

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

EFEITOS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR E REALIMENTAÇÃO
SOBRE PARÂMETROS BIOMÉTRICOS, BIOQUÍMICOS E
MORFOLÓGICOS EM Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Karine Nathiele Nogueira Farias

Campo Grande - MS
2023

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**EFEITOS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR E REALIMENTAÇÃO
SOBRE PARÂMETROS BIOMÉTRICOS, BIOQUÍMICOS E
MORFOLÓGICOS EM Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**

Karine Nathiele Nogueira Farias

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de doutora em Ciência Animal.
Área de concentração: Produção Animal.

**CAMPO GRANDE, MS
2023**



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Certificado de aprovação

KARINE NATHIELE NOGUEIRA FARIAS

**EFEITOS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR E REALIMENTAÇÃO SOBRE PARÂMETROS
BIOMÉTRICOS, BIOQUÍMICOS E MORFOLÓGICOS EM PACU (*Piaractus mesopotamicus*)
EFFECTS OF FOOD RESTRICTION AND RE-FEEDING ON BIOMETRIC, BIOCHEMICAL AND
MORPHOLOGICAL PARAMETERS IN PACU (*Piaractus mesopotamicus*)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal. Área de concentração: Produção Animal.

Aprovado em: 14-02-2023

BANCA EXAMINADORA:

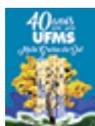
Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes
(UFMS) – (Presidente)

Dra. Claucia Aparecida Honorato da Silva
(UFGD)

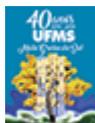
Dra. Cristiane Fatima Meldau de Campos
(UEMS)

Dr. Julio Guerra Segura
(UFMS)

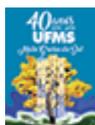
Dr. Robson Andrade Rodrigues
(UFSC)



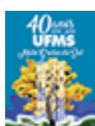
Documento assinado eletronicamente por **Julio Guerra Segura, Usuário Externo**, em 16/02/2023, às 09:08, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



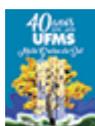
Documento assinado eletronicamente por **Carlos Eurico dos Santos Fernandes, Professor do Magisterio Superior**, em 16/02/2023, às 11:09, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Robson Andrade Rodrigues, Usuário Externo**, em 16/02/2023, às 17:03, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Claucia Aparecida Honorato da Silva, Usuário Externo**, em 24/02/2023, às 11:15, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cristiane Fátima Meldau de Campos Amaral, Usuário Externo**, em 01/03/2023, às 17:42, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3854044** e o código CRC **6128B618**.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

DEDICATÓRIA

A Deus, Jesus e a Nossa Senhora...

Á toda minha família por todo o auxílio que me
foi proporcionado.

Á meu pai e minha mãe pelo zelo, amor,
compreensão e aprendizado.

Irmã, minha amiga, minha companheira.

Vocês são bênçãos na minha vida.
obrigada por tudo que fazem por mim.

Amo vocês infinitamente.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Jesus e a Nossa Senhora por todas as bênçãos concedidas no decorrer dessa jornada.

Aos meus pais, Jociane Dutra Nogueira Farias e José Manoel Farias por me levar até Aquidauana, para obtenção dos espécimes de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Por terem me acompanhado e auxiliado no decorrer do experimento, e pelo carinho, amor, compreensão, apoio, incentivo e toda confiança depositada em mim.

À minha querida irmã, Karla Christine Nogueira Farias, e ao meu cunhado Carlos Adriano pelos conselhos, amizade, e carinho.

Aos meus avós e meus padrinhos por todo suporte, amizade, carinho, e ensinamentos proporcionados.

Ao meu namorado pelo carinho, apoio, incentivo e amizade no decorrer dessa jornada.

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes, pelo apoio, acolhimento, amizade, disponibilidade, paciência e confiança em me orientar, obrigada por todas as sugestões realizadas para elaboração da pesquisa e da tese.

A Profa. Dra. Cristiane Meldau de Campos e a Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul- Aquidauana, pela confiança e auxílio no fornecimento dos espécimes de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), para a realização da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Robson Andrade Rodrigues pela amizade, sugestões para implantação de ideias para a elaboração da pesquisa. Disponibilidade em me acompanhar no transporte dos espécimes oriundo de Aquidauana (UEMS), além de me auxiliar antes e no decorrer do experimento.

À Dra. Lilian Franco-Belussi pela amizade, confiança, disponibilidade em me ajudar nas análises estatísticas iniciais da tese, e por todo auxílio prestado durante a pesquisa.

À mestre Kárin Kuibida pela disponibilidade, confiança e colaboração na realização das análises bioquímicas.

À técnica do Laboratório de Patologia Experimental (LAPEX) Stéfanni Loureiro pela amizade e pela ajuda realizada na confecção inicial das lâminas histológica.

Aos amigos do Laboratório de Patologia Experimental (LAPEX), pela amizade, auxílios, e contribuições realizadas no decorrer dessa pesquisa. A todos que fizeram parte, recebam o meu carinho e reconhecimento, muito obrigada, Robson Andrade Rodrigues, André Luiz do Nascimento Silva, Tiago Venâncio da Silva, Lilian Franco-Belussi, Sandriely Fernanda Marcondes, Mayara Schueroff Siqueira, Taynara Ribeiro Farias Leão, Sabrina Fuzer Gonçalves, Brenda de Oliveira Martins, Maria Eduarda Corona Garcia.

À coordenação do curso e ao secretário do programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Ricardo Oliveira dos Santos pela disponibilidade, ajuda e esclarecimentos realizados no decorrer da pós-graduação.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pela oportunidade de aprendizado, crescimento e formação profissional.

À banca avaliadora, pelo aceite, disponibilidade e ensinamentos transmitidos, contribuindo para finalização dessa tese.

À CAPES pela confiança e concessão da bolsa de estudo na modalidade doutorado.

“Conquistas sem riscos são sonhos sem méritos.
Ninguém é digno dos sonhos de não usar as
derrotas para cultivá-los” (Augusto Cury).

Resumo

FARIAS, K.N.N. Efeitos da restrição alimentar e realimentação sobre parâmetros biométricos, bioquímicos e morfológicos em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). 2023. 94f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2023.

No setor piscícola a alimentação é um dos insumos mais onerosos dentro do sistema produtivo, mediante a isso alguns trabalhos vem sendo realizados com a implementação da técnica de restrição alimentar e posteriormente a realimentação, com o intuito em reduzir os custos com a ração. Nessa técnica os ajustes da restrição associado ao retorno da alimentação proporciona respostas de crescimento compensatório, em razão da oferta alimentar, suprimindo o apetite desses espécimes. Entretanto em resposta a esse manejo, os peixes apresentam alterações corporais com a ausência da alimentação. Mediante a isso, foi realizado esse trabalho com objetivo em avaliar os efeitos da restrição alimentar total (10, 20 e 30 dias) e realimentação (15 e 50 dias) em *Piaractus mesopotamicus* sobre parâmetros biométricos (peso, índice hepatossomático, fator de condição relativa Kn, e índice intestino somático), densidade estrutural (%) (hepatócitos, sinusóides, vasos sanguíneos e glicogênio hepático), histometria hepática (volume dos hepatócitos e volume nuclear dos hepatócitos), bioquímica plasmática (glicose, colesterol e triglicerídeos), histometria intestinal (área, altura, e espessura da vilosidade), e volume das células caliciformes (mucinas ácidas e neutras). Para análise biométrica e bioquímica foram utilizados 12 peixes, e seis peixes para demais análises, para cada tratamento/grupo. Os peixes foram padronizados com peso inicial de $47,7 \pm 9,0$ g. Foi realizada a necropsia dos espécimes, para remoção dos fragmentos de fígado (pesagem (g) e determinação do índice hepatossomático (%)), e fragmentos de intestino (pesagem (g) e determinação do índice intestino somático (%)) que foram processados pela técnica histológica. Para densidade volumétrica estrutural, e avaliações histométricas foram preparadas na coloração de hematoxilina e eosina (H&E). Para análise da densidade de glicogênio hepático, as amostras foram coradas com Ácido Periódico de Schiff. As avaliações histométricas foram realizadas utilizando programa Motic Plus 2.0. A bioquímica plasmática foi medida por um dispositivo de automação COBASS. Para determinação do volume das células caliciformes as lâminas foram coradas com ácido periódico de Schiff (mucinas neutras) e alcian blue (mucinas ácidas) também avaliado no Motic Plus 2.0. A restrição alimentar total, demonstrou alterações em praticamente todos os parâmetros avaliados. Com redução do peso corporal, índice hepatossomático, e índice intestino somático ($P < 0,05$), sem alteração no fator de condição relativo Kn. A densidade de hepatócitos e glicogênio hepático foram menores, enquanto os vasos sanguíneos e sinusóides aumentaram ($P < 0,05$). Para histometria hepática; o volume dos hepatócitos, e volume nuclear dos hepatócitos reduziram ($P < 0,05$). Valores de glicose e triglicerídeos reduziram, enquanto o colesterol aumentou ($P < 0,05$). Para histometria intestinal; a área e altura de vilosidade apresentaram redução apenas aos 20 dias de restrição e os valores de mucinas ácidas e neutras aumentaram ($P < 0,05$) aos 10 dias de restrição, sendo posteriormente reduzidas. Com a realimentação o peso dos peixes aos 50 dias foi semelhante ao peso dos animais controle, apresentando compensação total ($P > 0,05$). Valores de índice hepatossomático aumentaram aos 15 dias, sendo semelhante ao controle, enquanto intestino somático foi superior ao controle ($P < 0,05$). A densidade dos hepatócitos e glicogênio hepático foram restabelecidos aos 50 dias ($P > 0,05$). Vasos sanguíneos e sinusóides foram semelhantes ao controle a partir dos 15 dias de realimentação. Na histometria, o volume dos hepatócitos, e volume

nuclear dos hepatócitos aumentaram ($P>0,05$). Parâmetros de glicose, triglicerídeos e colesterol retornaram aos padrões. A altura da vilosidade intestinal aumentou aos 50 dias de realimentação ($P<0,05$). Sendo assim, conclui-se que *Piaractus mesopotamicus* em restrição alimentar a um período prolongado de 30 dias apresentou alterações nos parâmetros biométricos, bioquímicos, e histológicos hepáticos e intestinais, sem afetar o bem-estar dos espécimes, mas sugestivo a redução na absorção intestinal, inferindo em respostas imunoinflamatórias pela microbiota intestinal, influenciando no aumento do volume das células caliciformes ácidas. A realimentação por um período de até 50 dias verificou a adaptação do pacu, mediante o restabelecimento dos parâmetros avaliados e a compensação total, mesmo após um longo período de restrição.

Palavras - chave: aquicultura, estereologia, fígado, intestino, privação alimentar

Abstract

FARIAS, K.N.N. Effects of food restriction and feeding on biometric, biochemical, morphometric, and volumetric parameters of goblet cells in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). 2023. 94f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2023.

In the fish sector, food is one of the most expensive inputs within the production system, due to which some work has been carried out with the implementation of the technique of food restriction and later the refeeding, with the intention of reducing the costs with the feed. In this technique, the restriction adjustments associated with the return of feeding provide compensatory growth responses, due to the food offer, suppressing the appetite of these specimens. However, in response to this management, the fish show body changes with the absence of food. Therefore, this work was carried out with the objective of evaluating the effects of total food restriction (10, 20 and 30 days) and refeeding (15 and 50 days) in *Piaractus mesopotamicus* on biometric parameters (weight, hepatosomatic index, relative condition factor Kn, and somatic intestine index), structural density (%) (hepatocytes, sinusoids, blood vessels and liver glycogen), liver histometry (hepatocyte volume and hepatocyte nuclear volume), plasma biochemistry (glucose, cholesterol and triglycerides), intestinal histometry (area, height, and thickness of the villus), and volume of goblet cells (acidic and neutral mucins). For biometric and biochemical analysis, 12 fish were used, and six fish for other analyses, for each treatment/group. The fish were standardized with an initial weight of 47.7 ± 9.0 g. Necropsy of the specimens was performed to remove liver fragments (weighing (g) and determination of the hepatosomatic index (%)), and intestine fragments (weighing (g) and determination of the somatic intestine index (%)) that were processed by the histological technique. For structural volumetric density, and histometric evaluations were prepared on hematoxylin and eosin (H&E) staining. For analysis of hepatic glycogen density, samples were stained with Periodic Acid Schiff. Histometric evaluations were performed using the Motic Plus 2.0 program. Plasma biochemistry was measured by a COBASS automation device. To determine the volume of goblet cells, the slides were stained with periodic acid Schiff (neutral mucins) and alcian blue (acidic mucins) also evaluated in Motic Plus 2.0. Total food restriction showed changes in virtually all evaluated parameters. With reduced body weight, hepatosomatic index, and intestine somatic index ($P < 0.05$), and no change in relative condition factor Kn. Density of hepatocytes and liver glycogen were lower, while blood vessels and sinusoids increased ($P < 0.05$). For liver histometry; hepatocyte volume, and hepatocyte nuclear volume decreased ($P < 0.05$). Glucose and triglyceride values decreased, while cholesterol increased ($P < 0.05$). For intestinal histometry; the villus area and height showed a reduction only after 20 days of restriction, and the values of acidic and neutral mucins increased ($P < 0.05$) at 10 days of restriction, being subsequently reduced. With refeeding, the weight of the fish at 50 days was similar to the weight of the control animals, showing total compensation ($P > 0.05$). Hepatosomatic index values increased at 15 days, being similar to the control, while somatic intestine was higher than the control ($P < 0.05$). Hepatocyte density and liver glycogen were restored at 50 days ($P > 0.05$). Blood vessels and sinusoids were similar to the control after 15 days of refeeding. On histometry, hepatocyte volume and hepatocyte nuclear volume increased ($P > 0.05$). Glucose, triglycerides and cholesterol parameters returned to normal. The height of the

intestinal villus increased at 50 days of refeeding ($P < 0.05$). Therefore, it is concluded that *Piaractus mesopotamicus* on food restriction for a prolonged period of 30 days showed alterations in the biometric, biochemical, and liver and intestines parameters of the histological, without affecting the well-being of the specimens, but suggestive of a reduction in intestinal absorption, inferring immunoinflammatory responses by the intestinal microbiota, influencing the increase in the volume of acidic goblet cells. The refeeding for a period of up to 50 days verified the adaptation of the pacu, through the reestablishment of the evaluated parameters and the total compensation, even after a long period of restriction.

Keywords: aquaculture, food deprivation, intestine, liver, stereology.

LISTA DE FIGURAS

Revisão de literatura

Figura 1. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) 15

Artigo I. Avaliação dos parâmetros biométricos, bioquímicos, e histométricos hepáticos em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submetido a restrição alimentar e realimentação.

Figura 1 Planejamento experimental considerando os grupos controles e tratados em Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)..... 60

Figura 2 Efeito do período de restrição alimentar e realimentação sobre variáveis biométricas e índice hepatossomático em pacu (*Piaractus mesopotamicus*)..... 61

Figura 3 Anatomia com vista lateral esquerda de *Piaractus mesopotamicus*)..... 62

Figura 4 Secções histológica do fígado de *Piaractus mesopotamicus* submetidos a 30 dias de restrição alimentar total 63

Figura 5 Valores da densidade volumétrica estrutural (hepatócitos, sinusóides, vasos sanguíneos e glicogênio hepático (%)) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*, n=6) submetidos a restrição alimentar e realimentação 64

Figura 6 Valores do volume dos hepatócitos e volume nuclear dos hepatócitos (μm^3) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*, n=6) submetidos a restrição alimentar e realimentação..... 65

Figura 7 Valores de glicose, triglicerídeos e colesterol (mg/L) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*, n=12) submetidos a restrição alimentar e realimentação 66

Artigo II. Índice intestino somático, histometria e perfil das células caliciformes no intestino anterior em pacus *Piaractus mesopotamicus* expostos à restrição alimentar e realimentação

Figura 1 Planejamento experimental considerando os grupos controles e tratados em Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)..... **87**

Figura 2 Fragmento seccionado e clivado do intestino anterior de *Piaractus mesopotamicus* **87**

Figura 3 Efeito do período de restrição alimentar e realimentação sobre os dados biométricos e índice intestino somático em pacu (*Piaractus mesopotamicus*)..... **88**

Figura 4 Secções histológicas do intestino de (*Piaractus mesopotamicus*) **89**

Figura 5 Comparação entre a redução da gordura perivisceral no intestino de *P. mesopotamicus* submetidos a 30 dias de restrição alimentar total, e disposição da gordura perivisceral no intestino aos 30 dias de alimentação..... **90**

Figura 6 Dados morfométricos intestinais (área, altura e espessura de vilosidade (μm^2)) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) **91**

Figura 7 Volume das células de muco (%) ácidas (Alcian Blue) e neutras (ácido periódico de schiff) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*)..... **92**

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	15
INTRODUÇÃO.....	15
Endocrinologia/Fisiologia do crescimento ..	16
Metabolismo Energético de Peixes em Privação Alimentar	18
Fígado	21
Trato digestório de peixes de água doce	22
Intestino	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
CAPÍTULO II.....	37
ARTIGO I. Avaliação dos parâmetros biométricos, bioquímicos e histométricos hepáticos em pacus (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) submetidos a restrição alimentar e realimentação.....	38
Resumo	38
Introdução.....	40
Material e Métodos.....	42
Resultados.....	45
Discussão	48
Conclusão	53
Referências	53
Anexos.....	60
CAPÍTULO III	67
ARTIGO II. Índice intestino somático, histometria e perfil das células calciformes no intestino anterior em pacus <i>Piaractus mesopotamicus</i> expostos à restrição alimentar e realimentação.....	68

Resumo	68
Introdução	69
Material e Métodos	72
Resultados	74
Discussão	76
Conclusão	79
Agradecimentos	79
Referências	79
Anexos	87

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

Das espécies tropicais cultivadas o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) da ordem Characiformes, família Characidae e subfamília Myleinae é caracterizado por ser uma espécie de peixe nativa com importância comercial, é uma espécie de fácil adaptação ao manejo, e criação em cativeiro, sendo considerado uma espécie rústica, com tolerância a temperatura da água e variação de oxigênio dissolvido (Baldisserotto, 2002; Baldisserotto & Carvalho, 2013; Gregorin et al., 2019). Apresentam crescimento precoce e bom ganho de peso, sua carne é muito apreciada pelos consumidores, sendo também espécies de boa captura na pesca esportiva (Fernandes et al., 2000; Dias-Koberstein et al., 2005). Em 2019-2020 a produção do pacu alcançou o sexto lugar no ranking de espécies de peixes mais exportadas no Brasil (Peixe BR, 2021).

O *Piaractus mesopotamicus* é conhecido como pacu-caranha (Gimênes Junior & Rech, 2022), caracterizado como espécie de corpo alto, coberto por pequenas escamas, de coloração acinzentada mais escura na região dorsal e região ventral mais clara. Possui cabeça pequena e boca no formato terminal (Britski et al., 2007; Baldisserotto & Carvalho, 2013). É distribuída na América do Sul, e encontrada nas Bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai, na região Centro-Oeste do Pantanal no Estado de Mato Grosso do Sul (Abimorad & Carneiro, 2004).



Figura 1. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Fonte: acervo pessoal

São peixes de hábito alimentar onívoro, o aparelho digestivo é composto pelo esôfago, intestino, e estômago com presença de cecos pilóricos (Rotta, 2003; Baldisserotto et al., 2014), alimentam-se de folhas, caules, flor, frutos, sementes, resíduos vegetais, moluscos, crustáceos, insetos, pequenos peixes, resíduos animais, além de alguns componentes do fundo do rio.

Apresentam reprodução no ambiente natural por desova total, controlada por fatores externos e internos (Baldisserotto & Carvalho, 2013), os peixes realizam a migração em busca de locais com mais abundância de alimentos e protegidos dos predadores, para realização da desova, que ocorre durante a estação chuvosa (Lima, 1984; Baldisserotto & Carvalho, 2013).

Endocrinologia/Fisiologia do crescimento

Alternativas que visem reduzir o custo com a ração dentro do setor produtivo, vêm sendo estudadas e uma das estratégias observadas em alguns trabalhos, é o manejo da restrição alimentar, seguido da realimentação nos peixes (Favero et al., 2020) Com esse propósito além de reduzir os custos com a alimentação, os peixes passam a obter um melhor aproveitamento do alimento, reduzindo os desperdícios de ração e gastos com a manutenção dos parâmetros de água, caracterizando um sistema mais econômico (Souza et al., 2003).

A privação alimentar pode ocorrer naturalmente no ambiente e nos sistemas de criação de peixes, mediante a baixa oferta de alimento durante a estação seca, com o armazenamento de ovos das larvas na boca, em períodos migratórios e em decorrência da baixa temperatura da água, com redução das funções metabólicas para armazenamento energético (Borghetti & Canzi, 1993; Goddard, 1996; Souza et al., 2003; Correia et al., 2006; Palma et al., 2010; Baldisserotto & Carvalho, 2013).

Restrição alimentar é um período de redução ou privação total de nutriente a um organismo, e nesse período, os peixes reduzem seu peso corporal por cessarem a ingestão de alimentos, condicionando a hiperfagia (aumento no apetite). Após ajustes na realimentação os espécimes tendem a apresentar aumento na taxa de consumo de ração, aumento no ganho de peso e crescimento compensatório em comparação aos peixes

alimentados continuamente (Dobson & Holmes, 1984; Jobling, et al., 1994; Nicieza & Metcalfe, 1997; Ali et al., 2003).

De acordo com Ali et al. (2003) o crescimento compensatório pode ser caracterizado em, sobre compensação, quando os animais submetidos a períodos de restrição alimentar apresentam maior peso que os animais alimentados diariamente; compensação total, quando os animais realimentados alcançam o peso dos animais alimentados continuamente; na compensação parcial, os animais realimentados não conseguem atingir o peso dos animais alimentados diariamente e não compensação, na qual os animais realimentados não obtêm ganho de peso.

O crescimento é uma característica poligênica, podendo ser controlado pelo ambiente, sendo o gene do hormônio do crescimento (GH) e do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I), um dos mais importantes, desencadeando respostas mediante o hipotálamo-hipófise-somatotrópico (HPS) (Triantaphyllopoulos et al., 2020).

Com a restrição alimentar há uma redução na expressão do IGF-I (Fator de crescimento semelhante a insulina), e aumento na produção e secreção do hormônio de crescimento (GH-lipolítico) (Elbialy et al., 2022) e liberação pela grelina, comparado ao hormônio liberador do hormônio de crescimento (GHRH), podendo afetar o crescimento somático ou a osmorregulação (GH), funcionando como um regulador local, sem influenciar na liberação de prolactina e somatolactina (Hataya et al., 2001).

A grelina é caracterizada como um receptor de secretagogo (substância que estimula a secreção de outra substância) do hormônio de crescimento (GHS-R), determinando sua síntese e regulação, além de estimular a liberação do hormônio do crescimento pituitário (GH) (Zhou et al., 2016).

Conhecida como “hormônio da fome” ou como um orexígeno, por estimular o apetite (hiperfagia) e auxiliar na regulação energética do organismo e no peso corporal (Pradhan et al., 2013). Chauvigné et al. (2003) verificou que durante a realimentação, ocorre aumento na expressão de IGF-I (*Insulin Growth Factor – I*) mRNA e conseqüentemente do hormônio de crescimento (GH), além de proporcionar um pequeno aumento na expressão de IGF-II (*Insulin Growth Factor – II*) mRNA, responsável pelo FGF-2 (*Fibroblast Growth Factor – 2*) mRNA, que atuam na

regulação do crescimento muscular dos peixes, como resposta compensatória pela realimentação.

