

## **CRESCIMENTO MUSCULAR EM LARVAS DE TILÁPIA DO NILO ALIMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE GLUTAMINA**

Bianca Morelato Dal Vesco (PIBIC/FA), Dacley Hertes Neu (UFGD, Dourados), Wilson Massamitu Furuya (UEPG, Ponta Grossa), Fernanda Losi Alves de Almeida (Orientadora), e-mail: flaalmeida@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/ Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/  
Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, Piscicultura.**

**Palavras-chave:** aminoácido, *Oreochromis niloticus*, músculo estriado esquelético

### **Resumo**

O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência de diferentes níveis de glutamina sobre o crescimento muscular de larvas de tilápia do Nilo. Os animais foram alimentados com dietas extrusadas contendo 0; 0,5; 1,0; 1,5 ou 2 % de L-glutamina digestível. Foram utilizados cinco tratamentos (T1 ao T5) e quatro repetições. Ao final do experimento (48 dias), as larvas foram pesadas para obtenção do peso final e determinação do ganho de peso. As larvas foram fixadas em solução de formol 10% tamponado e processadas para inclusão em parafina. Cortes histológicos foram corados com hematoxilina-eosina, para avaliar a morfologia e morfometria das fibras musculares brancas. Para a morfometria, foi determinado o menor diâmetro de 200 fibras musculares por animal. Para avaliar a hiperplasia e hipertrofia, os diâmetros foram agrupados em classes (< 20, 20-30, 30-40, > 40  $\mu\text{m}$ ). A glutamina não influenciou o peso final e o ganho de peso dos animais, porém, os maiores níveis desse aminoácido (T3 a T5) promoveram maior hiperplasia das fibras musculares em comparação ao segundo nível (T2). A presença de um maior número de fibras musculares na fase larval, sob influência da glutamina, torna-se comercialmente importante, já que, na fase de terminação, essas fibras podem ser estimuladas a hipertrofiar, resultando em aumento da massa muscular e maior rendimento de filés.

### **Introdução**

Nos peixes, o crescimento muscular ocorre pelos mecanismos de hipertrofia e hiperplasia a partir de mioblastos indiferenciados. Na hiperplasia, a fusão entre os mioblastos forma novas fibras musculares, enquanto, na hipertrofia, os mioblastos fundem-se com fibras existentes, aumentando o número de núcleos para maior síntese de miofibrilas, levando ao aumento na área da fibra muscular (ROWLERSON; VEGGETTI, 2001).

Dentre os aminoácidos ainda pouco estudados em peixes está a glutamina. Ela estimula a síntese de proteínas musculares e reduz o catabolismo no músculo esquelético, de forma a promover o aumento do ganho de peso e o crescimento dos animais (NEWSHOLME et al., 2003). No entanto, a influência da glutamina sobre o crescimento da musculatura dos peixes, especialmente da tilápia do Nilo, é pouco conhecida. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência dos níveis de glutamina sobre o ganho de peso e os mecanismos de crescimento muscular em larvas de tilápia do Nilo.

## **Materiais e métodos**

Foram utilizadas 400 larvas de tilápia do Nilo (não revertidas) com peso médio inicial de 0,015 g. As larvas foram distribuídas em 20 aquários de vidro, com capacidade para 30 litros cada, em sistema *in door* por um período de 25 dias. Foram elaboradas cinco dietas com níveis crescentes de L-glutamina (0; 0,5; 1,0; 1,5 ou 2 % de L-glutamina digestível). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (T1 ao T5) e quatro repetições, sendo a unidade experimental composta por um aquário com 20 larvas. Ao final do período de 25 dias, as larvas foram transferidas para o sistema *out door*, empregando-se o mesmo delineamento inicial, durante 23 dias, totalizando 48 dias de experimento. Essas instalações foram compostas por um tanque de concreto com volume útil de 25 m<sup>3</sup> de água, contendo sistema de aeração constante e 20 hapas com abertura de malha plástica de 1 x 4 mm e 0,15 m<sup>3</sup> de volume útil. As larvas foram arraçoadas cinco vezes ao dia (às 8h30; 10h45; 13h00; 15h15 e 17h30) até a saciedade aparente, sendo o alimento ofertado na forma pastosa.

No início e ao final do experimento, foram determinados o peso inicial (g) e final (g) dos exemplares, respectivamente. Ao final do experimento, os animais foram eutanasiados por meio de superdosagem de benzocaína (1 g/10 L de água) e foi determinado o ganho de peso (GP = peso final – peso inicial, em gramas).

