



RAFAEL ACHILLES MARCELINO

**ATIVIDADE DE ENZIMAS DIGESTIVAS DE TILÁPIAS
DO NILO EM DIFERENTES PORÇÕES INTESTINAIS E
HORAS PÓS PRANDIAIS**

LAVRAS – MG

2022

RAFAEL ACHILLES MARCELINO

**ATIVIDADE DE ENZIMAS DIGESTIVAS DE TILÁPIAS DO NILO EM
DIFERENTES PORÇÕES INTESTINAIS E HORAS PÓS PRANDIAIS**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Zootecnia, para a obtenção do título de Bacharel.

Prof^ª. Dr^ª. Priscila Vieira e Rosa

Orientadora

Dr^ª. Kátia Rodrigues Batista de Oliveira

Coorientadora

LAVRAS – MG

2022

AGRADECIMENTOS

Em primeiro, gostaria de agradecer a minha família por todo o apoio durante todos esses anos, meu pai que mesmo não estando presente, sei que seria a pessoa mais orgulhosa do mundo. Minha mãe, por ser esse exemplo de pessoa, uma mulher batalhadora que mesmo quando o mundo me virou as costas, ela esteve lá me apoiando; aos meus irmãos por toda amizade, sorrisos e momentos felizes e de carinho juntos.

Aos meus irmãos não de sangue, mas de coração da República Touro Mecânico, por terem feito meu caminho universitário mais leve e feliz.

A minha nega Bruna, por ter sido a pessoa mais próxima que tive na vida, que sabe tudo sobre mim e foi uma pessoa que mais acreditou em mim, mesmo quando eu não acreditava.

Aos meus amigos de Lagoa, que mesmo a distância e a vida terem separado, sei que nossa amizade é sólida, mesmo não tendo nos encontrado muito.

Ao NAQUA, grupo espetacular, que sem ele, jamais teria conseguido fazer esse trabalho, a todos integrantes que me ajudaram, em especial a Professora Priscila e a Katinha, por todo apoio, ensinamentos e principalmente paciência.

À família Barall e Darce Beer, não só pelos trabalhos, mas também por todos amigos que fiz, todo aprendizado, que fazem muita diferença no meu cotidiano.

Ao meu querido Jhon, que mesmo tendo chegado recentemente, somente no final dessa etapa, nunca deixou de me apoiar e sei que nunca vai. Te amo!

Enfim, a todos que de alguma forma ou de outra contribuíram para que eu chegasse aqui hoje, não foi fácil, mas sem vocês seria impossível. **MUITO OBRIGADO!**

RESUMO

A análise de enzimas digestivas de espécies aquícolas é indispensável para a obtenção de dados acerca de sua capacidade de aproveitar do melhor modo possível os alimentos disponíveis, gerando subsídios para pesquisas na área de nutrição e permitindo ajustes mais precisos na elaboração de dietas. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi determinar o pico e local de maior atividade das enzimas lipase e amilase em cada uma das três porções do intestino de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), variando o tempo pós alimentação. O experimento foi realizado no setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras. No experimento 108 tilápias juvenis foram alimentados entre os intervalos de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, e 48 horas e pós alimentação, todos os peixes foram eutanasiados e tiveram seu trato digestório retirado e divididos em três porções: inicial, médio e final. As atividades de amilase e lipase foram medidas com kits, adaptados para amostras de intestino de peixes. Kits comerciais foram utilizados para quantificar triglicerídeos e glicose. Houve diferenças significativas na atividade de enzimas digestivas específicas em diferentes porções intestinais desses animais, variando as horas pós-prandiais. Também houve diferenças significativas entre os parâmetros plasmáticos da glicose e triglicerídeos nesses animais. Concluiu-se que a atividade máxima da amilase intestinal ocorre entre 8 e 12 horas pós-prandiais no intestino anterior e médio, sendo este o momento e local ideal para coleta visando a estimativa da atividade específica de amilase. Para análise da atividade específica da lipase, o momento ideal para a coleta é entre as 4 e 8 horas pós-prandiais no intestino anterior.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*; atividade enzimática; aquacultura.

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|---|-----------|
| 1. | INTRODUÇÃO | 5 |
| 2. | REFERENCIAL TEÓRICO | 6 |
| 2.1 | Tilápia..... | 6 |
| 2.2 | Enzimas digestivas..... | 9 |
| 2.2.1 | Quantificação das enzimas digestivas | 10 |
| 2.2.2 | Atividade da amilase | 11 |
| 2.3 | Glicose sanguínea..... | 12 |
| 3. | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 14 |
| 3.1 | Atividade das enzimas digestivas | 15 |
| 3.2 | Análises bioquímicas do sangue | 15 |
| 3.3 | Análises estatísticas..... | 15 |
| 4. | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 16 |
| 5. | CONCLUSÃO | 20 |
| | REFERÊNCIAS | 21 |

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é a produção animal que mais tem crescido mundialmente, sendo atividade indispensável no suprimento das necessidades alimentares atuais e futuras, em razão de ser fonte de proteínas, lipídios e micronutrientes essenciais à saúde humana. O Brasil conta com grande potencial para a produção de pescado, muito em razão da ampla disponibilidade hídrica, grande diversidade aquícola, às condições edafoclimáticas favoráveis tal como às extensas áreas cultiváveis em águas continentais e marinhas..