Estudos com juvenis de sunfish híbrido (*Lepomis cyanellus* X male bluegill *L. macrochirus*), tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*), piapara (*Leporinus elongatus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*), bagre (*Lophiosilurus alexandri*), entre outros espécimes ao serem realimentados após restrição alimentar, demonstraram ganho compensatório em resposta a hiperfagia (Hayward et al., 1997; Palma et al., 2010; Gonçalves et al., 2014; Santos et al., 2018; Zhou et al., 2016; Silva et al., 2019).

Durante a restrição alimentar, a grelina auxilia ainda, na manutenção da homeostase da glicose, estimulando o fornecimento de energia para realização do metabolismo energético via gliconeogênese (Yi et al., 2012; Zhao et al., 2010). Em razão da redução nos níveis de glicose, o hormônio glucagon atua nas ilhotas pancreáticas, catecolaminas e supra-renais, auxiliando na homeostase durante a restrição alimentar (Chen et al., 2011; Chuang et al., 2011; Wang et al., 2013).

Metabolismo Energético de Peixes em Privação Alimentar

Os animais podem passar por quatro estágios fisiológicos quando expostos a restrição alimentar, incluindo estresse (animal exibe hiperatividade devido à fome), redução de energia (diminuição da frequência respiratória e diminuição das atividades glicêmicas e relacionadas ao glicogênio nos músculos), adaptação (menor açúcar no sangue e uso de proteína em vez de gordura para energia) e recuperação (aumento das taxas de crescimento e uso de oxigênio) (Wieser et al., 1992).

A regulação metabólica é condicionada pelos hormônios pancreáticos insulina e glucagon. Sendo que a ingestão de carboidratos na dieta é a via metabólica primária para o fornecimento de energia, a partir da conversão do carboidrato em glicose, e regulação da glicemia nos peixes (Baldisserotto et al., 2014). Os níveis glicêmicos são reduzidos em animais submetidos a períodos curtos ou prolongados de restrição alimentar, caracterizados por ajustes metabólicos, como a liberação do hormônio glucagon (células Alfa pancreáticas) e redução dos níveis de insulina. Nestas condições, é realizada a glicogenólise (glicogênio hepático), e síntese da gliconeogênese

(aminoácidos, glicerol e oxaloacetato) de substratos não glicosídicos para manutenção dos níveis de glicose na corrente sanguínea (Lehninger, 2006; Favero et al., 2018).

A redução de glicose, estimula a liberação hormonal de glucagon, o qual ativa a enzima adenilato ciclase convertendo o ATP (adenosina trifosfato) em AMPc (adenosina monofosfato cíclico), responsável por se ligar a proteína quinase, ativando-a, proteína quinase catalisa a fosforilação de várias proteínas GPase (glicogênio fosforilase) e GSase (glicogênio síntase). A fosforilação de GPase realiza a ativação e degradação de glicogênio, para liberação de glicose ao organismo (Enes et al., 2009).

Com retorno da alimentação e ingestão de carboidratos pelo organismo, a produção de glicose aumenta, estimulando a liberação do hormônio insulina (células Beta). Esse excesso de glicose pode ser estocado como glicogênio (glicogênese) no fígado e músculo, e como triglicerídeos no tecido adiposo (Lehninger, 2006; Enes et al., 2009). *P. mesopotamicus* submetidos a alimentação contínua, e quinze dias de restrição com cinco de realimentação, Favero et al. (2018) verificaram mobilização das reservas energéticas via glicogenólise, lipólise e gliconeogênese para manutenção das condições corporais.

Outro elemento energético responsável pelo metabolismo energético dos animais são os lipídios, atuam no armazenamento de energia (ácidos graxos), estrutura das membranas biológicas, emulsificantes no trato digestório, entre outras funções; são oriundos de hidrocarbonetos, sendo reduzidos de forma rápida, podendo ser estocados no fígado, músculo e no tecido adiposo. O mesmo autor afirma que os triglicerídeos são os lipídios mais simples, formados por três moléculas de ácidos graxos e glicerol; e a energia fornecida durante a sua oxidação produz maiores energias que os carboidratos Lehninger (2006). A utilização dos ácidos graxos como mecanismo energético, dispensa o consumo de glicose presente no fígado, durante a mobilização energética (Plisetskaya, 1980).

Dicentrarchus labrax e *Piaractus mesopotamicus* submetidos a restrição alimentar apresentaram baixos níveis de triglicerídeos, e após a realimentação foi observado aumento nos níveis de triglicerídeos (Pérez-Jiménez et al., 2007; Favero et al., 2018). Esse fato é descrito em razão dos animais em restrição apresentarem poucos estoques energéticos de triglicerídeos e pouca disponibilidade de lipídios oriundos da

dieta. Assim, o organismo mobiliza lipídios pela síntese de ácidos graxos e glicerol, obtendo estoques de triglicerídeos, os quais são degradados (lipólise) para obtenção de novas fontes energéticas (Hung et al., 1997; Lehninger, 2006; Takahashi et al., 2011; Hoseini et al., 2014).

Carpa-comum (*Cyprinus carpio*) com um ano foram submetidas a 30 dias de restrição, apresentando redução na concentração de triglicerídeos nos sete dias iniciais de privação. Posteriormente, os níveis foram mantidos e os ácidos graxos livres aumentaram ao serem submetidos a 30 dias de restrição. Nesse período, ocorreu diminuição da glicólise e lipogênese, enquanto foi desencadeado aumento na gliconeogênese e na degradação de aminoácidos (glicose-6-fosfatase, glutâmica transaminase pirúvica e transaminase oxalacética glutâmica) (Shimeno et al., 1990).

De acordo com Lehninger (2006) os lipídios estruturais, também são classificados como esteróis, e caracterizados como colesterol. Essas biomoléculas atuam como sinalizadores biológicos, precursores dos hormônios esteroides e na formação dos ácidos biliares, auxiliando na digestão de lipídios. O mesmo autor enfatiza que os ésteres são armazenados no fígado ou são destinados a outros tecidos; como tecidos em crescimento, na formação de membranas celulares ou produção de hormônios esteroides. Mesmo quando o colesterol não é disponibilizado na dieta, estes são sintetizados pelo organismo com auxílio de precursores, como o Acetil-CoA no citoplasma dos hepatócitos.

Favero et al. (2018) verificaram maiores concentrações de colesterol circulante em peixes submetidos a restrição alimentar, em comparação com os peixes alimentados continuamente. O mesmo relato foi observado por Godavarthy et al. (2012) ao submeter peixes a 60 dias de restrição alimentar, os quais apresentaram aumento do colesterol no rim, fígado, cérebro e no músculo; enquanto aos 15 dias de restrição, o colesterol presente no fígado foi inferior quando comparado aos animais submetidos a restrição por longo prazo (Godavarthy et al., 2012). Esse autor afirma que isso ocorre em razão da síntese de glicocorticóides e adrenocorticóides que estimulam a gliconeogênese.

O metabolismo do colesterol, é condicionado pelos níveis de colesterol endógeno, os quais são responsáveis por auxiliar na regulação da síntese do colesterol pelo organismo animal, a partir da insulina e glucagon (Lehninger, 2006). Após a ingestão da

dieta, os níveis de insulina tendem a aumentar e conseqüentemente os níveis de colesterol tornam-se maiores e passam a ser regulados por um gene de transcrição que codifica a HMG-CoA redutase, controlado pelas proteínas SREBPs (elemento de regulação esterol- proteínas obrigatórias). Ambas as proteínas tornam-se inativas em condições de alimentação e ativadas quando os níveis de colesterol no organismos encontram-se baixos. A SCAP-SREBPs, atua como um sensor na presença ou ausência de esteróis (Berg et al., 2002; Lehninger, 2006).

Fígado

O fígado é a maior glândula no organismo dos peixes vertebrados e atua diretamente na função metabólica e digestiva. O fígado é responsável pela síntese de biomoléculas que regulam a absorção de nutrientes pelo trato digestório, síntese e secreção proteica, além de estocarem energia na forma de glicogênio e ácido graxo (Segner, 1998). Além disso, o fígado participa da homeostase orgânica e detoxificação de substâncias tóxicas (Roberts & Ellis, 2012). Esse órgão pode ser utilizado como biomarcador, já que permite identificar respostas aos efeitos do metabolismo nutricional e da higidez dos peixes (Souza et al., 2002; Silva et al., 2013).

Histologicamente o fígado caracteriza-se por lobos com arranjo cordonal dos hepatócitos. Os sinusóides são distribuídos irregularmente entre os hepatócitos, revestidos com células endoteliais e convergem para uma veia hepática terminal, ductos biliares e vasos sanguíneos (Souza et al., 2017). Os hepatócitos apresentam citoplasma de claro a eosinofílico, com núcleo central em formato arredondado e basofílico (Bombonato et al., 2007).

O hepatócito realiza o estoque energético de glicose (glicogênio) e lipídeos (lipogênese) mediante o excesso destes na dieta. Durante a privação e necessidade de obtenção de fontes energéticas, é realizada a mobilização e utilização desses estoques, sendo a glicose utilizada inicialmente pelo organismo. Ocorre degradação do glicogênio hepático (glicogenólise) e formação da gliconeogênese (aminoácidos, glicerol e oxaloacetato) para liberação da glicose (glicogenólise) na corrente sanguínea (Lehninger, 2006; Furné et al., 2012). A mobilização energética nesses órgãos durante a restrição, influencia a uma redução no peso do fígado (volume celular e nuclear dos

hepatócitos) em decorrência da utilização dos depósitos de glicogênio dispostos no citoplasma (Black & Love, 1986).

Traíras (*Hoplias malabaricus*) adultas foram submetidas a restrição de 30 a 240 dias, apresentaram consumo de energia provenientes de glicogênio hepático e muscular, sendo posteriormente mobilizado reservas lipídicas do fígado, influenciando na redução no peso do fígado e do peso corporal (Rios et al., 2006). Após a realimentação, os autores verificaram que os peixes apresentaram aumento e recuperação no peso do fígado e no índice hepatossomático, em razão do estoque energético de glicogênio. Mesmos relatos sobre mobilização energética foram abordados em estudos com espécimes de pacu e robalo (Souza et al., 2002; Pérez-Jiménez et al., 2007; Takahashi et al., 2011).

A utilização de análises de densidades estruturais e morfométricas possibilitaram avaliar a descrição das estruturas, e alterações nos seus tamanhos diante de uma determinada pesquisa (Rocha et al., 1995; Rocha et al., 1997; Russel et al., 2001; Rios et al., 2007; Raskovic et al., 2011). Em um trabalho realizado com espécimes de robalo alimentados com dietas de farelo de milho e ervilha, resultou em redução dos sinusóides, mediante a dieta de farelo de ervilha, proporcionando aumento na deposição de teores de glicogênio no fígado, com distribuição mais uniforme dos hepatócitos, além de possível hiperplasia ao tecido hepático, decorrente do aumento na taxa de absorção para biossíntese animal (Russel et al., 2001).

A análise morfométrica hepática é um biomarcador capaz de apresentar respostas nutricionais, na avaliação do estado nutricional, e na higidez dos peixes, sendo essenciais para os estudos experimentais (Rodrigues et al., 2017).

Trato digestório de peixes de água doce

As estruturas do trato digestório dos peixes são classificadas em buco-faringiana, esôfago, estômago, cecos pilóricos, intestino, reto e órgãos acessórios (fígado, pâncreas e vesícula biliar) (Kapoor et al., 1976; Díaz et al., 2003). A boca e faringe apresentam digestão mecânica com apreensão e mastigação do alimento, e secreção de células de muco, no esôfago há uma maior secreção de mucinas, amilases e proteases auxiliando na deglutição do alimento e no processo de digestão (Weatherley et al., 1987).

O processo digestivo no estômago é realizado por células secretoras de muco, enzimas digestivas (pepsinogênio), hormônios (gastrina), e pela liberação de ácido clorídrico, condicionando esse órgão a um pH variando de 2,0 a 3,0 contribuindo para a degradação dos alimentos (Guillaume & Choubert, 2001). As vilosidades e microvilosidades são estruturas atuantes no aumento da área de absorção dos nutrientes e realização de digestão enzimática no epitélio. São estruturas compostas por células epiteliais colunares (enterócitos) que auxiliam na absorção, e células de muco responsáveis pela função protetora contra atividade bacteriana, além de apresentarem células do sistema imune (Lovell, 1989; Kapoor et al., 1976).

O quimo oriundo do estômago encontra-se ácido, ao entrar no intestino, estimula a produção hormonal da secretina, responsável por desencadear respostas ao tecido pancreático que condiciona a produção de bile pelo fígado e secreção de bicarbonato no intestino, essas respostas desencadeiam o aumento do pH, variando entre 7,0 e 8,0. O aumento no pH favorece a secreção de enzimas pancreáticas, pelo ducto biliar que irão atuar na digestão de polissacarídeos, proteínas, lipídeos, quitina e nucleotídeos (Jobling, 1995; Guillaume & Choubert, 2001).

O trato digestório dos peixes apresenta diferenças entre as espécies. Histologicamente, o intestino apresenta quatro camadas básicas: mucosa, submucosa, túnica muscular e serosa as quais possuem características diversas em relação aos tipos celulares e constituição estrutural (Baldisserotto et al., 2014; Wilson & Castro, 2010).

A mucosa é constituída por uma camada única de células epiteliais colunares (enterócitos), com tecido conjuntivo frouxo. Além disso, a mucosa pode conter leucócitos, células de mucos, produtoras de mucinas ácidas e neutras (carboxilas e sulfato e glicoproteínas), entre outras (Raji et al., 2010; Baldisserotto et al., 2014). A submucosa é formada por tecido conjuntivo frouxo, músculo liso longitudinal, composto por fibra colágeno e vasos sanguíneos irrigando a mucosa, sendo caracterizado como lâmina própria, localizada inicialmente acima da camada submucosa (Rios et al., 2004; Raji et al., 2010). A muscular é caracterizada por duas camadas de músculo liso, sendo uma camada com células circulares interna mais espessa, e uma camada longitudinal externa mais fina, com função de auxiliar na movimentação do quimo intestinal. A serosa é composta internamente pelo tecido

conjuntivo frouxo e externamente por uma camada de células epiteliais pavimentosas (Baldisserotto et al., 2014).

As células epiteliais colunares e caliciformes são distribuídas na mucosa do epitélio no trato digestório. A primeira atua em processos digestivos, absorptivos (enterócitos), enquanto a segunda realiza a secreção de muco que auxiliam na lubrificação, digestão, absorção, tampão de fluido intestinal, como proteção contra bactérias e prevenção de danos físicos e químicos no epitélio, é mais abundante na região posterior (Allen & Flemström, 2005; Baldisserotto et al., 2014; Buddington et al., 1997; Wilson & Castro, 2010). Os leucócitos presentes na mucosa se estendem da lâmina própria até a submucosa e podem conter células granulares ou agranulares. Na truta-arco-íris, Ezeasor & Strokoe (1980) observaram a presença de células eosinofílicas associadas aos elementos vasculares, inferindo que essas células na parede intestinal atuam como um mecanismo de defesa mecânico e humoral em resposta as condições ambientais.

Intestino

O intestino pode ser dividido em intestino anterior, médio e posterior com função de digestão química e absorção de nutrientes (Lovell, 1989; Rotta, 2003). As regiões podem apresentar alterações mediante variações celulares e nas vilosidades (Guillaume & Choubert, 2001). O intestino anterior é considerado a região de principal absorção de gordura, sendo composto por enzimas digestivas produzidas pelo pâncreas e secretadas pelo ducto biliar, condicionados pela bile até o intestino, auxiliando na digestão dos lipídeos, tem o epitélio constituído por células colunares absorptivas (enterócitos) além de células caliciformes (Guillaume & Choubert, 2001; Sharon & Zilberg, 2012).

No intestino médio é realizado o processo de pinocitose por meio de invaginações e vacúolos nos enterócitos, responsável pela absorção e digestão de macromoléculas como proteínas e carboidratos, o epitélio é caracterizado por uma grande quantidade de macrófagos e células de muco que auxiliam tanto na proteção, quanto deglutição do alimento (Kapoor et al., 1976; Rombout et al., 1989; Sharon & Zilberg, 2012; Baldisserotto et al., 2014). A última porção do intestino, chamada de posterior é composta por poucas microvilosidades e células de absorção, responsáveis pela

osmorregulação com auxílio das mitocôndrias condicionando a absorção de água e eletrólitos, nessa região o tecido epital é repleto de células caliciformes, aumentando gradualmente da porção distal ao reto (Takashima & Hibiya, 1995; Guillaume & Choubert, 2001).

As espécies de peixes são muito abundantes e as características do trato gastrointestinal, podem sofrer modificações morfológicas e funcionais, estando relacionados com as características da espécie e a natureza dos alimentos ingeridos, adaptando-se as condições que forem expostas (Baldisserotto et al., 2014; Kapoor et al., 1976; Seixas Filho et al., 2001).

O desenvolvimento de estudos no âmbito nutricional condiciona a avaliação do trato digestório dos animais por meio de ferramentas que auxiliam na obtenção de parâmetros morfométricos, a fim de se estabelecer padrões morfofisiológicos assim como possíveis anormalidades. Mensurações como altura da vilosidade, largura da camada mucosa, densidade das células caliciformes, enterócitos, e presença de células leucocitárias fornecem informações do intestino frente às variações impostas em resposta alimentação (Sherif et al., 2020; Adeshina et al., 2023).

Em um trabalho descrito por Mello et al. (2013) observaram que espécimes de tilápia-do-nylo alimentados com aditivo probiótico apresentaram vilosidades mais altas e mais largas, além de um aumento no número de células caliciformes, responsáveis em auxiliar na defesa da mucosa contra bactérias. Análises semelhantes foram conduzidas por Fabregat et al. (2011) em pacus alimentados com polpa cítrica, evidenciando redução na densidade de vilosidades de acordo com área do epitélio intestinal. Portanto, as estruturas do intestino (especialmente as vilosidades e células secretoras) determinam uma parte importante da organização estrutural, adaptando-se de acordo com as características da dieta a fim de facilitar as funções desempenhadas por este órgão (Kapoor et al., 1976). A análise morfométrica do sistema digestivo caracteriza-se como uma ferramenta valiosa para determinação do *status* nutricional para estudos morfofuncionais em peixes de produção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J. Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração protéica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 5, p. 1101-1109, 2004.

ADESHINA, I.; AKPOILIH, B.U.; UDOM, B.F.; ADENIYI, O.V.; ABDEL-TAWWAB, M. Interactive effects of dietary phosphorus and microbial phytase on growth performance, intestinal morphometry, and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on low-fishmeal diets. **Aquaculture**, v. 563, p. 738995, 2023.

ALLEN, A.; & FLEMSTRÖM, G. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 288, n. 1, p. C1-C19, 2005.

ALI, M.; NICIEZA, A.; WOOTTON, R.J. Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. **Fish and fisheries**, v. 4, n. 2, p. 147-190, 2003.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Editora da UFSM, v. 1, p. 212, 2002.

BALDISSEROTTO, B.; DE CARVALHO GOMES, L. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. UFSM, 2013.

BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J.E.P; URBINATI, E.C. Biologia e Fisiologia de Peixes Neotropicais de Água Doce. **Ed. FUNEP, Jaboticabal**, p. 336, 2014.

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J.; STRYER, L. The complex regulation of cholesterol biosynthesis takes place at several levels. **Biochemistry**, v. 5, 2002.

BOMBONATO, M.T.S.; ROCHEL, S.S.; VICENTINI, C.A.; VICENTINI, I.B.F. Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus*. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, n. 1, p. 81-85, 2007.

BORGHETTI, J. R.; CANZI, C. The effect of water temperature and feeding rate on the growth rate of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) raised in cages. **Aquaculture**, v. 114, n. 1-2, p. 93-101, 1993.

BUDDINGTON, R.K.; CHEN, J.W.; DIAMOND, J.A.R.E.D. Genetic and phenotypic adaptation of intestinal nutrient transport to diet in fish. **The Journal of Physiology**, v. 393, n. 1, p. 261-281, 1987.

BLACK, D. & LOVE, R.M. The sequential mobilisation and restoration of energy reserves in tissues of Atlantic cod during starvation and refeeding. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 156, p. 469-479, 1986.

BRITSKI, H.A.; SILIMON, K.S.; LOPES, B.S. Peixes do Pantanal: manual de identificação Brasília: Embrapa. 2007.

CORREIA, A., MORAES ALVES, A. R., LOPES, J., & SANTOS, F. Reversão sexual em larvas de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) em diferentes condições ambientais. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca/Brazilian Journal of Fishing Engineering**, v. 1, p. 54-64, 2006.

CHAUVIGNÉ, F.; GABILLARD, J.C.; WEIL, C.; RESCAN, P.Y. Effect of refeeding on IGFI, IGFII, IGF receptors, FGF2, FGF6, and myostatin mRNA expression in rainbow trout myotomal muscle. **General and comparative endocrinology**, v. 132, n. 2, p. 209-215, 2003.

CHEN, W.; HOO, R.L.C.; KONISHI, M.; ITOH, N.; LEE, P.C.; YE, H.Y.; XU, A. Growth hormone induces hepatic production of fibroblast growth factor 21 through a mechanism dependent on lipolysis in adipocytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 40, p. 34559-34566, 2011.

CHUANG, J.C.; SAKATA, I.; KOHNO, D.; PERELLO, M.; OSBORNE-LAWRENCE, S.; REPA, J.J.; ZIGMAN, J.M. Ghrelin directly stimulates glucagon secretion from pancreatic α -cells. **Molecular Endocrinology**, v. 25, n. 9, p. 1600-1611, 2011.

DÍAZ, A.O.; GARCIA, A.M.; DEVINCENTI, C.V.; GOLDEMBERG, A.L. Morphological and histochemical characterization of the mucosa of the digestive tract in *Engraulis anchoita* (Hubbs and Marini, 1935). **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 32, n. 6, p. 341-346, 2003.

DIAS-KOBERSTEIN, T.C.R.; CARNEIRO, D.J & URBINATI, E.C. Tempo de trânsito gastrintestinal e esvaziamento gástrico do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) em diferentes temperaturas de cultivo. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 27, n. 3, p. 413-417, 2005.

DOBSON, S.H.; HOLMES, R.M. Compensatory growth in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. **Journal of Fish Biology**, v. 25, n. 6, p. 649-656, 1984.

ELBIALY, Z.I.; GAMAL, S.; AL-HAWARY, I.I.; SHUKRY, M.; SALAH, A.S.; ABOSHOSHA, A.A.; ASSAR, D.H. Exploring the impacts of different fasting and refeeding regimes on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Growth performance, histopathological study, and expression levels of some muscle growth-related genes. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 4, p. 973-989, 2022.

ENES, P.; PANSEERAT, S.; KAUSHIK, S.; OLIVA-TELES, A.A. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish physiology and biochemistry** v. 35, n. 519-539, 2009.

EZEASOR, D.N.; STOKOE, W.M. A cytochemical, light and electron microscopic study of the eosinophilic granule cells in the gut of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. **Journal of Fish Biology**, v. 17, n. 6, p. 619-634, 1980.

FABREGAT, T.E.H.P.; RODRIGUES, L.A.; NASCIMENTO, T.M.; URBINATI, E.C.; SAKOMURA, N.K.; FERNANDES, J.B.K. Fontes de fibra na alimentação do pacu: desempenho, composição corporal e morfometria intestinal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 1533-1540, 2011.

