

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá
(*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DAYANE ZANERATO DAMASCENO

ANÁLISE DO EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ARGININA, NO
FÍGADO E INTESTINO MÉDIO DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*), A PARTIR DE
ANÁLISES MORFOMÉTRICAS.

PALOTINA

2016

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

Dayane Zanerato Damasceno

ANÁLISE DO EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ARGININA, NO FÍGADO E INTESTINO MÉDIO DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*), A PARTIR DE ANÁLISES MORFOMÉTRICAS.

Artigo apresentado à disciplina trabalho de conclusão de curso como requisito parcial à conclusão do Curso de Ciências Biológicas, Setor de Palotina, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Milton Rönnau
Coorientador: Msc. Danielle Zanerato Damasceno

Palotina
2016

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da arginina sobre o intestino e fígado de *Rhamdia quelen*. Para isso, juvenis desta espécie foram distribuídos em tanques-rede de 1m³ de volume útil e alimentados com rações contendo 1,37; 1,67; 1,97; 2,27 e 2,57% de arginina na composição. Após 6 meses de alimentação os peixes foram eutanasiados com solução de benzocaína para remoção e fixação do intestino e fígado. O intestino foi medido para realizar o cálculo do coeficiente intestinal e o fígado foi pesado para o cálculo do índice hepatossomático, em seguida fragmentos dos órgãos foram fixados em solução de ALFAC. Os tecidos fixados passaram pelo processo de preparação histológica e foram cortados e corados em Hematoxilina-Eosina. Foi realizada análise estatística com o software Statistica 7.1 ao nível de significância de 5%. Observou-se que os níveis de arginina não influenciaram no coeficiente intestinal, bem como no índice hepatossomático, entretanto a análise histológica do intestino mostrou que a inclusão de 2,27% de arginina na dieta do *R. quelen* diminui as vilosidades e conseqüentemente o número de células caliciformes, prejudicando então a absorção dos nutrientes e secreção de mucossustâncias. No fígado pode-se observar que o nível de 2,57% de arginina na dieta causou lesões, indicando grandes concentrações de arginina podem ser tóxicas aos peixes.

Palavra-chave: absorção, aminoácido, células caliciformes, nutrição de peixe.

Abstract

*ANALYSIS OF THE EFFECT OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF ARGININE, IN THE MEDIUM AND MEDIUM INTESTINE OF JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*), FROM MORPHOMETRIC ANALYSIS.*

*This study aimed to evaluate the influence of arginine on the intestine and liver of *Rhamdia quelen*. For this, juveniles of this species were distributed in net tanks of 1m³ of useful volume and fed with rations containing 1.37; 1.67; 1.97; 2.27 and 2.57% arginine in the composition. After 6 months of feeding the fish were euthanized with benzocaine solution for removal and fixation of the intestine and liver. The intestine was measured to perform the calculation of the intestinal coefficient and the liver was weighed to calculate the hepatosomatic index, then fragments of the organs were fixed in ALFAC solution. Fixed tissues underwent histological preparation and were cut and stained in Hematoxylin-Eosin. Statistical analysis was performed with the Statistica 7.1 software at the significance level of 5%. It was observed that the arginine levels did not influence the intestinal coefficient as well as the hepatosomatic index, however the histological analysis of the intestine showed that the inclusion of 2.77% of arginine in the diet of *R. quelen* decreases the villi and consequently the number of goblet cells, thus impairing the absorption of nutrients and secretion of mucosubstances. In the liver it can be observed that the level of 2.57% of arginine in the diet caused lesions, indicating large concentrations of arginine may be toxic to fish.*

Key words: absorption, amino acid, goblet cells, fish nutrition.

1. INTRODUÇÃO

Rhamdia quelen, conhecido popularmente como jundiá, é uma espécie siluriforme de ampla distribuição desde o sul do México até a Argentina (Itzés et al. 2015). Os adultos são onívoros no ambiente natural, alimentando-se de peixes, crustáceos, insetos, restos vegetais e detritos orgânicos (Pamplona, 2009). O *R. quelen* é muito apreciado e produzido no Brasil, principalmente na região Sul do país.

O intestino de peixes é relativamente simples, apresentando glândulas digestivas e uma grande abundância de vasos sanguíneos e linfa, tendo a completa digestão iniciada no estômago. Sendo responsável por grande parte da absorção dos nutrientes, íons e água provenientes da dieta, sendo os produtos da digestão mantidos em solução, o que facilita a absorção (Rotta, 2003). Segundo Rotta (2003) estruturas como dobras e cristas do epitélio mucoso do intestino médio auxiliam na digestão, aumentando a superfície de secreção e absorção. O comprimento do intestino interfere na eficiência da absorção, sendo que os mais curtos possuem maior número de dobras, o que permite reduzir o tempo de passagem da digestão e melhorar a absorção dos nutrientes ingeridos, como ocorre em espécies carnívoras.