Dentre as espécie, a tilápia é a mais cultivada mundialmente. O Brasil é classificado como 4 maior produtor mundial de tilápia, com sua produção crescendo anualmente. A espécie tem por vantagens elevados desempenho reprodutivo e comercialização, além de tolerância a altas taxas de densidade, rusticidade, capacidade de policultivos e boa aceitação de dietas de baixo custo. Conta também com tolerância a baixo teor de oxigênio dissolvido, altos teores de amônia e elevadas temperaturas, dessa forma, podendo ser cultivada em diversos ambientes e sistemas produtivos.

Acerca de sua alimentação, o valor nutricional de um alimento não depende somente de sua composição, mas ainda da capacidade do animal digerir e absorver esses nutrientes. O potencial digestivo dos peixes é amplamente flexível, variando segundo seu peso, habitat, maturidade e histórico alimentar. Desta forma, a análise de enzimas digestivas é indispensável para a obtenção de dados acerca de sua capacidade de aproveitar do melhor modo possível os alimentos disponíveis, gerando subsídios para pesquisas na área de nutrição e permitindo ajustes mais precisos na elaboração de dietas.

Além disso, elucidar a relação entre as atividades enzimáticas digestivas e a composição centesimal dos alimentos consumidos por esses animais no ambiente é indispensável para o entendimento da biologia alimentar das espécies.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi determinar e encontrar o pico de atividade das enzimas lipase e amilase em cada uma das três porções do intestino de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), variando o tempo pós alimentação. Para se obter maiores informações caso seja necessário fazer uma coleta dessas enzimas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Tilápia

A aquicultura é a produção animal de maior crescimento no Brasil e no mundo, sendo essencial no atendimento das necessidades alimentares na atualidade e também no futuro, se colocando como uma relevante fonte de proteínas, lipídios e micronutrientes essenciais à saúde humana (SATIRO, 2021).

Além disso, o cultivo de peixes é responsável por aproximadamente metade de todo o pescado direcionado ao consumo humano, favorecendo o desenvolvimento e preservação de populações de peixes em razão de uma gestão mais assertiva das pescarias. O pescado é um dos alimentos mais comercializados mundialmente, emergindo como fonte de renda, visto que mais da metade do valor das exportações são provenientes de países em desenvolvimento. Ademais, relatórios elaborados por diversas organizações internacionais enfatizam o crescente potencial dos oceanos e águas continentais na produção de alimentos, cooperando para a segurança alimentar da população mundial, que deverá alcançar 9,7 bilhões no ano de 2050 (LUSTOSA NETO et al., 2018).

De acordo com a FAO, a produção mundial de pescado alcançou 179 milhões de toneladas em 2018. A aquicultura teve incremento de 25% entre os anos de 2008 e 2017 e foi responsável pela produção de 82,1 milhões de toneladas. Já a pesca (marítima e continental), no mesmo período apresentou crescimento de 7%, capturando 96,4 milhões de toneladas. Já o consumo humano de pescado (desconsiderando a matéria-prima para ração e outros usos) alcançou 156 toneladas métricas em 2018, sendo este um valor recorde. Em 1961, a população mundial consumia 9 kg per capita/ano, mas em 2018 tal consumo atingiu 20,5 kg per capita anuais, especialmente devido à maior oferta de produtos aquícolas (FAO, 2020).

Já no Brasil, desde o início da produção comercial de peixes nos anos 90, a piscicultura tem incrementado suas áreas produtivas, relacionando desde pequenos produtores buscando fontes de renda

alternativas até grandes empresas transnacionais com produções com alto nível de tecnificação e contribuição considerável no mercado mundial (SCHULTER, 2018).

No ano de 2020 a piscicultura brasileira apresentou crescimento de 5,93%, alcançando a produção de 802.930 t (contra 758.006 t em 2019), segundo informações da Associação Brasileira da Piscicultura (Peixe BR) para o Anuário Peixe BR 2021. Nos últimos 7 anos, a piscicultura nacional soma crescimento de 38,7% (PEIXE-BR, 2020).

O potencial brasileiro para a produção de pescado relaciona-se à disponibilidade hídrica, grande diversidade aquícola, às condições edafoclimáticas favoráveis tal como às extensas áreas cultiváveis em águas continentais e marinhas que favorecem o desenvolvimento da aquicultura brasileira. O país conta com aproximadamente 13% de toda a água doce líquida disponível no mundo, além de uma costa litorânea de 8,4 mil km, e áreas alagadas como barragens e reservatórios de usinas hidrelétricas, canais irrigados e áreas particulares para a produção. Além disso, o Brasil é um dos líderes na produção de grãos, matéria prima base para a produção de rações para peixes (DUARTE, 2017).

A tilápia é a espécie de aquicultura mais cultivada mundialmente, estando presente em mais de 120 países ou territórios. A produção mundial de aquicultura de tilápia cresceu 11% ao ano nos últimos trinta anos, saindo de 0,3 milhões de toneladas (US\$ 304 milhões) em 1987 para 5,9 milhões de toneladas (US\$ 11 bilhões) em 2017 (FAO, 2019).

Já no Brasil esta é a principal espécie cultivada, apresentando crescimento de 12,5% em 2020, alcançando 486.155 toneladas (contra 432.149 t do ano anterior). Sua contribuição na produção total de peixes cultivados saltou para 60.6% (foi de 57% em 2019). A região Sul é líder da produção nacional de tilápia, com 44% da produção nacional, com destaque ao estado do Paraná, com produção de 166.000 t (135% a mais que São Paulo, o segundo colocado no ranking nacional) (PEIXE-BR, 2020).