FAVERO, G.C.; GIMBO, R.Y.; FRANCO MONTOYA, L.N.; ZANUZZO, F.S.; URBINATI, E.C. Fasting and refeeding lead to more efficient growth in lean pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture Research**, v. 49, n. 1, p. 359-366, 2018.

FAVERO, G.; GIMBO, R.Y.; MONTOYA, L.N.F.; CARNEIRO, D.J.; URBINATI, E.C. A fasting period during grow-out make juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) leaner but does not impair growth. **Aquaculture**, v. 524, p. 735242, 2020.

FERNANDES, J.B.K.; CARNEIRO, D.J.; SAKOMURA, N.K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 646-653, 2000.

FURNÉ, M.; MORALES, A.E.; TRENZADO, C.E.; GARCÍA-GALLEGO, M.; HIDALGO, M.C.; DOMEZAIN, A.; RUS, A.S. (2012). The metabolic effects of prolonged starvation and refeeding in sturgeon and rainbow trout. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 182, n. 1, p. 63-76, 2012.

GODDARD, S. Feeding, Temperature, and Water Quality. In: **Feed Management in Intensive Aquaculture**. Springer, Boston, MA, p. 51-74, 1996.

GODAVARTHY, P.; KUMARI, Y. S.; BIKSHAPATHY, E. Starvation induced cholesterogenesis in hepatic and extra hepatic tissues of climbing Perch, *Anabas testudineus* (Bloch). **Saudi journal of biological sciences**, v. 19, n. 4, p. 489-494, 2012.

GONÇALVES, A.F.N.; HÁ, N.; BILLER-TAKAHASHI, J.D.; SATO, L.S.; KISHIMOTO, M.K.; TAKAHASHI, L.S. Densidade de estocagem e restrição alimentar em juvenis de piapara. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 40, n. 3, p. 431-439, 2014.

GIMÊNES JUNIOR, H.; RECH, R. **Guia ilustrado dos peixes do Pantanal e entorno**. Campo Grande, MS: Julien Design, 660 p, 2022.

GUILLAUME, J.; CHOUBERT, G. Digestive physiology and nutrient digestibility in fishes. 2001.

GREGORIN, E.G.; FELIZARDO, V.O.; MELO, C.C.V.; FREITAS, R.T.F.; SOUZA, U.N.; COSTA, A.C. Parâmetros qualitativos do sêmen e morfologia comparada da cabeça e peça intermediária do espermatozoide de Pirapitinga (*Piaractus brachypomus*), Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Boletim de Indústria Animal**, v. 76, p. 1-8, 2019.

HATAYA, Y.; AKAMIZU, T.; TAKAYA, K.; KANAMOTO, N.; ARIYASU, H.; SAIJO, M.; NAKAO, K. A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 9, p. 4552-4555, 2001.

HAYWARD, R.S.; NOLTIE, D. B.; WANG, N. Use of compensatory growth to double hybrid sunfish growth rates. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 126, n. 2, p. 316-322, 1997.

HOSEINI, S.M.; YOUSEFI, M. Effect of short-term (0–72 h) fasting on serum biochemical characteristics in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of applied ichthyology**, v. 30, n. 3, p. 569-573, 2014.

HUNG, S.S.; LIU, W.; LI, H.; STOREBAKKEN, T.; CUI, Y. Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. **Aquaculture**, v. 151, n. 1, p. 357-363, 1997.

JOBLING, M.; MELØY, O.H.; DOS SANTOS, J.; CHRISTIANSEN, B. The compensatory growth response of the Atlantic cod: effects of nutritional history. **Aquaculture international**, v. 2, n. 2, p. 75-90, 1994.

JOBLING, M. Environmental biology of fishes. Chapman & Hall. London, England, 1995.

KAPOOR, B.G.; SMIT, H.; VERIGHINA, I.A. The alimentary canal and digestion in teleosts. In: **Advances in marine biology**. Academic Press, v. 13, p. 134, 1976.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Macmillan, 2005.

LEHNINGER, A.L. Princípios de Bioquímica; coordenação da tradução Arnaldo Antônio Simões, Wilson Roberto Navega Lodi. 2006.

LIMA, J.A. F.; LIMA, C.L.B.; BARBIERI, G. Crescimento do pacu *Colossoma mitrei*, em ambiente natural (Rio Cuiabá Pantanal de Mato Grosso). Anais do III Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, São Carlos (SP), p. 499-512, 1984.

LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989.

MELLO, H.D.; MORAES, J.R.; NIZA, I.G.; MORAES, F.R.D.; OZÓRIO, R.O.; SHIMADA, M.T.; ENGRÁCIA FILHO, J.R.; CLAUDIANO, G.S. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 724-730, 2013.

NICIEZA, A.G.; METCALFE, N.B. Growth compensation in juvenile Atlantic salmon: responses to depressed temperature and food availability. **Ecology**, v. 78, n. 8, p. 2385-2400, 1997.

PALMA, E.H.D.; TAKAHASHI, L.S.; DIAS, L.T.S.; GIMBO, R.Y.; KOJIMA, J.T.; NICODEMO, D. Estratégia alimentar com ciclos de restrição e realimentação no desempenho produtivo de juvenis de tilápia do Nilo da linhagem GIFT. **Ciência Rural**, v. 40, p. 391-396, 2010.

PEIXE BR. Anuário 2021 Peixe BR da Piscicultura. São Paulo-SP, Brasil. Disponível em <https://www.peixebr.com.br/anuario-2021>.

PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; GUEDES, M.J.; MORALES, A.E.; OLIVA-TELES, A. Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. **Aquaculture**, v. 265, n. 1-4, p. 325-335, 2007.

PLISETSKAYA, E. Fatty acid levels in blood of cyclostomes and fish. **Environmental Biology of Fishes**, v. 5, n. 3, p. 273-290, 1980.

PRADHAN, G.; SAMSON, S.L.; SUN, Y. Ghrelin: much more than a hunger hormone. **Current opinion in clinical nutrition and metabolic care**, v. 16, n. 6, p. 619, 2013.

RAJI, A.R.; NOROUZI, E. Histological and histochemical study on the alimentary canal in Walking catfish (*Claris batrachus*) and piranha (*Serrasalmus nattereri*). **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 11, n. 3, p. 255-261, 2010.

RAŠKOVIĆ, B.; STANKOVIĆ, M.; MARKOVIĆ, Z.; POLEKSIĆ, V. Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. **Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)**, v. 56, n. 1, p. 87-100, 2011.

RIOS, F.S.; KALININ, A.L.; FERNANDES, M.N.; RANTIN, F.T. Changes in gut gross morphology of traíra, *Hoplias malabaricus* (Teleostei, Erythrinidae) during long-term starvation and after refeeding. **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, p. 683-689, 2004.

RIOS, F.S.A.; MORAES, G.; OBA, E.T.; FERNANDES, M.N.; DONATTI, L.; KALININ, A.L.; RANTIN, F.T. Mobilization and recovery of energy stores in traíra, *Hoplias malabaricus* Bloch (Teleostei, Erythrinidae) during long-term starvation and after re-feeding. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 176, n. 7, p. 721-728, 2006.

RIOS, F.S.; DONATTI, L.; FERNANDES, M.N.; KALININ, A.L.; RANTIN, F.T. Liver histopathology and accumulation of melano-macrophage centres in *Hoplias malabaricus* after long-term food deprivation and re-feeding. **Journal of fish biology**, v. 71, n. 5, p. 1393-1406, 2007.

ROBERTS, R.J.; ELLIS, A.E. The anatomy and physiology of teleosts. In.: ROBERTS, R.J. **Fish Pathology**. 4ª ed. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, p. 17-61. 2012.

ROCHA, E.; MONTEIRO, R.A.; PEREIRA, C.A. Microanatomical organization of hepatic stroma of the brown trout, *Salmo trutta fario* (Teleostei, Salmonidae): A qualitative and quantitative approach. **Journal of Morphology**, v. 223, n. 1, p. 1-11, 1995.

ROCHA, E.; MONTEIRO, R.A.; PEREIRA, C.A. Liver of the brown trout, *Salmo trutta* (Teleostei, Salmonidae): a stereological study at light and electron microscopic levels. **The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists**, v. 247, n. 3, p. 317-328, 1997.

RODRIGUES, R.A.; SATURNINO, K.C.; FERNANDES, C.E. Liver histology and histomorphometry in hybrid sorubim (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *Pseudoplatystoma corruscans*) reared on intensive fish farming. **Aquaculture Research**, 2017.

ROTTA, M.A. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. **Embrapa Pantanal-Documentos (INFOTECA-E)**, 2003.

ROMBOUT, J.H.W.M.; BOT, H.E.; TAVERNE-THIELE, J.J. Immunological importance of the second gut segment of carp. II. Characterization of mucosal leucocytes. **Journal of Fish Biology**, v. 35, n. 2, p. 167-178, 1989.

RUSSELL, P.M., DAVIES, S.J., GOUVEIA, A., TEKINAY, A.A. Influência da fonte de amido na morfologia hepática de juvenis de robalo (*Dicentrarchus labrax* L). **Pesquisa em Aquicultura**, v. 32, p. 306-314, 2001.

SANTOS, E.L., SOARES, A.C.L., TENÓRIO, O.L.D., SOARES, E.C., SILVA, T.J., GUSMÃO JÚNIOR, L.F. Desempenho de tambaquis (*Colossoma macropomum*) submetidos a restrição alimentar e a realimentação em tanques-rede. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, p. 931-938, 2018.

SEGNER, H. Isolation and primary culture of teleost hepatocytes. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 120, n. 1, p. 71-81, 1998.

SEIXAS FILHO, J.T.D.; FONSECA, C.C.; OLIVEIRA, M.G.D.A.; DONZELE, J.L.; MENIN, E. Determinação do sistema endócrino difuso nos intestinos de três Teleostei (piscas) de água doce com hábitos alimentares diferentes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1403-1408, 2001.

SILVA, E.M.D.; SAMPAIO, L.A.; MARTINS, G.B.; ROMANO, L.A.; TESSER, M. B. Desempenho zootécnico e custos de alimentação de juvenis de tainha submetidos à restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 906-912, 2013.

SILVA, W.D.S., HISANO, H., MATTIOLI, C.C., TORRES, I.F.A., DE OLIVEIRA PAES-LEME, F., LUZ, R.K. Effects of cyclical short-term fasting and refeeding on juvenile *Lophiosilurus alexandri*, a carnivorous Neotropical catfish. **Aquaculture**, v. 505, p. 12-17, 2019.

SOUZA, V.L.; URBINATI, E.C.; GONÇALVES, D.C.; SILVA, P.C. Composição corporal e índices biométricos do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes, Characidae) submetido a ciclos alternados de restrição alimentar e realimentação. **Acta Scientiarum: Biological and Health Sciences**, p. 533-540, 2002.

SOUZA, V.L.; URBINATI, E.C.; MARTINS, M.I.E.G.; SILVA, P.C. Avaliação do crescimento e do custo da alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) submetido a ciclos alternados de restrição alimentar e realimentação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 19-28, 2003.

SOUZA, V.L.; LUNARDI, L.O.; VASQUES, L.H.; CASALETTI, L.; NAKAGHI, L.S.O.; URBINATI, E.C. Morphometric alterations in hepatocytes and ultrastructural distribution of liver glycogen in pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) during food restriction and refeeding. **Journal of Morphological Sciences**, v. 18, n. 1, p. 0-0, 2017.

SHARON, G.; ZILBERG, D. Atlas of fish histology and histopathology. **Central and Northern Arava Research and Development Centers**, v. 78, 2012.

SHERIF, A.H.; GOUDA, M.Y.; NAENA, N.A.; ALI, A.H. Alternate weekly exchanges of feeding regime affect the diversity of intestinal microbiota and immune status of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 10, p. 4327-4339, 2020.

SHIMENO, S.; KHEYYALI, D.; TAKEDA, M. Metabolic adaptation to prolonged starvation in carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, v. 56, n. 1, p. 35-41, 1990.

TAKAHASHI, L.S.; BILLER, J.D.; CRISCUOLO-URBINATI, E.; URBINATI, E.C. Feeding strategy with alternate fasting and refeeding: effects on farmed pacu production. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 95, n. 2, p. 259-266, 2011.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. An atlas of fish histology: normal and pathological features. 2ed. Lubrecht & Cramer Ltd. Publisher, Port Jervis, Ny, USA, 1995.

TRIANANTAPHYLLOPOULOS, K.A.; CARTAS, D.; MILIOU, H. Fatores que influenciam a expressão gênica de GH e IGF-I no crescimento de peixes teleósteos: como a indústria da aquicultura pode se beneficiar?. **Resenhas em Aquicultura**, v. 12, n. 3, pág. 1637-1662, 2020.

WANG, Q.; LIANG, X.; WANG, S. Intra-islet glucagon secretion and action in the regulation of glucose homeostasis. **Frontiers in physiology**, v. 3, p. 485, 2013.

WEATHERLEY., A.H, GILL, H.S., CASSELMAN, J.M. **Biology of fish growth**. Academic press, 1987.

WIESER, W.; KRUMSCHNABEL, G.; OJWANG-OKWOR, J.P The energetics of starvation and growth after refeeding in juveniles of three cyprinid species. **Environmental Biology of Fishes**, v. 33, n. 1-2, p. 63-71, 1992.

WILSON, J.M.; CASTRO, L.F.C. Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. In: **Fish physiology**. Academic Press, p. 1-55, 2010.

YI, C.X.; HEPPNER, K.M.; KIRCHNER, H.; TONG, J.; BIELOHUBY, M.; GAYLINN, B.D.; JOSEPH, A. The GOAT-ghrelin system is not essential for hypoglycemia prevention during prolonged calorie restriction. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. e32100, 2012.

ZHAO, T.J.; LIANG, G.; LI, R.L.; XIE, X.; SLEEMAN, M.W.; MURPHY, A.J.; BROWN, M.S. Ghrelin O-acyltransferase (GOAT) is essential for growth hormone-mediated survival of calorie-restricted mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 16, p. 7467-7472, 2010.

ZHOU, C.; ZHENG, J.; LEI, L.; YUAN, D.; ZHU, C.; YE, H.; ZENG, B. Evidence that ghrelin may be associated with the food intake of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). **Fish physiology and biochemistry**, v. 42, p. 1637-1646, 2016.

CAPÍTULO II

ARTIGO I

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOMÉTRICOS, BIOQUÍMICOS, E HISTOMÉTRICOS HEPÁTICOS EM PACU (*Piaractus mesopotamicus*) SUBMETIDO A RESTRIÇÃO ALIMENTAR E REALIMENTAÇÃO

As normas seguem as exigências para a publicação em:
Fish Physiology and Biochemistry (ISSN: 1573-5168)

Avaliação dos parâmetros biométricos, bioquímicos e histométricos hepáticos em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) submetidos a restrição alimentar e realimentação

Karine Nathiele Nogueira Farias¹, Carlos Eurico Fernandes²

¹Doutoranda no Programa de Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

²Laboratório de Patologia Experimental- LAPEx, Instituto de Biociência – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 79002-970, Mato Grosso do Sul, Brasil

Resumo: A alimentação é um dos insumos que mais apresentam custo dentro do setor produtivo piscícola, e com a finalidade em reduzir os custos com a ração, e a possibilidade dos espécimes apresentarem ganho compensatório, após a realimentação, alguns trabalhos tem implementado técnicas de restrição e realimentação. Essa alternativa de manejo condiciona a algumas alterações nos pesos, nos parâmetros metabólicos e histométricos. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da restrição alimentar (10, 20 e 30 dias) nos parâmetros biométricos, na densidade volumétrica do fígado, histometria hepática e nos parâmetros bioquímicos de pacus (*Piaractus mesopotamicus*), comprovando se a restrição alimentar traz malefícios ao bem-estar dos espécimes, e se a realimentação (15 e 50 dias) tende a apresentar compensação corporal dos peixes, com restauração dos parâmetros avaliados. Os peixes foram padronizados com peso inicial de $47,7 \pm 9,0$ g. Em cada período experimental foi medido o peso (g), fator de condição relativo Kn e índice hepatossomático (parâmetros biométricos). Foi realizada necropsia dos espécimes (n=12) para remoção de fragmentos hepáticos (pesagem (g) e determinação do índice hepatossomático (%)), que foram processados pela técnica histológica. A densidade volumétrica estrutural e as avaliações morfométricas foram preparadas na coloração de hematoxilina e eosina (H&E). Para análise da densidade de glicogênio hepático, as amostras foram coradas com Ácido Periódico de Schiff. Os níveis de glicose, triglicerídeos e colesterol plasmático foram medidos por um dispositivo de automação COBASS. Durante a restrição alimentar, houve alterações metabólicas, apresentando redução do peso corporal, índice hepatossomático, e o fator de condição relativo Kn não se alterou ($P < 0,05$). A densidade de hepatócitos e glicogênio hepático foram menores, enquanto os vasos sanguíneos e sinusóides aumentaram ($P < 0,05$). Para histometria, o volume dos hepatócitos, e volume nuclear dos hepatócitos reduziram ($P < 0,05$). Valores de glicose e triglicerídeos reduziram, enquanto o colesterol aumentou ($P < 0,05$). Com a realimentação o peso dos peixes aos 50 dias foi semelhante ao peso dos animais controle, apresentando compensação total ($P > 0,05$). O índice hepatossomático aumentou e fator de condição relativo Kn não apresentou alteração. A densidade dos hepatócitos e glicogênio hepático foram restabelecidos aos 50 dias ($P < 0,05$). Vasos sanguíneos e sinusóides foram semelhantes ao controle a partir dos 15 dias de realimentação. Na histometria, o volume dos hepatócitos, e volume nuclear dos hepatócitos aumentaram ($P < 0,05$). Parâmetros de glicose, triglicerídeos e colesterol retornaram aos padrões. Conclui-se que o *Piaractus mesopotamicus* em restrição alimentar a um período prolongado de 30 dias apresentou alterações nos parâmetros biométricos, bioquímicos, e histológicos, sem afetar o bem-estar dos espécimes. A realimentação por um período de até 50 dias verificou a

adaptação do pacu, mediante o restabelecimento das variáveis estudadas e a compensação total mesmo após uma longo período de restrição.

Palavras - chave: aquicultura, estereologia, hepatócito, privação alimentar

Evaluation of biometric, biochemical and hepatic histometry parameters in pacus (*Piaractus mesopotamicus*) submitted to food restriction and refeeding

Abstract: Feeding is one of the most costly inputs within the fish production sector, and with the aim of reducing feed costs, and the possibility of specimens presenting compensatory gain, after refeeding, some works have implemented food restriction and refeeding techniques. This management alternative results in some changes in weight, metabolic and histometric parameters. Thus, the present study aimed to evaluate the effects of dietary restriction (10, 20 and 30 days) on biometric parameters, liver volumetric density, liver histometry and biochemical parameters of pacus (*Piaractus mesopotamicus*), proving whether restriction feeding brings harm to the welfare of the specimens, and if the refeeding (15 and 50 days) tends to present body compensation of the fish and restoration of the evaluated parameters. The fish were standardized with an initial weight of 47.7 ± 9.0 g. In each experimental period, weight (g), relative condition factor Kn and hepatosomatic index (biometric parameters) were measured. Necropsy of the specimens (n=12) was performed to remove liver fragments (weighing (g) and determination of the hepatosomatic index (%)), which were processed by the histological technique. Structural volumetric density and morphometric evaluations were prepared on hematoxylin and eosin (H&E) staining. For analysis of hepatic glycogen density, samples were stained with Periodic Acid Schiff. Glucose, triglyceride and plasma cholesterol levels were measured by a COBASS automation device. During food restriction, there were metabolic changes, with a reduction in body weight, hepatosomatic index, and the relative condition factor Kn did not change ($P < 0.05$). Density of hepatocytes and liver glycogen were lower, while blood vessels and sinusoids increased ($P < 0.05$). For histometry, hepatocyte volume, and hepatocyte nuclear volume decreased ($P < 0.05$). Glucose and triglyceride values decreased, while cholesterol increased ($P < 0.05$). With refeeding, the weight of the fish at 50 days was similar to the weight of the control animals, showing total compensation ($P > 0.05$). Hepatosomatic index increased and relative condition factor Kn did not change. Hepatocyte density and liver glycogen were restored at 50 days ($P < 0.05$). Blood vessels and sinusoids were similar to the control after 15 days of refeeding ($P < 0.05$). On histometry, hepatocyte volume and hepatocyte nuclear volume increased ($P < 0.05$). Glucose, triglycerides and cholesterol parameters returned to normal. It is concluded that *Piaractus mesopotamicus* on food restriction for a prolonged period of 30 days showed changes in biometric, biochemical, and histological parameters, without affecting the welfare of the specimens. The refeeding for a period of up to 50 days verified the adaptation of the pacu, through the reestablishment of the studied variables and the total compensation even after a long period of restriction.

Key words: aquaculture, food deprivation, hepatocyte, stereology

INTRODUÇÃO

A aquicultura brasileira utiliza espécies nativas na produção piscícola, entre elas o pacu *Piaractus mesopotamicus* é considerado uma espécie robusta, de fácil adaptação ao cultivo, bom ganho de peso, e apresenta carne de qualidade, com apreciação pelos consumidores (Abimorad & Carneiro 2004; Dias-Koberstein et al. 2005).

Alternativas que visem reduzir o custo com a ração dentro do setor produtivo, vem sendo estudadas e uma das estratégias observadas em alguns trabalhos, é o manejo da restrição alimentar, seguido da realimentação nos peixes. Esse propósito além de reduzir os custos com a alimentação, os peixes passam a obter um melhor aproveitamento do alimento, reduzindo os desperdícios de ração e gastos com a manutenção dos parâmetros de água, caracterizando um sistema mais econômico (Liu et al. 2019; Favero et al. 2020).

O termo "restrição nutricional" é uma técnica que tem sido observada em alguns estudos com a tentativa em reduzir os custos produtivos com a ração, sendo um período de privação parcial ou total no fornecimento de ração ao animal, sendo os espécimes posteriormente realimentados. Com a diminuição da oferta, os peixes apresentam redução no crescimento e no peso corporal, evidenciando aumento no apetite, e conseqüentemente, há um aumento na ingestão durante a realimentação. Nessa etapa é verificado que os animais restabelecem o crescimento apresentando ganho compensatório (Souza et al. 2002).

A restrição desempenha um melhor aproveitamento dos alimentos, proporcionando redução dos desperdícios de ração em viveiros, dispendo de menores custos com os ajustes na manutenção dos parâmetros de qualidade da água (Dobson & Holmes 1984; Nicieza & Metcalfe 1997; Xie et al. 2001; Souza et al. 2002; Gonçalves et al. 2014). Os animais podem passar por quatro fases fisiológicas durante a restrição alimentar, incluindo estresse (hiperatividade devido à fome), redução de energia (diminuição da frequência respiratória e das atividades glicêmicas e relacionadas ao glicogênio nos músculos), adaptação (redução na taxa metabólica e uso de proteína ao invés de lipídeo para obter energia) e recuperação (aumento das taxas de crescimento e uso de oxigênio) (Wieser et al. 1992).

O fígado é uma glândula digestiva, responsável por várias funções relacionadas ao metabolismo nutricional. Após ingestão e absorção no aparelho digestivo, os hepatócitos iniciam os processos de esterificação e oxidação, responsáveis pela síntese, armazenamento e liberação de lipoproteínas, colesterol, íons orgânicos, entre outros (Enes et al. 2009; Roberts & Ellis 2012; Sari et al. 2022). Atua na manutenção da glicemia, respondendo a presença ou ausência de nutrientes disponíveis, sendo caracterizado por estimular as glândulas supra-renais (insulina e glucagon), influenciando na via metabólica da glicose (Enes et al. 2009).

