Yan & Qiu-Zhou (2006) observaram efeito positivo nos parâmetros de desempenho de carpas alimentadas com rações suplementadas com 1,2% de L-glutamina.

Embora não tenha sido observada variação significativa, foi constatado um aumento gradativo de até 34% no valor absoluto do ganho de peso ($P=0,19$) e melhora de até 27,9% na conversão alimentar quando o nível de suplementação de glutamina aumentou de 1 para 3%. Esses resultados estariam coerentes com os obtidos por Yi & Allee (2008), que verificaram que a suplementação de 1% de glutamina aumentou a taxa de crescimento específico e a eficiência alimentar.

Possivelmente, as diferenças estatísticas, no presente experimento, não foram detectadas devido ao alto valor dos coeficientes de variação apresentados pelas variáveis estudadas. Esta alta variação, provavelmente, está relacionada ao efeito dos constantes confrontos para estabelecer as relações hierárquicas nos cardumes (Kaufmann, 1983; Karavanich & Atema, 1993). As relações de dominância foram

observadas em todas as unidades experimentais, apesar da colocação de abrigos para os peixes em todas as caixas.

As melhoras não significativas, observadas na taxa de crescimento e na eficiência de utilização do alimento para ganho de peso, podem estar associadas ao fato de que a glutamina é um importante precursor da síntese de outros aminoácidos, nucleotídeos, açúcares aminados, proteínas e outras moléculas biologicamente importantes, conforme proposto por Smith & Wilmore (1990) e Newsholme (2001). Outro fator que pode estar associado a esse efeito positivo da glutamina seja a sua possível influência sobre o peso, estrutura e função intestinal, aumentando a retenção de proteína, segundo relato de Jiang et al. (2009).

A suplementação de glutamina também não influenciou ($P>0,05$) o teor de proteína corporal, a eficiência de retenção de nitrogênio, os teores de umidade e gordura corporais, deposições diárias de gordura e de proteína corporais, relação de deposição de gordura:proteína e a eficiência de retenção de nitrogênio (Tabela 3).

Tabela 3 – Composição corporal, deposições de proteína e gordura corporais e eficiência de retenção de nitrogênio de adultos de tilápia do Nilo em função da suplementação de glutamina na ração

| Parâmetro | Suplementação de glutamina (%) | | | | | | CV ¹ (%) |
|--|--------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|------------------------|
| | Inicial | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| Umidade corporal (%) ² | 78,6 | 74,78 | 74,99 | 71,55 | 69,78 | 72,44 | 4,82 |
| Gordura corporal (%) ² | 5,10 | 7,06 | 8,59 | 10,34 | 12,24 | 9,08 | 19,10 |
| Proteína corporal (%) ² | 11,30 | 13,42 | 14,85 | 16,45 | 16,29 | 14,83 | 10,96 |
| Deposição de gordura corporal (mg/dia) | – | 443,58 | 496,78 | 709,67 | 887,48 | 432,19 | 29,10 |
| Deposição protéica corporal (mg/dia) | – | 288,38 | 431,64 | 599,44 | 833,64 | 592,73 | 22,57 |
| Relação deposição de gordura:proteína | – | 1,54 | 1,15 | 1,18 | 1,06 | 0,73 | - |
| Eficiência de retenção de nitrogênio (%) | – | 29,08 | 32,57 | 46,52 | 58,18 | 48,00 | 22,57 |

¹CV– coeficiente de variação

²Matéria natural

Apesar de não ter ocorrido diferença significativa, foi observado que os valores absolutos de gordura e de proteína corporais dos peixes aumentaram do nível 0% até o de 3% de suplementação de glutamina na ração. No entanto, a deposição de proteína, proporcionalmente, foi maior do que a deposição de gordura, resultando em uma redução de 31% na relação gordura:proteína nestes mesmos animais, indicando uma alteração positiva na composição da carcaça, visto que excesso de gordura no peixe fica localizado, principalmente, na cavidade abdominal, ocasionando a redução do rendimento do filé (Meurer et al., 2002).

Da mesma forma do ocorrido com os parâmetros de desempenho e eficiência alimentar, a elevação dos níveis de suplementação nas rações proporcionou um aumento numérico na eficiência de retenção de nitrogênio, o que está coerente com a alteração na proporção de deposição de proteína em relação à gordura observada.

Um fator que pode ter contribuído para a melhora nos valores absolutos observada para a maioria dos parâmetros de desempenho e eficiência alimentar obtidos pelos peixes seriam as condições estressantes devido às constantes disputas hierárquicas. Nestas condições, as exigências de glutamina podem estar aumentadas em função da sua importância como precursora na síntese de aminoácidos constituintes de proteínas do muco, bem como na síntese de glutathione, um dos principais antioxidantes corporais (Curi et al., 2005).

Conclusão

A suplementação de L-glutamina na ração não influencia o desempenho e características de carcaça de adultos de tilápia do Nilo.

Literatura Citada

- ANDERSON P.M.; BRODERIUS M.A.; FONG K.C.; TSUI K.N.T.; CHEW S.F.; IP Y.K. Glutamine synthetase expression in liver, muscle, stomach and intestine of *Bostrichthys sinensis* in response to exposure to a high exogenous ammonia concentration. **Journal of Experimental Biology**, v.205, p.2053–2065, 2002.
- BLIKSLAGER, A.T.; RHOADS J.M.; BRISTOL, D.G.; ROBERTS, M.C.; ARGENZIO R.A. Glutamine and transforming growth factor-alpha stimulate extracellular regulated protein kinase and enhance recovery of villous surface area in porcine ischemic-injured intestine. **Surgery**, v. 125, p.186-194, 1999.
- BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L.; ABREU, M.L.T.; RIBEIRO, F. B.; QUADROS, M. Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 1713-1720, 2008a.
- BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; DONZELE, J. L.; FERREIRA, A.S.; RIBEIRO, F.B.; TAKISHITA, S.S. Exigência de metionina mais cistina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.783-790, 2008b.
- BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; DONZELE, J. L.; QUADROS, M.; RIBEIRO, F.B.; SOUSA, M.P. Níveis de lisina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.1-8, 2010.
- BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.) **Revista Brasileira de Zootecnia** v.31, n.2, p.539-545, 2002.
- BUREAU, B.P.; AZEVEDO, P.A.; TAPIA-SALAZAR, M.; CUZON, G. Pattern and cost of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: Potential implications and applications. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera- Cerecedo, R., (Eds.). **Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola**. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, Mexico.
- CURI, R.; LAGRANHA, C.J.; DOI, S.Q.; SELLITTI, D.F.; PROCOPIO, J.; PITHON-CURI, T.C.; CORLESS, M.; NEWSHOLME, P. Molecular Mechanisms of Glutamine Action. **Journal of Cellular Physiology**, v.204, p.392–401, 2005.
- FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; MACEDO, R.M.G; SANTOS, V.G.; SILVA, L.C.R.; SILVA T.C.; FURUYA, V.R.B.; SALES, P.J.P. Aplicação do Conceito de Proteína