Mundialmente, o Brasil coloca-se como o 4º maior produtor de tilápia, aproximando-se do 3º colocado, o Egito, que em 2020 produziu 940 mil toneladas (PEIXE-BR, 2020).

As tilápias pertencem a classe *Actinopterygii*; ordem *Perciformes*; família *Cichlidae*, e classificadas em três gêneros quanto a relevância comercial: gênero *Oreochromis* spp., *Tilapia* spp. e *Sarotherodon* spp. Por volta de 80% das tilápias produzidas no mundo fazem parte do gênero *Oreochromis* e da espécie *niloticus* (CAMPOS, 2020).

O emprego da tilápia em piscicultura é datado de 2000 a.c. Entretanto sua

dispersão pelo mundo deu-se dos anos 60 aos 80. Nesta fase foram intensificados os estudos acerca do sistema de produção e nutrição que, juntamente ao desenvolvimento de mercado e processamento, teve como efeito uma célere expansão da tilapicultura (CAMPOS, 2020).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma espécie de ciclídeos onívoros de água doce com origem no continente africano, de elevados desempenho reprodutivo e comercialização, além de tolerância a altas taxas de densidade, rusticidade, capacidade de policultivos e boa aceitação de dietas de baixo custo. Conta também com tolerância a baixo teor de oxigênio dissolvido, altos teores de amônia e elevadas temperaturas, dessa forma, podendo ser cultivada em diversos ambientes e sistemas produtivos (MORAIS, 2017).

Cabe ressaltar que a tilápia do Nilo conta com sistema digestório capaz de utilizar de modo eficiente os carboidratos da dieta, quando em comparação com outras espécies de peixe amplamente cultivadas (CAMPOS, 2020).

A preferência dos consumidores pela carne de tilápia relaciona-se à características intrínsecas do animal, como carne branca, textura firme, sabor suave e ausência de espinhos intramusculares, facilitando a filetagem (MORAIS, 2017).

Além disso, a proteína de tilápia conta com elevado valor biológico, em razão da presença de aminoácidos essenciais, além de ser rica em minerais importantes para o adequado funcionamento do corpo humano (CAMPOS, 2020).

Vários subprodutos são originados com o processamento da tilápia, como a farinha de resíduos desengordurada e o óleo de tilápia. Além dos benefícios alimentares, a pele de tilápia tem sido empregada como curativo biológico oclusivo para o tratamento de queimaduras e feridas (CAMPOS, 2020).

No Brasil, as primeiras espécies de tilápia foram introduzidas no ano de 1953 sendo a tilápia do Congo (*Tilapia rendalli*), e tilápia de Zanzibar (*Oreochromis urolepis hornorum*). No ano de 1971, com a introdução da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no nordeste brasileiro, teve início a tilapicultura nacional. Ao passar dos anos foram desenvolvidas algumas linhagens melhoradas geneticamente para suprir as demandas mercadológicas como: a Tilápia Tailandesa (Chitralada) registrada no país como Supreme Tilápia Aquabel; e as tilápias de linhagem Genetic Improved Farmed Tilapia (GIFT) e Genetically Male Tilápia (GMT) que são conhecidas como supermachos por serem machos com genótipo YY, apresentando duas variedades, a Tilápia Prateada GMT®,

proveniente de variedades selecionadas na África do Sul, e a Tilápia Vermelha GMT® originada de uma espécie pura de *O. niloticus* vermelha (DUARTE, 2017).

2.2 Enzimas digestivas

As enzimas digestivas são proteínas globulares que atuam como catalisadores visando incrementar a velocidade das reações químicas no organismo, controlando quase todos os processos ocorridos nas células (CRUZ, 2019).

A nomenclatura mais empregada para enzimas digestivas é constituída pelo sufixo “ase” juntamente à denominação do substrato da reação ou descrição de sua ação, como protease, amilase e lipase. Certas enzimas possuem denominação sem relação com a reação, como por exemplo, a tripsina (GOMES et al., 2018).

A estrutura molecular das enzimas é consideravelmente sensível, podendo ser desnaturada por calor, álcalis, metais pesados e demais agentes oxidantes. Os processos de digestão alimentar e absorção dos nutrientes são dependentes da presença e disponibilidade de enzimas digestivas apropriadas nos locais corretos do trato gastrointestinal. Em grande parte dos peixes, a digestão ocorre principalmente no intestino, entretanto o estômago, a mucosa intestinal, o pâncreas e os cecos pilóricos (quando existentes) também contam com a presença de enzimas (FOSSE FILHO, 2018).

A ampla diversidade ecológica e filogenética dos teleósteos tem como efeito os diversos modos que estes peixes obtêm sua alimentação, bem como, na variedade de suas dietas. Boa parte conta com alguma flexibilidade em seus hábitos alimentares, podendo variar segundo a disponibilidade dos nutrientes no ambiente. As estruturas dos diversos órgãos do trato digestório estão, desta forma, relacionadas às características dos alimentos e à sua forma de ingestão, de forma que esta seja eficiente (MICHELOTTI, 2020).

Nos peixes a digestão e suas enzimas se assemelham ao observado em outros vertebrados. A síntese e os níveis adequados de enzimas são regulados pela disponibilidade de nutrientes no ambiente, os quais variam no decorrer do tempo. Os peixes, no geral, são classificados segundo seus hábitos alimentares e dieta, que refletem em suas atividades enzimáticas digestivas (MICHELOTTI, 2020).