Em conformidade, Rodrigues et al. (2017) observaram que a análise morfométrica é um biomarcador capaz de apresentar respostas relacionadas à nutrição, constituindo-se em uma ferramenta útil para o estudo da função hepática e suas relações com a dieta em peixes. O fígado é considerado um biomarcador para os peixes, pois é capaz de demonstrar respostas relacionadas as alterações toxicológicas, quanto efeitos metabólicos nutricionais mediante ingestão de alimentos (Souza et al. 2002; Silva et al. 2013; Silva et al. 2021).

O excesso de alimento ingerido é transformado em reservas energéticas de glicogênio, triglicerídeos e colesterol. Sendo as primeiras fontes de energia requeridas durante a restrição (Nebo et al. 2018). Destacando a mobilização glicêmica e lipídica do fígado e lipídeos viscerais mediante ausência nutricional, sendo que os ácidos graxos livres liberados durante a lipólise, podem ser utilizados como elementos energéticos para síntese de colesterol (Ashouri et al. 2020). Portanto, variações morfológicas nas estruturas que compõem o fígado podem ser medidas e analisadas como resposta direta às adaptações na dieta (Rodrigues et al. 2017).

A bioquímica plasmática pode ser utilizada para obtenção de informações sobre o estado nutricional, metabólico e da saúde dos peixes, mediante respostas adaptativas frente a alterações ou não dos parâmetros avaliados (Takahashi et al. 2011; Furné et al. 2012; Godavarthy et al. 2012).

Ainda há lacunas em relação aos efeitos da restrição na produção do pacu e a compensação dos peixes submetidos a realimentação. Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos nos parâmetros biométricos, na densidade volumétrica do fígado, histometria hepática e nos parâmetros bioquímicos de pacus (*Piaractus*

mesopotamicus). Comprovando se a restrição alimentar traz malefícios ao bem-estar dos espécimes, e se a realimentação tende a apresentar compensação corporal dos peixes com restauração dos parâmetros avaliados.

MATERIAL E MÉTODOS

Procedimentos de ética

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS (protocolo n° 834/2017).

Local e grupo experimental

O experimento foi conduzido no Laboratório de Patologia Experimental (LAPEX) da (UFMS) durante um período de 80 dias. Espécimes juvenis de *Piaractus mesopotamicus* (n=120), foram adquiridos do setor de piscicultura do campus de Aquidauana da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS) provenientes da mesma desova. Os animais foram selecionados ao acaso para dois experimentos (restrição alimentar total e realimentação), sendo padronizados quanto ao peso inicial ($47,7 \pm 9,0$ g) e comprimento total ($13,4 \pm 0,9$ cm), comprimento padrão ($10,6 \pm 0,8$ cm). Os espécimes apresentaram fator de condição relativo (Kn) de $0,98 \pm 0,02$.

Os peixes foram aclimatados às condições experimentais por 15 dias em seis aquários de polietileno de 140 L com temperatura constante ($26^\circ - 28^\circ\text{C}$), com aerador e filtro, com troca de 50% do volume da água a cada 24 horas. A mensuração dos parâmetros de qualidade de água (temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica) - medidor portátil SANXIN SX751, foram realizadas duas vezes ao dia.

Biometria inicial e delineamento experimental

Após o período de adaptação, foi realizada a biometria inicial, sendo mensurado o cálculo de biomassa dos peixes (peso médio dos animais x n° de peixes presentes no aquário), para distribuição nos aquários.

No experimento, foram utilizados 72 espécimes, sendo 36 submetidos à restrição alimentar por 10, 20 e 30 dias (n=12). O restante, compuseram os grupos controle (n=12/10, 20 e 30 dias). Os espécimes (n = 24) proveniente dos 30 dias de restrição, foram submetidos à realimentação a 15 (n=12) e 50 dias (n=12). Os demais espécimes foram usados como controle (n=12/15 e 50 dias) (Figura 1). A ração foi ofertada aos espécimes controles e realimentados diariamente duas vezes ao dia até a saciedade aparente. Foi fornecido ração da marca Guabi-Pirá, contendo 32% de proteína bruta, 6,5% de extrato etéreo e 7% de fibra bruta.

Análise biométrica

Ao final de cada período experimental os peixes foram anestesiados em solução de eugenol (50 mgL^{-1}), para mensuração dos parâmetros biométricos (pesagem (g), mensuração do comprimento total (cm), para determinação do fator de condição relativo ($K_n = (W/aL^b)$), responsável em determinar o grau de bem estar dos peixes; sendo W o peso do animal, L o comprimento total do espécime, e a e b são as constantes da relação peso-comprimento (Le Cren, 1951).

Colheita do fígado, índice hepatossomático e histologia hepática

Os peixes foram eutanasiados, com aprofundamento em plano anestésico de eugenol (450 mg L^{-1}) (Kildea et al. 2004). O fígado foi retirado e pesado para determinação do índice hepatossomático IHS (%) [(peso do fígado, g/peso do peixe, g) x 100]. Em seguida, o órgão foi cortado transversalmente e fixado em solução de formol tamponado 10% (pH 7,2) por 24 horas; sendo em seguida transferidos para álcool 70%. Posteriormente, foi feita secção central de três fragmentos de fígado de cada lobo

hepático para processamento por técnica histológica e elaboração de blocos em parafina, com cortes de 4 μm .

As lâminas foram coradas em hematoxilina e eosina (H&E), para análise da histometria hepática e densidade volumétrica estrutural e Ácido Periódico de Schiff (PAS) para identificação de glicogênio hepatocelular. Para as análises, foram capturadas 10 imagens (4096 x 3286 pixels) de seis espécimes por grupo experimental. Uma câmera OptCam LOPT14003, foi acoplada a um microscópio de campo claro (Zeiss Primo Star). A magnitude de 400 x foi empregada para análise da densidade volumétrica estrutural incluindo o glicogênio hepático e a de 1000x para histometria hepatocelular.

Densidade volumétrica estrutural e glicogênio hepático

Para mensuração da densidade volumétrica estrutural, foi inserido uma gradícula com 285 intersecções sobreposta às imagens, para quantificação dos hepatócitos, sinusóides, e vasos sanguíneos. A densidade foi calculada: DVE (%) = (contagem da estrutura mensurada/número total de intersecções x 100), segundo Rodrigues et al. (2017). Foi utilizado o *software* ImageJ 1.48v

Histometria hepática

Para as análises morfométricas, foram considerados ao acaso sete hepatócitos por imagem, totalizando em 420 por grupo experimental. Em cada célula media-se a área (μm^2) do hepatócito, a área (μm^2), e o diâmetro (μm) nuclear. O volume nuclear do hepatócito foi obtido pela seguinte fórmula: $V_{\text{Hep}} = (4/3 \pi r^3)$, na qual o r é o raio nuclear. O volume do hepatócito foi estimado indiretamente pela fórmula: $V_{\text{Hep}} = (A_{\text{Hep}} \times V_{\text{Nuc}}) / A_{\text{Nuc}}$, onde A_{Hep} é a área do hepatócito (μm^2), V_{Nuc} é o volume nuclear (μm^3) e V_{Hep} é o volume do hepatócito (μm^3), (Rodrigues et al. 2017; Leão et al. 2021). As análises foram realizadas com o uso do programa *software* Motic 2.0.

Análise bioquímica plasmática

Ao final de cada período experimental os peixes foram anestesiados em solução de eugenol (50 mg/L^{-1}). A colheita de sangue foi realizada por punção do vaso caudal com seringas e agulhas contendo EDTA (10%) para análise bioquímica.

A glicose sanguínea (mg/dL^{-1}) foi determinada por meio de um glicosímetro digital portátil (*Accu-Chek Active®*).

Para a determinação dos valores plasmáticos de colesterol (mg/dL) e triglicerídeos (mg/dL), as amostras de sangue foram centrifugadas a 3.000 rpm durante 5 minutos e o plasma obtido foi congelado a -20°C até o momento da realização das análises em sistema automatizado COBAS C111 SYSTEM® (*Roche Instrument Center*).

Análise estatística

Um modelo misto generalizado (ANOVA) como teste T entre pares foi utilizado para comparar valores entre os peixes controles e os expostos à restrição e realimentação. Os pacotes estatísticos SPSS 23 e GraphPad Prism 8.0 foram utilizados para as análises e representação gráfica, respectivamente.

RESULTADOS

Análise biométrica

O peso corporal (g), e o índice hepatossomático (IHS) (Fig. 1A, B) dos animais submetidos a restrição alimentar foram reduzidos ($P < 0,05$) em todos os tempos, em comparação com seu grupo controle, e os tratamentos não diferiram entre si. Aos 15 dias de realimentação o peso ainda não é restabelecido, retomando aos 50 dias ($P > 0,05$). O IHS dos animais realimentados (50 dias) aumentou, diferindo do controle ($P < 0,05$). O fator de condição relativa (Kn) (Fig. 2C) não apresentou diferença significativa em nenhum período.

Histologia hepática

O fígado de *Piaractus mesopotamicus* localiza-se na região cranial da cavidade celomática. Apresenta três lobos (esquerdo, ventral e direito) de coloração que pode alternar entre avermelhada ou amarronzada, tamanho variando de acordo com o tamanho do indivíduo. O lobo ventral está localizado dorsal ao esôfago e cranial ao estômago. O lobo esquerdo e direito são ventrais a bexiga natatória, cranial ao estômago, dorsal no intestino (Fig. 3).

O parênquima é formado por hepatócitos em formato poliédrico com núcleo tanto centralizado quanto periférico (Fig. 4A, 4B). Os hepatócitos são delimitados por cordões a cada dois hepatócitos, dando origem ao capilar sinusoidal; vaso sanguíneo de pequeno diâmetro com uma camada de células endoteliais (achatadas), auxiliando nas trocas de substâncias entre o sangue e o líquido intersticial disposto ao redor das células. No tecido hepático também foi observado veias, artérias, ducto biliar, e hepatopâncreas. As veias, ductos e artérias foram encontradas próximas ou dispersas entre si no parênquima hepático e quando associadas são caracterizadas como espaço porta.

Os hepatócitos dos animais em restrição alimentar total apresentaram redução no volume, aumento dos sinusóides e vasos sanguíneos, além da redução dos estoques de glicogênio hepático (Fig. 4B, D) presentes no citoplasma do hepatócito em comparação com os animais alimentados continuamente (Fig. 4A, C).

Densidade Volumétrica Estrutural e Densidade de glicogênio

Na densidade volumétrica estrutural, a porcentagem de hepatócitos (Fig. 5A) mostrou-se menor durante os 30 dias de restrição ($P < 0,05$), enquanto os controles e os demais tempos foram maiores. Aos 50 dias de realimentação a porcentagem de hepatócitos foi retomada, não diferindo do grupo controle ($P > 0,05$).

Os vasos sanguíneos evidenciaram um aumento aos 30 dias de restrição em divergência com o grupo controle (Fig. 5B). Após a realimentação, houve redução nos vasos sanguíneos, não diferindo o grupo controle e os realimentados.

Os sinusóides (Fig. 5C) reduziram aos 20 dias de restrição, enquanto que aos 30 dias houve um aumento na densidade de sinusóides ($P < 0,05$) diferindo entre seu

respectivo controle. Os sinusóides foram reduzidos aos 50 dias de realimentação, os períodos diferiram entre si ($P < 0,05$).

A densidade de glicogênio hepático (Fig. 5D) foi reduzida aos 10 e 30 dias de restrição ($P < 0,05$). A densidade de glicogênio aumentou nos peixes submetidos a 50 dias de realimentação ($P > 0,05$), sendo semelhante aos animais alimentados continuamente. Os tratamentos diferiram entre si.

Histometria hepatocelular

Os animais submetidos a restrição, apresentaram redução no volume dos hepatócitos (Fig. 6A) ($P < 0,05$). Após a realimentação, o volume dos hepatócitos aumentou, sendo semelhantes ao grupo controle.

O volume nuclear dos hepatócitos (Fig. 6B), reduziu durante a restrição, em comparação com os grupos controles ($P < 0,05$). Os animais realimentados apresentaram aumento no volume nuclear, não diferindo do grupo controle, e os tratamentos não diferiram entre si.

Parâmetros bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos sofreram alterações durante a restrição alimentar total. A glicose dos animais em restrição (Fig. 6A) foi significativamente ($P < 0,05$) menor que no grupo alimentado diariamente, sendo que aos 30 dias a redução foi maior que nos grupos anteriores. Aos 15 e 50 dias os animais realimentados, tiveram aumento de glicose, restabelecendo seus valores aos dos animais alimentados diariamente, diferindo dos 30 dias ($P < 0,05$).

Os triglicérides (Fig. 6B) sofreram redução durante as restrições, enquanto os animais alimentados apresentaram maiores níveis e aumento aos 30 dias ($P < 0,05$). Ao serem realimentados por 50 dias, os níveis de triglicérides aumentaram, não diferindo do controle ($P > 0,05$), mas diferindo dos tratamentos anteriores.

Os níveis de colesterol (Fig. 6C) aumentaram nos animais submetidos a restrição em comparação com o animais do grupo controle ($P > 0,05$). Com a realimentação os níveis de colesterol foram reduzidos, não houve diferença com os respectivos controles,

mas diferindo entre os 20 e 30 dias de restrição, os quais apresentavam maiores níveis ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

A restrição alimentar ajustada a realimentação vem sendo utilizada em alguns trabalhos como uma técnica favorável para redução dos custos com a ração, e possível obtenção de crescimento compensatório (Paz et al. 2018; Santos et al. 2018), sendo utilizados ciclos alternados de jejum e alimentação. Nesse manejo os espécimes recebem a oferta de ração em determinados dias da semana, com o intuito em simular a ausência da ração nos finais de semana (Urbinati et al. 2014; Herrera et al. 2017; Silva et al. 2019; Fang et al. 2021), além de outros trabalhos, no qual os espécimes são submetidos respectivamente a um maior período de restrição e realimentação (Hayward et al. 1997; Mohanta et al. 2017; Favero et al. 2020).

No presente trabalho optou-se em estudar períodos de 10, 20 e 30 dias de restrição questionando os efeitos do jejum entre esses intervalos. A escolha inicial baseou-se em alguns estudos com restrições (2, 7, 30, 42 e 60 dias) e realimentações (7, 28 e 30, 49, 63 dias) (Souza et al. 2002; Rossi et al. 2015; Souza et al. 2017), e com o intuito em avaliar as respostas de *P. mesopotamicus* ao serem realimentados por 15 dias iniciais, com a possibilidade de restauração dos parâmetros estudados. Para obtenção de ganho compensatório, optou-se em submeter os espécimes a 50 dias de realimentação mediante a hiperfagia.

A ausência da ingestão alimentar condicionou a redução dos estoques energéticos, influenciando na diminuição do peso corporal, e no índice hepatossomático, sugerindo uma intensa adaptação corporal a partir da mobilização das reservas energéticas a fim de estabelecer novos padrões homeostáticos dos processos vitais (Pérez-Jiménez et al. 2007; Li et al. 2018). Em *Prochilodus lineatus* a perda do peso corporal associou-se à redução do tecido hepático e da mobilização da gordura perivisceral (Rios et al. 2011).

O fígado, além das vísceras, é uns dos órgãos corporais mais utilizados como fonte energética durante a restrição alimentar (Hung et al. 1997; Enes et al. 2009). O índice hepatossomático demonstrou sofrer intensa mobilização das reservas de

glicogênio e lipídios estocados no fígado dos peixes em restrição, condicionando a redução da massa hepática. Sendo que o aumento no tempo de restrição condiz com uma redução progressiva no peso do fígado, cessando temporariamente o armazenamento de energia.

Juvenis de Tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a três semanas de restrição apresentaram diminuição do índice hepatossomático em razão do esgotamento das reservas energéticas, reduzindo conseqüentemente também o peso do fígado (Nebo et al. 2018), mesmos relatos foram verificados em outros estudos (Rossi et al. 2015; Favero et al. 2019; Assis et al. 2020).

O fator de condição relativo (Kn) não apresentou alterações durante a restrição alimentar, sendo um fator fundamental para avaliação do bem-estar dos espécimes, podendo ser utilizado para avaliação do estado nutricional, estresse crônico e doenças, demonstrando assim o grau de hígidez dos peixes (Le Cren 1951; Lemos et al. 2015; Bichuette 2021). O Kn demonstrou estar em condições normais por apresentar valores igual a 1 mesmo após as restrições, sem prejudicar o grau de hígidez de *P. mesopotamicus*. Esse estudo é muitas vezes utilizado para avaliação da limitação alimentar nas espécies durante estações secas, ocasionando na redução do Kn (Bichuette 2021).

A densidade volumétrica estrutural dos hepatócitos apresentou-se baixa durante a inanição, em contrapartida os sinusóides e vasos sanguíneos aumentaram. Essa resposta está associada a porcentagem das estruturas dispostas no parênquima hepático, calculado durante a análise. Destacando-se que o aumento na mobilização do estoque energético de glicose, e supostamente de lipídeos, influenciou na redução do glicogênio hepático como fonte de energia. Com a redução percentual de hepatócitos, a realocação de sinusóides e vasos sanguíneos apresentam maiores percentuais.

O catabolismo e consumo dos estoques energéticos, atua no esgotamento das reservas, reduzindo da histometria hepática (volume do hepatócito e volume do núcleo do hepatócito (Strüssmann et al. 1990; Souza et al. 2017). De acordo com Rios et al. (2007) Traíra (*Hoplias malabaricus*) em restrição de 30 a 240 dias demonstrou atrofia e redução nos hepatócitos, e atrofia do núcleo dos hepatócitos (Rios et al. 2007). Juvenis de Tainha (*Mugil liza*) alimentadas com taxas que variaram entre 20 a 100% da

saciedade, os autores observaram que a taxa de 20% ocasionou uma redução no núcleo e na atividade nuclear dos hepatócitos, além da diminuição do índice hepatossomático e do depósito energético de glicogênio hepático (Silva et al. 2013). Sendo que quanto menor a ingestão de alimentos, conseqüentemente menor será a energia disponível para consumo pelos peixes, dispondo de baixa reserva energética para manutenção corporal. Resultados também como redução de glicogênio hepático, área e volume celular, área e volume nuclear resultaram em alterações no parênquima hepático (Power et al. 2000; Carriquiriborde et al. 2007; Souza et al. 2017).

A glicose é uma das principais fontes metabólicas responsáveis por distribuir energia ao organismo, sendo que os triglicerídeos e colesterol também são elementos importantes para realização dos ajustes metabólicos nos indivíduos (Lehninger 2006; Enes et al. 2009; Favero et al. 2018).

A restrição alimentar reduziu os níveis de glicose plasmática, e triglicerídeos, estimulando a liberação do hormônio supra-renal glucagon, responsável pela ativação da enzima adenilato ciclase, convertendo o ATP (adenosina trifosfato) em AMPc (adenosina monofosfato cíclico). Ligando-se a proteína quinase, ativando-a, para realização da catálise da fosforilação das proteínas GPase (glicogênio fosforilase) e GSase (glicogênio síntase). A fosforilação de GPase realiza a ativação e degradação de glicogênio (glicogenólise), para o fornecimento de glicose ao organismo (Enes et al., 2009). O esgotamento de glicogênio hepático, atua na síntese e distribuição de glicose pela corrente sanguínea mediante gliconeogênese, a partir de substratos não glicosídicos (lactato, glicerol, piruvato e alguns aminoácidos) (Da Silveira et al. 2009; Polakof et al. 2012; Campos et al. 2017).

A lipólise foi mobilizada para realização da degradação dos triglicerídeos e liberação de ácidos graxos livres, para obtenção de energia, (Shimeno et al. 1990; Lehninger, 2006). Favero et al. (2019) também verificaram redução na glicose e nos triglicerídeos plasmáticos, ao submeterem juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) a 15 dias de restrição alimentar.

Ao contrário da glicose e do triglicerídeos, os níveis de colesterol plasmático são aumentados na restrição alimentar, sendo regulados pelos níveis de colesterol circulantes, ou seja, a ausência nutricional aumenta a liberação do hormônio supra-renal

glucagon, em resposta ao baixo nível de colesterol exógeno, proveniente da dieta. Sendo regulado por um gene de transcrição que codifica a HMG-CoA redutase, por meio das proteínas SREBPs (elemento de regulação esterol- proteínas obrigatórias). A SCAP-SREBPs, atua como um sensor na presença ou ausência de esteróis, sendo quando os níveis de colesterol no organismos encontram-se baixos, estimulando a produção de colesterol endógeno (Berg et al., 2002; Lehninger, 2006).

Espécime *Anabas testudineus* submetida a longo período de restrição alimentar (60 dias) apresentou elevação nos níveis de colesterol (Godavarthy et al. 2012). O autor relata, que a restrição condiciona a uma queda na insulina, que como efeito realiza a síntese de colesterol, precursor para síntese de hormônio do estresse (glicocorticoides), e essa elevação está relacionada com a produção da gliconeogênese e adrenocorticóides, além dos compostos como as cetonas, acetato, acetil-CoA, glicose, que auxiliam no combate ao estresse, pelo fornecimento de energia.

Piaractus mesopotamicus realimentados por 50 dias apresentaram aumento no peso corporal, e no índice hepatossomático. Com o retorno a alimentação, supostamente o organismo supre suas necessidades metabólicas, tornando a estocar o excesso de reservas glicêmicas. A técnica de restrição alimentar e realimentação pode agravar o crescimento, quando os ajustes nos períodos de realimentação não prolongam ao de restrição (Ashouri et al. 2020).

O aumento no período de realimentação de juvenis de enguia (*Monopterus albus*) proporcionou crescimento compensatório total em ciclo curto de restrição de 1 dia associado a um período mais longo de realimentação de 3 a 4 dias, inferindo que os protocolos de alimentação intermitente condicionam a compensação (Fang et al. 2021).

No presente estudo os espécimes realimentados apresentaram compensação total, após aumentar o período no fornecimento de ração de 15 para 50 dias. Avaliando a recuperação do peso corporal ao dos animais alimentados continuamente. Provavelmente a estratégia para aquisição da sobre compensação, seja aumentar o período de alimentação, para obtenção de pesos superiores aos controles.

Estima-se que a realimentação de *P. mesopotamicus* estimulou a atuação dos hormônios supra-renais insulina, e após a utilização energética para manutenção corporal, o excesso foi sintetizado a glicogênio (glicogênese) e triglicerídeos (lipogênese), sendo

estocadas nos compartimentos corporais; como fígado, músculo e tecido adiposo. Influenciando no aumento do peso do fígado e no peso corporal, elevando assim o índice hepatossomático. Nebo et al. (2018) também verificaram recuperação e aumento do IHS ao realimentarem os espécimes por um período de 10 dias. Em contrapartida Favero et al. (2019) não observaram as mesmas respostas em 5 dias de realimentação, demonstrando que o período provavelmente tenha sido curto para que esses animais alcancem o peso dos animais alimentados continuamente.

Aos 50 dias de realimentação, as taxas glicêmicas foram restabelecidas, suprimindo o metabolismo corporal, e os estoques glicêmicos foram armazenados (anabolismo), influenciando no aumento de glicogênio hepático, e condicionando ao aumento do volume dos hepatócitos e volume do núcleo dos hepatócitos. Com o retorno no percentual de hepatócitos no aumento da densidade estrutural, a relação de sinusóides e vasos sanguíneos são reduzidas em proporção da densidade estrutural do parênquima hepático.

Ao realimentar *P. mesopotamicus* por um período de 15 e 50 dias, verificou-se recuperação nos valores de glicose e triglicerídeos, atingindo os mesmos níveis dos animais alimentados continuamente, assim como observado por Furné et al. (2012).

