

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE GLUTAMINA NA RESPOSTA IMUNE DA TILÁPIA-DO-NILO SUBMETIDA A DESAFIO BACTERIANO

Gustavo Simas MONTEIRO*¹, Pedro Luiz Pucci Figueiredo de CARVALHO¹,
Matheus Gardim GUIMARÃES¹, Igor Simões Tiagua VICENTE¹, Willian dos Santos
XAVIER¹, Edgar Junio Damasceno RODRIGUES¹, Luiz Edivaldo PEZZATO²,
Margarida Maria BARROS²

*Autor para correspondência: gust_simas@hotmail.com

¹Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, São Paulo, Brasil

²FMVZ, Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, São Paulo, Brasil

Abstract: The present study was carried out to evaluate the effects of dietary glutamine (Gln) supplementation on the immune response of juvenile Nile tilapia subjected to bacterial challenge. First, 440 fish (4.4 ± 0.1 g) were distributed in 40 aquaria of 250 L in a completely randomized design with five treatments and eight replicates. Diets were formulated to contain Gln supplementation levels of 0; 0.5; 1.0; 1.5; and 2.0%. Fish were fed four times a day for 90 days. After the feeding trial, 60 fish (244.5 ± 10.2 g) were inoculated intraperitoneally with *Aeromonas hydrophila* and transferred to a challenge experimental room for 15 days. At the end of this period, the following immunological parameters were evaluated: serum lysozyme activity and the production of reactive oxygen and nitrogen intermediates (respiratory burst). Fish fed the 1.5% Gln diet presented a significant increase in serum lysozyme concentration. However, the respiratory burst was not affected by the treatments, only by the bacterial challenge comparing the periods. It can be concluded that dietary Gln supplementation at 1.5% level presents a positive effect on serum lysozyme activity, thus contributing to a better immune response to the bacterial challenge.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, functional amino acids, lysozyme, nutrition and health

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Introdução

Com o passar do tempo, a produção aquícola vem se intensificando e ganhando cada vez mais espaço no mercado. Para tal sucesso, é imprescindível a maximização da eficiência produtiva, como o controle de patógenos. Entretanto, a intensificação da produção e os manejos constantes favoreceram a incidência de doenças, com conseqüente prejuízo ao desenvolvimento dos peixes, que desviam suas reservas energéticas para seu restabelecimento e manutenção, aumentando os custos de produção e diminuindo a lucratividade dos empreendimentos aquícolas.

Assim, são necessários estudos visando o desenvolvendo de diferentes métodos profiláticos para prevenção e controle de doenças em peixes. Nesse contexto, a nutrição pode assumir papel fundamental uma vez que pode ser usada como ferramenta para modular e nutrir o sistema imune dos peixes. Dentre diversos nutrientes utilizados para melhor resposta do sistema imune, os aminoácidos possuem destacadas funções fisiológicas (Li et al., 2009). Dos aminoácidos considerados não-essenciais, a glutamina (Gln) vem ganhando destaque, já que é substrato energético para diversas células, dentre elas, os enterócitos e leucócitos, fundamentais no sistema imune dos animais (Wu et al., 2013). Com isso, este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos da suplementação de Gln na resposta imune de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidos ao desafio bacteriano por *Aeromonas hydrophila*.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – AquaNutri, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Câmpus de Botucatu.

Logo após a chegada dos animais, os mesmos foram submetidos a quarentena (40 dias) e um período de 7 dias para que se adaptassem às dietas

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

experimentais e ao sistema de recirculação com filtro físico-biológico, aerador e de aquecimento.

Os juvenis (440) foram então randomicamente distribuídos em 40 aquários de fibra de vidro circulares com 250 L cada, onde permaneceram por um período de 90 dias. A dieta basal foi formulada para conter 29% de proteína digestível proveniente do farelo de soja. Foram incluídos milho e óleo de soja como fontes de carboidratos e lipídeos, respectivamente, proporcionando energia digestível de 3400 kcal kg⁻¹. Quatro dietas experimentais foram obtidas a partir da dieta basal adicionando-se L-glutamina e ajustando os níveis de L-alanina para manter as dietas isoproteicas:

0,0 Gln (controle): dieta ausente da suplementação de glutamina

0,5 Gln: dieta suplementada com 0,5% de glutamina

1,0 Gln: dieta suplementada com 1,0% de glutamina

1,5 Gln: dieta suplementada com 1,5% de glutamina

2,0 Gln: dieta suplementada com 2,0% de glutamina

Os peixes foram arraçoados quatro vezes ao dia (8h00min, 12h00min, 14h00min e 18h00min) com as dietas experimentais.

Após o período de 90 dias, os animais foram submetidos ao desafio bacteriano, onde foram inoculados intraperitonealmente com o agente patógeno *Aeromonas hydrophila*. Após a inoculação, os peixes foram transferidos para a estrutura de Desafio contendo 30 aquários de 40 litros cada, numa densidade de estocagem de dois peixes por aquário, onde permaneceram por 15 dias sendo alimentados com as dietas experimentais. Ao final desse período, foram analisados os seguintes parâmetros imunológicos: atividade sérica de lisozima e produção de intermediários reativos de oxigênio e nitrogênio (*burst* respiratório).