- Ideal para Redução dos Níveis de Proteína em Dietas para Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1433-1441, 2005.
- FURUYA, W.N.; GONÇALVES, S.G.; FURUYA, V.R.B.; HAYASHI, C. Fitase na alimentação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.924-929, 2001 (Suplemento 1).
- FURUYA, W.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B.; SOARES, C.M.S. Exigência de proteína para alevino revertido de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1912-1917, 2000 (Suplemento 1).
- JACKSON, A.J.; CAPPER, B.S. Investigations into the requirements of the tilapia *Sarotherodon mossambicus* for dietary methionine, lysine and arginine in semi-synthetic diets. **Aquaculture**, v.29, p.289-297, 1982.
- JIANG, J.; ZHENG, T.; X-Q ZHOU, Y.; LIU, Y.; FENG, L. Influence of glutamine and vitamin E on growth and antioxidant capacity of fish enterocytes. **Aquaculture Nutrition**, v. 15, p. 409-414. 2009.
- KARAVANICH, 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.
- KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: F. Kubitza, 2000. 285p.
- MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES C.M. Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.02, p.566-573, 2002.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academy of Science, 1993. 105p.
- NEWSHOLME, P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? **Journal of Nutrition**, v. 131, p.2515S-2522S, 2001.

- NOBLET, J. Avaliação energética em suínos. In: WORKSHOP LATINO-AMERICANO AJINOMOTO BIOLATINA DE NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2001, Foz do Iguaçu-PR **Anais...** Foz do Iguaçu: 2001. p.2-17.
- OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. **Aqüicultura no Brasil: o desafio é crescer. Brasília.** 2008. 276 p.
- PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M.; PINTO, L.G.K.; FURUYA, W.N.; PEZZATO, A.C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.
- QUADROS, M.; LANNA, E. A. T.; DONZELE, J. L.; ABREU, M. L. T.; RIBEIRO, F. B.; TAKICHITA, S. S.. Redução de proteína bruta e relações de metionina+cistina e treonina digestíveis com lisina digestível em dietas para alevinos de tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.1400-1406, 2009
- REEDS, P.J.; BURRIN, D.G. Glutamine and the bowel. **The Journal of Nutrition**, v.131, p-2505S-2508S, 2001.
- RHOADS, J.M.; ARGENZIO, R.A.; CHEN, W.; RIPPE, R.A.; WESTWICK, J.K.; COX, A.D.; BERSCHNEIDER, H.M.; BRENNER, D.A. L-glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates mitogen-activated protein kinase. **American Journal of Physiology**, v. 272, p.943-953, 1997.
- ROSTAGNO, R.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos – composição de alimentos e exigências nutricionais.** 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 186p.
- SILVA, D.J; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos).** 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 235p.
- SILVA, L.C.R. **L-glutamina e L-glutamato em dietas para tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*).** Maringá: Universidade Estadual de Maringá/UEM, 2008. 50p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá/UEM, 2008.
- SMITH, R.J; WILMORE, D.W. Glutamine nutrition and requirements. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 14, p.94 -99, 1990.
- TAKICHITA, S.S.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L.; BOMFIM, M.A.D.; QUADROS, M. ; SOUSA, M.P. Níveis de lisina digestível em rações para alevinos de tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.2099-2105, 2009

- 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 nutrition and production. **Livestock Science**, v.112, p.8–22, 2007.
- 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.37, p.R334-R342, 1995..
- 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. [2008] **Revisão de literatura: Glutamina (Gln) e Glutamato (Glu)**. Disponível em: <<http://www.lisina.com.br>>. Acesso em: 08/07/2008.

Efeitos da suplementação de glutamina na ração de tilápia do Nilo sobre a resistência à infecção bacteriana

RESUMO - Objetivando-se avaliar efeitos da suplementação dietética de glutamina sobre a resistência à infecção causada por *Streptococcus agalactiae*, 144 adultos revertidos de tilápia (*Oreochromis niloticus*), da linhagem tailandesa, com peso inicial de $201 \pm 1,51$ g, foram utilizados em um experimento com delineamento inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos, duas repetições e 12 animais por unidade experimental. Os peixes foram mantidos em 12 aquários de 320 litros dotados de abastecimento de água, temperatura controlada e aeração individuais e alimentados com seis refeições diárias. Os animais foram alimentados por um período de 32 dias com cinco rações experimentais isoproteicas e isolisínicas, com cinco níveis de suplementação de glutamina (0, 1, 2, 3 e 4%). Ao final deste período todos os peixes foram desafiados através de uma injeção intraperitoneal com 0,1 mL de inóculo de *Streptococcus agalactiae* 4×10^5 UFC/mL, com exceção do grupo controle, o qual foi inoculado com 0,1 mL de (BHI) e recebeu a ração contendo 0% de suplementação. Os peixes infectados continuaram recebendo as rações com os cinco níveis de suplementação de glutamina. Os animais foram monitorados por um período de vinte e três dias após a infecção. Foi registrado o comportamento alimentar dos animais e a ocorrência de sintomas clínicos da meningoencefalite, tais como letargia, anorexia, natação errática e exoftalmia. O nível de 2% de suplementação de glutamina na ração proporciona a menor taxa de mortalidade e maior redução dos sintomas de infecção causada por *Streptococcus agalactiae* em adultos de tilápia do Nilo.

Palavras-chave: desempenho, *Oreochromis niloticus*, *Streptococcus agalactiae*

Effects of glutamine supplementation in the ration of Nile tilapia on resistance to bacterial infection

ABSTRACT - In order to investigate effects of dietary supplementation of glutamine on resistance to infection caused by *Streptococcus agalactiae*, 144 adults reverted Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), of the Thailand line, with initial weight of 201 ± 1.51 g were used in an experiment with completely randomized design, six treatments, two replicates and 12 animals per experimental unit. Fishes were fed during 32 days with five experimental diets isonitrogenous, isoenergetic, and five levels of glutamine supplementation (0, 1, 2, 3 and 4%). At the end of this period all fish were challenged by an intraperitoneal injection with 0.1 mL inoculum of *S. agalactiae* 4×10^5 CFU / mL, except for the control group, which was inoculated with 0.1 ml of sterile Brain Heart infusion (BHI) and fed a diet containing 0% supplementation. The infected fish continued to receive diets with five levels of glutamine supplementation. The animals were observed during twenty-three days after infection. Fishes were maintained in 12 aquariums of 320 liters supplied with single-pass flow-through water and aeration, controlled temperature and they were fed six daily meals during 55 days. During the feeding period was recorded animals feeding behavior and the occurrence of clinical symptoms of meningoencephalitis, such as lethargy, anorexia, erratic swimming and exophthalmia. The level of 2% L-glutamine supplementation in diet provides the lowest mortality rate and greater reduction of symptoms of infection caused by *Streptococcus agalactiae* in adults of Nile tilapia.