A caracterização histoquímica de mucossubstâncias do canal alimentar em peixes, varia consideravelmente de acordo com a espécie estudada e com as diferentes regiões do intestino. A morfologia do intestino de *R. quelen* apresenta a mucosa revestida por epitélio colunar simples com dois tipos celulares: o de absorção ou enterócitos, que são células colunares com núcleo oval e microvilosidades na região apical; e caliciformes, que estão arranjadas entre os enterócitos, com tendência a aumentar sua quantidade na porção final do intestino (Faccioli, 2012).

O intestino é um órgão envolvido em importantes funções fisiológicas, e é neste local que ocorre parte da digestão dos alimentos e a absorção de nutrientes (Caballero et al. 2003). Portanto, o maior aproveitamento dos nutrientes presentes na dieta é dependente da eficácia dessas funções (Fries, 2014).

O fígado de peixes teleósteos é um órgão relativamente grande já em outras espécies é um órgão pequeno, que se junta ao pâncreas formando o hepatopâncreas, que em outros casos é totalmente separado. Em peixes de cativeiros possui uma coloração mais clara, dependendo da dieta, em animais selvagens, a coloração em espécies

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

carnívoras é marrom avermelhado e marrom claro em herbívoros, mas dependendo da época do ano podem apresentar desde colorações amareladas até ao branco. Possui enzimas que metabolizam drogas e é um dos órgãos que mais apresenta danos durante a vida do animal (Rotta, 2003).

A arginina é um aminoácido essencial, proveniente da dieta e de fatores internos. É muito versátil participando da síntese de óxido nítrico, ureia, ornitina, citrulina, creatina, agmatina, glutamato, prolina e poliaminas (Leocádio, 2013). Estimula a secreção de hormônios, como insulina, hormônio do crescimento, glucagon e prolactina (Neu, 2013).

O objetivo deste trabalho foi verificar se as diferentes concentrações de arginina na ração do *R. quelen* atuam na absorção, aumento de células caliciformes e das microvilosidades nas diferentes regiões do intestino. Bem como, saber se a arginina provoca alguma alteração morfológica no fígado e intestino.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ESPÉCIE

A espécie *Rhamdia quelen* pertence à divisão taxonômica: Classe: Osteichthyes, Série: Teleostei, Ordem: Siluriformes, Família: Pimelodidae, Gênero: *Rhamdia* (Silfvergrip, 1996). Segundo o mesmo autor, *R. quelen* possui uma ampla distribuição neotropical, do sul ao centro da Argentina e do norte ao sudeste do México. Sendo conhecido popularmente no Brasil como: jundiá, jundiá-tinga, jandiá, jandiá-tinga, mandi e sapipoca. E na Argentina: bagre, bagre negro, bagre sapo e bagre sulamericano.

O jundiá tem preferência à ambientes de águas calmas, com fundo de lama e areia, próximo as margens e vegetação. Durante o dia escondem-se entre pedras e troncos apodrecidos, e durante à noite saem, à procura de alimento (Guedes, 1980). Essa espécie suporta temperatura entre 15 e 34°C (Chippari Gomes, 1998)

Adultos de *R. quelen* são considerados onívoros, preferindo crustáceos, restos vegetais, peixes, insetos e detritos orgânicos (Guedes, 1980).

2.2. INTESTINO

De modo geral em peixes o intestino é um tubo simples, tendo início na válvula pilórica, terminando no reto, não havendo separação entre delgado e grosso (Rotta, 2003), algumas espécies possuem cecos pilóricos, sendo uma adaptação para aumentar a área do intestino proximal e os quais possuem uma grande variação de espécie para espécie e mesmo entre a mesma espécie (Baldisserotto, 2009). Em espécies com cecos reduzidos ou ausentes, o desenvolvimento da mucosa e/ou o comprimento do intestino médio é maior, para compensar a ausência dessa estrutura (Rotta, 2003). Os cecos são responsáveis pela absorção de carboidratos, aminoácidos, água, íons e lipídeos e também por grande parte da digestão de proteínas (Baldisserotto, 2009), servindo também como reservatório de alimento (Rotta, 2003).

As dobras e as cristas são estruturas que auxiliam na digestão, possuem epitélio mucoso no intestino médio, se apresentando em grande quantidade e variedade aumentando a superfície de absorção e secreção. O intestino quanto mais curto, possui maior número de dobras, aumentando a eficiência de absorção dos nutrientes (Rotta, 2003). Segundo o mesmo autor essas pregas estão também relacionadas com o transporte do material em processamento: a que são posicionadas longitudinalmente auxiliando e acelerando o transporte desse material, já as pregas transversais retardam esse transporte, pois atuam como obstáculos.

