AGRARIAN
OPEN ACCESS
e-ISSN: 1984-2538

Glicose sanguínea e taxa de excreção de amônia como indicadores da atividade de enzimas exógenas em tilápias do Nilo

Blood glucose and ammonia excretion rate as metabolitics indicators of the activity of exotic enzymes in Nile tilapia

Veruska Dilyanne Silva Gomes
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins
E-mail: veruska_sgomes@yahoo.com.br
OrcID: https://orcid.org/0000-0002-4169-2491

José Humberto Vilar da Silva
Universidade Federal da Paraíba
E-mail: vilardasiva@yahoo.com.br
OrcID: https://orcid.org/0000-0001-8605-2829

Cácio Ribeiro Cavalcanti
Universidade Federal de Campina Grande
E-mail: ksio83@hotmail.com
OrcID: https://orcid.org/0000-0002-3373-8904

Alda Lúcia de Lima Amâncio
Universidade Federal da Paraíba
E-mail: alda.amancio@yahoo.com.br
OrcID: https://orcid.org/0000-0003-1312-6537

José Jordão Filho
Universidade Federal da Paraíba
E-mail: jjordaofilho@yahoo.com.br
OrcID: https://orcid.org/0000-0003-3964-9301

Viviane da Silva Medeiros
Universidade Federal da Paraíba
E-mail: vivianemedeiros.eaj@gmail.com
OrcID: https://orcid.org/0000-0002-8299-9529

Resumo: A curva glicêmica e a taxa de excreção de amônia são métodos utilizados para avaliar a variação da glicose e da excreção do composto nitrogenado amônia em função de alterações na quantidade de carboidratos e proteínas, respectivamente, disponíveis nas rações. No entanto, os relatos são escassos quanto a sua utilização em pesquisas relacionadas ao uso de enzimas exógenas na alimentação de peixes. Mediante o exposto, o objetivo do trabalho foi de avaliar os níveis de glicose sanguínea e a taxa de excreção de amônia como indicadores metabólitos da eficiência da atividade de enzimas exógenas em dietas para tilápias do Nilo. Desta forma, foram realizados dois experimentos onde foram testadas a composição e concentração das enzimas fitase, alfa-amilase e protease. Os tratamentos foram compostos por dieta controle (DC), que posteriormente, foi suplementada com um *blend* 1 contendo 100ppm fitase + 200ppm protease, um *blend* 2 composto por 100ppm fitase + 400ppm protease, depois o *blend* 3 contendo 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase, e o *blend* 4 com 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase. O pico da glicemia sanguínea das tilápias do Nilo ocorreu nas primeiras 4 horas pós alimentação das tilápias em todos os tratamentos avaliados. As dietas suplementadas com fitase, protease e alfa-amilase promoveram maiores níveis de glicose sanguínea, enquanto, os picos de excreção de amônia ocorreram às 2h, 4h e 8h pós alimentação, o que pode estar relacionado ao aumento da disponibilidade de proteína pela suplementação das dietas com a protease. As concentrações de glicose sanguínea e a taxa de excreção de amônia podem ser indicadores indiretos da eficiência da atividade de enzimas digestivas em tilápias do Nilo.

Esta obra está licenciada com uma Licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial-CompartilhaIgual 3.0 Brasil.

AGRARIAN
OPEN ACCESS
e-ISSN: 1984-2538

Palavras-chave: *Blend* enzimático; Curva glicêmica; Tilapicultura.

Abstract: The glycemic curve and the excretion of ammonia rate are methods used to assess the variation in glucose and the excretion of the nitrogen compound ammonia due to changes in the amount of carbohydrates and proteins, respectively, available in the diets. However, reports are scarce regarding its use in research related to the use of exogenous enzymes in fish feeding. Therefore, the objective of this study was to evaluate blood glucose levels and ammonia excretion as metabolites indicators of the efficiency of the activity of exogenous enzymes in diets for Nile tilapia. Therefore, two tests were performed, where the composition and concentration of phytase, alpha-amylase and protease enzymes were tested. The treatments were composed of a control diet (DC), which was later supplemented with a blend 1 containing 100ppm phytase + 200ppm protease, a blend 2 composed of 100ppm phytase + 400ppm protease, then blend 3 containing 200ppm phytase + 200ppm protease + 133ppm alpha-amylase, and blend 4 with 200ppm phytase + 400ppm protease + 200ppm alpha-amylase. The blood glycemia peak of the Nile tilapia occurred in the first 4 hours post tilapia feeding in all treatments evaluated. The diets supplemented with phytase, protease and alpha-amylase promoted higher levels of blood glucose, whereas peaks of ammonia excretion occurred at 2h, 4h and 8h after fish feed, which may be related to increased protein availability by supplementing the diets with the protease. Blood glucose concentrations and ammonia excretion rate can be indirect indicators of the efficiency of digestive enzyme activity in Nile tilapia.