Key words: performance, *Oreochromis niloticus*, *Streptococcus agalactiae*

Introdução

A piscicultura intensiva gera várias fontes de estresse para os animais, tais como as altas densidades de estocagem, as frequentes manipulações dos peixes para constantes biometrias, a qualidade da água e o transporte.

Doenças infecciosas e problemas com parasitas são usualmente resultado da exposição dos animais a agentes patogênicos, muitos dos estão presentes na maioria dos corpos de água e pisciculturas (Conte, 1992). Quando os peixes estão submetidos a situações de estresse, sua resistência ao ataque de patógenos fica enfraquecida, por isso o estresse é considerado um dos principais fatores que contribuem para a deterioração da saúde dos animais na aquicultura (Iwama et al., 1997).

Streptococcus agalactiae é uma bactéria relacionada, no Brasil, a surtos de meningoencefalite e septicemia em tilápia do Nilo. Embora haja relatos de infecções por *Streptococcus agalactiae* em diferentes espécies de peixes, de água salgada e de água doce, no Brasil, os relatos são limitados a tilápia do Nilo, não sendo conhecida ainda a susceptibilidade de espécies nativas de peixe a essa bactéria (Figueiredo, 2007).

Os surtos de *Streptococcus agalactiae* no Brasil ocorreram em tanques-rede em regiões com temperaturas acima de 27°C (Mian et al., 2009). Figueiredo et al. (2006) relataram o isolamento de *Streptococcus agalactiae* a partir de surtos em uma piscicultura no estado de Minas Gerais e uma produção em tanques-rede no Espírito Santo.

Esta bactéria tem sido responsável por prejuízos consideráveis em sistemas aquícolas por todo o mundo e sua importância tem aumentado nos últimos anos (Robinson & Meyer, 1966; Eldar et al., 1995; Duremdez et al., 2004; Mian et al., 2009).

Os animais criados em condições de cultivo intensivo estão sujeitos a um estresse crônico, o qual é um importante agente imunossupressor, tornando-os

vulneráveis a várias doenças. Em todos os setores da produção animal tem-se adotado medidas visando proteger os organismos cultivados contra o desencadeamento de doenças contagiosas. A imunonutrição, termo usado na nutrição clínica humana, pode ser uma importante ferramenta para prevenir doenças e até mesmo minimizar os seus efeitos na cadeia produtiva da aquicultura.

Centenas de espécies de bactérias podem ser patogênicas, tanto para os animais selvagens quanto para os cultivados ou representar uma ameaça potencial sob condições favoráveis. Além disso, os custos para os governos e aquicultura privada devido às doenças causadas por bactérias e as tentativas de controlá-las, chegam a milhões de dólares anualmente como resultado de perdas de recursos pesqueiros (Buller, 2004).

A glutamina desempenha um importante papel na proliferação dos linfócitos, produção de citocinas pelos linfócitos e macrófagos, fagocitose e produção de superóxidos pelos macrófagos e neutrófilos. A glutamina é pouco oxidada por estas células e pode produzir importantes precursores para o DNA, RNA e síntese protéica (Newsholme et al., 1999).

Os aminoácidos da família da arginina, glutamina, glutamato, prolina, aspartato, asparagina, ornitina e citrulina são interconvertíveis e recentes estudos bioquímicos revelaram que estes aminoácidos desempenham funções reguladoras no metabolismo dos nutrientes e resposta imune (Fu et al., 2005; Rhoads et al., 2006; Morris, 2006; Li et al., 2007).

Os resultados de estudos avaliando os efeitos de fontes alternativas de proteínas na resposta e resistência às doenças em peixes não são consistentes, porém alguns estudos com animais tem sugerido que a suplementação dietética com aminoácidos melhora a sua resistência às doenças infecciosas (Li et al., 2007).

Desta maneira, realizou-se este trabalho com o objetivo de estudar os efeitos da suplementação dietética de glutamina na resistência de adultos de tilápia do Nilo à infecção causada por *Streptococcus agalactiae*.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido entre os meses de agosto e outubro de 2009, no Laboratório de Nutrição de Peixes do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizado no município de Viçosa, Minas Gerais, com duração do período experimental estipulado em 37 dias.

Foram utilizados 144 adultos revertidos de tilápia (*Oreochromis niloticus*), da linhagem tailandesa, com peso inicial de $201,28 \pm 22\text{g}$, em um experimento com delineamento inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos e dois grupos de 12 animais por tratamento. Antes do início do período experimental, amostras dos rins e cérebro de 6 peixes foram submetidos à análises bacteriológicas no laboratório de doenças de animais aquáticos (Aquavet) do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras para certificar-se de que eles não estavam infectados por *Streptococcus agalactiae*.

Os peixes foram alimentados por um período de 32 dias com cinco rações experimentais isoproteicas (30,50% de proteína bruta), isoenergéticas, isocálcicas e isofosfóricas, de forma a atender as exigências nutricionais mínimas sugeridas pelo NRC (1993) e isolisínicas digestíveis. Para tanto, uma dieta basal foi suplementada com quatro níveis de L-glutamina, resultando nas cinco dietas experimentais (0, 1, 2, 3 e 4% de suplementação de glutamina na ração), conforme a Tabela 1. Sendo que a ração com menor nível de suplementação foi fornecida a quatro grupos distintos de animais, dois deles constituindo os grupos controles.

A ração basal foi formulada para atender as exigências nutricionais mínimas sugeridas pelo NRC (1993), exceto para a lisina digestível. O nível de lisina digestível usado foi de 1,40%, conforme estabelecido por Jackson & Capper (1982) e para que a ração fosse isolisínica digestível, a lisina sintética (L-lisina-HCl) foi adicionada. Os demais aminoácidos foram suplementados às rações para que as relações da treonina:lisina digestível ficasse em 96,0% e metionina+cistina em 66% (seis pontos percentuais acima do preconizado por Bonfim et al. (2010) e Bomfim et al. (2008), de modo a garantir que não houvesse deficiência desses aminoácidos. A relação dos demais aminoácidos:lisina foram mantidas no mínimo seis pontos acima daquelas estimadas a partir dos valores de exigência contidos no NRC (1993), garantindo o suprimento das suas exigências. As rações foram mantidas isonitrogenadas por meio da substituição da L-alanina por L-glutamina, à medida que o nível de suplementação aumentou.