Posteriormente à ingestão, o alimento passará por diversas transformações físico-químicas ao longo do trato gastrointestinal, para assim ser absorvido e metabolizado segundo as exigências do animal. O valor nutricional de um alimento não é dependente apenas de sua composição, mas ainda da capacidade do animal digerir e absorver esses nutrientes, o que é variável de acordo com a espécie, condições ambientais e qualidade

do alimento. Os alimentos, em sua maioria, são constituídos por moléculas de peso molecular elevados, não podendo ser absorvidas de forma direta pela mucosa gastrointestinal, sendo indispensável sua transformação em moléculas de baixo peso molecular, processo catalisado por enzimas digestivas secretadas no tubo digestório. Desta forma, um dos fatores que restringe a eficiência da absorção e conversão do alimento é a disponibilidade de enzimas digestivas.

Nos peixes geralmente não há a presença de enzimas digestivas na cavidade oral, entretanto, o estômago de grande parte desses seres vivos secreta enzimas proteolíticas. No intestino e cecos pilóricos são secretadas enzimas produzidas pelo pâncreas, como tripsina, amilase, lipases e quitinases (no caso de peixes que se alimentam de insetos ou crustáceos). Tais enzimas são transportadas pelos ductos pancreáticos para a região anterior do intestino ou cecos pilóricos, com a quantidade variável segundo a espécie. As microvilosidades dos enterócitos do intestino, além de ampliarem a superfície de absorção, ainda produzem enzimas como fosfatase alcalina, sacarose, maltase e dipeptidases (GOMES et al., 2018).

Existe a possibilidade de suplementação com enzimas digestivas exógenas na alimentação, com o propósito de complementar as enzimas digestivas endógenas (tripsina, quimotripsina, amilase e lipase), fornecendo ainda as que não são sintetizadas no processo digestivo (xilanasas, β -glucanases, celulase e fitase), contribuindo com a digestibilidade e desempenho zootécnico dos peixes (MORAES, 2020).

2.2.1 Quantificação das enzimas digestivas

O potencial digestivo dos peixes é amplamente flexível, variando segundo seu peso, habitat, maturidade e histórico alimentar. Assim, a análise de enzimas digestivas é indispensável para a obtenção de dados acerca de sua capacidade de aproveitar do melhor modo possível os alimentos disponíveis (COSTA et al., 2020), gerando subsídios para pesquisas na área de nutrição e permitindo ajustes mais precisos na elaboração de dietas (DORCE et al., 2020).

Além disso, elucidar a relação entre as atividades enzimáticas digestivas e a composição centesimal dos alimentos consumidos por esses animais no ambiente é indispensável para o entendimento da biologia alimentar das espécies (MICHELOTTI, 2020).

Avaliar a atividade de enzimas digestivas é um método comum em diversos sistemas biológicos, em estudos fisiológicos e nutricionais. Particularmente, avaliar a

atividade de enzimas digestivas em estudos nutricionais é frequente quando os pesquisadores tem por objetivo avaliar a competência digestiva de uma espécie de peixe ao longo de sua ontogenia, com o propósito de adequar os protocolos de alimentação e manejo às capacidades de seu sistema digestivo. Tais análises também são empregadas para avaliar o impacto de certo tipo de dieta ou nutriente na funcionalidade e/ou maturação dos órgãos digestivos (GISBERT; NOLASCO; SOLOVYEV, 2018).

A avaliação da atividade de tais enzimas é frequentemente efetuada mediante técnicas de espectrofotometria ou fluorometria. Tais métodos fundamentam-se na incubação em uma solução tampão de um substrato com um extrato contendo a enzima ou a mistura de enzimas de interesse, tendo por resultado a formação do complexo enzimático e hidrólise do substrato, sendo essa dependente da atividade da enzima e estimada por alterações na absorbância ou fluorescência da solução de trabalho (GISBERT; NOLASCO; SOLOVYEV, 2018).

Há ainda pesquisadores que também empregam zimogramas de eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) para identificação e detecção qualitativa da presença de diversos tipos de enzimas ou isoenzimas em extratos brutos (GISBERT; NOLASCO; SOLOVYEV, 2018).

2.2.2 Atividade da amilase

A digestão dos carboidratos em peixes se dá no estômago, nos cecos pilóricos e no intestino, por meio da hidrólise de moléculas complexas de polissacarídeos. Tal processo é realizado por algumas enzimas, sendo a amilase a mais relevante, tendo como produto desta reação oligo e monossacarídeos (FOSSE FILHO, 2018).

As alfa-amilases são endoamilases que exercem a catálise da hidrólise das ligações glicosídicas alfa-1,4 na amilose e amilopectina, moléculas que compõem o amido de modo aleatório. Tal processo tem como produto a liberação de glicose e carboidratos, que serão hidrolisados a glicose, para posterior absorção pelo animal (GOMES et al., 2018).

Essa enzima é sintetizada especialmente no pâncreas, entretanto, em algumas espécies de peixes onívoros ou herbívoros, tal síntese pode se dar na mucosa intestinal (GOMES et al., 2018). Em tilápias do Nilo, a atividade da amilase tem relação estreita com a temperatura da água. A atividade da amilase (UA) na digesta da espécie nas temperaturas 20, 24, 28 e 32°C, apresentou comportamento linear, sofrendo incremento com a elevação da temperatura da água. Pesquisadores associam os resultados

ao maior consumo de ração pelos peixes, permitindo a ampliação do substrato amido, evidenciando que as enzimas digestivas podem ser induzidas pela disponibilidade de seu substrato (GOMES et al., 2018).