Keywords: Enzymatic blends; Glycemic curve; Tilapiculture.

Data de recebimento: 10/09/2018
Data de aprovação: 27/07/2020
DOI: https://doi.org/10.30612/agrarian.v13i50.8745

Introdução

As enzimas são proteínas indispensáveis para a realização dos processos digestivos metabólicos nos seres vivos. Estas aumentam a velocidade das reações diminuindo a energia de ativação sem alterar o equilíbrio químico, além disso, são específicas atuando por meio de sítio ativo apenas em determinado substrato e são sensíveis às mudanças de pH e temperatura do meio, atuando em um limiar ótimo no qual ocorre máxima atividade (NELSON & COX, 2014).

Devido às atividades catalíticas das enzimas, estas são utilizadas na nutrição animal como aditivos alimentares, obtendo bons resultados nos índices de crescimento e desenvolvimento dos peixes, neste âmbito, Gomes et al. (2019) observaram que a inclusão de um complexo enzimático na dieta de tilápias do Nilo possibilitou aumento no ganho em peso e em comprimento dos animais. A adição de enzimas digestivas em dietas para tilápias também melhora a conversão alimentar (MOURA et al., 2012) e os coeficientes de digestibilidade das rações (OLIVEIRA et al., 2007).

Outros indicadores tais como o nível de glicose sanguínea e a taxa de excreção de amônia, podem ser testados como possíveis indicadores indiretos da atividade de enzimas digestivas, pois, seguindo Nelson e Cox (2014), estes metabólitos são produtos dos processos digestivos, absortivos e metabólicos dependentes da ação catalítica de enzimas digestivas no metabolismo de carboidratos e proteínas.

A curva glicêmica e a taxa de excreção de amônia são métodos utilizados para avaliar a variação da glicose (MÔRO, 2013) e da excreção do composto nitrogenado amônia (LAM et al., 2008) em função de alterações na quantidade de carboidratos e proteínas, respectivamente, disponíveis nas rações. No entanto, os relatos são escassos quanto a sua utilização em pesquisas relacionadas ao uso de enzimas exógenas na alimentação de peixes. A taxa de excreção de amônia foi utilizada por Gomes et al. (2019) como método complementar, para testar a influência da adição de um complexo enzimático de fermentação em estágio sólido (solid state fermentation - SSF) na alimentação de tilápias do Nilo.

Segundo Bedford e Partridge (2011), a glicose disponibilizada no lúmen intestinal, pela digestão enzimática de carboidratos complexos, é absorvida pelos enterócitos para a corrente sanguínea. Urbinati e Carneiro (2004) destacam que a concentração de glicose sanguínea também está diretamente relacionada as respostas fisiológicas de uma série de agentes estressores, como variações de temperatura, o manejo empregado e o transporte da mesma.

Esta obra está licenciada com uma Licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial-CompartilhaIgual 3.0 Brasil.

Já a excreção de amônia está diretamente relacionada com tipo de dieta consumida pelos peixes (LAM et al., 2008), disponibilidade de alimento (MALTEZ et al., 2016), peso, estágio de desenvolvimento (GARCIA et al., 2012) e quantidade ou disponibilidade da proteína presente na dieta. As proteínas presentes na ração são, em sua maioria, absorvidas pelos peixes como aminoácidos e a maioria dos compostos nitrogenados provenientes da digestão e absorção de proteínas são excretados na forma de amônia pelas brânquias, fezes e urina da maioria dos peixes (BALDISSEROTTO, 2009).

A adição de enzimas digestivas nas dietas para tilápias do Nilo pode contribuir para a redução da excreção de compostos nitrogenados no ambiente aquático, uma vez que aumenta a digestibilidade dos nutrientes (GOMES et al., 2019).