Tabela 1 – Composição percentual e química da ração basal (matéria natural)

| | |
|--|---------|
| Ingredientes (%) | |
| Farelo de soja | 27,73 |
| Milho | 45,02 |
| Glúten de milho 60 | 15,00 |
| Óleo de soja | 2,60 |
| L-Lisina-HCl | 0,60 |
| DL–Metionina | 0,11 |
| L–Treonina | 0,51 |
| L-Triptofano | 0,14 |
| L-Arginina | 0,07 |
| L-Glutamina | 0,00 |
| L-Alanina | 4,00 |
| Fosfato bicálcico | 3,21 |
| Suplemento Vitamínico e Mineral ¹ | 0,50 |
| Vitamina C ² | 0,05 |
| Sal comum | 0,44 |
| BHT (Antioxidante) | 0,02 |
| Total | 100 |
| Composição calculada ³ | |
| Proteína Bruta (%) | 30,50 |
| Energia Digestível (kcal/kg) | 2990,00 |
| Fibra Bruta (%) ⁴ | 2,44 |
| Ca Total (%) ⁴ | 0,88 |
| P Disg (%) | 0,59 |
| Lisina (%) Digest | 1,40 |
| Met. + Cist (%) Digestível | 0,92 |
| Treonina Digestível (%) | 1,34 |
| Triptofano Digestível (%) | 0,36 |
| Arginina Digestível (%) | 1,39 |

¹ Composição por quilograma do produto: Vit. A, 1.200.000 UI; Vit. D₃, 200.000 UI; Vit. E, 1.200 mg; Vit. K₃, 2.400 mg; Vit. B₁, 4.800 mg; Vit. B₂, 4.800 mg; Vit. B₆, 4.800 mg; Vit. B₁₂, 4.800 mg; Vit. C, 48 g; ác. Fólico, 1.200 mg; pantotenato de Ca, 12.000 mg; Vit. C, 48.000 mg; biotina, 48 mg; cloreto de colina, 108 g; niacina, 24.000 mg; Fe, 50.000 mg; Cu, 3.000 mg; Mn, 20.000 mg; Zn, 30.000 mg; I, 100 mg; Co, 10 mg; Se, 100 mg.

² Vit. C: sal cálcica 2-monofosfato de ácido ascórbico, 42% de princípio ativo

³ Valores estimados com base nos coeficientes de digestibilidade dos ingredientes para os aminoácidos e fósforo, de acordo com Rostagno et al. (2005) e Furuya (2000), e de energia, de acordo com Boscolo et al. (2002) e Pezzato et al. (2002).

⁴ Composição calculada segundo Rostagno et al. (2005)

Ao final do período inicial, todos os animais foram anestesiados por imersão em uma caixa contendo 10 mg/L de benzocaína. Dez grupos de doze peixes cada foram desafiados através de uma injeção intraperitonal com 0,1 mL de inoculo de *Streptococcus agalactiae* 4x10⁵ UFC/mL e dois grupos controle com 0,1 mL de infusão estéril de Cérebro e Coração.

O grupo controle era composto pelos animais alimentados com a ração contendo 0% de suplementação de glutamina e sem contaminação durante todo o período

experimental. O grupo do tratamento um foi alimentado com a mesma ração do controle, porém os animais foram infectados. No tratamento dois os animais foram alimentados com a ração suplementada com 1% de glutamina e infectados ao final do primeiro período. No tratamento três foi usada a ração com 2% de glutamina e infecção dos animais. No tratamento quatro a ração com 3% de glutamina e infecção e no tratamento cinco a ração com 4% de suplementação de glutamina e infecção.

Os animais foram monitorados por um período de vinte e três dias após a infecção. Ao final do período de observações foram coletadas amostras do cérebro e rins de todos os animais para reisolamento da bactéria.

Os animais foram mantidos em 12 aquários de polietileno, com capacidade volumétrica de 320 litros e volume útil de 300 litros, dotados de sistemas individuais de aeração, abastecimento de água e escoamento de fundo, dispostos em sistema de recirculação e renovação mínima de água de 25% por dia.

A água de abastecimento dos aquários foi proveniente do sistema de tratamento de água da Universidade Federal de Viçosa – UFV, previamente declorada e aquecida por resistências elétricas, com temperatura controlada por termostato.

A temperatura da água foi mantida em torno de 28°C e aferida diariamente, às 8:30 e 18:00 horas, com o auxílio de um termômetro de bulbo de mercúrio, graduado de 0 a 50°C. Os controles do pH e do teor de oxigênio dissolvido na água foram aferidos a cada sete dias, respectivamente, por intermédio de um potenciômetro e oxímetro. O fotoperíodo foi mantido em 12 horas de luz, por meio de iluminação proveniente de lâmpadas mistas, controlada por *timer* automático.

As rações experimentais foram peletizadas e, para minimizar o impacto negativo causado pela lixiviação e imbalances pós-absortivos com a utilização de aminoácidos livres, foram fornecidas diariamente, em seis refeições (8:00; 10:00; 12:00; 14:00; 16:00 e 18:00 horas), sendo que, em cada refeição, as dietas foram fornecidas em pequenas

quantidades, com sucessivos repasses, em quantidades que possibilitaram a ingestão máxima, reduzindo, assim, as perdas.

Sendo que após o desafio passaram a ser fornecidas duas vezes ao dia (8:00 e 16:00 horas). Durante o período de arraçoamento era registrado o comportamento alimentar dos animais e a ocorrência de sintomas clínicos da meningoencefalite, tais como letargia, anorexia, natação errática e exoftalmia, conforme descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Comportamento alimentar e sintomas clínicos observados durante o experimento.

| Observação | Descrição |
|-----------------------|---|
| Anorexia | Ausência de consumo no momento do arraçoamento. |
| Consumo na superfície | Os animais consumiam a ração na superfície da água. |
| Consumo no fundo | Os animais consumiam a ração no fundo da caixa. |
| Exoftalmia | Protusão anormal de um ou de ambos os olhos. |
| Natação errática | Animais nadando em círculos e sem controle. |
| Letargia | Animais com movimentos lentos e sem reação a estímulos. |

Foi realizada a limpeza dos aquários uma vez a cada dois dias após as leituras da temperatura da água, por sifonagem, para retirada das fezes e a limpeza dos filtros mecânicos uma vez por semana. Sendo que após o desafio a limpeza passou a ser feita a cada três dias e a água era esterilizada com pastilhas de cloro antes de ser descartada das caixas dos animais desafiados.

As análises bromatológicas das rações foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (LNA/DZO) da Universidade Federal de Viçosa – UFV, conforme procedimentos descritos por Silva & Queiroz (2003).

Os dados foram tratados por meio de estatística descritiva, com os valores de frequência das observações transformadas em porcentagem e plotados em gráficos em três dimensões para visualização dos sintomas e comportamento alimentar nos diferentes grupos testados. Foi utilizado o software Excel XP para este procedimento.