O uso dos carboidratos é diferenciado entre as espécies e é especialmente dependente da complexidade da fonte de carboidrato ingerida. O amido é a forma de armazenamento para a glicose nos vegetais, composto por amilose (amido não ramificado) e amilopectina (amido ramificado). A estrutura do glicogênio é semelhante à da amilopectina, com maior número de ramificações, sendo a forma de armazenamento de glicose nos animais. A α -amilase catalisa a hidrólise das ligações α -1,4 da amilose, amilopectina e glicogênio, liberando como produto maltose e isomaltose e não é capaz de hidrolisar as ligações α -1,6 (FOSSE FILHO, 2018). Apesar de os carboidratos serem um dos três principais componentes das dietas animais, sendo empregados como fonte de energia para crescimento, as funções biológicas e a metabolização desse macronutriente em peixes ainda não estão completamente elucidadas. A capacidade de adequar a secreção da amilase aos níveis de carboidrato da dieta e ao nível de infesta deve ser limitada aos peixes onívoros e herbívoros. O incremento na produção de amilase pode se dar como reação à presença de carboidratos ou produtos de sua hidrólise no trato gastrointestinal. A glicose pode interferir de modo direto sua produção pelo tecido pancreático, ou de modo indireto, estimulando a liberação de insulina pelo pâncreas (FOSSE FILHO, 2018).

2.3 Glicose sanguínea

A glicose sanguínea é disponibilizada para ser empregada pelos tecidos, podendo ser imediatamente oxidada para fazer parte da síntese de componentes essenciais para o crescimento e manutenção das células e tecidos. No fígado, o principal órgão de homeostase da glicose sanguínea, esta é degradada em diversas reações catalisadas por enzimas (a glicólise), com formação de ATP. O excesso de glicose pode ser armazenado como glicogênio (glicogênese) no fígado e nos músculos ou transformado em ácidos graxos e triglicerídeos (lipogênese) (CARDOSO, 2018).

A restrição de glicose gerada pela restrição alimentar ou deficiência nutricional é suprida pela quebra do glicogênio (glicogenólise) e/ou pela síntese de glicose (gliconeogênese) com base em outros compostos orgânicos como lactato, glicerol e alguns aminoácidos. O equilíbrio entre os processos que diminuem e incrementam o nível de glicose no sangue (glicemia) possibilita que os animais

conservem o nível de glicose satisfatório para o funcionamento dos tecidos que empregam quase exclusivamente a glicose como fonte de energia (tecido nervoso e hemácias, por exemplo) (CARDOSO, 2018).

A manutenção da homeostase da glicose no plasma é dependente da regulação da atividade e expressão gênica das enzimas relacionadas nos processos de quebra e síntese de glicose. A regulação de tais enzimas tem como base especialmente a concentração de alguns substratos e produtos destas reações e pelos hormônios insulina, glucagon, somatostatina e cortisol, entretanto, as ações desses hormônios no controle da glicemia em peixes ainda não são completamente elucidadas (CARDOSO, 2018).

Os níveis e a produção de insulina são considerados normais ou, em certas situações, elevados em relação aos valores observados para os demais vertebrados. Assim, uma das justificativas para as alterações na glicose sanguínea e a hiperglicemia duradoura constatada para várias espécies de peixes é um pequeno número de receptores de insulina nas células da musculatura esquelética de peixes, em comparação a outros vertebrados. Por essa razão, é frequente que em peixes, após a ingestão de alimentos, digestão dos carboidratos e absorção da glicose, um incremento considerável dos níveis glicêmicos, levando a uma hiperglicemia continuada que pode perdurar por mais de um dia em certas espécies (MORO, 2013).

A capacidade das espécies de regular o incremento dos níveis de glicose sanguínea varia e se relaciona diretamente ao hábito alimentar (MORO, 2013). Em uma pesquisa acerca dos pontos da intolerância à glicose nos teleósteos, Moon (2001) apresentou que espécies onívoras controlam mais rapidamente os níveis de glicose que espécies carnívoras, o que justifica a maior capacidade desses peixes em consumir e empregar maiores níveis de carboidratos na dieta.

O nível de glicose sanguínea pode ser empregado como um possível indicador direto da atividade das enzimas digestivas, visto que esses metabólitos são produtos dos processos digestivos, absorptivos e metabólicos a depender da ação de catálise de enzimas digestivas no metabolismo de carboidratos e proteínas. A curva glicêmica é utilizada para analisar a variação de glicose em função de modificações nas proporções de carboidratos nas rações. (GOMES et al., 2020). Segundo Bedford e Partridge (2011), a glicose liberada no lúmen intestinal, pela quebra enzimática de carboidratos complexos, é absorvida pelos enterócitos para a corrente sanguínea. Urbinati e Carneiro (2004) enfatizam que os níveis de glicose sanguínea ainda se relaciona estreitamente às reações fisiológicas a diversos

agentes estressores, como alterações de temperatura, o manejo realizado e o transporte da mesma.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no setor de Psicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, onde os peixes nasceram e foram criados até chegarem ao peso médio de 100 gramas.