Diante do exposto acima, o trabalho teve por objetivo avaliar a concentração de glicose sanguínea e a taxa de excreção de amônia como indicadores metabólitos da eficiência da atividade de enzimas exógenas adicionadas em dietas para tilápias do Nilo.

Material e Métodos

A avaliação da concentração de glicose sérica e da taxa de excreção de amônia das tilápias do Nilo, foram realizadas em dois experimentos distintos conduzidos no Laboratório de Aquicultura do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias – CCHSA da Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras – PB. Este estudo fez parte do projeto submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB), com o número de protocolo 087/2015.

Foram testados nos dois experimentos quatro *blends* enzimáticos diferindo na composição e concentração das enzimas exógenas. Os blends foram incorporados a dieta nas seguintes proporções: DC = dieta controle sem suplementação enzimática, DCBlend1 = DC + 100ppm fitase + 200ppm protease, DCBlend2 = DC + 100ppm fitase + 400ppm protease, DCBlend3 = DC + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase, e DCBlend4 = DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase.

A dieta controle foi formulada atendendo as exigências nutricionais para tilápias do Nilo (pós-reversão até 100g) descritas por Furuya (2010), contendo 3.036 kcal/kg de energia digestível e 30% de proteína bruta. Os ingredientes foram triturados, pesados e misturados (misturador "Y" USIBRAS®), para composição das dietas, as quais foram peletizadas (peletizadora CHAVANTE®) e armazenadas sobre refrigeração.

O primeiro experimento foi realizado para avaliar concentração de glicose (mg/dL). Foram utilizados 120 machos de tilápia (revertidos sexualmente), com peso médio 35,8 ± 3,7g distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e três repetições, perfazendo densidade de oito peixes por caixa. Os peixes foram alocados em sistema de recirculação fechada, com filtro mecânico e biológico, bomba de sucção, reservatório (1000 litros), caixas d'água (310 litros).

Os peixes foram alimentados com as dietas DC, DCBlend1, DCBlend2, dCBlend3 e DCBlend4, quatro vezes por dia (8:00h; 11:00h; 14:30h e 17:00h) seguindo uma taxa de arraçoamento de 10% da biomassa, obtida através de biometrias quinzenais. Após último fornecimento diário de ração, foi realizada a limpeza de resíduos sólidos e renovação de 5% da água no sistema.

Para mensuração da qualidade da água, o pH, oxigênio dissolvido e temperatura foram mensurados com auxílio de pHgâmetro (HANNA®) e Oxímetro/termômetro (ICEL®) diariamente. Enquanto as concentrações de amônia total, dureza e alcalinidade foram mensurados semanalmente. Todos os parâmetros de qualidade da água estavam de acordo com os recomendados para a espécie (KUBITZA, 2000), sendo, pH 7,23; oxigênio dissolvido 7,03 mg/ml; temperatura 26,27ºC; amônia total 0,625 (ppm); dureza 54,8 mg/L e alcalinidade 13,2 mg/L.

Após 60 dias de alimentação realizou-se a coleta para determinação da glicose. Para tanto, os peixes permaneceram em jejum por 15 horas antes da primeira coleta realizada às 7:50h, em 3 peixes por tratamento, para determinar a concentração inicial de glicose. Após coleta inicial de sangue, as tilápias foram alimentadas às 8:00h para que a mudança de horários não interferisse no ritmo circadiano, e seguiram-se com as coletas de sangue aos 30 minutos, 1h, 2h, 4h, 8h, 12h e 24 h após a alimentação.

O sangue foi coletado por punção venosa próximo a nadadeira caudal, seguindo a metodologia utilizada por Môro (2013) que não utilizou anestesia nos peixes e usou seringas não heparinizadas de 1ml e agulha 8x0,30mm. Foi coletado, aproximadamente, uma gota de sangue dos peixes, em intervalo de tempo inferior a cinco minutos. Foram utilizados 3 peixes por tratamento em cada tempo de coleta. A glicose foi mensurada em seguida pelo método da glicose desidrogenase flavina-adenina dinucleotídeo (GDH-FAD), por meio de glicosímetro portátil Bayer Contour™ TS e tiras reagentes.

Esta obra está licenciada com uma Licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial-CompartilhaIgual 3.0 Brasil.

