

EFEITO DA ALIMENTAÇÃO COM LEVEDURA DESIDRATADA DE ÁLCOOL NA GLICEMIA E NOS NÍVEIS DE GLICOGÊNIO E LIPÍDIOS TOTAIS HEPÁTICOS DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

[Effect of diets with molasse yeast in the glycemia and in the levels of liver glycogen and total liver lipid of tilapia Nile (*Oreochromis niloticus*)]

Ana Eliza BACCARIN^{1,4}, Luiz Edivaldo PEZZATO², Elizabeth Criscuolo URBINATI³

¹ Aluna do Curso de Pós Graduação em Aquicultura – Centro de Aquicultura da UNESP

² Prof. Dr. Depto de Nutrição e Melhoramento Animal/FMVZ – Campus de Botucatu

³ Profa. Dra. Depto de Morfologia e Fisiologia Animal/FCAV – Campus de Jaboticabal

⁴ Endereço / Adress: Centro de Aquicultura da UNESP – Via de Acesso Paulo D. Castellani, s/n – CEP: 14870-000 – Jaboticabal/SP – Brasil – e-mail: anaeliza@caunesp.unesp.br

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o efeito da levedura desidratada de álcool (*Saccharomyces cerevisiae*) como sucedâneo do suplemento vitamínico, na glicemia e nos níveis de glicogênio e lipídios totais hepáticos da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), 300 alevinos machos, revertidos sexualmente, com peso médio inicial de 1,5 g, foram estocados em 20 aquários circulares de fibra de vidro, de 270 L, dotados de sistema individual de filtragem biológica e recirculação contínua de água, numa densidade de 15 peixes por aquário. O arraçoamento foi à vontade, duas vezes ao dia, com cinco dietas peletizadas isoprotéicas (32% proteína bruta) para a primeira fase experimental (40 dias) e outras cinco com 28% proteína bruta para a segunda fase experimental (74 dias). Uma dieta controle (C) sem levedura foi utilizada como referência. As demais dietas continham 10% de levedura e foram suplementadas com diferentes proporções de suplemento vitamínico. A temperatura da água foi monitorada duas vezes ao dia e os níveis de pH e de oxigênio dissolvidos na água, semanalmente. Ao final do período experimental (114 dias) foram coletados aleatoriamente cinco peixes, por tratamento, para análise dos parâmetros metabólicos. Em geral, os peixes que receberam dieta com levedura apresentaram teores de lipídios totais maiores e de glicogênio hepático menores em relação aos peixes do grupo controle. Nenhum efeito patológico pôde ser atribuído à levedura desidratada de álcool utilizada em dietas para tilápia do Nilo.

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*, *Oreochromis niloticus*, vitamina, glicemia, glicogênio e lipídio total hepático

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of molasse yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), as replacement for vitamin premix in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), in the glycemia and in the levels of liver glycogen and total liver lipid, 300 male fingerlings sex-reversed, averaging 1.5 g live weight, were stocked in circular, 270-L biofilter equipped fiberglass tanks (15 fish/tank), and fed to satiety twice a day a 32% crude protein (CP) diet for 40 days, followed by a 28% CP diet for 74 days. Test diets were prepared to contain at least 10% yeast as replacement for the vitamin premix, and a diet without yeast was used as control. Water temperature was monitored daily and water pH and dissolved oxygen were measured weekly. Blood glycemia and total lipid and glycogen contents of the liver were evaluated. Fish fed yeast-containing diets presented reduced liver glycogen, and increased total liver lipids, as compared to fish fed the control diet. No pathological effect could be attributed to the molasse yeast used in the diets of Nile tilapia.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*, *Oreochromis niloticus*, vitamin, glycemia, liver glycogen and total liver lipid

Introdução

A cada ciclo de produção, a piscicultura vem avançando na qualidade e na eficiência do manejo, o

que tem incrementado substancialmente a produtividade das criações (SCORVO-FILHO *et al.*, 1998).