No experimento 108 tilápias juvenis foram distribuídas em nove caixas circulares de polipropileno com capacidade de 320 L (280 litros de volume útil) na densidade de 12 peixes/caixa. Cada caixa contendo entrada e saída de água individuais, dispostas em sistema de recirculação de água com filtragem mecânica e biológica, temperatura controlada e sistema de aeração.

Os peixes foram pesados inicialmente e

microchipados, cada peixe foi considerado uma unidade experimental. Os tratamentos avaliados foram de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, e 48 horas pós alimentação. Foi oferecida três vezes ao dia uma ração comercial com 32% e proteína bruta, à vontade durante 30 dias.

Ao final, os peixes de cada caixa foram alimentados e, após os devidos tempos pós alimentação, todos os peixes de cada caixa foram eutanasiados em solução de benzocaína. Em seguida foi feita a abertura da cavidade abdominal por incisão longitudinal ventral na linha média e retirada do trato digestório.

Os intestinos foram individualizados e divididos em três porções: inicial, médio e final, as amostras foram imediatamente imersas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -80° C. Posteriormente os tecidos foram homogeneizados em solução tampão, utilizando homogeneizador. As amostras foram centrifugadas e o sobrenadante coletado e armazenado para análise.

3.1 Atividade das enzimas digestivas

Porções do intestino dos peixes foram pesadas, e o pH foi medido. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas com água destilada e mantidos em baixa temperatura, e não houvesse ativação enzimática (diluição 1:5), centrifugadas em 3300 g por 30 min na temperatura de 4 °C, e o sobrenadante foi coletado e armazenado a -80 °C para análises posteriores. Todas as atividades enzimáticas foram determinadas usando um espectrofotômetro de varredura de microplacas (Multiskan GO, Thermo Scientific, USA).

As atividades de amilase (E.C.3.2.1.1) e lipase (E.C. 3.1.1.3) foram medidas com kits (Gold Analisa Cat. 311 e 304, respectivamente), adaptados para amostras de intestino de peixes. A atividade enzimática foi expressa como atividade específica, definida como μmol de produto gerado por minuto.

3.2 Análises bioquímicas do sangue

Kits comerciais (Labtest Diagnóstica SA) foram utilizados para quantificar triglicerídeos (Triglicerídeos Liquiform, Cat. 87) e glicose (Glucose HK Liquiform, Cat. 137). As análises foram feitas em triplicata em placas de 96 poços e a absorbância lida em espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Scientific, EUA).

3.3 Análises estatísticas

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado.

Os dados são expressos como média \pm erro padrão combinado da média (SEM).

A normalidade e a homogeneidade das variâncias foram testadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados usando o pacote de software SPSS para Windows (IBM® SPSS® Statistics, Nova York, EUA). A análise estatística das enzimas digestivas foi feita por ANOVA de duas vias, tendo como fatores as horas pós-prandiais e as porções do intestino. Os dados dos parâmetros sanguíneos foram analisados por ANOVA de uma via. O teste de Tukey foi aplicado para identificar diferenças entre os tratamentos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tendo em vista a importância da atividade das enzimas digestivas, o objetivo desse trabalho foi quantificar e localizar o pico das atividades enzimáticas da amilase e lipase nas diferentes porções do intestino das tilápias e em diferentes horas pós-prandiais, de acordo com os dados obtidos foi possível saber o horário e local para coleta de cada uma das enzimas no intestino das tilápias.

Houve diferenças significativas atividade de enzimas digestivas específicas em diferentes porções intestinais de tilápia do Nilo variando as horas pós-prandiais (Tabela 1) considerando valores de $p < 0.05$ não apresentam diferenças estatísticas segundo o

teste de Tukey. Para a amilase, nas porções intestinais anterior e média a máxima atividade foi atingida após 8, 10 e 12 horas pós-prandiais. A menor atividade enzimática foi encontrada na porção intestinal anterior às 0 horas pós-prandiais. O que condiz com o que se conhece da digestão de carboidratos ao longo do intestino. Em relação a lipase, a máxima atividade enzimática foi atingida após 6 horas pós-prandiais. A menor atividade enzimática foi encontrada na porção intestinal distal às 12 horas pós-prandiais.

Estudos realizados por Ji, Sun e Xiong (2012), concluem que as espécies onívoras apresentam maior atividade da amilase do que as espécies carnívoras.

A atividade lipolítica ao longo dos diversos segmentos do trato gastrointestinal de peixes tem sido estudada e tem se mostrado distinta entre as espécies (STECH; CARNEIRO; PIZAURO JÚNIOR, 2009).

Gisbert et al. (1999) mencionam a ocorrência de lipase no estômago de algumas espécies de peixes, mas Stech, Carneiro e Pizauro Júnior (2009) enfatizam que o sítio primário de hidrólise lipídica para a maioria das espécies parece ser a porção anterior do intestino e os cecos pilóricos, quando existentes. Outros autores mencionam que a digestão de lipídeos continua nas demais porções do intestino (SMITH, 1980).

Fountoulaki et al. (2005) mencionam que as atividades das enzimas digestivas são diretamente afetadas pela composição da dieta, especialmente pelos níveis de carboidratos e lipídeos.

Também houve diferenças significativas entre os parâmetros plasmáticos de tilápia do Nilo variando as horas pós-prandiais. As maiores taxas de glicose plasmática foram encontradas às 8, 10 e 12 horas pós-prandiais. Condizente com o pico da atividade da amilase, que tem como função a quebra de carboidratos. Nas demais horas pós-prandiais não houve variação desta. Já em relação aos triglicerídeos, seu nível no plasma foi máximo às 6 horas pós-prandiais e mínimo as 24 horas pós-prandiais.