AGRARIAN
OPEN ACCESS
e-ISSN: 1984-2538

O segundo experimento foi realizado para mensurar a taxa de amônia total (NH_3 + NH_4) excretada pelos peixes alimentados com as dietas, seguindo a metodologia descrita por Gomes et al. (2019). Foram utilizados 3 alevinos de tilápia (após indução sexual) por tratamento, totalizando 18 peixes com peso médio inicial de 2,63 ± 0,4g. Os peixes foram mantidos em aquários individuais com capacidade para 2,5 litros, compressores e pedras porosas para aeração constante, e aquecedores individuais de 2,5 watts. Diariamente os aquários foram lavados, com renovação total da água. Os peixes foram alimentados com as dietas DC, DCBlend1, DCBlend2, DCBlend3, DCBlend4 e Jejum (tilápias mantidas em jejum durante 72 horas) totalizando seis tratamentos e quatro repetições, onde cada repetição representou um dia de coleta de água.

Os exemplares foram mantidos nos aquários individuais descritos como “aquários de alimentação”, recebendo ração até saciedade aparente, às 08h00min; 11h00min; 14h00min e 16h00min durante período de adaptação de 15 dias. Após a fase de adaptação, a coleta da água foi realizada em intervalos de 72 horas, onde nas primeiras 24 horas os peixes foram alimentados em aquários individuais descritos como “aquários de alimentação” e nas 24 horas seguintes foram transferidos para aquários individuais descritos como “aquários de coleta”, com as mesmas dimensões descritas anteriormente, onde ocorreu a coleta das amostras de água.

No dia da coleta das amostras, após fornecimento de ração as 08h00min, os peixes foram transferidos para os “aquários de coleta”, onde 50 mL de água foram coletadas a intervalos de 0:00; 2:00; 4:00; 8:00; 12:00 e 24:00 horas após alimentação. Para os animais que permaneciam em jejum, foi estabelecida como coleta 1, o horário de transferência das tilápias para os “aquários de coleta”.

Para a coleta da água foram utilizados potes plásticos previamente lavados com solução de ácido clorídrico 10% e água destilada. Em seguida, as amostras foram congeladas até posterior análise. Para quantificar o teor de amônia total presente na água utilizou-se a metodologia descrita por Koroleff (1976) utilizando espectrofotômetro de absorção visível e realizando a leitura em densidade ótica de 650 nm. A partir da leitura da absorbância foi obtido o teor de amônia total em miligramas por litro, possibilitando quantificar a taxa de excreção de amônia por meio da equação:

Taxa de Excreção Endógena = (C0 – C1) x V ÷ (W x T).

Onde, C0 = concentração de amônia no tempo 2; C1 = concentração de amônia no tempo 1; V = volume do aquário (em litros); W = peso do peixe (kg); T = lapso de tempo (horas).

Os parâmetros da qualidade da água (pH, oxigênio dissolvido e temperatura) foram mensurados em todos os aquários individualmente com o auxílio de um peagâmetro (HANNA®) e oxímetro/termômetro (ICEL®) durante o período de coleta da água. Todos os parâmetros de qualidade da água estavam de acordo com os recomendados para tilápia do Nilo, com os seguintes valores: pH 6,75; Oxigênio dissolvido 5,11 mg/ml; Temperatura 27,83ºC.

Os dados da glicemia sérica e da taxa de excreção de amônia nas tilápias do Nilo foram submetidos a análise de variância (ANOVA), em caso de significância aplicou-se o teste de médias Duncan ($p<0,05$).

Resultados e discussão

Taxa glicêmica

Após 15 horas de jejum, os tratamentos DCBlend3 (Dieta controle + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase) e DCBlend4 (Dieta controle + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase) promoveram aumento nos níveis de glicose sanguínea das tilápias (Figura 1).

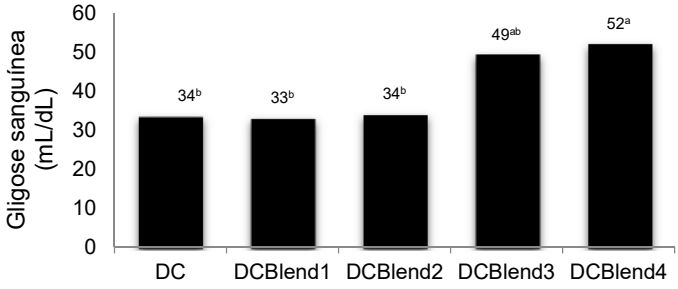


Figura 1. Valores de glicose no sangue de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo *blend* enzimático, submetidas a 15 horas de jejum.