A razão desse aumento é, sem dúvida, o uso de rações balanceadas. Em sistemas de criação exten-

siva, em que a quantidade de alimento natural é suficientemente abundante para atender às exigências nutricionais, suprindo algumas ou todas as vitaminas essenciais, não há necessidade de suplementação. Já, em sistemas intensivos ou super-intensivos, faz-se necessário o fornecimento de alimento rico em vitaminas ou, mesmo, de suplementos vitamínicos completos. De fato, GUR (1997), em trabalhos com tilápia do Nilo, observou que a quantidade de vitamina contida nos ingredientes das rações é suficiente para o crescimento dos peixes, mas não são satisfatórias para o bom funcionamento do sistema imunológico.

Em vista dos altos custos desses suplementos, é essencial que fontes vitamínicas alternativas sejam avaliadas. Os microrganismos pertencentes ao grupo das leveduras normalmente são bons fornecedores de proteínas, minerais e vitaminas e têm sido empregados como fonte barata desses elementos para a alimentação animal (MOURA, 1985).

As leveduras são muito ricas em vitaminas do complexo B, especialmente tiamina, riboflavina, niacina e ácido pantotênico, e em ergosterol, o que as torna excelente fonte de vitamina D (HSU, 1961; SCHULZ e OSLAGE, 1976; YOUSRI, 1982). Segundo BUTOLO (1997), devido ao sinergismo as vitaminas das leveduras têm efeitos mais marcantes que as vitaminas sintéticas, quando consideradas quantidades equivalentes.

A qualidade de um ingrediente, entretanto, deve ser avaliada não apenas sob o ponto de vista dos nutrientes como também das prováveis ações antinutricionais e, principalmente, alterações metabólicas que podem afetar o organismo animal. Tais informações são particularmente importantes, pois auxiliam na interpretação das modificações induzidas por condições intrínsecas, como o estado fisiológico e nutricional (PÁDUA, 1996).

Embora existam investigações sobre o desempenho produtivo de peixes, quando alimentados com

levedura, poucas avaliam alterações metabólicas causadas pela inclusão deste ingrediente nas dietas. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da levedura desidratada, utilizada como sucedâneo do suplemento vitamínico em dietas para tilápia do Nilo, sobre os parâmetros metabólicos.

Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos da FMVZ - UNESP, Campus de Botucatu, por um período de 114 dias.

Foram utilizados 20 aquários circulares de fibra de vidro, com iguais dimensões e 270 L de capacidade, dotados de um sistema individual de filtragem biológica e recirculação contínua de água.

Foi empregado um lote de 300 alevinos machos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), pesando em média 1,5 g, provenientes de uma mesma desova e revertidos sexualmente mediante o emprego do hormônio 17- α metiltestosterona.

Após um período de adaptação de 20 dias, os peixes foram pesados e transferidos para os aquários experimentais, na densidade de quinze peixes por aquário. No início da segunda fase experimental, a densidade foi de sete peixes por aquário.

Com base nas exigências da espécie, foram preparadas dez rações isoenergéticas (3.200 kcal de ED/kg de ração), recomendadas pelo NAS-NRC (1993): cinco rações, com 32% de proteína bruta, para a primeira fase experimental (40 dias) e, outras cinco, com 28% de proteína bruta, para a segunda fase experimental (74 dias). A ração controle, com 5% farinha de peixe, não continha o ingrediente teste. As demais rações apresentaram 10% de levedura, em substituição ao suplemento vitamínico nas diferentes formulações (Tabela 1), porém não continham farinha de peixe. Todas as rações foram suplementadas com 0,20% de DL metionina sintética.

Tabela 1. Esquema representativo dos diferentes tratamentos utilizados em experimento com tilápia do Nilo (*O. niloticus*)

Tratamentos	Vitamina Lipossolúvel*	Vitamina Hidrossolúvel**	Levedura
C	X	X	-
Llh	X	X	X
L	-	-	X
LI	X	-	X
Lh	-	X	X

C = controle; Llh = levedura + vitaminas lipossolúvel e hidrossolúvel; L = levedura; LI = levedura + vitamina lipossolúvel; Lh = levedura + vitamina hidrossolúvel.