Gomes (2018), avaliando os níveis de glicose sanguínea (mg/dL) durante 24 horas pós alimentação, como indicadores da eficiência da atividade de enzimas exógenas em dietas “on top” para tilápias do Nilo observou que o pico da glicemia sanguínea das tilápias do Nilo ocorreu nas primeiras 4 horas pós alimentação das tilápias em todos os tratamentos avaliados, valores que diferem dos obtidos neste trabalho, possivelmente em função da dieta e enzimas administradas. O autor destaca que as concentrações de glicose sanguínea podem ser indicadores indiretos da eficiência de atividade da amilase no processo digestivo.

Diante do exposto, é possível inferir que ao passo em que o bolo alimentar se movimenta no intestino do animal, há um incremento na atividade específica da amilase e da glicose sanguínea, especialmente após 4 horas pós-prandiais (tabela 1), alcançando seu máximo na porção intestinal anterior às 8 horas e na porção média 10 horas sendo tal elevação mantida até 12 horas pós-prandiais. A máxima atividade da lipase foi encontrada após 6 horas pós-prandiais (tabela 1), assim como os triglicerídeos plasmáticos, mostrando que as maiores atividades enzimáticas se relacionaram com as maiores concentrações dos metabólitos plasmáticos.

Tabela 1. Atividade específica das enzimas digestivas (U/mg proteína) em diferentes porções intestinais de tilápia do Nilo variando as horas pós-prandiais

| | Horas Pós-prandiais | | | | | | | | SEM | <i>p</i> -valores | | |
|----------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-------|-------------------|----|--------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 24 | | H | PI | H x PI |
| <i>Amilase</i> | | | | | | | | | | * | * | * |
| Anterior | 52.5 ^f | 66.0 ^{ef} | 66.9 ^{ef} | 153.1 ^{bc} | 224.5 ^a | 222.0 ^a | 221.2 ^a | 119.0 ^{bcd} | 9.73 | | | |
| Médio | 91.5 ^{def} | 107.7 ^{cde} | 101.6 ^{def} | 159.6 ^b | 246.9 ^a | 263.7 ^a | 243.4 ^a | 122.9 ^{bcd} | 9.29 | | | |
| Distal | 107.3 ^{cde} | 120.5 ^{bcd} | 91.7 ^{def} | 63.2 ^{ef} | 78.7 ^{def} | 101.3 ^{def} | 119.8 ^{bcd} | 102.5 ^{de} | 4.95 | | | |
| <i>Lipase</i> | | | | | | | | | | * | * | * |
| Anterior | 6.1 ^{bcde} | 7.6 ^{abcd} | 9.8 ^{ab} | 11.6 ^a | 9.3 ^{abc} | 7.9 ^{abcd} | 6.0 ^{bcde} | 6.5 ^{bcde} | 0.42 | | | |
| Médio | 4.9 ^{cde} | 3.9 ^{de} | 4.5 ^{de} | 6.3 ^{bcde} | 4.9 ^{cde} | 4.6 ^{de} | 3.6 ^{de} | 7.3 ^{abcde} | 0.33 | | | |
| Distal | 3.4 ^{de} | 4.2 ^{de} | 4.8 ^{cde} | 6.5 ^{bcde} | 4.9 ^{cde} | 3.6 ^{de} | 3.5 ^{de} | 2.7 ^e | 0.312 | | | |

Valores apresentados como médias (n = 12) e erro padrão agrupado da média (SEM). One-way ANOVA: *p < .001. Valores que compartilham diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes no teste de Tukey (p < 0.05).

Tabela 2. Parâmetros plasmáticos (mg/dL) da tilápia do Nilo variando as horas pós-prandiais

| | Horas Pós-prandiais | | | | | | | | | SEM | <i>p</i> -valores |
|----------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-------------------|-------|------|-------------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 24 | 48 | | |
| Glicose | 95.4 ^b | 88.8 ^b | 92.7 ^b | 92.1 ^b | 110.7 ^a | 114.7 ^a | 112.9 ^a | 96.7 ^b | 153.2 | 1.52 | * |
| Triglicerídeos | 111.7 ^{cd} | 109.5 ^{cd} | 139.4 ^b | 165.9 ^a | 116.4 ^c | 112.7 ^{cd} | 98.5 ^d | 77.9 ^e | 91.4 | 3.32 | * |

Valores apresentados como médias (n = 12) e erro padrão agrupado da média (SEM). One-way ANOVA: *p < .001. Valores que compartilham diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes no teste de Tukey (p < 0.05).

5. CONCLUSÃO

É possível concluir que a atividade máxima da amilase intestinal ocorre entre 8 e 12 horas pós-prandiais, tanto no intestino anterior como no médio, sendo este o momento e locais ideais para coleta, visando a estimativa da atividade específica de amilase. Para análise da atividade específica da lipase, o momento ideal para a coleta é entre as 4 e 8 horas pós-prandiais, no intestino anterior. Conclui-se também que maiores atividades enzimáticas no intestino se relacionaram com as maiores concentrações de metabólitos plasmáticos advindos dessas enzimas.