Esta obra está licenciada com uma Licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial-CompartilhaIgual 3.0 Brasil.

O aumento da glicose sanguínea pode indicar que a suplementação com os *blends* enzimáticos contendo amilase em sua composição, foi eficiente em catalisar ligações de carboidratos complexos disponibilizando o monossacarídeo glicose em maior quantidade no intestino. A explicação para o aumento da glicemia nas tilápias que receberam as dietas com os dois *blends* contendo alfa-amilase dá pelo aumento da digestão e absorção de glicose intestinal. Estas diferenças na glicemia, considerando que as dietas foram isonutritivas para energia, pode reforçar que a adição de alfa-amilase nas dietas aumenta a eficiência digestiva e absorção de glicose intestinal.

Embora a síntese endógena de amilase em espécies de peixes onívoras, como a tilápia do Nilo, seja eficiente em catalisar reações e disponibilizar carboidratos simples no intestino (BALDISSEROTTO, 2009), a suplementação com enzimas exógenas em quantidades apropriadas pode promover maior absorção do nutriente, refletindo em melhores índices de crescimento. Nunes et. al. (2006) observaram que a inclusão de até 500 ppm de amilase exógena na dieta de juvenis de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) possibilitou melhores ganhos em crescimento, no entanto, níveis superiores retardaram o ganho em peso e crescimento, resultados que os autores atribuem a uma sobrecarga no fígado, devido a intensificação de reações metabólicas neste sítio de atuação.

A suplementação com enzimas exógenas aumenta os coeficientes de digestibilidade da proteína bruta e energia bruta das dietas para peixes onívoros (MAGRI FILHO et al., 20215). O aumento na disponibilidade de carboidratos simples pode promover a utilização destes para a produção de reservas corporais ou como fonte de energia para reações metabólicas endógenas, poupando os aminoácidos consumidos na dieta para crescimento em formação de tecido, principalmente muscular.

Esta hipótese está em concordância com uma particularidade dos peixes em utilizar a proteína para gerar energia devido à escassez de carboidratos no ambiente aquático, tornando o organismo mais adaptado à utilização de proteína e lipídeos como fonte energética (NRC, 2011).

As concentrações de glicose sanguínea nos primeiros 30 minutos após alimentação, foram maiores para as tilápias que receberam as dietas DCBlend3 e DCBlend4 (P>0,05) suplementadas com alfa-amilase, no entanto, esta não diferiu da dieta DCBlend2, que possuia suplementação mais alta de protease quando comparada a dieta DCBlend1 (Tabela 1).

As alfa-amilases são enzimas que atuam catalisando a hidrólise das ligações glicosídicas alfa- 1,4 na amilose e amilopectina, moléculas que constituem o amido. Este processo libera glicose e carboidratos, que serão hidrolisados a glicose, para posterior absorção pelo organismo do animal (BEDFORD & PARTRIDGE, 2011).

Mediante isso, o aumento na concentração de glicose sanguínea, após 30 minutos, nas tilápias que receberam as dietas com o maior nível de alfa-amilase pode ter ocorrido devido a uma melhor relação enzima-substrato, favorecendo a digestão de carboidratos e disponibilizando a glicose de forma mais rápida no lúmen intestinal.

Tabela 1. Níveis de Glicose em tilápias do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com *blends* enzimáticos[1]

Dietas[2]	Tempo pós-prandial						
	30 min	1 hora	2 horas	4 horas	8 horas	12 horas	24 horas
	Glicose sanguínea (ml/dL)						
DC	39 ± 4,8^{c}	78 ± 0,6 ^{b}	64 ± 6,6^{a}	38 ± 10,0^{a}	32 ± 3,5^{bc}	47 ± 1,7^{a}	37 ± 1,1^{a}
DC Blend1	39 ± 4,4^{c}	53 ± 11,5^{d}	54 ± 6,2^{a}	30,3 ± 8,6^{a}	27 ± 2,2^{c}	48 ± 14,0^{a}	36 ± 0,6^{a}
DC Blend2	43 ± 1,5^{bc}	65 ± 11,0^{c}	82,6±5,3 ^{a}	41,3 ± 1,7^{a}	49 ± 2,4^{ab}	47 ± 17,3^{a}	48 ± 1,1^{a}
DC Blend3	58,33±2,0^{a}	47 ± 1,0^{d}	75 ± 2,6 ^{a}	40,3 ± 2,8^{a}	61 ± 1,7^{a}	31 ± 05,0^{a}	38 ± 1,1^{a}
DC Blend4	55 ± 2,4^{ab}	91 ± 9,1^{a}	73 ± 10,0^{a}	35 ± 3,3^{a}	56 ± 10,8^{a}	61 ± 2,2^{a}	39 ± 2,8^{a}
CV (%)	15,95	10,02	19,76	21,55	23,2	30,16	11,57