Resultados e Discussão

No presente estudo, o desafio bacteriano determinou aumento significativo na produção de H₂O₂, entretanto não houve diferenças para a produção de NO, tanto

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

entre tratamentos quanto nos momentos antes e após desafio bacteriano ($P > 0,05$). O efeito positivo da suplementação de Gln na produção dos intermediários reativos do oxigênio e nitrogênio pelos monócitos era esperado, uma vez que esse aminoácido atua como substrato energético para leucócitos e modulador-chave na produção de citocinas e NO (Li et al., 2009). Além disso, eram esperados maiores níveis de NO, uma vez que a Gln é precursora da arginina, fundamental no metabolismo do nitrogênio. Contudo, a não significância dos resultados nesse estudo pode estar associada ao elevado desvio padrão (Tabela 1).

Após o desafio por *A. Hydrophila*, foram constatados altos níveis de H_2O_2 em todos os animais, independente do tratamento, mostrando que a Gln não teve efeito sob a produção de intermediários reativos de oxigênio, contrariando estudos feitos anteriormente com outras espécies de peixes. As diferenças entre os resultados desses estudos podem estar relacionadas às espécies utilizadas, tamanho e estado nutricional dos peixes, duração do período experimental, patogenicidade da bactéria, além de diferenças nos métodos de desafio.

Diferentemente dos demais parâmetros imunológicos analisados, a atividade sérica de lisozima foi influenciada pela suplementação de Gln (Tabela 1). Antes do desafio bacteriano, o melhor resultado foi determinado para o tratamento 1,5% Gln, que não diferiu dos tratamentos 1,0 e 2,0% Gln ($P > 0,05$). Após o desafio bacteriano, o melhor resultado foi determinado para o tratamento 1,5% Gln, que não diferiu do tratamento 2,0% Gln ($P > 0,05$). A concentração sérica de lisozima apresentou diferenças significativas entre períodos somente para os animais do grupo controle. A lisozima, assim como outros fatores líticos presentes no plasma, dificulta a aderência e colonização de microrganismos invasores apresentando, ainda, propriedades opsonizantes, bactericidas e anti-inflamatórias. Sabe-se que a Gln é essencial, tanto para a proliferação de linfócitos quanto para produção e liberação de citocinas por células do sistema imune. Esse conjunto de fatores pode

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

ter promovido a produção e atividade de lisozima nos animais que receberam a suplementação dietética de Gln.

Tabela 1. Atividade sérica de lisozima e produção de intermediários reativos do oxigênio e nitrogênio por monócitos de juvenis de tilápia-do-Nilo antes e após desafio bacteriano por *Aeromonas hydrophila* ¹.

Glutamina (%)	Óxido Nítrico (µmol)			Peróxido de Hidrogênio (nmol)			Lisozima (µg mL ⁻¹)		
	Antes	Depois	P value	Antes	Depois	P value	Antes	Depois	P value
0,0	6,62 ± 2,29	6,44 ± 0,72	0,855	1,68 ± 0,11 ^B	2,04 ± 0,07 ^A	0,004	8,85 ± 2,84 ^{bB}	12,56 ± 1,69 ^{bA}	0,002
0,5	6,96 ± 1,56	6,56 ± 1,35	0,760	1,76 ± 0,10 ^B	2,14 ± 0,09 ^A	0,003	9,56 ± 4,60 ^b	12,75 ± 3,15 ^b	0,098
1,0	8,61 ± 2,53	7,04 ± 1,35	0,396	1,75 ± 0,13 ^B	2,13 ± 0,05 ^A	0,030	10,70 ± 1,75 ^{ab}	11,35 ± 3,34 ^b	0,868
1,5	8,20 ± 1,43	7,51 ± 2,37	0,492	1,84 ± 0,14 ^B	2,12 ± 0,07 ^A	0,010	14,97 ± 2,39 ^a	17,86 ± 2,09 ^a	0,057
2,0	6,28 ± 1,84	6,80 ± 2,62	0,803	1,84 ± 0,09 ^B	2,05 ± 0,04 ^A	0,017	13,59 ± 3,55 ^{ab}	14,98 ± 2,06 ^{ab}	0,860
P value	0,397	0,909		0,203	0,092		0,012	0,007	

¹ Os valores são médias de seis repetições por tratamento. Valores com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($P < 0,05$) segundo teste de comparações múltiplas de Tukey. Valores com letras maiúsculas diferentes nas linhas são significativamente diferentes ($P < 0,05$) segundo o teste *t*-pareado.

Conclusão

Pode-se concluir que a suplementação dietética de Gln no nível de 1,5% apresentou efeitos positivos na atividade de lisozima sérica, podendo assim contribuir para uma melhor resposta do sistema imune frente ao desafio bacteriano.

Referências

- Li, P.; Mai, K.; Trushenski, J. and Wu, G. 2009. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids* 37:43-53.
- Wu, G., Wu, Z.L., and Dai, Z.L. 2013. Dietary requirements of “nutritionally nonessential amino acids” by animals and humans. *Amino Acids* 44:1107–1113.