REFERÊNCIAS

- BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2. ed. Londres: Internacional, 2011.
- CAMPOS, D. W. J. DE. **Utilização de perifíton na produção intensiva de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em viveiros escavados**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2020.
- CARDOSO, A. J. D. S. **Eficiência de utilização do amido de milho pela tilápia do nilo alimentada com diferentes níveis de óleo de gengibre, *Zingiber officinale***. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2018.
- COSTA, B. DE A. M. DA et al. **Extração de enzimas digestivas de apaiari (*Astonotus ocellatus*)**. Anais da IV Semana Acadêmica de Engenharia de Pesca Ifes. **Anais...**2020
- CRUZ, M. S. **Expressão de enzimas digestivas em larvas do peixe-palhaço. *Amphiprion ocellaris* cuvier, 1830**. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2019.
- DORCE, L. S. et al. Atividade das enzimas digestivas frente a restrição alimentar de peixes ornamentais. **Agrarian**, v. 13, n. 47, p. 107–113, 2020.
- DUARTE, F. O. S. **Caracterização da carne da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida à dietas suplementadas com óleo de peixe**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Goiânia, Universidade Federal De Goiás, 2017.
- FAO. **Social and economic performance of tilapia farming in Brazil**. Rome, 2019. 56 p.
- FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. In brief. Sustainability in action**. Rome, 2020. 28 p.
- FOSSE FILHO, J. C. **Desempenho zootécnico de juvenis de *astronotus ocellatus* e larvas de *Oreochromis niloticus* com suplementação de enzimas exógenas**. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Campos dos Goytacazes, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2018.
- FOUNTOULAKI, E. et al. Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture Research**, v. 36, n. 13, p. 1243–1251, 2005.
- FREITAS, J. M. A. DE. **Desempenho produtivo e respostas hematológicas da tilápia-do-nilo submetida a diferentes níveis de proteína e condições de estresse**. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”, 2015.
- GISBERT, E. et al. Histochemistry of the development of the digestive system of Siberian sturgeon during early ontogeny. **Journal of Fish Biology**, v. 55, p. 596–616, 1999.
- GISBERT, E.; NOLASCO, H.; SOLOVYEV, M. Towards the standardization of brush border purification and intestinal alkaline phosphatase quantification in fish with notes on other digestive enzymes. **Aquaculture**, v. 487, n. 2017, p. 102–108, 2018.
- GOMES, V. D. S. et al. Advances in the use of enzymes in nutrition of tilápias. **Visão**

Acadêmica, v. 19, n. 1, p. 113–129, 2018.

GOMES, V. D. S. **Aditivos enzimáticos na dieta de tilápias do nilo e peixe ornamental**. Tese (Doutorado em Zootecnia) - João Pessoa, Universidade Federal da Paraíba, 2018.

GOMES, V. D. S. et al. Glicose sanguínea e taxa de excreção de amônia como indicadores da atividade de enzimas exógenas em tilápias do Nilo. **Agrarian**, v. 13, n. 50, p. 521–528, 2020.

JI, H.; SUN, H. T.; XIONG, D. M. Studies on activity, distribution, and zymogram of protease, α -amylase, and lipase in the paddlefish *Polyodon spathula*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 603–613, 2012.

LUSTOSA NETO, A. D. et al. Meatballs of pirarucu and Nile tilapia: characterization and application in school meals. **Acta Of Fisheries And Aquatic Resources**, v. 6, n. 2, p. 1–12, 2018.

MICHELOTTI, B. T. **Citral como aditivo na ração para peixes marinhos com diferentes hábitos alimentares: enzimas digestivas e parâmetros zootécnicos e metabólicos**. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 2020.

MOON, T. W. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 129, p. 243–249, 2001.

MORAES, H. R. L. **Efeito da suplementação de pancreatina suína no alimento vivo (*Artemia sp.*) no desempenho zootécnico e atividade de enzimas digestivas de larvas do peixe – palhaço *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830)**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, 2020.

MORAIS, C. A. R. S. **Influência do peso de abate nas características físicoquímicas e na qualidade do filé de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - São Cristóvão, Universidade Federal de Sergipe, 2017.

MORO, G. V. **Carboidratos em dietas para o dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816)**. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Piracicaba, Universidade de São Paulo, 2013.

PEIXE-BR. Anuário da Piscicultura 2020. **Associação Brasileira de Piscicultura**, v. 1, p. 1–136, 2020.

ROSSATO, S. et al. Atividade de enzimas digestivas em pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentadas com dietas contendo farinha de resíduo de peixe. In: CORDEIRO, C. A. M.; SAMPAIO, D. DE S.; HOLANDA, F. C. A. F. (Eds.). **Engenharia de pesca: aspectos teóricos e práticos**. 1. ed. Editora Científica, 2021. p. 62–80.

SATIRO, T. M. **Efeito do β -glucano nos estoques de lipídios e enzimas metabólicas hepática em tilápias do Nilo alimentadas com alto teor de carboidratos**. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, 2021.

SCHULTER, E. P. **Competitividade do complexo agroindustrial da tilápia do Distrito Federal**. Dissertação (Mestrado em Agronegócios) - Brasília, Universidade de Brasília, 2018.

SMITH, L. Digestion in teleost fishes. In: **Lectures presented at the FAO/UNDP Training Course in fish feed technology, ACDP/REP/80/11**. 1980. p. 3–17.

STECH, M. R.; CARNEIRO, D. J.; PIZAURO JÚNIOR, J. M. Fatores que afetam a produção de enzimas digestivas em peixes e o uso de enzimas exógenas como ferramentas em nutrição de peixes. **Ensaio e Ciência**, v. 13, n. 2, p. 79–93, 2009.

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