[1]Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem (P≤0,05) pelo teste de Duncan. [2]DC = dieta controle sem suplementação enzimática, DCBlend1 = DC + 100ppm fitase + 200ppm protease, DCBlend2 = DC + 100ppm fitase + 400ppm protease, DCBlend3 = DC + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase, DCBlend4 = DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase.

As tilápias alimentadas com a dieta DCBlend4 (DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase), apresentaram os maiores níveis de glicose sanguínea 1 hora após alimentação. Após este período, não houve diferença para os níveis de glicose sanguínea entre os tratamentos 2h, 4h, 12h e 24 horas após

Esta obra está licenciada com uma Licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial-CompartilhaIgual 3.0 Brasil.

alimentação. Oito horas após alimentação, as tilápias que consumiram as dietas sem inclusão da enzima alfa-amilase (tratamentos DC e DCBlend1) apresentaram os menores níveis, quando comparadas as demais dietas. Este resultado pode ter ocorrido devido a menor relação enzima-substrato, possibilitando uma digestão menos eficiente dos carboidratos durante a passagem do quimo pelo intestino.

As curvas glicêmicas do sangue das tilápias do Nilo, ao longo de 24 horas podem indicar que houve maior absorção de glicose nas primeiras 4 horas após alimentação em todos os tratamentos avaliados (Tabela 1). Este comportamento da curva indica que as tilápias foram eficientes em metabolizar os carboidratos presentes nas rações a base de milho, soja e farinha de peixe, independente da suplementação.

Quando observado os picos de glicose, é possível identificar que as dietas suplementadas com *blend* composto por 200ppm fitase, 200ppm protease e 133ppm alfa-amilase (DCBlend3); e o *blend* formado por 200ppm fitase, 400ppm protease, 200ppm alfa-amilase (DCBlend4) possibilitaram picos mais altos de glicose no sangue das tilápias do Nilo, demostrando que os dois *blends* enzimáticos foram eficientes em aumentar a digestibilidade do carboidrato das dietas. Possivelmente, devido ao aumento da concentração de enzimas alfa-amilase, melhorando a relação enzima-substrato e aumentando assim, a eficiência em disponibilizar moléculas de glicose para rápida absorção.

Taxa de excreção de amônia

A taxa de excreção de amônia ao longo de 24 horas (Figura 3) demostra que nas primeiras 2 horas após alimentação, as tilápias que receberam a dieta DCBlend2 (composta por dieta controle + 100ppm fitase + 400ppm protease) apresentaram o pico mais alto de excreção de amônia total (16,36 mg/kg/h). Quatro horas após alimentação, a concentração mais alta foi observada nas tilápias que receberam a dieta DCBlend4 (Dieta controle + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase). Durante o período 8 (intervalo entre 4 e 8 horas após alimentação), houve maior excreção de amônia nos peixes alimentados com as dietas DC e as dietas com *blend* apresentando menor suplementação de protease, DCBlend1 e DCBlend3. Os níveis de excreção de amônia para os peixes em jejum permaneceram baixos durante todo o período analisado.