Após a ingestão alimentar, o excesso de carboidrato proveniente da dieta é convertido a glicose e armazenado em glicogênio (glicogênese) e triglicerídeos (lipogênese) (Enes et al. 2009). Com retorno da alimentação e ingestão de carboidratos pelo organismo, a produção de glicose aumenta, estimulando a liberação do hormônio insulina (células Beta). Esse excesso de glicose pode ser estocado como glicogênio (glicogênese) no fígado e músculo, e como triglicerídeos no tecido adiposo (Lehninger, 2006; Enes et al. 2009).

Os níveis de colesterol plasmático foram reduzidos a partir dos 15 dias de realimentação, sendo regulados pelos hormônios supra-renais, ou seja, a oferta alimentar aumenta a liberação do hormônio insulina, em resposta ao alto nível de colesterol exógeno, proveniente da dieta. Sendo regulado por um gene de transcrição que codifica a HMG-CoA redutase, por meio das proteínas SREBPs (elemento de regulação esterol- proteínas obrigatórias). A SCAP-SREBPs, atua como um sensor

inativando, pois os níveis de colesterol no organismo encontram-se alta, inibindo a produção de colesterol endógeno (Berg et al. 2002; Lehninger, 2006).

CONCLUSÃO

Conclui que o *Piaractus mesopotamicus* em restrição por até 30 dias proporcionou alteração nos parâmetros biométricos, bioquímicos e histológicos, menos no fator de condição relativa (Kn) o qual manteve-se estável, sugerindo que a privação a longo prazo não prejudicou o bem-estar dos animais. As alterações nos parâmetros ocorreram em resposta a mobilização dos estoques energéticos presentes nos compartimentos corporais, para manutenção corporal do metabolismo dos espécimes. Ao serem realimentados por 50 dias os espécimes demonstraram-se adaptados ao manejo, apresentando compensação total, sendo todos os parâmetros restaurados.

Referências Bibliográficas

- Abimorad E.G. & Carneiro D.J. (2004) Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração protéica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). Revista Brasileira de Zootecnia **33**, 1101-1109.
- Ashouri G., Mahboobi-Soofiani N., Hoseinifar S.H., Torfi-Mozanzadeh M., Mani A., Khosravi A., Carnevali O. (2020) Compensatory growth, plasma hormones and metabolites in juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt 1869) subjected to fasting and re-feeding. Aquaculture Nutrition **26**, 400-409.
- Assis Y.P.A.S., de Assis Porto L., de Melo N.F.A.C., Palheta G.D.A., Luz R.K., Favero G.C. (2020) Feed restriction as a feeding management strategy in *Colossoma macropomum* juveniles under recirculating aquaculture system (RAS). Aquaculture **529**, 735689.
- Berg J.M., Tymoczko J. & Stryer L. (2002) The complex regulation of cholesterol biosynthesis takes place at several levels. Biochemistry.

Bichuette M.E. (2021) Ecologia de peixes de riachos de cavernas e outros habitats subterrâneos. *Oecologia Australis* **25**,641.

Campos D.F.D., Jesus T.F., Kochhann D., Heinrichs-Caldas W., Coelho M.M., Almeida-Val V.M.F. (2017) Metabolic rate and thermal tolerance in two congeneric Amazon fishes: *Paracheirodon axelrodi* Schultz, 1956 and *Paracheirodon simulans* Géry, 1963 (Characidae). *Hydrobiologia* **789**, 133-142.

Carrquiriborde P., De Luca J.C., Dulout F.N. & Ronco A.E. (2007) Nucleolar variation in response to nutritional condition in juvenile pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes). *Journal of Fish Biology* **70**, 947-958.

Da Silveira U.S., Logato P.V.R. & Pontes E.D.C. (2009) Fatores estressantes de peixes. *Revista Eletrônica Nutritime* **6**, 1001-1017.

Dias-Koberstein T.C.R., Carneiro D.J. & Urbinat E.C. (2005) Tempo de trânsito gastrintestinal e esvaziamento gástrico do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) em diferentes temperaturas de cultivo. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* **27**, 413-417.

Dobson S.H. & Holmes, R.M. (1984) Compensatory growth in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* **25**, 649-656.

Enes P., Panserat S., Kaushik S., Oliva-Teles A.A. (2009) Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. *Fish physiology and biochemistry* **35**, 519-539.

Fang L., Ruan G.L., Guo K., Fan W H., Yang D.Q. (2021) Proper duration and intensity of feed deprivation promote a compensatory growth response in the ricefield eel, *Monopterus albus*. *Aquaculture Research*, **52**, 890-896.

Favero G.C., Boaventura T.P., Ferreira A.L., Silva A.C., Porto L.A., Luz, R.K. (2019) Fasting/re-feeding and water temperature promote the mobilization of body reserves in juvenile freshwater carnivorous catfish *Lophiosilurus alexandri*. *Aquaculture* **511**, 734223.

Favero G., Gimbo R.Y., Montoya L.N.F., Carneiro D.J., Urbinati E.C. (2020) A fasting period during grow-out make juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) leaner but does not impair growth. *Aquaculture* **524**, 735242.

Furné M., Morales A.E., Trenzado C.E., García-Gallego M., Hidalgo M.C., Domezain A. & Rus A.S. (2012) The metabolic effects of prolonged starvation and refeeding in sturgeon and rainbow trout. *Journal of Comparative Physiology B* **182**, 63-76.

Godavarthy P., Kumari Y.S. & Bikshapathy E. (2012) Starvation induced cholesterogenesis in hepatic and extra hepatic tissues of climbing Perch, *Anabas testudineus* (Bloch). *Saudi journal of biological sciences* **19**, 489-494.

Gonçalves A.F.N., Há, N., Biller-Takahashi, J.D., Sato, L.S., Kishimoto, M.K. & Takahashi, L.S. (2014) Densidade de estocagem e restrição alimentar em juvenis de piapara. *Boletim do Instituto de Pesca* **40**, 431-439.

Hayward R.S., Noltie D.B. Wang N. (1997) Use of compensatory growth to double hybrid sunfish growth rates. *Transactions of the American Fisheries Society* **126**, 316-322.

Hung S.S., Liu W., Li H., Storebakken, T., Cui, Y. (1997) Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture* **151**, 357-363.

Herrera L.A., Silva F.D.C., Santos A.P.D., Sousa O.M.D., Sanches E.G. (2016) Crescimento compensatório e privação alimentar no desempenho produtivo do robalo-flecha. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **51**, 776-779.

Kildea M.A., Allan G.L., Kearney R.E. (2004) Accumulation and clearance of the anaesthetics clove oil and AQUI-S™ from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, 232, 265-277.

Le Cren E.D. (1951) The length-weight relationship and seasonal cycle in gonadal weight and condition in the perch *Perca fluviatilis*. *Journal of Animal Ecology* **20**, 201-219.

Leão T., Siqueira M., Marcondes S., Franco-Belussi L., De Oliveira C., Fernandes C.E. (2021) Comparative liver morphology associated with the hepatosomatic index in five Neotropical anuran species. *The Anatomical Record* **304**, 860-871.

Lemos J.R.G., Oliveira A.T., Santos M.Q.C., Pereira C.N., Nascimento, R.B., Tavares-Dias M. (2015) Influência do transporte na relação peso-comprimento e fator de condição de *Paracheirodon axelrodi* (Characidae). *Biota Amazônia* (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota) **5**, 22-26.

Lehninger, A. L. (2006) *Princípios de Bioquímica*; coordenação da tradução Arnaldo Antônio Simões, Wilson Roberto Navega Lodi.

Li H, Xu W, Jin J, Yang Y, Zhu X, Han D, Liu H, Xie, S. (2018) Effects of starvation on glucose and lipid metabolism in gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III) *Aquaculture* **496**, 166–175.

Liu W., Lu X., Jiang M., Wu F., Tian J., Yang C., Wen H. (2019) Effects of dietary manipulation on compensatory growth of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish physiology and biochemistry* **45**, 21-32.

Mohanta K.N., Rath S.C., Naya, K.C., Pradhan C., Mohanty T.K., Giri S.S. (2017) Effect of restricted feeding and refeeding on compensatory growth, nutrient utilization and gain, production performance and whole body composition of carp cultured in earthen pond. *Aquaculture Nutrition* **23**, 460-469.

Nebo C., Gimbo R.Y., Kojima J.T., Overturf K., Dal-Pai-Silva M., Portella M.C. (2018) Depletion of stored nutrients during fasting in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Journal of Applied Aquaculture*, **30**, 157-173.

- Nicieza, A.G. & Metcalfe, N.B. (1997) Growth compensation in juvenile Atlantic salmon: responses to depressed temperature and food availability. *Ecology* **78**, 2385-2400.
- Paz A.D.L., Pastrana Y.M., Brandão L.V. (2018) Food deprivation does not affect growth performance of juvenile tambacu. *Acta Amazonica* **48**, 207-210.
- Pérez-Jiménez A., Guedes M.J., Morales A.E. & Oliva-Teles A. (2007) Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture* **265**, 325-335.
- Polakof S., Panserat S., Soengas J.L. & Moon T.W. (2012) Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of Comparative Physiology B* **182**, 1015-1045.
- Power D.M., Melo J. & Santos C.R.A. (2000) The effect of food deprivation and refeeding on the liver, thyroid hormones and transthyretin in sea bream. *Journal of fish biology* **56**, 374-387.
- Rios, F.S., Donatti, L., Fernandes, M.N., Kalinin, A.L., Rantin, F.T. (2007) Liver histopathology and accumulation of melano-macrophage centres in *Hoplias malabaricus* after long-term food deprivation and re-feeding. **Journal of fish biology**, v. 71, n. 5, p. 1393-1406
- Rios F.S.A., Carvalho C.S., Pinheiro G.H., Donatti L., Fernandes M. N. & Rantin F.T. (2011) Utilization of endogenous reserves and effects of starvation on the health of *Prochilodus lineatus* (Prochilodontidae). *Environmental biology of fishes* **91**, 87-94.
- Roberts R.J., Ellis A.E. (2012) The anatomy and physiology of teleosts. In.: ROBERTS, R.J. *Fish Pathology*. 4^a ed. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, 17-61.
- Rodrigues R.A., Saturnino K.C. & Fernandes C.E. (2017) Liver histology and histomorphometry in hybrid sorubim (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *Pseudoplatystoma corruscans*) reared on intensive fish farming. *Aquaculture Research* **48**, 5083-5093.

Rossi A., Cazenave J., Bacchetta C., Campana M. & Parma M.J. (2015) Physiological and metabolic adjustments of *Hoplosternum littorale* (Teleostei, Callichthyidae) during starvation. *Ecological indicators* **56**, 161-170.

Santos E.L., Soares A.C.L., Tenório O.L.D., Soares E.C., Silva T.J., Gusmão Júnior L.F. (2018) Performance of tambaqui submitted feed deprivation and refeeding in cages. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* **70**, 931-938.

Sari D.N., Ekasari J., Nasrullah H., Suprayudi M.A., Alimuddin A. (2022) High carbohydrate increases amylase, plasma glucose, and gene expression related to glycolysis in giant gourami *Osphronemus goramy*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1-11.

Silva E.M.D., Sampaio L.A., Martins G.B., Romano L.A. & Tesser M.B. (2013) Desempenho zootécnico e custos de alimentação de juvenis de tainha submetidos à restrição alimentar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **48**, 906-912.

Silva W.D.S., Hisano H., Mattioli C.C., Torres I.F.A., de Oliveira Paes-Leme F., Luz, R.K. (2019) Effects of cyclical short-term fasting and refeeding on juvenile *Lophiosilurus alexandri*, a carnivorous Neotropical catfish. *Aquaculture* **505**, 12-17.

Silva, A.L.N., Rodrigues, R.A., Siqueira, M.S., Farias, K.N.N., Kuibida, K.V., Franco-Belussi, L., Fernandes, C.E. (2021) Transaminase profile and hepatic histopathological traits in *Piaractus mesopotamicus* exposed to insecticide Diflubenzuron. *Environmental Science and Pollution Research* **28**, 22002-22010.

Souza V.L., Urbinati E.C., Gonçalves D.C. & Silva P. C. (2002) Composição corporal e índices biométricos do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes, Characidae) submetido a ciclos alternados de restrição alimentar e realimentação. *Acta Scientiarum: Biological and Health Sciences* **24**, 533-540.

Souza V.L., Lunardi L.O., Vasques L.H., Casaletti L., Nakaghi L.S.O. & Urbinati E.C. (2017) Morphometric alterations in hepatocytes and ultrastructural distribution of liver

glycogen in pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) during food restriction and refeeding. *Journal of Morphological Sciences* **18**, 0-0.

Shimeno S., Kheyyali D. & Takeda M. (1990) Metabolic adaptation to prolonged starvation in carp. *nippon suisan gakkaiishi* **56**, 35-41.

Strüssmann C.A. & Takashima F. (1990) Hepatocyte nuclear size and nutritional condition of larval pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (Cuvier et Valenciennes). *Journal of Fish Biology* **36**, 59-65.

Takahashi L.S., Biller J.D., Criscuolo-Urbinati E. & Urbinati E.C. (2011) Feeding strategy with alternate fasting and refeeding: effects on farmed pacu production. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, **95**, 259-266.

Urbinati E.C., Sarmiento S.J., Takahashi L.S. (2014) Short-term cycles of feed deprivation and refeeding promote full compensatory growth in the Amazon fish matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Aquaculture* **433**, 430-433.

Wieser W., Krumschnabel G. & Ojwang-Okwor J.P. (1992) The energetics of starvation and growth after refeeding in juveniles of three cyprinid species. *Environmental Biology of Fishes* **33**, 63-71.

Xie S., Zhu X., Cui Y., Wootton R.J., Lei W. & Yan Y. (2001) Compensatory growth in the gibel carp following feed deprivation: temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition. *Journal of Fish Biology* **58**, 999-1009.

ANEXOS

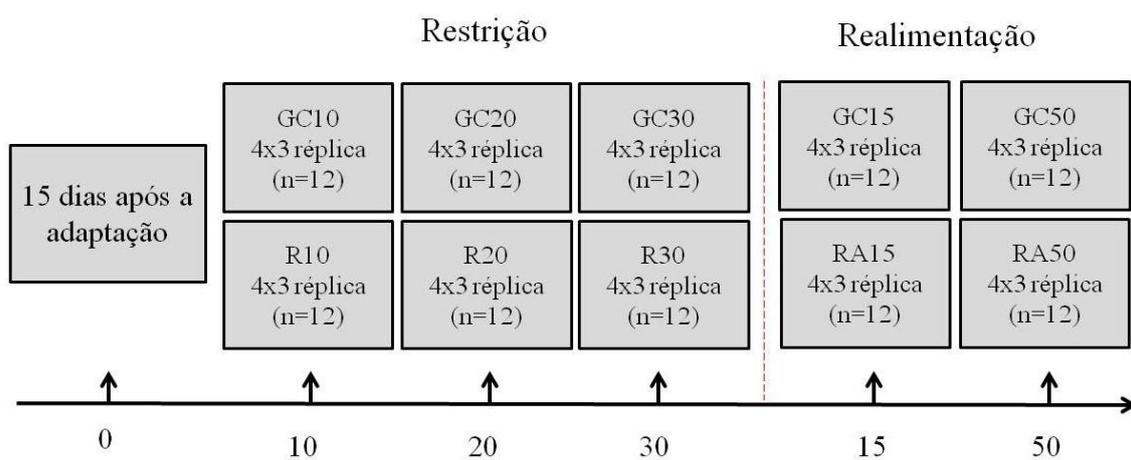


Figura 1. Planejamento experimental considerando os grupos controles e tratados em Pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

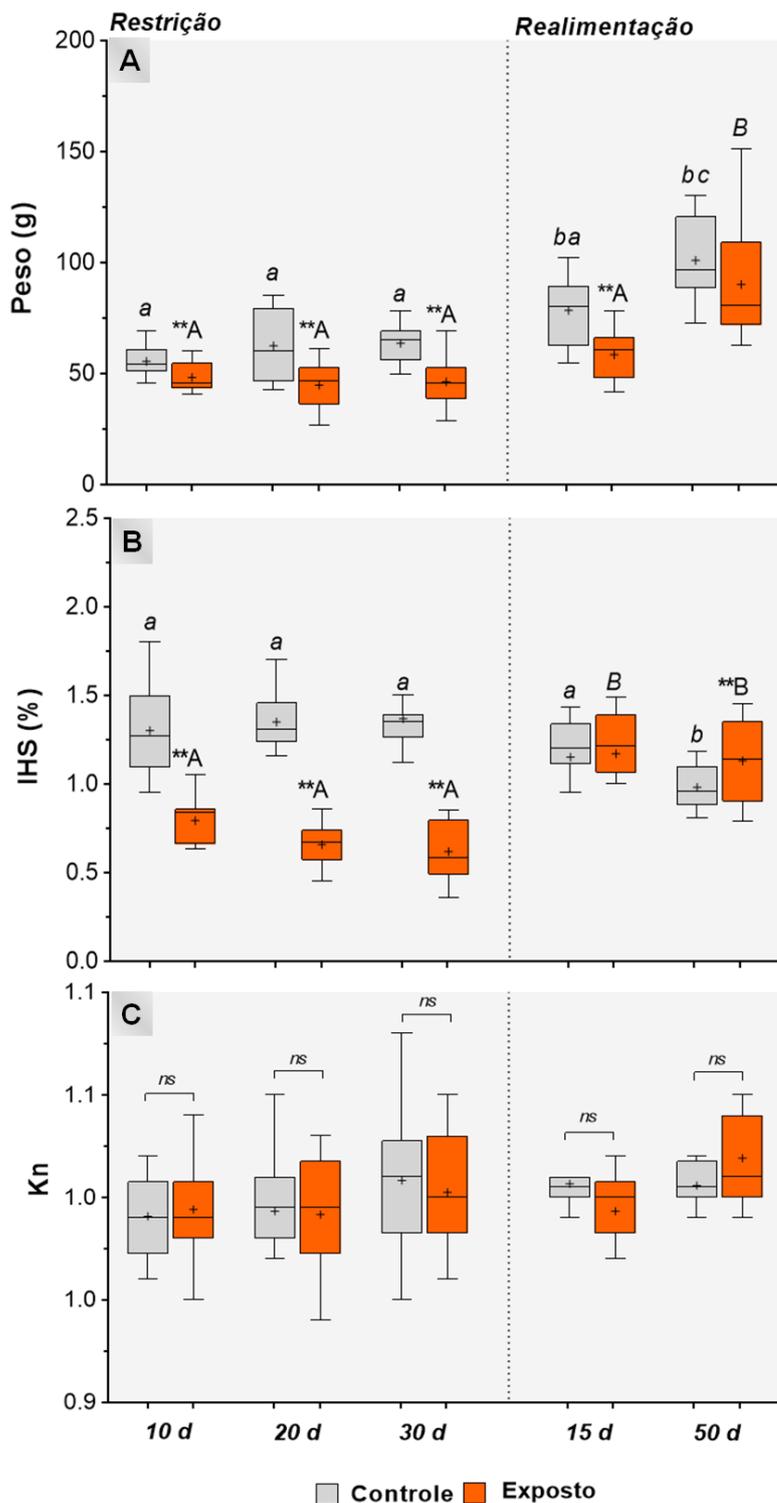


Figura 2 Efeito do período de restrição alimentar e realimentação sobre variáveis biométricas em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). (A) Peso; (B) IHS (%): Índice hepatossomático; (C) Kn.: Fator de condição relativa. Médias* = $P < 0.05$ entre grupos do mesmo período (controle x tratado); ab = $P < 0.05$ entre grupos controles; AB = $P < 0.05$ entre período de restrição e realimentação pela análise de variância com modelo misto generalizado pelo teste T.

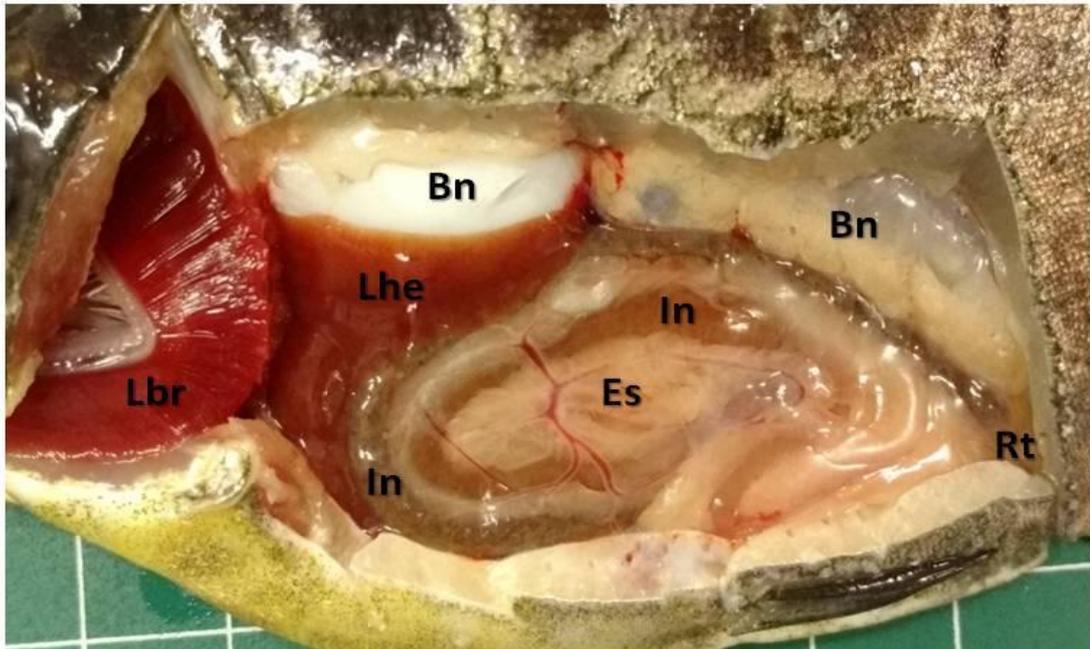


Figura 3 Anatomia com vista lateral esquerda de *Piaractus mesopotamicus*. Lamelas branquiais (Lbr), Lobo hepático esquerdo (Lhe), Bexiga natatória (Bn), Estômago (Es), Intestino (In), e Reto (Rt).