Resultados e Discussão

Durante o período experimental a temperatura da água apresentou os valores de $27,4 \pm 0,86^{\circ}\text{C}$, o pH de $6,7 \pm 0,15$ e o oxigênio dissolvido de $4,5 \pm 0,40$ ppm. Estes valores encontram-se dentro da faixa recomendada para a criação desta espécie, segundo Furuya (2000b) e Kubitza (2000).

O sistema de abastecimento de água e de aeração possibilitou o controle da temperatura e da aeração uniformes, durante o período experimental.

Foram observados sintomas característicos da meningoencefalite, tais como natação errática, anorexia e exoftalmia, bem como as primeiras ocorrências de mortalidade 24 horas após a infecção. Porém a maior mortalidade ocorreu no nono dia pós-infecção.

O comportamento de consumir a ração na superfície da água do aquário foi caracterizado por movimentos rápidos com os animais nadando do fundo até a superfície e retornando ao fundo constantemente cada vez que a ração era fornecida (Figura 1).

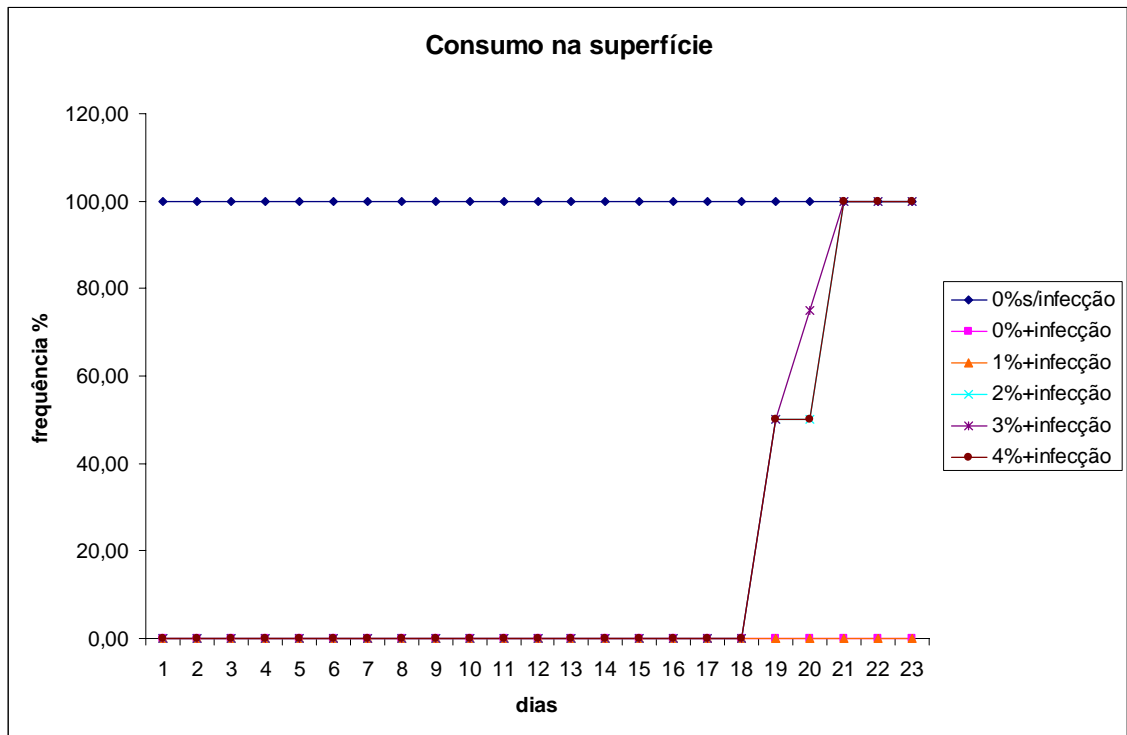


Figura 1 – Representação gráfica do consumo de ração na superfície da água por adultos de tilápia do Nilo, em função do nível de suplementação de glutamina da ração e infecção bacteriana.

Foi registrado o número de animais de cada caixa que apresentaram este comportamento em todos os horários de arraçoamento.

Todos os animais do grupo controle apresentaram este comportamento durante todo o período experimental.

Somente a partir do décimo nono dia os peixes alimentados com os maiores níveis de glutamina, a partir de 2% começaram a apresentar o mesmo comportamento alimentar do grupo controle, indicando uma possível recuperação do quadro de infecção.

A anorexia, outro sintoma característico da infecção causada pelo *S. agalactiae* em peixes, foi observada em todos os tratamentos, exceto no grupo controle (Figura 2).

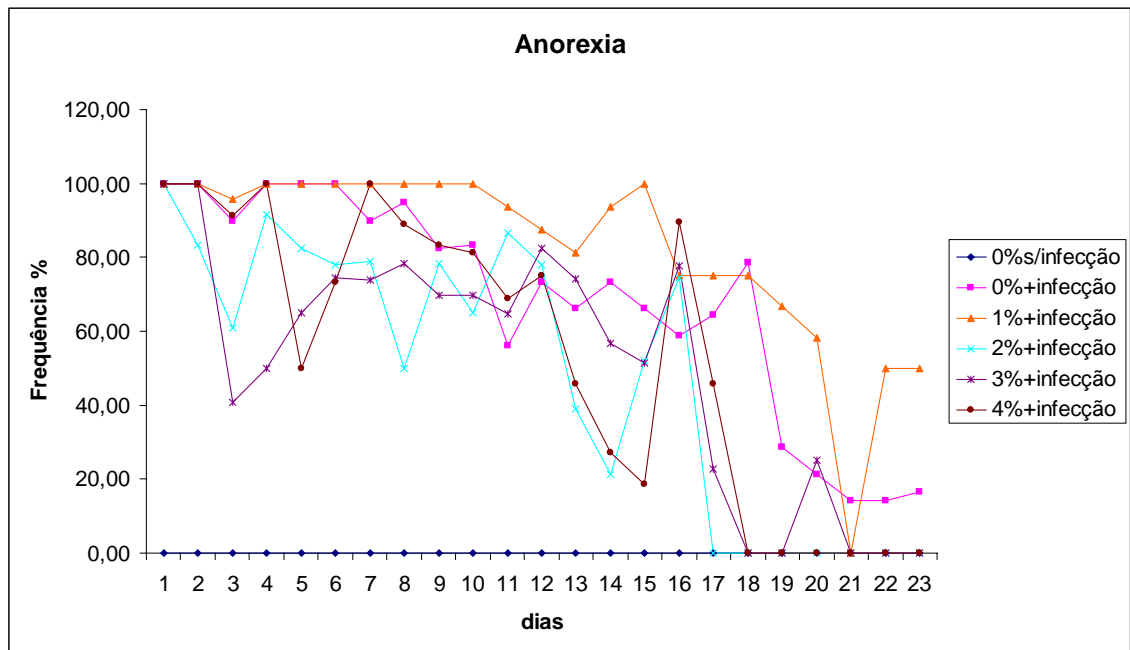


Figura 2 – Representação gráfica da ocorrência de anorexia em adultos de tilápia do Nilo, em função do nível de suplementação de glutamina da ração e infecção bacteriana.