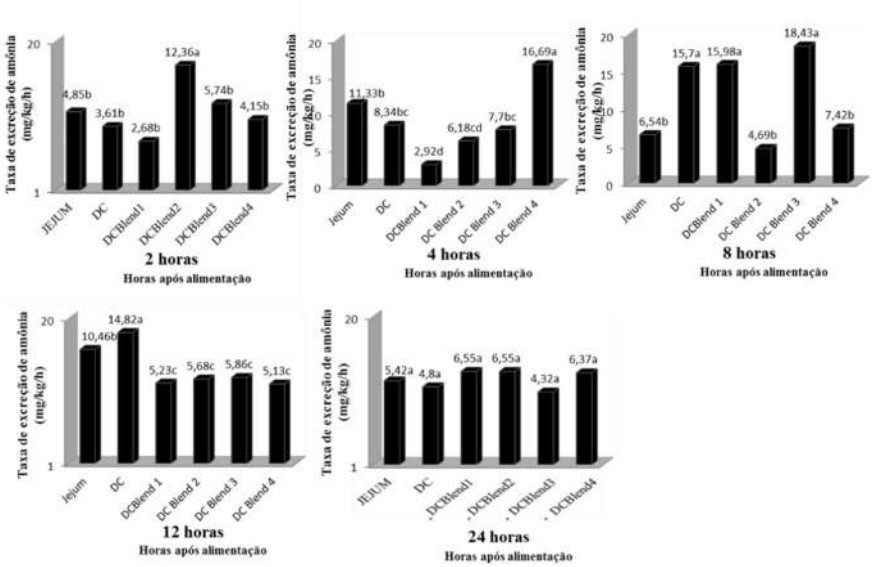


Figura 3. Taxa de excreção de amônia em cinco intervalos de tempo ao longo de 24 horas, e tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo *blend* enzimático.

Durante o intervalo de tempo 12 (intervalo entre 8 e 12 horas de coleta), as tilápias alimentadas com dietas contendo suplementação enzimática apresentaram menor excreção de amônia total, enquanto os animais da dieta controle apresentaram maior taxa de excreção. Este comportamento pode indicar que houve metabolização mais rápida da proteína das dietas com adição da enzima protease, motivada pela maior concentração de enzimas digestivas no lúmen intestinal. Enquanto as tilápias que consumiram dietas sem adição de enzimas, utilizaram apenas às de produção endógena para catalisar as reações metabólicas,

Esta obra está licenciada com uma Licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial-CompartilhaIgual 3.0 Brasil.

requerendo tempo superior para este processo. Após 24 horas, não houve diferenças na excreção de amônia das tilápias de acordo com a dieta que receberam.

Garcia et al. (2012) avaliando a excreção de amônia em jundiás em diferentes estágios de vida (ovos, larvas e juvenis), constataram que ovos e larvas excretam menos amônia quando comparadas a juvenis, a excreção de amônia nos juvenis diminui gradativamente após 12h de jejum, mas após alimentação estes peixes apresentam altos níveis de excreção. No presente ensaio foram observados picos de excreção de amônia 2h, 4h e 8h após a alimentação, nas dietas com adição enzimas digestivas. Nas primeiras 2h após a alimentação os peixes do tratamento DCBlend2 (*blend* com 100ppm fitase e 400ppm protease) apresentaram a maior excreção de amônia.

No tempo 4h a maior excreção de amônia foi observada nas tilápias do tratamento DCBlend4 (*blend* com 200ppm fitase, 400ppm protease e 200ppm alfa-amilase). Os dois *blends* enzimáticos continham as maiores quantidades de protease, havendo diferença apenas na inclusão de alfa-amilase no *blend* 4. A diferença no tempo entre os picos de excreção pode ser atribuída ao sinergismo entre enzimas quando adicionadas nas rações como *blends* ou complexos, pois, segundo Oliveira et al. (2007), a adição combinada de enzimas digestivas permite que estas atuem de forma simultânea e complementar possibilitando aumento na disponibilidade de nutrientes. Esta interação pode ser identificada na pesquisa desenvolvida por Huang et al. (2020) onde ao avaliarem a eficiência de um complexo enzimático composto por protease, xilanase, glucanase e manase em dietas para robalo japonês, observaram aumento na atividade da enzima lipase.

No intervalo de tempo 8h após a alimentação, foram observados picos de excreção nas tilápias dos tratamentos DC, DCBlend1 e DCBlend3 implicando que o tempo entre consumo de ração e excreção de metabolitos provenientes do metabolismo proteico foi maior quando comparados aos tratamentos com maior quantidade de protease. Entre 12 e 24 horas após a alimentação não foram observados picos de excreção de amônia. As taxas de excreção de amônia das tilápias em jejum podem ser atribuídas a mobilização e catabolismo dos tecidos corporais para fins de geração de energia.

As variações na glicemia e taxa de excreção de amônia de tilápias alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas sugerem que estas variáveis podem ser utilizadas de forma complementar, entretanto, a eficiência com que as enzimas influenciam a disponibilidade dos nutrientes nas dietas dependem do tipo e concentração das enzimas no *blend* enzimático, deste modo, novos estudos devem ser realizados com a finalidade de avaliar a influencia da adição de enzimas sobre os produtos da digestão e absorção de nutrientes para tilápias do Nilo.