*Suprevit peixes (Supremais): em 1000 g: vit A 600.000 UI; vit D3 100.000 UI; vit E 6.000 mg; vit K3 1.200 mg.

** Suprevit peixes (Supremais): em 1000 g: ácido fólico 600 mg; biotina 24 mg; cloreto de colina 54 g; niacina 12.000 mg; pantotenato de cálcio 6.000 mg; vit B12 2.400 mg; vit B2 2.400 mg; vit B6 2.400; vit C 24 g.

As condições ambientais foram avaliadas em cinco aquários, um de cada tratamento, escolhidos aleatoriamente dentro das quatro repetições. Diariamente, por volta das 8h e 30min. e das 17h, a temperatura da água foi aferida na superfície. Semanalmente, por volta das 9:00 h, coletaram-se amostras de água, pelos procedimentos convencionais, para determinação de oxigênio dissolvido pelo método de Winkler modificado pela adição de azida sódica, conforme recomendada por BOYD (1984) e, pH através de um potenciômetro modelo DM pH/1.

Os peixes foram alimentados à vontade, duas vezes ao dia, imediatamente após o registro do valor da temperatura da água dos aquários, numa proporção que possibilitou uma ingestão máxima sem perdas excessivas. Em dias alternados, foi realizada limpeza dos aquários através de sifonagem para evitar o acúmulo de restos de ração e dejetos, garantindo a constância da boa qualidade da água.

Após 114 dias, cinco peixes, por tratamento, foram acondicionados em recipientes de 10 L com água mais anestésico (fenoxiethanol) na proporção de 0,1 ml/L. Em seguida coletou-se sangue por punção na veia caudal com seringa heparinizada para análises de glicemia.

A glicemia foi determinada pelo método de KING e GARNER (1947). Para isto, utilizou-se 1 ml do sobrenadante obtido por centrifugação a 2000 rpm, durante 10 minutos, originado de 1,8 ml de solução isotônica (sulfato de sódio e sulfato de cobre), 0,1 ml de sangue total e 0,1 ml de tungstato de sódio a 10%. Após a centrifugação, o sobrenadante foi congelado a -20°C até o dia da análise, a qual foi feita adicionando-se 1 ml de reagente cúprico e 3 ml de arsenomolídico à amostra, para posterior leitura da absorbância em espectrofotômetro a 540 nm.

Ainda sob o efeito do anestésico, os animais foram mortos, procedendo-se, a seguir, à abertura da cavidade abdominal e coleta do fígado para análise de glicogênio e lipídio totais. O glicogênio hepático

foi determinado por espectrofotometria, segundo método da antrona descrito por CARROL; LONGLEY; ROE (1956). A extração do glicogênio em 500 mg de fígado foi feita utilizando-se KOH a 30% e gotas de Na_2SO_4 em solução contendo água e álcool etílico. A glicose resultante da quebra das moléculas de glicogênio reagiu com a antrona, produzindo a cor cuja absorbância foi determinada a 620 nm.

Os lipídios totais do fígado foram determinados pelo método gravimétrico, descrito por BLIGH e DYER (1959). O homogeneizado de lipídios, em clorofórmio, propanol e água, extraído de 500 mg de tecido foi seco até peso constante, em estufa a 60°C , em recipiente previamente pesado. Após a secagem, o frasco foi novamente pesado em balança analítica, obtendo-se o total de lipídio pela diferença de pesos.

As análises de glicemia e de glicogênio e lipídio hepáticos foram realizadas no Laboratório de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP – Campus de Jaboticabal.