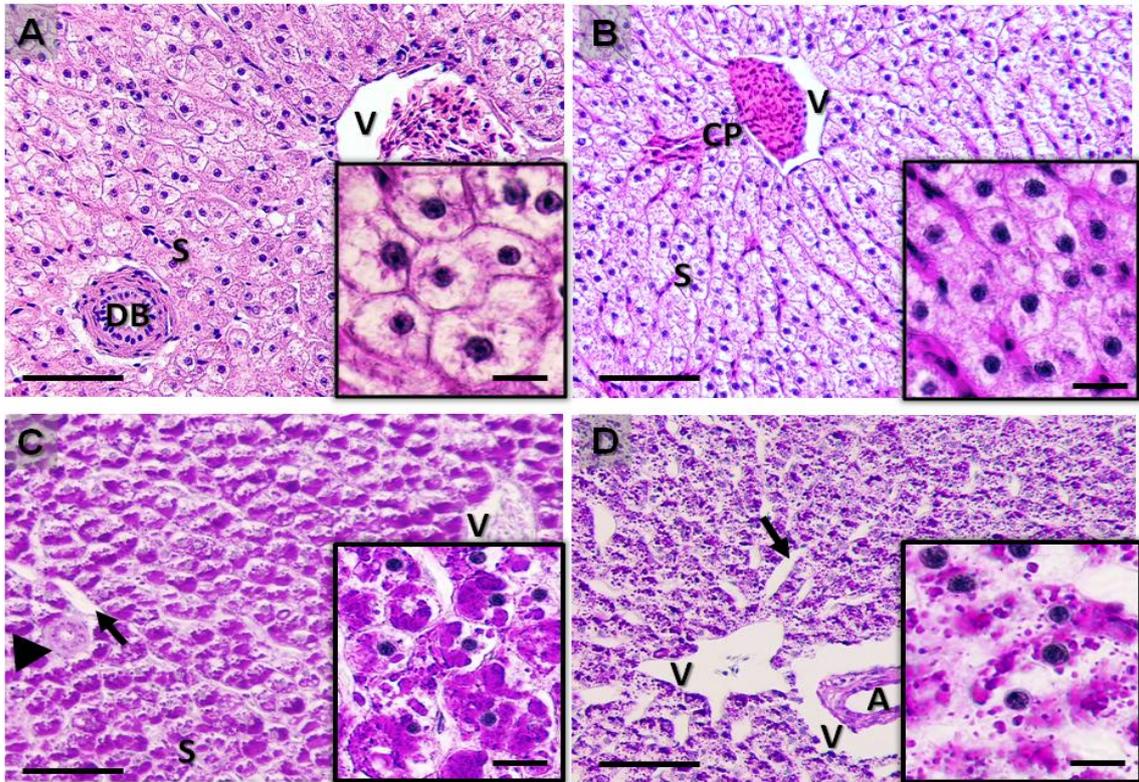


Figura 4 Seções histológica do fígado de *Piactus mesopotamicus* submetidos a 30 dias de restrição alimentar total. **A)** Grupo controle 30 dias, parênquima hepático normal, sinusóides (S), ducto biliar (DB), ramo venoso portal (V), HE, escala: 50 µm (em maior aumento hepatócito, e núcleo centralizado do hepatócito; escala: 10 µm). **B)** 30 dias de restrição alimentar total, arranjo cordonal dos sinusóides (S), capilar portal (CP), veia porta (V); HE, escala: 50 µm; (em destaque há uma redução no tamanho do citoplasma e núcleo dos hepatócitos; escala: 10 µm). **C)** Grupo controle, ducto biliar (cabeça de seta), sinusóide (S), vaso sinusoidal (seta) e veia porta (V); PAS, escala: 50 µm; (em maior aumento, marcação de glicogênio positivo no citoplasma dos hepatócitos; escala: 10 µm). **D)** Restrição alimentar total, artéria (A), ramo venoso portal (V), vaso sinusoidal (seta); PAS, escala: 50 µm; (em destaque houve uma redução na quantidade de glicogênio presente no citoplasma dos hepatócitos; escala 10 µm).

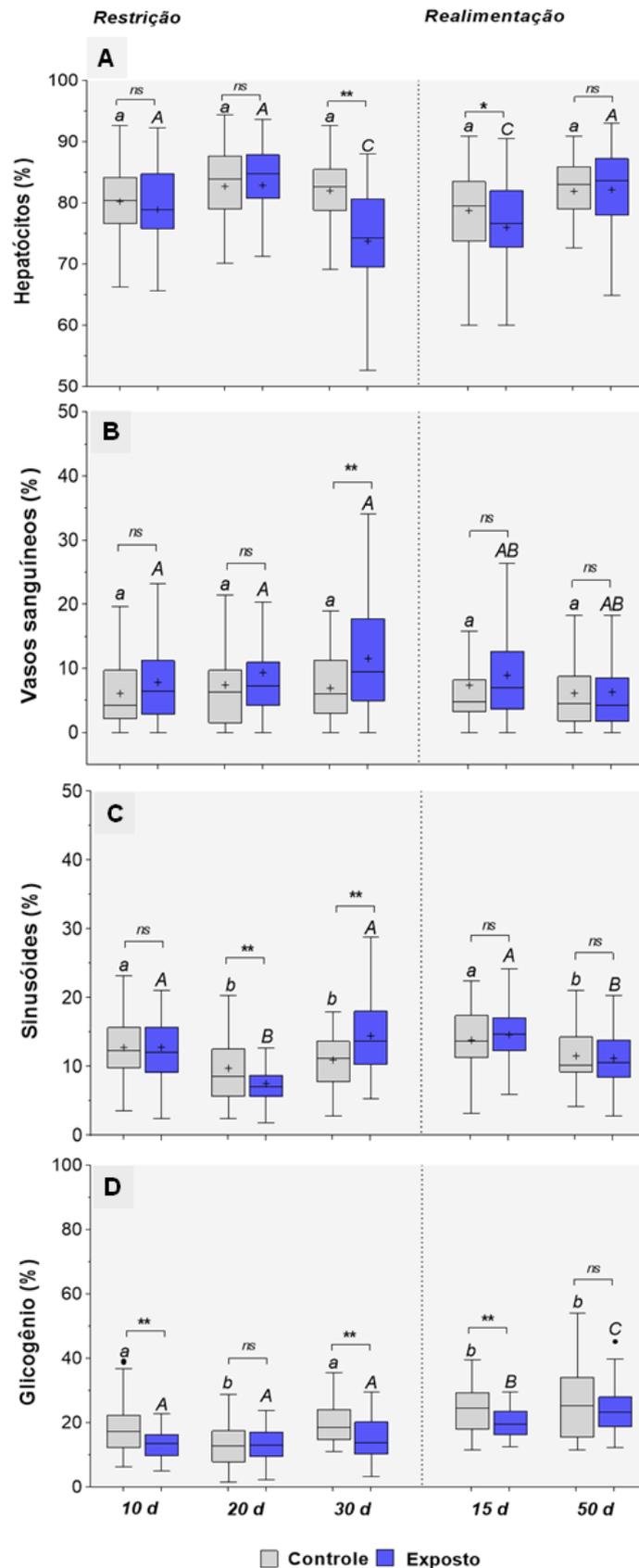


Figura 5 Valores da densidade volumétrica estrutural ((A) hepatócitos, (B) sinusóides, (C) vasos sanguíneos e (D) glicogênio hepático (%)) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*, n=6) submetidos a restrição alimentar e realimentação. Médias* = $P < 0.05$ entre grupos do mesmo período (controle x tratado); ab = $P < 0.05$ entre grupos controles; ABC = $P < 0.05$ entre período de restrição e realimentação pela análise de variância com modelo misto generalizado pelo teste T.

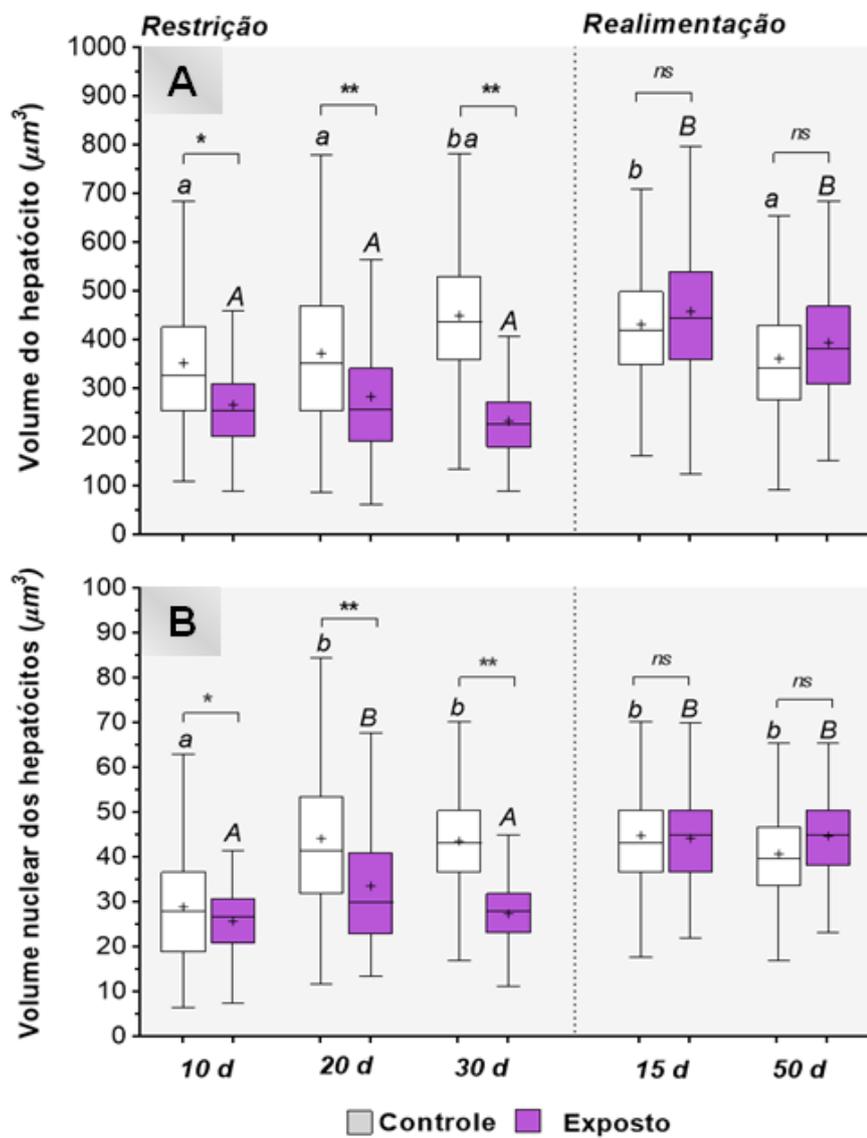


Figura 6. Valores do (A) volume dos hepatócitos e (B) volume nuclear dos hepatócitos (μm^3) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*, n=6) submetidos a restrição alimentar e realimentação. Médias* = $P < 0.05$ entre grupos do mesmo período (controle x tratado); ab = $P < 0.05$ entre grupos controles; AB = $P < 0.05$ entre período de restrição e realimentação pela análise de variância com modelo misto generalizado pelo teste T.

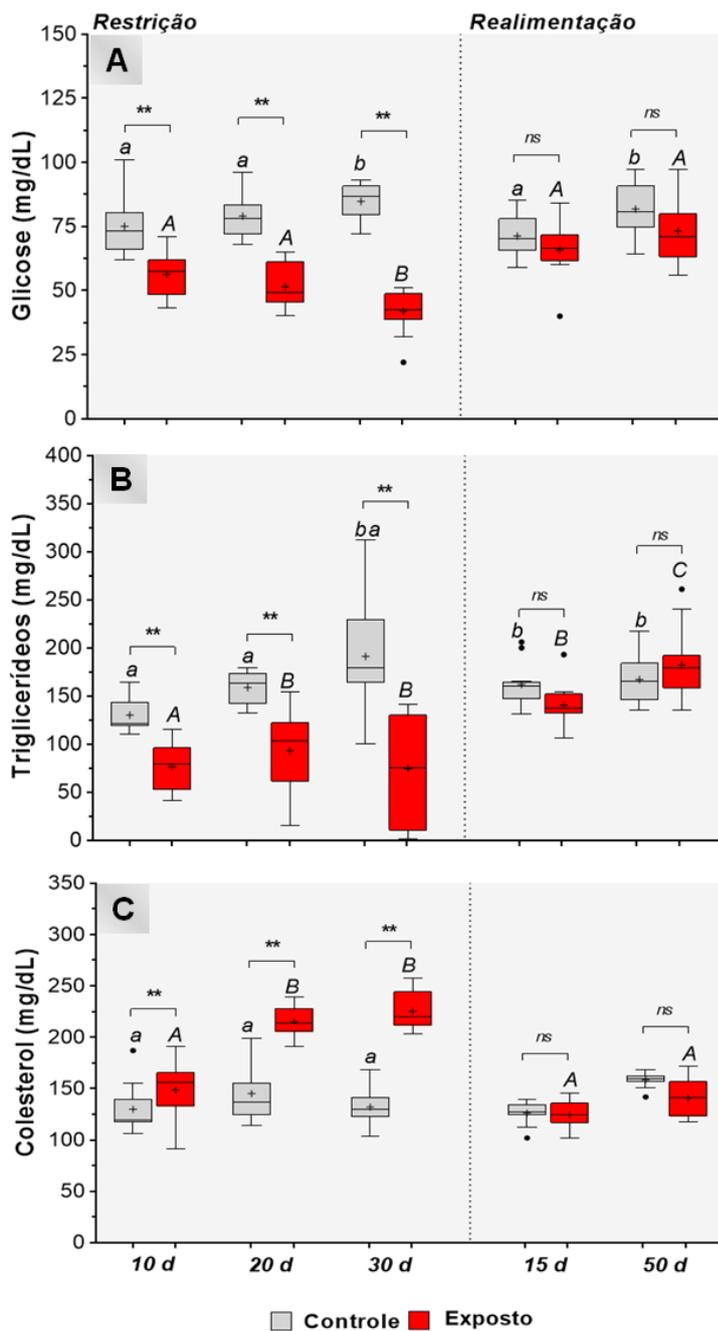


Figura 7 Valores de (A) glicose, (B) triglicérides e (C) colesterol (mg/L) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*, n=12) submetidos a restrição alimentar e realimentação. Médias* = $P < 0.05$ entre grupos do mesmo período (controle x tratado); ab = $P < 0.05$ entre grupos controles; ABC = $P < 0.05$ entre período de restrição e realimentação pela análise de variância com modelo misto generalizado pelo teste T.

CAPÍTULO III

ARTIGO II

**ÍNDICE INTESTINO SOMÁTICO, HISTOMETRIA E PERFIL DAS CÉLULAS
CALICIFORMES NO INTESTINO ANTERIOR EM PACU *Piaractus
mesopotamicus* EXPOSTOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR E
REALIMENTAÇÃO**

As normas seguem as exigências para a publicação em:
Anatomia, Histologia, Embryologia, (ISSN: 1439-0264)

ÍNDICE INTESTINO SOMÁTICO, HISTOMETRIA E PERFIL DAS CÉLULAS CALICIFORMES NO INTESTINO ANTERIOR EM PACUS *Piaractus mesopotamicus* EXPOSTOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR E REALIMENTAÇÃO

Karine Nathiele Nogueira Farias¹, Carlos Eurico Fernandes²

¹Doutoranda no Programa de Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

²Laboratório de Patologia Experimental - LAPEX, Instituto de Biociência - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Resumo: A implementação da técnica de restrição alimentar e realimentação vem sendo abordada em alguns trabalhos, para avaliar a redução dos custos com ração dentro do sistema produtivo piscícola, com obtenção do crescimento compensatório em resposta a essa estratégia de manejo. Mediante a isso, foi realizado esse trabalho com objetivo em avaliar a adaptação do aparelho digestivo mediante as respostas biométricas e histomorfológicas intestinais em *Piaractus mesopotamicus* expostos a períodos de restrição alimentar total e realimentação. Juvenis de *Piaractus mesopotamicus* (n=120), peso inicial (47,7 ±9,0 g) e comprimento total (13,4 ±0,9 cm) foram submetidos a períodos de restrição alimentar (10, 20 e 30 dias) e realimentação (15 e 50 dias) para avaliar os efeitos sobre o peso, índice intestino somático, histometria intestinal (área, altura, e espessura da vilosidade), e volume das células caliciformes (mucinas ácidas e neutras). Para análise biométrica foram utilizados 12 peixes, e seis peixes para demais análises, para cada tratamento/grupo. Foi realizada a necropsia dos espécimes, para remoção dos fragmentos de intestino (pesagem (g) e determinação do índice intestino somático (%)), os quais foram processados por técnica histológica. As lâminas foram coradas em hematoxilina e eosina (HE) para as avaliações morfométricas (programa Motic Plus 2.0). Para determinação do volume das células caliciformes as lâminas foram coradas com ácido periódico de Schiff (mucinas neutras) e alcian blue (mucinas ácidas) também avaliado no Motic Plus 2.0. A restrição alimentar proporcionou alteração em todos os parâmetros acima (P<0,05), sendo que a área e altura de vilosidade apresentaram redução apenas aos 20 dias de restrição e os valores de mucinas ácidas e neutras aumentaram (P<0,05) aos 10 dias de restrição, sendo posteriormente reduzidas. Os espécimes realimentados aos 15 dias apresentaram aumento no peso e no índice intestinosomático, enquanto que a altura da vilosidade obteve esse resultado aos 50 dias de realimentação (P<0,05) diferindo do grupo controle. Pacus após a realimentação tiveram seus parâmetros restaurados a dos espécimes controle (P>0,05). Conclui-se que a restrição alimentar, apresentou alterações nos parâmetros biométricos, e histológicos intestinais, condicionando a adaptações intestinais, como possível redução na absorção intestinal e sugestivas respostas imunoinflamatórias pela microbiota intestinal, influenciando no aumento do volume das células caliciformes ácidas. O período de restrição de 30 dias, associado a realimentação máxima de 50 dias apresentou restabelecimento dos parâmetros avaliados.

Palavras - chave: células de muco, estereologia, intestino, privação alimentar

**INTESTINAL SOMATIC INDEX, HISTOMETRY AND GOBLET CELL
PATTERNS INTO ANTERIOR INTESTINE IN PACU *Piaractus
mesopotamicus* EXPOSED TO FOOD RESTRICTION AND REFEEDING**

Abstract: The implementation of the technique of food restriction and refeeding has been approached in some works, in order to evaluate the reduction of feed costs within the fish production system, with the achievement of compensatory growth in response to this management strategy. Therefore, this work was carried out with the objective of evaluating the adaptation of the digestive system through the intestinal biometric and histomorphological responses in *Piaractus mesopotamicus* exposed to periods of total food restriction and refeeding. Juveniles of *Piaractus mesopotamicus* (n=120), initial weight (47.7 ± 9.0 g) and total length (13.4 ± 0.9 cm) were submitted to periods of food restriction (10, 20 and 30 days) and refeeding (15 and 50 days) to assess effects on weight, somatic intestine index, intestinal histometry (area, height, and villus thickness), and goblet cell volume (acidic and neutral mucins). For biometric analysis, 12 fish were used, and six fish for other analyses, for each treatment/group. The specimens were necropsied to remove the intestine fragments (weighing (g) and determination of the intestine somatic index (%)), which were processed by histological technique. The slides were stained with hematoxylin and eosin (HE) for morphometric evaluations (Motic Plus 2.0 program). To determine the volume of goblet cells, the slides were stained with periodic acid Schiff (neutral mucins) and alcian blue (acidic mucins) also evaluated in Motic Plus 2.0. Dietary restriction provided changes in all of the above parameters ($P < 0.05$), with villus area and height reduced only after 20 days of restriction and acidics and neutrals mucin values increased ($P < 0.05$) to the 10 days of restriction, being later reduced. The specimens re-fed at 15 days showed an increase in weight and somatic intestine index, while the villus height obtained this result at 50 days of re-feeding ($P < 0.05$), differing from the control group. Pacus after refeeding had their parameters restored to those of control specimens ($P > 0.05$). It is concluded that dietary restriction presented changes in biometric parameters and intestinal histology, conditioning intestinal adaptations, such as a possible reduction in intestinal absorption and suggestive immunoinflammatory responses by the intestinal microbiota, influencing the increase in the volume of acidic goblet cells. The 30-day restriction period, associated with a maximum refeeding period of 50 days, showed recovery of the evaluated parameters.

Keywords: food deprivation, intestine, mucus cells, stereology.

INTRODUÇÃO

A produção piscícola vem atuando economicamente em inúmeros países do mundo. Com uma abrangência de espécies de peixes adaptadas tanto regionalmente, quanto ao método de manejo (Bellinate et al. 2023). Entre as diversas espécies

aquícolas, os peixes nativos apresentam atualmente 38% da produção piscícola no Brasil (Peixe BR 2020). Destaca-se o pacu *Piaractus mesopotamicus* caracterizado por ser um peixe rústico e de fácil manejo (Baldisserotto & Carvalho 2013), sendo uma das espécies nativas bem produzidas, alcançando o sexto lugar no ano de 2020 dentre as espécies de peixes mais exportadas no Brasil (Sidra-IBGE, 2021; Peixe BR, 2021).

Os estudos referentes as exigências nutricionais vêm sendo realizados nos últimos anos, determinando os níveis de proteínas, lipídeos, energia, fibra e vitaminas, além da obtenção da digestibilidade do alimento e a substituição de um ingrediente na ração por outro de mesma origem (Wu et al. 2020; Sgnaulin et al. 2021; Adeshina et al. 2023).

A aquisição de ração pode participar em até 82,3% no custo produtivo em uma piscicultura (Barros et al., 2016). Neste contexto, práticas que visam melhorar o aproveitamento da ração é fundamental para uma maior viabilidade na produção e a técnica de eficiência alimentar é uma alternativa para este propósito (Kim et al., 2017; Oh et al., 2019).

A restrição alimentar é uma técnica de manejo que vem sendo estudada nos espécimes de peixes, com o intuito em reduzir os custos com a ração (Urbinati et al. 2014; Favero et al. 2020). É uma técnica caracterizada por um período de privação parcial ou total de um ou mais nutrientes a um organismo, na qual os peixes ficam sem acesso a alimentação por um determinado período (Lee et al. 2018). Em resposta os peixes apresentam aumento no apetite e queda no peso corporal (Hayward et al., 1997; Ribeiro et al., 2010; Salgado-Ismodes et al., 2020). Com a realimentação os animais podem aumentar o consumo da ração ofertada, tendem a apresentar um maior crescimento em comparação aos animais alimentados continuamente, como crescimento compensatório (Silva et al. 2019; Fang et al. 2021; Favero et al. 2020).

As espécies de peixes são muito abundantes e as características do trato gastrointestinal podem sofrer modificações morfológicas e funcionais, estando relacionadas com as características da espécie e a natureza dos alimentos ingeridos (Baldisserotto et al. 2014; Zhao et al. 2019). Os segmentos intestinais são variados, sendo relacionados de acordo com a etapa de digestão, absorção e secreção dos nutrientes, auxiliando na caracterização tecidual (Bakke et al. 2010).

O intestino é responsável por completar a digestão de alguns nutrientes que tiveram sua digestão iniciada no estômago, e conta com auxílio de vilosidades com microvilosidades que tem como função aumentar a superfície de absorção, região com presença de células e enzimas favorecendo a digestão dos alimentos (Bakke et al. 2010; Sharon & Zilberg 2012; Do Nascimento Veiga et al. 2020). Na camada epitelial mucosa, estão presentes as células colunares ou enterócitos, essenciais para digestão e absorção dos nutrientes. Além delas, encontram-se as células caliciformes secretoras de muco e glicoproteínas, que auxiliam na digestão enzimática e proteção contra atividade bacteriana na mucosa (Sherif et al. 2020; Bellinate et al. 2023).

De acordo com Bellinate et al. (2023), o intestino de *Piaractus mesopotamicus* foi caracterizado com maior altura das vilosidades, células de muco, e quantidade de células granulocíticas na porção anterior em comparação com outras porções intestinais, estando relacionado a características absorptivas e digestivas.

Variações na estrutura intestinal, podem ocorrer no período de restrição alimentar, ocasionando alterações na altura das vilosidades, espessura da mucosa e submucosa, além de redução na presença das células colunares e caliciformes (Dai et al. 2018; Sherif et al 2020; Shen et al. 2021). Provavelmente essas alterações ocorrem em razão da ausência do estímulo alimentar, condicionando a respostas imunológicas e inflamatórias contra possíveis patógenos.