Houve redução acentuada na ocorrência de anorexia nos animais alimentados com as rações contendo os níveis de 2 e 4% de glutamina aproximadamente no décimo quinto dia, voltando a aumentar no décimo sexto dia. Por ocasião do décimo oitavo dia não foi mais observada a ocorrência de anorexia nos animais alimentados com as rações contendo esses níveis.

Os animais alimentados com os menores níveis de glutamina (0% infectados e 1%) apresentaram redução dos sintomas somente a partir do vigésimo primeiro dia, sendo que os animais alimentados com o nível de 0% voltaram a apresentar aumento no dia seguinte.

A natação errática com perda de equilíbrio do animal é caracterizada pela inclinação lateral do animal, movimentos circulares e falta de controle. A ocorrência deste sintoma foi registrada diariamente (Figura 3).

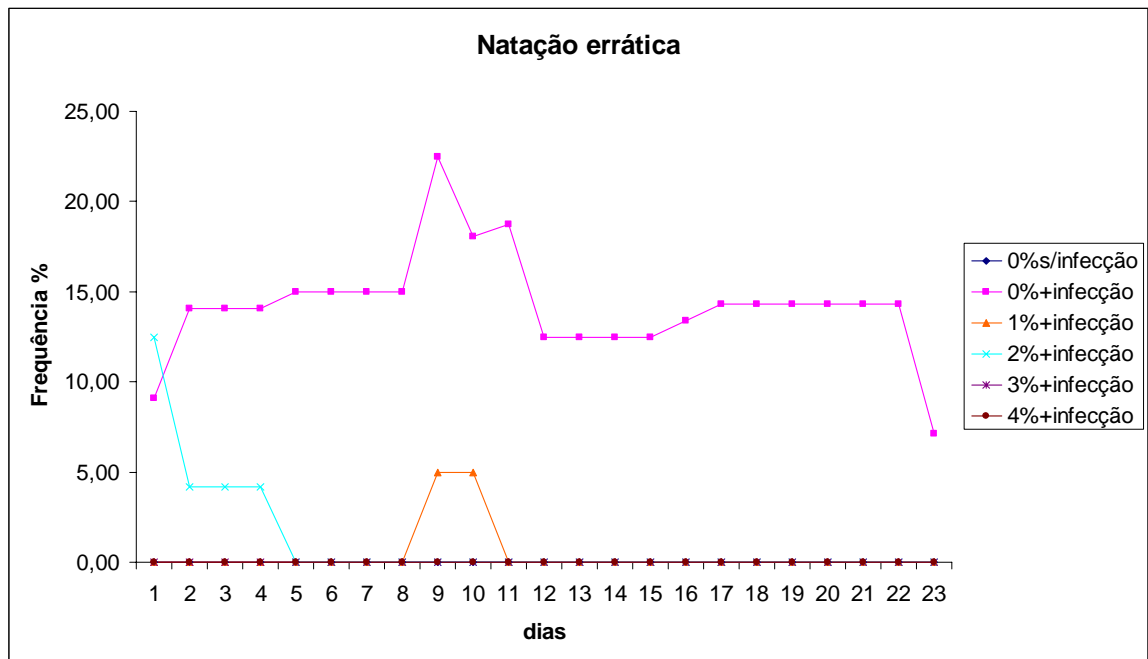


Figura 3– Representação gráfica da ocorrência de natação errática em adultos de tilápia do Nilo, em função do nível de suplementação de glutamina da ração e infecção bacteriana.

O grupo controle não apresentou este sintoma em nenhum momento do período experimental. A maior incidência ocorreu nos animais infectados alimentados com o menor nível de glutamina, seguido do níveis 2 e 1%. Os animais alimentados com o nível de 2% tiveram a incidência nos primeiros dias, porém houve uma regressão do sintoma a partir do quinto dia. Os dois últimos níveis de suplementação de glutamina também não apresentaram o sintoma.

A exoftalmia é um sintoma comum em peixes, podendo ser provocado por múltiplas causas, dentre elas, a infecção aguda. O estresse e a qualidade da água também podem causar o aparecimento deste sintoma (Stoskopf, 1992). Por este motivo este não foi considerado um parâmetro sensível para a detecção de diferenças entre os tratamentos testados.

Houve um aumento da ocorrência deste sintoma em todos os tratamentos, com exceção do controle, ao final da primeira semana pós-infecção, conforme pode ser observado na Figura 4.

Após este pico de ocorrência, houve uma maior redução nos tratamentos dois e quatro, sendo que a maior incidência ao longo do período ocorreu no tratamento um.

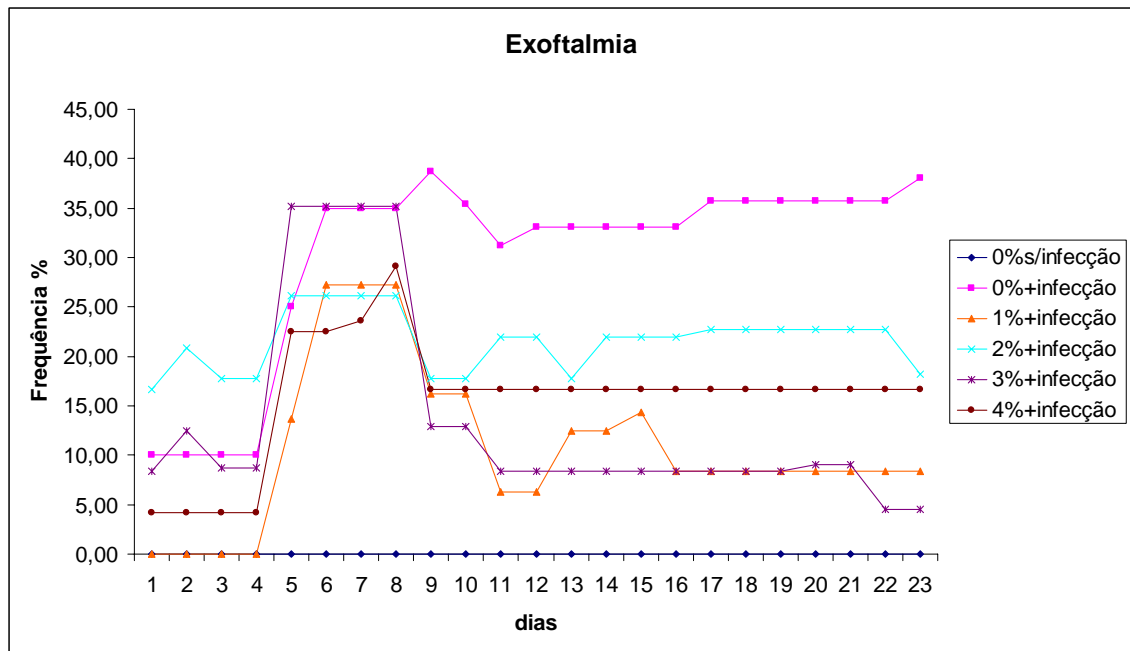


Figura 4— Representação gráfica da ocorrência de exoftalmia em adultos de tilápia do Nilo, em função do nível de suplementação de glutamina da ração e infecção bacteriana.