Resultados e Discussão

Durante o período experimental não foram observadas grandes diferenças entre os tratamentos com relação à temperatura média da água, que variou de 21,12 a 23,92 $^{\circ}\text{C}$. Os níveis médios de oxigênio dissolvido oscilaram de 6,64 a 7,38 mg/L, valores considerados satisfatórios para o desenvolvimento dos peixes (BOYD, 1990). Os valores médios de pH obtidos no presente estudo variaram de 6,99 a 7,44. Segundo ARANA (1997) águas com valores de pH compreendidos entre 6,5 e 9,0 são as mais adequadas para a produção de peixes.

Os valores médios de glicemia, glicogênio total do fígado e lipídio total do fígado dos peixes submetidos aos diferentes tratamentos são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores médios de glicemia (Gli), glicogênio total do fígado (GTF), lipídios totais do fígado (LTF) de tilápias do Nilo (*O. niloticus*), após 114 dias

Variáveis	Tratamentos				
	C	Llh	L	LI	Lh
Gli (mg/100ml)	45,17 ± 2,6	52,7 ± 3,7	64,67 ± 2,9	39,19 ± 7,6	55,79 ± 8,9
GTF (g/%)	7,17 ± 1,8	2,1 ± 3,4	2,84 ± 2,8	4,31 ± 1,9	5,35 ± 1,2
LTF(mg/100mg)	3,98 ± 0,9	7,03 ± 3,4	7,08 ± 3,8	7,44 ± 4,1	3,25 ± 5,7

C = controle; Llh = levedura + vitaminas lipossolúvel e hidrossolúvel; L = levedura; LI = levedura + vitamina lipossolúvel; Lh = levedura + vitamina hidrossolúvel

Os valores de glicemia dos peixes estudados estão de acordo com os resultados relatados por MILIOU e PAPAOUTSOGLU (1997), que estudaram a relação entre tamanho e idade de fêmeas da tilápia *Oreochromis aureus* e sua relação com a composição da carcaça e parâmetros sanguíneos.

O glicogênio hepático é a principal fonte de unidades de hexoses para manutenção da glicose sanguínea. A maior concentração deste elemento, observada nos peixes do tratamento controle (7,17g%), pode ser devida à presença de aminoácidos gliconeogênicos na farinha de peixe. Já, as mais baixas concentrações, observadas nos peixes que receberam levedura, podem ser explicadas pela utilização de um método não específico para a determinação da glicose, ou seja, o método determina a quantidade de todos os açúcares presentes no sangue. A insulina é um hormônio pancreático, liberado por estímulo da glicose e que atua como ativador da enzima glicogênio sintetase, enzima chave da glicogênese (LEHNINGER *et al.*, 1995). Portanto, as baixas concentrações de glicogênio observadas no presente experimento, podem ser atribuídas à falta de estímulo para secreção de insulina, em virtude da presença de outros açúcares que não a glicose.

O inverso foi verificado para a concentração de lipídios totais do fígado. Os peixes que receberam dieta com levedura apresentaram teores mais altos desse elemento. Segundo MOURA (1985), o fígado é um órgão vulnerável a alterações nutricionais como, por exemplo, a ingestão de misturas protéicas cuja composição em aminoácidos não se encontra balanceada. O acúmulo anormal de gordura nas células parenquimatosas talvez seja a resposta mais comum do fígado a uma injúria. Entre os agentes determinantes de esteatose hepática está a deficiência em aminoácidos sulfurados totais da dieta.

A levedura é pobre em metionina, causando, conseqüentemente, acúmulo de gordura no fígado, pois esse aminoácido contribui na redução da formação de lipoproteínas de baixa densidade, substâncias essenciais que diminuem a velocidade de deposição e aceleram a remoção da gordura do fígado, no nível do lipossoma hepático (MOURA, 1985).