As larvas foram seccionadas para separar a região corporal dorsal (com predominância do tecido muscular estriado esquelético) da cabeça, cauda e cavidade abdominal. Para cada tratamento, foram avaliados oito peixes. As larvas foram fixadas em solução de formol 10% tamponado, desidratadas em séries crescentes de álcoois, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Cortes transversais semi-seriados (8 µm), obtidos em micrótomo, foram submetidos à coloração Hematoxilina-Eosina (HE) para avaliação da morfologia e morfometria das fibras musculares brancas. Utilizando um sistema de análise de imagens (*ImagePro-Plus* versão 4.5), foi determinado o menor diâmetro de, aproximadamente, 200 fibras musculares, por animal, que foram agrupadas em classes de diâmetros (< 20, 20-30, 30-40, > 40 µm) para avaliar a contribuição da hiperplasia e hipertrofia. Os dados foram expressos como a relação entre a frequência de fibras em cada classe de diâmetro pela frequência total de fibras medidas. Os dados foram submetidos à análise de Variância ANOVA com teste *a posteriori* de Tukeyem 5% de probabilidade.

## Resultados e Discussão

Os diferentes níveis de glutamina não influenciaram o peso final e o ganho de peso dos animais.

A morfologia da musculatura branca foi semelhante entre todos os tratamentos, mostrando fibras de formato poligonal separadas pelo endomísio e organizadas em fascículos delimitados pelo perimísio, conforme descrito em tilápias e outras espécies (AGUIAR et al., 2005; ALMEIDA et al., 2010).

Independente dos níveis de glutamina, a maioria das fibras mostrou distribuição na classe de diâmetros entre 20 e 30  $\mu\text{m}$  que indica a presença de fibras recém-formadas pelo processo de hiperplasia (ROWLERSON; VEGGETTI, 2001). Durante a fase larval, na maioria das espécies, incluindo a tilápia do Nilo, a hiperplasia é intensa e constituiu o principal mecanismo de crescimento das fibras musculares (AGUIAR et al., 2005). Corroborando com esses resultados, as menores frequências foram observadas nas classes de fibras com diâmetros entre 30 e 40  $\mu\text{m}$  e maiores que 40  $\mu\text{m}$ , que indicam a ocorrência de hipertrofia (ROWLERSON; VEGGETTI, 2001).

Os níveis crescentes de glutamina influenciaram apenas a frequência de fibras musculares na classe de diâmetros entre 20 e 30  $\mu\text{m}$  que indica hiperplasia. Nos três maiores níveis de glutamina (T3, T4 e T5), a frequência dessas fibras foi maior que a observada em T2, porém igual a T1. A frequência de fibras observada em T1 e T2 foram semelhantes. Embora a glutamina não tenha influenciado o peso final e o ganho de peso das larvas de tilápia, os maiores níveis (T3 a T5) foram suficientes para promover um maior recrutamento de fibras musculares (hiperplasia). Esse resultado torna-se comercialmente importante, uma vez que, na fase de terminação, o animal apresentará um maior número de fibras musculares para hipertrofiar, potencializando o aumento de massa muscular.

Na literatura, não há trabalhos que tenham relacionado a suplementação de glutamina com o crescimento muscular em larvas de tilápia do Nilo. Alguns trabalhos envolvendo suplementação de aminoácidos e crescimento muscular mostram resultados variáveis, dependendo do aminoácido e da fase de crescimento considerados. Aguiar et al. (2005) observaram que diferentes níveis de lisina não influenciaram o crescimento muscular de larvas de tilápia. Neu et al. (2016) observaram que a arginina promoveu aumento na hipertrofia das fibras de juvenis de tilápia.

## Conclusões

Nossos resultados sugerem que os maiores níveis de glutamina promoveram uma maior taxa de hiperplasia em comparação com o segundo nível (T2). A presença de um maior número de fibras na fase larval torna-se comercialmente importante, pois, na fase de terminação, essas fibras poderão ser estimuladas a hipertrofiar, do ponto de vista nutricional, promovendo aumento da massa muscular e maior rendimento de filés.

## Agradecimentos

À Fundação Araucária pelo financiamento concedido (Convênio 261/2014) e ao programa PIBIC/CNPq-FA-UEM pela bolsa concedida.

## Referências

AGUIAR, D.H., BARROS, M.M., PADOVANI, C.R., PEZZATO, L.E., DAL PAI-SILVA, M. Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diet. **Journal of Fish Biology**, v.67, p.1287-1298, 2005.

ALMEIDA, F.L.A., PESSOTTI, N.S., PINHAL D., PADOVANI, C.R., LEITÃO, N.J., CARVALHO, R.F., MARTINS, C., PORTELLA, M.C., DAL PAI-SILVA, M. Quantitative expression of myogenic regulatory factors MyoD and myogenin in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) skeletal muscle during growth. **Micron**, v.41, p.997-1004, 2010.

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

NEU, D.; BOSCOLO, W.; ZAMINHAN, M.; ALMEIDA, F.L.A.; SARY, C.; FURUYA, W.M. Growth performance, biochemical responses, and skeletal muscle development of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed with increasing levels of arginine. **Journal of the World Aquaculture Society**. DOI: 10.1111/jwas.12262, 2016.

ROWLERSON, A.; VEGGETTI, A. Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species. In: JOHNSTON, I. A. **Muscle Development and Growth**. London: Academic Press, p.103-139, 2001.