Conclusões

Os níveis de glicose sanguínea e a taxa de excreção de amônia podem ser utilizados como indicadores indiretos da atividade de enzimas digestivas em tilápias do Nilo, visto que, estes foram influenciados pela adição e concentração das enzimas presentes nos *blends* avaliados.

Referências

BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 2 ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2009. 350 p.

BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. Enzymes in farm animal nutrition. 2. ed. Londres: CAB Internacional, 2011. 330 p.

FURUYA, W.M. Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias. Toledo: GFM. 100p. 2010.

GARCIA, L.D.O., BRAUN, N., BECKER, A.G., LORO, V.L., BALDISSEROTTO, B. Ammonia excretion at different life stages of silver catfish. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 34, n. 1, p. 15-19, 2012.

GOMES, V.D.S.; SILVA, J.H.V.; JORDÃO FILHO, J.; AMÂNCIO, A.L.L.; COSTA, F.G.P.; SARAIVA, E.P.; CAVALCANTI, C.R. Suplementação enzimática sobre o desempenho e taxa de excreção de amônia em tilápias do Nilo. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 22, n. 1, p. 13-20, 2019.

Esta obra está licenciada com uma Licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial-CompartilhaIgual 3.0 Brasil.

HUANG, Z., LI, Z., XU, A., ZHENG, D., YE, Y., WANG, Z. Effects of exogenous multienzyme complex supplementation in diets on growth performance, digestive enzyme activity and non-specific immunity of the Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture Nutrition**, v.26, n. 2, p. 305-315, 2020.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: GRASSHOFFK, K. **Methods of seawater Analysis**. Germany: Verlag Chemie Weinhein. p.117-187, 1976.

LAM, S.S.; AMBAK, M.A.; JUSOH, A.; LAW, A.T. Waste excretion of marble goby (*Oxyeleotris marmorata Bleeker*) fed with different diets. **Aquaculture**, v.274, p 49-56, 2008.

MAGRI FILHO, S.; PÁDUA, D.M.C.; ARAÚJO, J.G.; SOUTO, C.N.; ULHOA, C.J.; CYSNEIROS, C.S.S.; NASSAR, R.F.; CUNHA, J.M.S. Digestibilidade aparente de dietas contendo complexo enzimático para o tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Agrarian**, v. 8, n. 30, p. 423-430, 2015.

MALTEZ, L.C.; STRINGHETTA, G.R.; PINTO, D.S.B.; PELLEGRIN, L.; NITZ, L.F.; FIGUEIREDO, M.R.C.; GARCIA, L.O.; BARBAS, L.A.L. Temperature and feeding on the modulation of ammonia excretion rate of piaussu *Leporinus microcephalus.* **Biota Amazônia**, v. 6, n.3, p. 77 – 83, 2016.

MÔRO, G.V. **Carboidratos em dietas para o dourado Salminus brasiliensis (CUVIER, 1816)**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2013.

MOURA, G.S.; LANNA, E.A.T.; FILER, K.; FALKOSKI, D.L.; DONZELE, J.L.; OLIVEIRA, M.G.A.; REZENDE, S.T. Effects of enzyme complex SSF (solid state fermentation) in pellet diets for Nile tilapia. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v. 41, n. 10, p. 2139-2143, 2012.

NELSON, D.L.; COX, M.M. Princípios de bioquímica de Lehninger**.** Porto Alegre: Artmed, 2014. 1312 p.

NRC. Nutrient Requeriment of Warm Fishes and Shellfishes. Washington, D.C. **Nutrient Requeriment of domestic Animals National Academy of Science** – National Research Council, 2011.

NUNES, E.S.S.; CAVERO, A.S.; MANOEL PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.139-143, jan. 2006.

OLIVEIRA, G.R.; LOGATO, P.V.R.; FREITAS, R.T.F.; RODRIGUES, P.B.; FIALHO, E.T.; DIODATTI, F.C. Digestibilidade de nutrientes em ração com complexo enzimático para tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v. 36, n. 6, p. 1945-1952, 2007.

URBINATI, E.C., CARNEIRO, P.C.F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSI, D.M. et al. (Eds.) Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2004. p.171-193.

Esta obra está licenciada com uma Licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial-CompartilhaIgual 3.0 Brasil.