Embora tenha sido feita suplementação de metionina nas dietas experimentais, sua disponibilidade biológica não foi testada e, quando utilizada proteína animal (farinha de peixe) na dieta, a disponibilidade desse aminoácido pode ter sido mais elevada. Níveis ideais de suplementação de metionina em dietas com levedura precisam ser determinados com

o objetivo de se obterem resultados semelhantes aos das dietas com farinha de peixe (NOSE, 1974).

Conclusão

A presença de 10% de levedura desidratada de álcool na dieta pode provocar, para tilápia do Nilo, alterações nos níveis de glicogênio e lipídios totais hepáticos, como resultado do aumento da atividade metabólica deste órgão, provocado pelos nutrientes presentes nessa fonte alimentar ou pela ausência das vitaminas, decorrente dos tratamentos.

Referências Bibliográficas

- ARANA, L.V. 1997 *Princípios químicos de qualidade da água em Aqüicultura*. Florianópolis, Ed. da UFSC, 166p.
- BLIGH, E.G. e DYER, W.J.A. 1959 A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37(8):911-917.
- BOYD, C.E. 1984 *Water quality in warmwater fish ponds*. 3ª ed. Alabama: Auburn University, Craftmaster Printers, 359p.
- _____ 1990 *Water quality in ponds for aquaculture*. Alabama: Auburn University, Craftmaster Printers, 482p.
- BUTOLO, J.E. 1997 Uso da levedura desidratada na alimentação de aves. In: SIMPÓSIO SOBRE TECNOLOGIA DA PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DA LEVEDURA DESIDRATADA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. Campinas, 1997. *Anais...* Campinas, Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.51-83.
- CARROL, N.V.; LONGLEY, R.W.; ROE, J.H. 1956 The determination of glicogen in liver and muscle by use of anthrone reagent. *J. Biol. Chem.*, 220:583-590.
- GUR, N. 1997 Innovations in tilapia nutrition in Israel. *Aquaculture*, 49(3):151-159.
- HSU, W.C. 1961 Protein from sugar on Taiwan. *Sugar Azucar*, 56(7):33-36.
- KING, E.J. e GARNER, R.J. 1947 Calorimetric determination of glucose. *J. Clin. Pathol.*, 1:30-33.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. 1995 *Princípios de Bioquímica*. 2ª ed. São Paulo, Sarvier. 839p.
- MILIOU, H. e PAPAOUTSOGLU, S.E. 1997 Blue tilapia composition and haematology in relation to the female parent size under recirculated water conditions. *Aquaculture Research*, 28:628-634.

- MOURA, E.C.V. 1985 Fontes protéicas não convencionais: Perspectivas de seu uso na alimentação. In: NÓBREGA, F.J. *Desnutrição intra-uterina e pós-natal*. São Paulo, Panamed. p. 43-64.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NAS-NRC). 1993 *Nutrient requirements of warmwater, fishes and shellfishes: nutrient requirements of domestic animals*. Washington, 102p.
- NOSE, T. 1974 Effects of amino acids supplemented to petroleum yeast on growth of rainbow trout fingerlings- I. A preliminary experiment. *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*, 24(1):57-63.
- PÁDUA, D.M.C. 1996 *Utilização da levedura alcoólica (Saccharomyces cerevisiae) como fonte protéica na alimentação de juvenis de pacu (Piaractus mesopotamicus): Aspectos metabólicos e de desempenho produtivo*. Jaboticabal, SP. 120p. (Dissertação de Mestrado. Centro de Aqüicultura, UNESP)
- SCHULZ, H.E. e OSLAGE, H.J. 1976 Composition and nutritive value single-cell protein (SCP). *Anim. Feed Sci. Technol.*, 1:9-24.
- SCORVO-FILHO, J.D.; MARTIN, M.B.; AYROZA, L.M. DA S. 1998 Piscicultura em São Paulo: custos e retornos de diferentes sistemas de produção na safra 1996/97. *Informações Econômicas*, 28(3):41-60.
- YOUSRI, R.F. 1982 Single cell protein and its potential use for animal and human nutrition. *World Rev. Anim. Prod.*, 18(23):46-67.