A letargia e falta de reação a estímulos foi um comportamento apresentados por todos os animais nos primeiros dias pós-infecção (Figura 5). Os peixes do tratamento quatros começaram a se recuperar a partir do terceiro dia. Os tratamentos três e cinco apresentaram uma recuperação acentuada a partir da segunda semana e nos últimos quatro dias do período os animais tinham um comportamento semelhante ao do grupo controle.

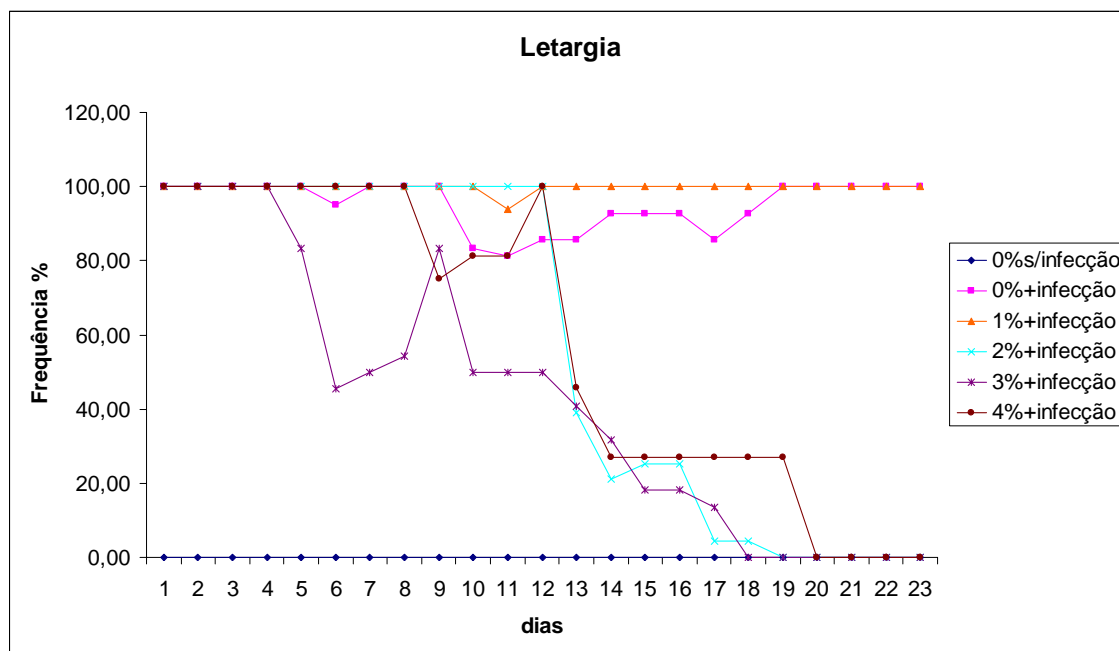


Figura 5 – Representação gráfica da ocorrência de letargia em adultos de tilápia do Nilo, em função do nível de suplementação de glutamina da ração e infecção bacteriana.

Todos os sintomas característicos da infecção causada por *Streptococcus agalactiae*, com exceção da exoftalmia, tiveram o número de ocorrências reduzidos com o aumento do nível de suplementação de glutamina na dieta.

Assim como ocorre em outras espécies, a glutamina dietética pode ter efeito sobre a resposta inflamatória da tilápia do Nilo. Segundo Singleton et al. (2005), a glutamina pode estimular a síntese de uma proteína inibidora do fator nuclear κ B, conhecida como I κ B. O κ B é um fator fundamental na expressão de genes relacionados com a resposta inflamatória, tais como Óxido Nítrico Sintetase induzível íons e citocinas inflamatórias. Desta forma a glutamina pode atenuar a resposta inflamatória de animais em desafio imunológico.

Porém, é necessária a realização de mais experimento para investigar os mecanismos de ação da glutamina no sistema imunológico de peixes.

Foi observada uma ocorrência de 0% de mortalidade no grupo controle, sendo que nos tratamentos 1 e 2 foram registradas as maiores porcentagens (39%) e o tratamento 3

(2% de suplementação de glutamina) proporcionou a menor taxa de mortalidade (8,33%) (Figura 6). Nos tratamentos 4 e 5 ela voltou a subir, porém ainda se mantendo menor que nos tratamentos com menores níveis de suplementação.

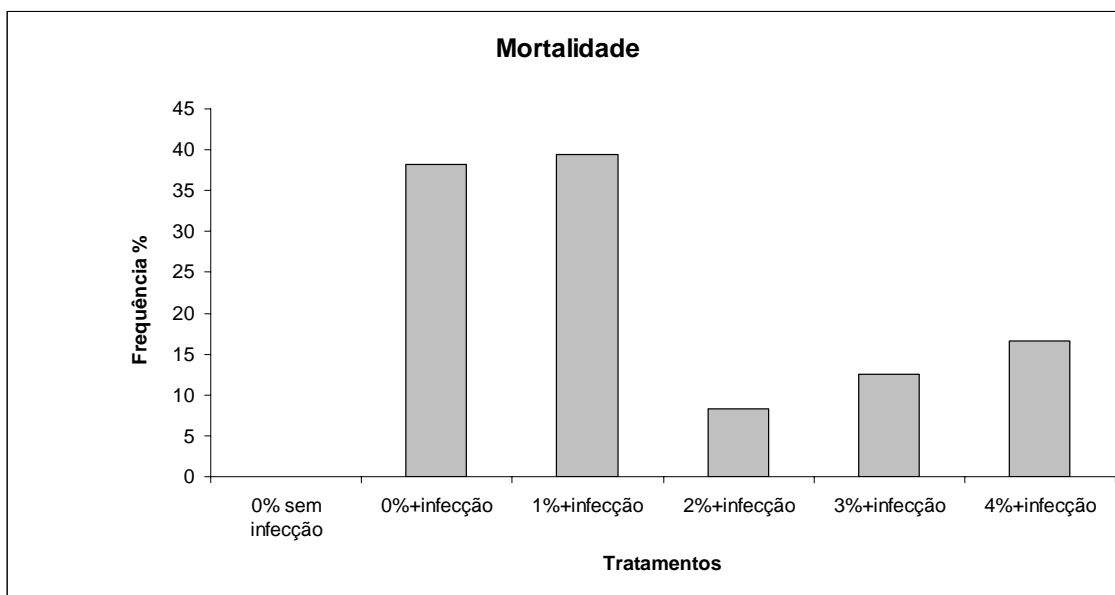


Figura 6 – Representação gráfica da mortalidade de adultos de tilápia do Nilo, em função do nível de suplementação de glutamina da ração e infecção bacteriana.