As alterações podem ser estudadas por meio da histometria, técnica empregada para análise das relações estruturais e constituição dos tecidos (Micklem & Sandersons 2001; Fabregat 2011; Mello et al. 2013). Apesar de adaptações metabólicas, as mudanças na estrutura de órgãos-alvo podem ocorrer (Gaucher et al. 2012; Sun et al 2020), porém, as principais mudanças relacionadas a estrutura e características das células caliciformes ainda são desconhecidas. Portanto o objetivo do trabalho é avaliar a adaptação do aparelho digestivo mediante as respostas biométricas e histomorfológicas intestinais em *Piaractus mesopotamicus* expostos a períodos de restrição alimentar total e realimentação.

MATERIAL E MÉTODOS

Procedimentos de ética

Os procedimentos experimentais foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS (protocolo n° 834/2017), seguindo os princípios éticos estabelecidos.

Amostragem e aclimação

Espécimes juvenis de *Piaractus mesopotamicus* (n = 120), foram adquiridos do setor de piscicultura do campus de Aquidauana da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS) provenientes da mesma desova. Os espécimes apresentavam peso inicial de $47,7 \pm 9,0$ g e comprimento total de $13,4 \pm 0,9$ cm. Os peixes foram aclimatados por 15 dias, em 6 aquários de polietileno de 140 L com temperatura constante (26° - 28° C), aerador, filtro sendo realizada troca de 50% volume da água a cada 24 horas, os peixes foram divididos aleatoriamente. A mensuração dos parâmetros da qualidade de água (temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica) foram realizadas duas vezes ao dia. Durante todo esse período os peixes foram alimentados a saciedade aparente com ração da marca Guabi-Pirá, contendo 32% de proteína bruta, 6,5% de extrato etéreo e 7% de fibra bruta.

Grupos experimentais

Após o período de adaptação, foi realizada uma biometria corporal para o cálculo da biomassa (peso médio dos animais x n° de peixes presentes no aquário), para o cálculo de ração a ser ofertada ao grupos experimentais (biomassa total x 5% de ração em relação ao peso vivo x dias fornecidos). Assim, os espécimes foram novamente selecionados para compor dois experimentos. No primeiro experimento, foram utilizados 72 espécimes, sendo 36 submetidos à restrição alimentar por 10, 20 e 30 dias (n = 12/período) com peso inicial ($49,6 \pm 9,5$ g) e 36 como controle (n = 12/período), peso inicial ($45,8 \pm 8,4$ g). No segundo experimento, foram considerados n = 48 espécimes provenientes dos 30 dias de restrição; com peso ($46,2 \pm 10,1$ g) submetidos à

realimentação por 15 (n = 12) e 50 dias (n = 12). Os demais espécimes (n = 12/período de realimentação) com peso ($66,5 \pm 11,7$ g) foram usados como controle (Figura 1). Os espécimes controles e realimentados receberam ração diariamente duas vezes ao dia a saciedade aparente.

Análise biométrica

Ao final de cada período experimental os peixes foram eutanasiados em solução de eugenol (450 mg/L) (Kildea et al. 2004) para mensuração dos parâmetros biométricos (pesagem (g), mensuração do comprimento total (cm), para determinação do índice intestinosomático e perfil histológico intestinal.

Colheita do intestino, índice intestinosomático e histologia intestinal

Imediatamente após a eutanásia, os espécimes foram pesados (g) e o intestino retirado para determinação do índice intestinosomático IIS (%) [(peso do intestino, g/peso do peixe, g) x 100]. Para o estudo histológico, a porção anterior do intestino (Figura 2) foi retirada e dissecada, segundo Bellinate et al. (2023). As porções foram fixadas em solução de formol tamponado 10% (pH 7,2), por 24 horas. Em seguida, foram transferidas para solução de álcool 70%. Após histotécnica de rotina para blocos em parafina, três secções (4 μ m) e foram coradas em hematoxilina e eosina (HE), reação histoquímica pelo Alcian Blue (AB) e ácido periódico de Schiff (PAS).

Histometria intestinal

Para as análises histométricas do intestino, as lâminas foram coradas em hematoxilina e eosina (H&E), capturando-se digitalmente sete imagens de vilosidades de seis espécimes por grupo experimental, com uma câmera OptiCam LOPT14003, acoplado a um microscópio de campo claro (Zeiss Primo Star), na magnitude de 100 e 400x.

No intestino foi estimada a espessura da mucosa (μ m) intestinal em três regiões diferentes, a área (μ m²), e altura da vilosidade (μ m), e considerando-se a média obtida para cada imagem. O *software* Motic Image Plus 2.0 foi utilizado para essas análises.

Determinação do volume das células de muco ácidas e neutras

Para determinação do volume das células caliciformes, as imagens foram capturadas com uma câmera OptiCam LOPT14003, acoplado a um microscópio de campo claro (Zeiss Primo Star), na magnitude de 400x as lâminas coradas com Alcian Blue (AB) e ácido periódico de Schiff (PAS). Foi estimado ao acaso três espécimes de cada grupo, utilizando-se cinco vilosidades por espécimes. Obtendo um diâmetro (μm) médio de 40 células caliciformes. O volume foi calculado pela seguinte fórmula $V = (4/3 \pi r^3)$, onde V refere-se ao volume (μm^3) e r, valor do raio. O *software* Motic Image Plus 2.0 foi utilizado para a mensuração das medidas.

Análise estatística

Um modelo misto generalizado (ANOVA) como teste T entre pares foi utilizado para comparar valores entre os peixes controles e os expostos à restrição e realimentação. Foi utilizado programa estatístico SPSS 23 para as análises e o programa GraphPad Prism 5.0. para as representações gráficas. Os *Box plot* representam a mediana e média (+), quartis 25 e 75% e amplitude (barras).

RESULTADOS

Dados biométricos

O peso corporal (Figura 3A), e o índice intestinosomático (IIS) (Figura 3B) dos animais submetidos a restrição alimentar diminuíram ($P < 0,05$) em todos os tempos, em comparação com seu grupo controle, e os tratamentos não diferiram entre si. Aos 15 dias de realimentação o peso ainda não é restabelecido, retomando aos 50 dias ($P > 0,05$). O IIS dos animais realimentados (15 dias) aumentou, sendo superior e diferindo do controle ($P < 0,05$). Aos 50 dias, houve uma leve redução no IIS, não diferindo entre os controles e tratados ($P > 0,05$).

Anatomia e Histologia intestinal

O intestino anterior está localizado dorsalmente ao estômago, e ventral ao intestino posterior). Histologicamente, o intestino é um tubo composto por inúmeras vilosidades com microvilosidades, responsáveis em aumentar a superfície de absorção dos nutrientes, composto por quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa (Figura 4a). A mucosa é constituída por uma única camada de células epiteliais e lâmina própria, com tecido conjuntivo e borda em escova (microvilosidades).

No epitélio mucoso, encontram-se células colunares, denominadas como enterócitos ou células absorptivas, estando localizadas abaixo das células caliciformes produtoras de muco, além de dispor de granulócitos (linfócitos), agranulócitos e macrófagos (Figura 4b). A submucosa localiza-se abaixo da lâmina própria sendo formada por tecido conjuntivo frouxo irrigado por vasos sanguíneos, que irrigam a mucosa, glicoproteínas e fibras colágenas. A muscular da mucosa composta por duas camadas de músculo (longitudinal externa e circular interna) auxiliando no movimento do conteúdo intestinal. A serosa é caracterizada por tecido conjuntivo frouxo internamente e externamente por uma camada de células epiteliais pavimentosas (Baldisserotto et al., 2014). No epitélio intestinal as células de muco foram marcadas para mucinas neutras (PAS) (Figura 4c,e) e mucinas ácidas (Alcian Blue) (Figura 4d,f).

Verificou-se macroscopicamente a redução da gordura perivisceral no intestino de *P. mesopotamicus* submetidos a 30 dias de restrição alimentar total (Figura 5A), e a disposição da gordura perivisceral no intestino de um espécime controle (Figura 5B).

Histometria intestinal

Aos 20 dias de restrição alimentar, foi observada redução na área (Figura 6A) e na altura das vilosidades intestinais (Figura 6B) em relação ao grupo controle. Aos 50 dias de realimentação a altura aumentou, sendo superior ao controle e aos outros períodos ($P < 0,05$).

Aos 20 e 30 dias de restrição houve redução na espessura da mucosa (Figura 6C) em relação aos controles ($P < 0,05$); os tratamentos 20 e 30 dias não diferiram entre si. Após a realimentação foi verificado aumento na espessura da mucosa em ambos os

tratamentos, sendo que aos 50 dias os animais realimentados apresentam espessura semelhantes aos animais alimentados continuamente ($P>0,05$).

Determinação do volume das células caliciformes

Aos 10 dias de restrição, verificou-se aumento no volume das células caliciformes produtoras de mucinas ácidas, em comparação ao volume das células caliciformes produtoras de mucinas neutras ($P<0,05$) e com seu respectivo controle (Figura 7). Sendo reduzida aos 30 dias. Enquanto que o volume das células caliciformes produtoras de mucinas neutras foi menor aos 20 e 30 dias de restrição em comparação com os espécimes controles, e menores que as ácidas aos 20 dias ($P<0,05$). Após a realimentação, o volume das células caliciformes foi restabelecido, não diferindo entre os controles e períodos de realimentação.

DISCUSSÃO

Estratégias alimentares vem sendo estudadas e associadas ao manejo de restrição alimentar e realimentação para obtenção de ganho compensatório, além de redução nos custos produtivos com o arraçamento dentro do setor piscícola (Santos et al. 2018).

Espécimes de *P. mesopotamicus* tiveram seus pesos e índices intestino somáticos reduzidos ao cessar o consumo alimentar. Nessa etapa as atividades metabólicas foram reduzidas, essa adaptação minimizou o gasto energético e os estoques de energia foram mobilizados de alguns compartimentos corporais, como as reservas lipídicas presentes no intestino, condicionando a redução no peso intestinal.

Do ponto de vista morfológico, as mudanças observadas demonstram que a restrição cessa abruptamente os estímulos às funções relacionadas ao desdobraimento e absorção da ingesta. Porém, a retomada no crescimento e readaptação após fornecimento de ração mostrou-se um fenômeno mais rápido em relação ao peso corporal, condicionando ao crescimento compensatório total e ao aumento do IIS, devido ao aproveitamento do alimento pelos animais e deposição de gordura perivisceral no intestino.

Resultados semelhantes foram verificados por Le François et al. (2023) ao cessar a alimentação de juvenis de char ártico (*Salvelinus alpinus L. Nauyuk*), demonstrando redução de gordura na carcaça, índices hepatossomático e intestino somático, os quais foram mobilizados na restrição, e a partir de nove dias de realimentação, houve recuperação desses parâmetros e completa compensação.

Outros trabalhos também avaliaram redução em medidas histométricas intestinais (área, largura, comprimento, espessura da mucosa, submucosa, vilosidades intestinais, e contagem de células caliciformes em espécimes em restrição alimentar (Zeng et al. 2012; Shen et al. 2021), essas respostas estão relacionadas a redução da área de absorção intestinal, inferindo na redução da taxa metabólica para manutenção intestinal (Wang et al. 2006). Diferentes níveis de proteína e lipídeos presentes na dieta podem influenciar no aumento da altura e largura das vilosidades, além da espessura do músculo (Wu et al. 2020). No presente estudo a redução da espessura da mucosa tem influência na altura das células epiteliais, como as células absortivas (enterócitos). A ausência nutricional reduziu o estímulo metabólico, e conseqüentemente diminui a função da absorção intestinal, reduzindo provavelmente o tamanho dos enterócitos e a camada da mucosa.

Trabalhos relatam que tanto a redução na taxa alimentar, quanto na oferta de proteínas afetou o peso e crescimento dos peixes, destacando que o aumento na oferta, quanto na frequência proteica, influenciaram na taxa de crescimento específico e no ganho compensatório de espécimes juvenis de tainha (*Mugil liza*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*) (Silva et al. 2013; Liu et al. 2019).

A ausência do estímulo alimentar influenciou na redução da área, altura e espessura da vilosidade durante a restrição. Tanto a área quanto altura foram menores apenas aos 20 dias, essas variações são normais devido a plasticidade intestinal, pois as vilosidades não seguem um padrão de tamanho. A redução na espessura da mucosa provavelmente foi influenciada pela inativação das células absortivas e atrofia dos enterócitos, devido a ausência do estímulo alimentar.

A realimentação proporcionou aumento na altura e espessura da mucosa, proporcionando melhores condições para o crescimento das vilosidades, além da possibilidade de hipertrofia dos enterócitos, mediante o estímulo e ativação após a

ingestão alimentar, auxiliando na captação e absorção nutricional (Laczynska et al. 2020). A influencia alimentar proporciona um aumento na mucosa, assim como no aumento no transporte de glicose e aminoácidos (Secor & Diamond, 1995). A altura dos enterócitos são bons indicadores nutricionais para compreensão do desenvolvimento intestinal aos peixes (Ostaszewska et al. 2006).

O aumento no volume das células produtoras/secretoras de mucinas ácidas (AB) em comparação as mucinas neutras (PAS), esteve relacionado com estímulos inflamatórios da microbiota intestinal pelo sistema imunológico. Em resposta à fome, a microbiota intestinal sofreu alteração em decorrência do estresse, estimulando atividades de enzimas digestivas e imunológicas, proporcionando aumento a expressão de transportadores responsáveis pelo metabolismo energético (glicose, lipídeos e proteínas) desencadeando aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias no início da restrição (Dai et al. 2018; Shen et al. 2021).

As células caliciformes ácidas são responsáveis pela proteção da mucosa epitelial contra atividade bacteriana e possíveis danos bioquímicos e mecânicos, influenciando na hipertrofia dessas células (Bosi & Dezfuli 2015; Matos et al. 2017). Células caliciformes neutras são responsáveis por secreções de substâncias sulfatadas que regulam o conteúdo ácido do lúmen intestinal (Domeneghini et al. 2005).

As secreções neutras, estão relacionadas com a função absorptiva dos enterócitos, auxiliando na digestão e emulsificação do bolo alimentar, além da proteção do epitélio mucoso contra as glândulas gástricas na produção de ácidos, similarmente a um efeito tampão (Grau et al. 1992; Scocco et al. 1996; Gisbert et al. 1999; Raji & Norouzi 2010).

A redução do volume das células produtoras/secretoras de mucinas ácidas e neutras aos 20 e 30 dias provavelmente ocorreu mediante ajustes imunológicos, e a retomada da alimentação cessou os processos inflamatórios, proporcionando um equilíbrio no volume das células caliciformes ácidas e neutras em comparação aos espécimes alimentados continuamente.

Bates et al. (2006) observaram que a diferenciação do trato GI foi interrompida na ausência da microbiota, a partir da deficiência da atividade da fosfatase alcalina intestinal associada a camada mucosa, incluindo a redução no tamanho e secreção de mucina pelas células de muco. Ao contrário, a reintrodução da microbiota reverteu essa

alteração. Portanto, a restrição alimentar reduz o efeito da microbiota sobre os enterócitos afetando diretamente a função protetora da mucosa (Dawood, 2021).

A ingestão alimentar condiciona ao desempenho intestinal dos espécimes. A eficiência dos ajustes nutricionais proporcionam melhorias na absorção intestinal e conseqüentemente no desempenho animal (Burrels et al. 2001; De Arruda et al. 2008; Honorato et al. 2011).

CONCLUSÃO

Com esse estudo conclui-se o *Piaractus mesopotamicus* em restrição alimentar por até 30 dias apresentou modificações nos parâmetros biométricos, e histológicos. As alterações ocorreram em resposta adaptativa dos espécimes, mediante a falta de estímulo alimentar, sendo indicativo a redução metabólica, como possível diminuição da absorção intestinal e sugestivas respostas imunoinflamatórias pela microbiota intestinal, influenciando no aumento do volume das células calciformes ácidas. O período de realimentação máxima de 50 dias apresentou recuperação dos parâmetros analisados.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo suporte financeiro para realização da pesquisa. E a equipe do Laboratório de Patologia Experimental (Lapex) pelas contribuições realizadas no decorrer desse estudo.

REFERÊNCIAS

Adeshina, I., Akpoilih, B.U., Udom, B.F., Adeniyi, O.V., Abdel-Tawwab, M. (2023) Interactive effects of dietary phosphorus and microbial phytase on growth performance, intestinal morphometry, and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on low-fishmeal diets. *Aquaculture* **563**, 738995.

Baldisserotto, B.; Carvalho, Gomes.L. (2013) Espécies nativas para piscicultura no Brasil. L. de Carvalho Gomes (Ed.). Santa Maria: UFSM.

Baldisserotto, B.; Cyrino, J.E.P; Urbinati, E.C. (2014) Biologia e Fisiologia de Peixes Neotropicais de Água Doce. Ed. FUNEP, Jaboticabal, 336.

Barros, A.F., Maeda, M.M., Maeda, A., Silva, A.C., Angeli, A.J. (2016) Custo de implantação e planejamento de uma piscicultura de grande porte no Estado de Mato Grosso, Brasil. Archivos de zootecnia **65**, 21-28.

Bates, J.M., Mittge, E., Kuhlman, J., Baden, K.N., Cheesman, S.E., Guillemin, K. (2006) Distinct signals from the microbiota promote different aspects of zebrafish gut differentiation. Developmental biology **297**, 374-386.

Bakke, A.M., Glover, C., Krogdahl, Å. (2010) Feeding, digestion and absorption of nutrients. In Fish physiology **30**, p. 57-110.

Bellinate, B.K.A., Farias, K.N.N., do Nascimento, Silva A.L., Siqueira, M.S., Povh, J.A., Franco-Belussi, L., Fernandes, C.E. (2023) Intestinal morphometry and cell density features in tropical farmed fish: A methodological approach. Anatomia, Histologia, Embryologia **00**, 1-12.

Bosi, G., & Dezfuli, B.S. (2015) Responses of *Squalius cephalus* intestinal mucous cells to *Pomphorhynchus laevis*. Parasitology international **64**, 167-172.

Burrells, C., Williams, P.D., Southgate, P.J., & Wadsworth, S.L. (2001) Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds: 2. Effects on vaccination, salt water transfer, growth rates and physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L). Aquaculture **199**, 171-184.

Dai, W.F., Zhang, J.J., Qiu, Q.F., Chen, J., Yang, W., Ni, S., Xiong, J.B. (2018) Starvation stress affects the interplay among shrimp gut microbiota, digestion and immune activities. Fish & shellfish immunology **80**, 191-199.

Dawood, M.A. (2021) Nutritional immunity of fish intestines: Important insights for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture* **13**, 642-663.

De Arruda, A.M.V., Fernandes, R.T.V., da Silva J. M., & Lopes, D.C. (2008) Avaliação morfo-histológica da mucosa intestinal de coelhos alimentados com diferentes níveis e fontes de fibra. *Revista Caatinga* **21**, 1-11.

Do Nascimento Veiga, P.T., Owatari, M.S., Nunes, A.L., Rodrigues, R.A., Dichoff Kasai, R.Y., Fernandes, C.E., de Campos, C.M. (2020) *Bacillus subtilis* C-3102 improves biomass gain, innate defense, and intestinal absorption surface of native Brazilian hybrid Surubim (*Pseudoplatystoma corruscans* x *P. reticulatum*). *Aquaculture International* **28**, 1183-1193.

Domeneghini, C., Arrighi, S., Radaelli, G., Bosi, G., Veggetti, A. (2005) Histochemical analysis of glycoconjugate secretion in the alimentary canal of *Anguilla anguilla* L. *Acta histochemica* **106**, 477-487.

Fabregat, T.E.H.P, Rodrigues, L.A, Nascimento, T.M, Urbinati, E.C, Sakomura, N.K., & Fernandes, J.B.K. (2011) Fontes de fibra na alimentação do pacu: desempenho, composição corporal e morfometria intestinal. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* **63**, 1533-1540.

Fang, L., Ruan, G.L., Guo, K., Fan, W.H., Yang, D.Q. (2021) Proper duration and intensity of feed deprivation promote a compensatory growth response in the ricefield eel, *Monopterus albus*. *Aquaculture Research*, **52**, 890-896.

Favero, G., Gimbo, R.Y., Montoya, L.N.F., Carneiro, D.J., Urbinati, E.C. (2020) A fasting period during grow-out make juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) leaner but does not impair growth. *Aquaculture* **524**, 735242.

Gaucher, L., Vidal, N., D'Anatro, A., Naya, D.E. (2012) Digestive flexibility during fasting in the characid fish *Hyphessobrycon luetkenii*. *Journal of Morphology* **273**, 49-56

Gisbert, E., Sarasquete, M.C., Williot, P., & Castelló-Orvay, F. (1999) Histochemistry of the development of the digestive system of Siberian sturgeon during early ontogeny. *Journal of Fish Biology* **55**, 596-616.

Grau, A., Crespo, S., Sarasquete, M.C., & De Canales, M.G. (1992) The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili*, Risso: a light and scanning electron microscope study. *Journal of Fish Biology*, **41**, 287-303.

Hayward, R.S., Noltie, D.B. Wang, N. (1997) Use of compensatory growth to double hybrid sunfish growth rates. *Transactions of the American Fisheries Society* **126**, 316-322.

Honorato, C.A., da CRUZ, C., Carneiro, D.J., & Márcia, R.F.M. (2011) Histologia e histoquímica do intestino anterior de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo silagem de peixe. *Revista Brasileira de Pesquisa Veterinária e Zootecnia* **48**, 281-288.

Kildea, M.A., Allan, G.L., Kearney, R.E. (2004) Accumulation and clearance of the anaesthetics clove oil and AQUI-S™ from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture* **232**, 265-277.

Kim, K.W., Kim, K.D., Han, H.S., Moniruzzaman, M., Yun, H., Lee, S., Bai, S.C. (2017) Optimum dietary protein level and protein-to-energy ratio for growth of juvenile parrot fish, *Oplegnathus fasciatus*. *Journal of the World Aquaculture Society* **48**, 467-477

Laczynska, B., Siddique, M.A.M., Ziomek, E., Shelton, W. L., Fopp-Bayat, D. (2020) Early weaning effects on survival, growth, and histopathology of larval sterlet *Acipenser ruthenus*. *North American Journal of Aquaculture* **82**, 181-189.

Le, François N.R., Drouin-Johnson, C., Dupuis, F., Savoie, A., Lamarre, S.G., Vandenberg, G.W., Blier, P.U. (2023) Compensatory growth response of juvenile

Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L. *Nauyuk*) under various cyclical food restriction and refeeding periods. *Aquaculture* **563**, 738971.

Lee, S., Lee, Y.M., Kim, K.H., Kim, H.C., Park, C.J., Park, J.W., Hwang, H.K. (2018) Effects of food availability on growth performance and immune-related gene expression of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish & shellfish immunology* **80**, 348-356.

Liu, W., Lu, X., Jiang, M., Wu, F., Tian, J., Yang, C., Wen, H. (2019) Effects of dietary manipulation on compensatory growth of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish physiology and biochemistry* **45**, 21-32.

Matos, L.V., de Oliveira, M.I.B., Gomes, A.L.S., da Silva, G.S. (2017) Morphological and histochemical changes associated with massive infection by *Neoechinorhynchus buttnerae* (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) in the farmed freshwater fish *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 from the Amazon State, Brazil. *Parasitology research* **116**, 1029-1037.

Mello, H.D., Moraes, J.R., Niza, I.G., Moraes, F.R.D., Ozório, R.O., Shimada, M.T., Engracia Filho, J.R., Claudiano, G.S. (2013) Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. *Pesquisa Veterinária Brasileira* **33**, 724-730.

Micklem, K., & Sanderson J. (2001) Imagem digital em patologia. *Current Diagnostic Pathology* **7**, 131-140.

Oh, S. Y., & Park, J. (2019) Effect of feed deprivation on compensatory growth in juvenile rock bream *Oplegnathus fasciatus*. *Fisheries Science* **85**, 813-819.