Portanto, a suplementação de glutamina na dieta até o nível de 2% parece reduzir a mortalidade dos peixes infectados por *Streptococcus agalactiae*. Esta redução pode ter sido devido ao fato de que a glutamina desempenha um importante papel na proliferação dos linfócitos, produção de citocinas pelos linfócitos e macrófagos, fagocitose e produção de superóxidos pelos macrófagos e neutrófilos (Newsholme, 1999). Como principal substrato energético para leucócitos e modulador-chave da produção de citocinas e Óxido Nítrico, a glutamina é crucial para a resposta imune em peixes (Buentello e Gatlin 1999; Li et al. 2007).

Conclusão

O nível de 2% de suplementação de glutamina na ração proporciona a menor taxa de mortalidade e maior redução dos sintomas de infecção causada por *Streptococcus agalactiae* em adultos de tilápia do Nilo.

Literatura Citada

- BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; DONZELE, J. L.; FERREIRA, A.S.; RIBEIRO, F.B.; TAKISHITA, S.S. Exigência de metionina mais cistina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.783-790, 2008.
- BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; DONZELE, J. L.; QUADROS, M.; RIBEIRO, F.B.; SOUSA, M.P. Níveis de lisina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.1-8, 2010.
- BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.) **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.539-545, 2002.
- 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. 513–521, 1999.
- BULLER, N.B. **Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual**. CABI, UK. 361p., 2004.
- CONTE, F.S. **Evaluation of a freshwater site for aquaculture potential**. PublicationWRACno. 92-101. Western Regional Aquaculture Center, USA, 1992 p. 35.
- CONTE, F.S. Stress and the welfare of cultured fish. **Applied Animal Behaviour Science**, v.86, p.205–223,2004.
- DUREMDEZ, R.; AL-MARZOUK, A.; QASEM, J.A.; AL-HARBI, A.; GHARABALLY, H. Isolation of *Streptococcus agalactiae* from cultured silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen), in Kuwait. **Journal of Fish Diseases**, v. 27, p. 307 – 310, 2004.
- ELDAR, A.; BEJERANO, Y.; LIVOFF, A.; HURVITZ, A.; BERCOVIER, H. Experimental meningo-encephalitis in cultured fish. **Veterinary Microbiology**, v. 43, p. 33 – 40, 1995.
- FIGUEIREDO, H.C.P. Avanços e desafios na sanidade de peixes no Brasil. In: Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes. Botucatu, 2, 2007, Botucatu. **Anais...Botucatu 2007 (CD ROM)**.
- FIGUEIREDO, H.C.P.; CARNEIRO, D.O.; FARIA, F.C.; COSTA, G.M. *Streptococcus agalactiae* associado à meningoencefalite e infecção sistêmica em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p.678–680, 2006.

- FURUYA, W.N. **Digestibilidade aparente de aminoácidos e substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína do farelo de soja com base no conceito da proteína ideal em rações para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/UNESP, 2000. 69p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/UNESP, 2000a.
- FURUYA, W.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B.; SOARES, C.M.S. Exigência de proteína para alevino revertido de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1912-1917, 2000b (Suplemento 1).
- FU, W.J.; HAYNES, T.E.; KOHLI, R.; HU, J.B.; SHI, W.; SPENCER, T.E.; CARROLL, R.J.; MEININGER, C.J.; WU, G. Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. **Journal of Nutrition**, v.135, p. 714–721, 2005.
- IWAMA, G.K.; PICKERING, A.D.; SUMPTER, J.P.; SCHRECK, C.B. (Eds.). **Fish Stress and Health in Aquaculture**. Society for Experimental Biology Seminar Series, vol. 62. Cambridge University Press, UK, 1997.p. 278.
- JACKSON, A.J.; CAPPER, B.S. Investigations into the requirements of the tilapia *Sarotherodon mossambicus* for dietary methionine, lysine and arginine in semi-synthetic diets. **Aquaculture**, v.29, p.289-297, 1982.
- KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: F. Kubitza, 2000. 285p.
- LI, P.; YIN, Y.L.; LI, D.F.; KIM, S.W.; WU, G. Amino acids and immune function. **The British Journal of Nutrition**, v. 98, p. 237–252, 2007.
- MIAN, G.F.; GODOY, D.T.; LEAL, C.A.G.; YUHARA, T.Y.; COSTA, G.M.; Figueiredo, H.C.P. Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile tilapia. **Veterinary Microbiology**. v.136, p.180–183, 2009.
- MORRIS Jr., S.M. Arginine: beyond protein. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, p. 508S–512S, 2006.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academy of Science, 1993. 105p.
- 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. 316–324, 1999.
- OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. **Aqüicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília. 2008. 276 p.

- PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M.; PINTO, L.G.K.; FURUYA, W.N.; PEZZATO, A.C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.
- RHOADS, J.M.; NIU, X.M.; ODLE, J.; GRAVES, L.M. Role of mTOR signaling in intestinal cell migration. **American Journal of Physiology**, v. 291, p.510–517, 2006.
- ROBINSON, J.A.; MEYER, F.P. Streptococcal fish pathogen. **Journal Bacteriology**, v. 92, p.512, 1966.
- ROSTAGNO, R.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos – composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 186p.
- SILVA, D.J; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 235p.
- SINGLETON, K. D.; BECKEY, V. E.; WISCHMEYER, P. E. Glutamine prevents activation of nf-[kappa]b and stress kinase pathways, attenuates inflammatory cytokine release, and prevents acute respiratory distress syndrome (ARDS) following sepsis. **Shock**, v. 24, p.583-589, 2005.

3. CONCLUSÕES GERAIS

Foram realizados dois experimentos com os objetivos de determinar os efeitos da suplementação de glutamina em rações para adultos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), da linhagem tailandesa, sobre o desempenho e resistência à infecção por *Streptococcus agalactiae*. Concluiu-se que:

- os níveis de suplementação de L-glutamina na ração não influenciam o desempenho e as características de carcaça de adultos de tilápia do Nilo.

- o nível de 2% de suplementação de glutamina na ração proporciona a menor taxa de mortalidade e maior redução dos sintomas de infecção causada por *Streptococcus agalactiae* em adultos de tilápia do Nilo.