Ostaszewska, T., Korwin-Kossakowski, M., Wolnicki, J. (2006) Morphological changes of digestive structures in starved tench *Tinca tinca* (L.) juveniles. *Aquaculture International* **14**, 113-126.

Peixe BR. Anuário 2020 Peixe BR da Piscicultura. São Paulo-SP, Brasil. Disponível em <https://www.peixebr.com.br/anoario-2020>.

Peixe BR. Anuário 2021 Peixe BR da Piscicultura. São Paulo-SP, Brasil. Disponível em <https://www.peixebr.com.br/anoario-2021>.

Raji, A.R., & Norouzi E. (2010) Histological and histochemical study on the alimentary canal in Walking catfish (*Claris batrachus*) and piranha (*Serrasalmus nattereri*). Iranian Journal of Veterinary Research **11**, 255-261.

Ribeiro, F.F., Tsuzuki, M.Y. (2010) Compensatory growth responses in juvenile fat snook, *Centropomus parallelus* Poey, following food deprivation. Aquaculture Research **41**, e226-e233.

Salgado-Ismodes, A., Taipale, S., Pirhonen, J. (2020) Effects of progressive decrease of feeding frequency and re-feeding on production parameters, stomach capacity and muscle nutritional value in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture **519**, 734919.

Santos, E.L., Soares, A.C.L., Tenório, O.L.D., Soares, E.C., Silva T.J., Gusmão Júnior, L.F. (2018) Performance of tambaqui submitted feed deprivation and refeeding in cages. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia **70**, 931-938.

Secor, S.M., Diamond, J. (1995) Adaptive responses to feeding in Burmese pythons: pay before pumping. The Journal of experimental biology **198**, 1313-1325.

Sidra, IBGE. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/3940#resultado>. Acesso em: março, 2023.

Silva, E.M.D., Sampaio, L.A., Martins, G.B., Romano L.A., Tesser, M.B. (2013) Desempenho zootécnico e custos de alimentação de juvenis de tainha submetidos à restrição alimentar. Pesquisa Agropecuária Brasileira **48**, 906-912.

Silva, W.D.S., Hisano, H., Mattioli, C.C., Torres, I.F.A., de Oliveira Paes-Leme, F., Luz, R.K. (2019) Effects of cyclical short-term fasting and refeeding on juvenile *Lophiosilurus alexandri*, a carnivorous Neotropical catfish. *Aquaculture* **505**, 12-17.

Sun, S., Su, Y., Yu, H., Ge, X., Zhang, C. (2020) Starvation affects the intestinal microbiota structure and the expression of inflammatory-related genes of the juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*. *Aquaculture* **517**, 734764.

Scocco, P., Ceccarelli, P., & Menghi, G. (1996) Glycohistochemistry of the *Tilapia* spp. stomach. *Journal of Fish Biology* **49**, 584-593.

Sgnaulin, T., Pinho S.M., Durigon E.G., Thomas, M.C., de Mello, G. L., Emerenciano M.G.C. (2021) Culture of pacu *Piaractus mesopotamicus* in biofloc technology (BFT): insights on dietary protein sparing and stomach content. *Aquaculture International* **29**, 2319-2335.

Sharon, G.; Zilberg, D. (2012) Atlas of fish histology and histopathology. Central and Northern Arava Research and Development Centers, **78**.

Shen, L., Guan F., Yuan Y. (2021) Fasting affects the intestine and bacterial flora in mudskippers (*Boleophthalmus pectinirostris*) in semiaquatic and underwater conditions. *Aquaculture* **533**, 736162.

Sherif, A.H., Gouda, M.Y., Naena, N.A., Ali, A.H. (2020) Alternate weekly exchanges of feeding regime affect the diversity of intestinal microbiota and immune status of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Research* **51**, 4327-4339.

Urbinati, E.C., Sarmiento, S.J., Takahashi, L.S. (2014) Short-term cycles of feed deprivation and refeeding promote full compensatory growth in the Amazon fish matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Aquaculture* **433**, 430-433.

Wang, T., Hung, C.C., Randall, D.J. (2006) The comparative physiology of food deprivation: from feast to famine. *Annu. Rev. Physiol* **68**, 223-251.

Wu, W., Ji, H., Yu, H., Sun, J., Zhou, J. (2020) Effect of refeeding dietary containing different protein and lipid levels on growth performance, body composition, digestive enzyme activities and metabolic related gene expression of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) after overwinter starvation. *Aquaculture* **523**, 735-196.

Zeng, L.Q., Li, F.J., Li, X.M., Cao, Z.D., Fu, S.J., Zhang, Y.G. (2012) The effects of starvation on digestive tract function and structure in juvenile southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* **162**, 200-211.

Zhao, Y., Wu, X.Y., Xu, S.X., Xie, J.Y., Xiang, K.W., Feng, L., Jiang, J. (2019) Dietary tryptophan affects growth performance, digestive and absorptive enzyme activities, intestinal antioxidant capacity, and appetite and GH-IGF axis-related gene expression of hybrid catfish (*Pelteobagrus vachelli*♀ × *Leiocassis longirostris*♂). *Fish physiology and biochemistry* **45**, 1627-1647.

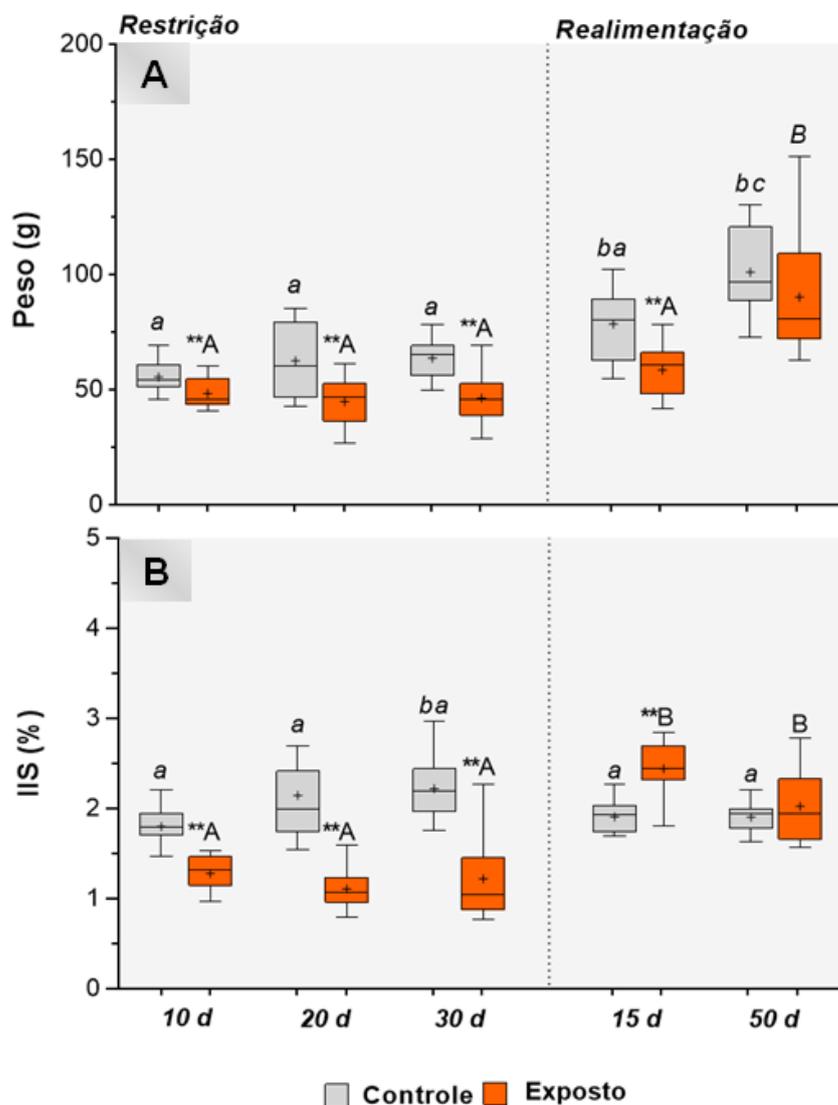


Figura 3 Efeito do período de restrição alimentar e realimentação sobre os dados biométricos em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). (A) Peso, (B) IIS (%): Índice intestino somático. Médias* = $P < 0.05$ entre grupos do mesmo período (controle x tratado); ab = $P < 0.05$ entre grupos controles; AB = $P < 0.05$ entre período de restrição e realimentação pela análise de variância com modelo misto generalizado pelo teste T.

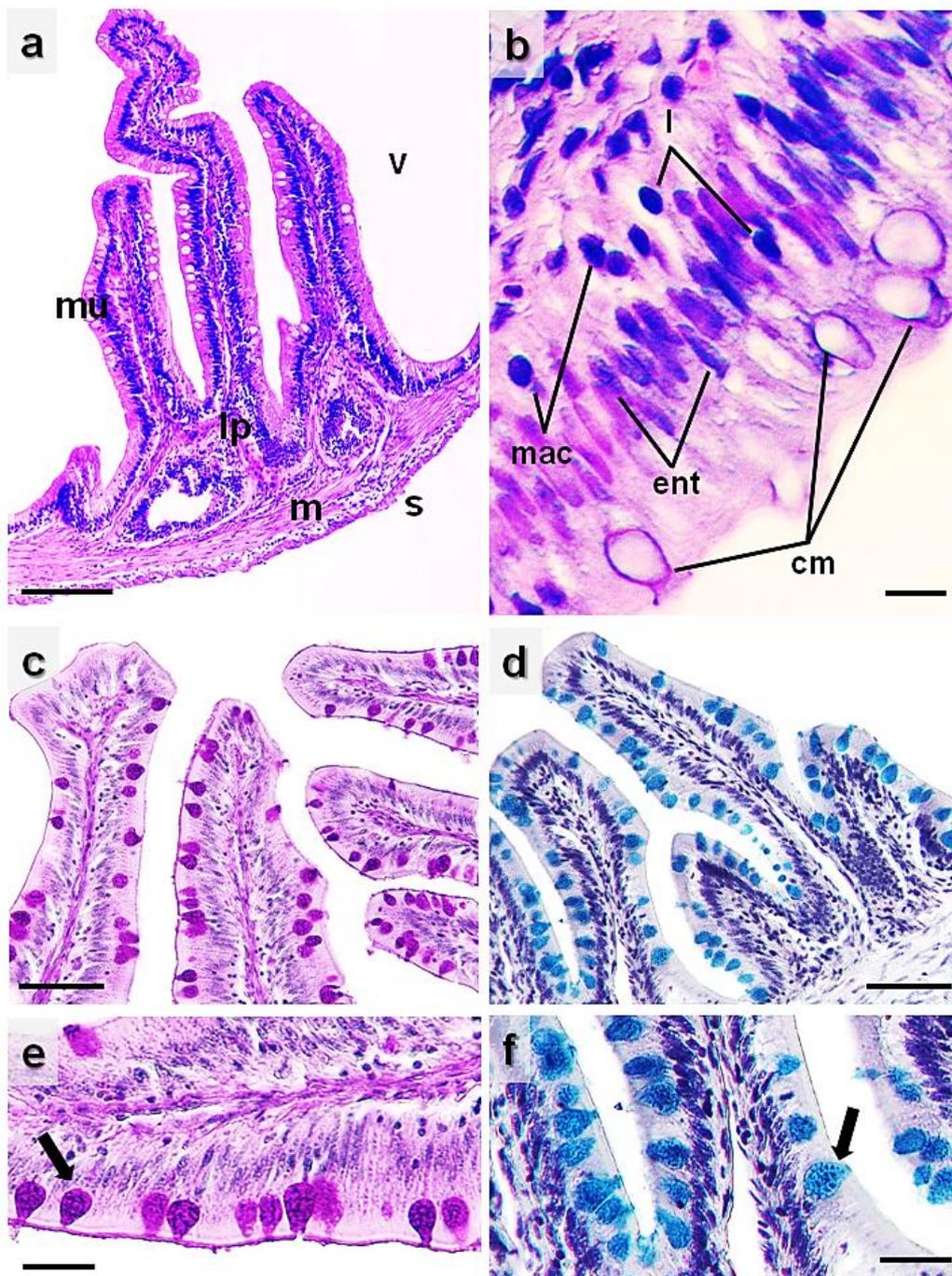


Figura 4 Secções histológicas do intestino de *Piaractus mesopotamicus*. **a)** vilosidade intestinal, mucosa (mu), lâmina própria (Lm), muscular (m), e serosa (s), HE, escala: 100 μ m. **b)** Representação da mucosa intestinal; células de muco (cm), macrófago (mac), enterócito (ent), e linfócito (l), escala: 5 μ m. **c e e)** Células caliciformes marcadas positivamente para mucinas neutras (PAS), **d e f)** Células caliciformes marcadas positivamente para mucinas ácidas (Alcian Blue); setas indicam granulação citoplasmática. Escala c, d 50 μ m; e, f 20 μ m.

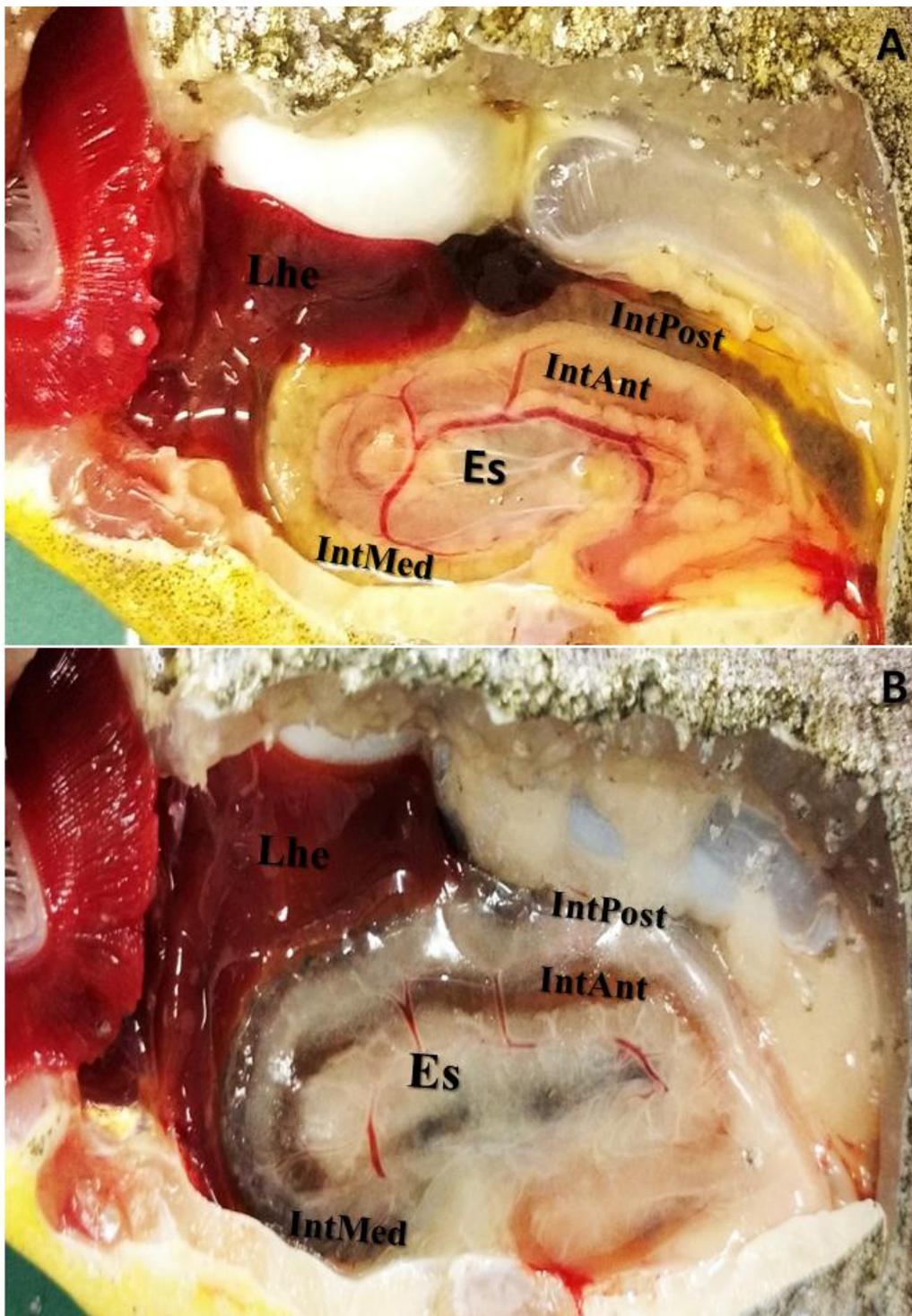


Figura 5 Comparação entre a redução da gordura perivisceral no intestino de *P. mesopotamicus* submetidos a 30 dias de restrição alimentar total (A), e disposição da gordura perivisceral no intestino de um espécime controle (B); Lobo hepático esquerdo (Lhe), Estômago (Es), Intestino anterior (IntAnt), Intestino médio (IntMed) e Intestino Posterior (IntPost).

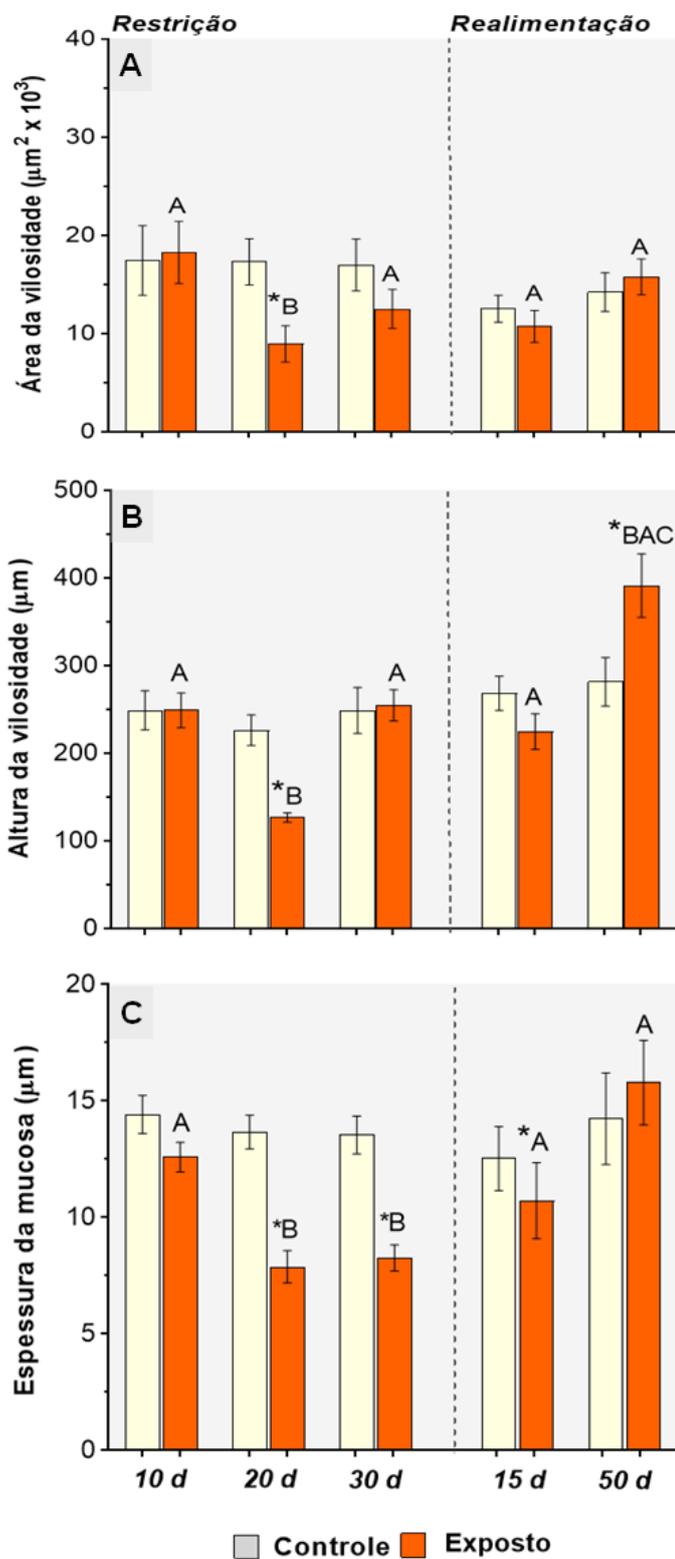


Figura 6 Dados morfométricos intestinais ((A) área, (B) altura e (C) espessura de vilosidade (μm^2)) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Médias* = $P < 0.05$ entre grupos do mesmo período (controle x tratado); ab = $P < 0.05$ entre grupos controles; AB = $P < 0.05$ entre período de restrição e realimentação pela análise de variância com modelo misto generalizado pelo teste T.

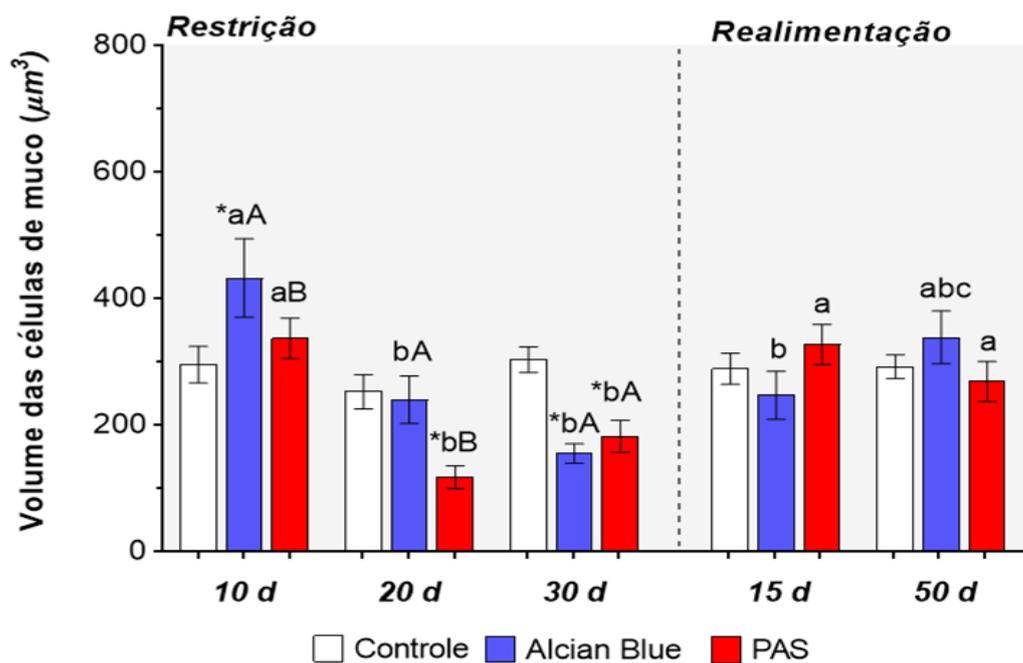


Figura 7 Efeito do período de restrição alimentar e realimentação sobre o volume das células de muco (%) ácidas (Alcian Blue) e neutras (ácido periódico de schiff) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Médias* = $P < 0.05$ entre grupos do mesmo tempo (controle x tratado); AB = $P < 0.05$ entre mucinas dentro do mesmo tempo (ácidas x neutras); ab = $P < 0.05$ entre mucinas ácidas para diferentes tempos (AB x AB); ab = $P < 0.05$ entre mucinas neutras para diferentes tempos (PAS x PAS) pela análise de variância com modelo misto generalizado pelo teste T.