No interior das vilosidades há presença de capilares arteriais que levam o sangue, e capilares venosos que retiram o sangue e nutrientes absorvidos. O que altera o comprimento das vilosidades é o estado nutricional do peixe (Baldisserotto, 2009). As secreções intestinais possuem uma grande quantidade de enzimas, que são as proteases, as lipases e as carboxilases, as quais hidrolisam as três classes respectivas de nutrientes (Rotta, 2003).

De acordo com Hernández et al., (2008) a espécie *Rhamdia quelen*, possui intestino dividido em quatro partes: ascendente, descendente, convoluta e terminal. Possui um suprimento abundante de vasos de sangue, linfa e glândulas digestivas (Rotta, 2003). Nesse gênero não há presença de moela ou cecos pilóricos, apresentando um intestino de tamanho menor ou do tamanho do corpo, com rastros braquiais curtos e espaçados (Fracalossi et al., 2007).

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

Rhamdia quelen, possui a mucosa revestida por epitélio colunar simples com células de absorção ou enterócitos, que tem forma colunar com núcleo oval e microvilosidades na região apical; entre os enterócitos tem as células caliciformes, que aumenta para a porção final do intestino (HERNÁNDEZ et al., 2008).

2.2.1 CÉLULAS CALICIFORMES

As células caliciformes são células secretoras de mucossubstâncias, as quais lubrificam a superfície do órgão, protegendo contra escoriações e lesões causadas pela passagem de alimento (Galvão et al., 1997), também contra ação das glicosidasas de microorganismos patogênicos (Díaz et al., 2008). A secreção em geral, é composta pela mistura de proteínas altamente glicosiladas, conhecidas como mucinas, proteoglicanos e eletrólitos (Góes e Taboga, 2005).

O muco cobre e lubrifica a mucosa do trato gastrointestinal, protegendo-o contra danos mecânicos, ácido do estômago e microorganismos patogênicos como vírus, bactérias, leveduras, fungos, protozoários, nematóides (Bals, 2000).

2.3. FÍGADO

O fígado de peixes teleósteos é um órgão relativamente grande, já em outras espécies é um órgão pequeno. A coloração deste órgão possui um grande variedade, as quais variam de acordo com o hábito alimentar e o local em que vivem, em espécies de cativeiro a coloração se apresenta clara, dependendo da dieta, animais selvagens carnívoros possuem a coloração marrom avermelhado e em herbívoros marrom claro, mas dependendo da época do ano podem apresentar desde colorações amareladas até ao branco. Possui enzimas que metabolizam drogas e é um dos órgãos que mais apresenta danos durante a vida do animal (Rotta, 2003).

O fígado é muito irrigado, devido ao processamento e armazenamento dos nutrientes absorvidos no trato digestivo e de neutralização, eliminação de substâncias tóxicas e de secreção da bile. É composto basicamente por hepatócitos, a qual são células poliédricas, com seis ou mais superfícies (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). A eliminação de compostos xenobióticos necessita de biotransformação destes compostos

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

lipofílicos em metabólitos hidrofílicos, o que favorece sua eliminação através da urina ou fezes (Williams et al., 2002).

A histologia do fígado de mamíferos é diferente dos peixes, os quais possuem hepatócitos com menor quantidade de lóbulos e cordões. No sistema biliar os canalículos biliares intracelulares formam condutos biliares se juntando aleatoriamente. Os quais juntam-se ocasionalmente e dão lugar a uma vesícula biliar que armazena uma bílis amarela-esverdeada que apresenta sais biliares e álcalis. Depois de passar pelo lúmen do intestino pelo colédoco, a bile realiza a emulsificação das gorduras e a neutralização da acidez do quimo, auxiliando na digestão e na absorção dos lipídios e das vitaminas lipossolúveis que entram no intestino (Rotta, 2003).

2.4.ARGININA

Segundo Wu et al. (2009b) a arginina é considerada um α -aminoácido básico ($C_6H_{14}N_4O_2$). O qual é essencial e funcional para organismos aquáticos (Wu, 2009a). A exigência de arginina varia conforme a espécie e classe: ratos, coelhos e ruminantes possui uma baixa exigência, já peixes, aves, cães e felinos possuem uma alta exigência de arginina dietética (Ball et al., 2007). A quantidade exigida de arginina na nutrição de peixes varia entre 1,0 a 2,8% da dieta e 3,3 a 6,0% da proteína dietética (NRC, 1993).

A arginina possui um caráter anfipático, tendo uma parte da cadeia lateral hidrofóbica, terminando em um agrupamento guanidina, a qual possui carga positiva em grande parte das situações fisiológicas (Rodwell e Kennelly, 2003). Esta carga esta deslocalizada pela presença de um sistema unido entre as ligações duplas e os átomos de nitrogênio (Neu, 2013).

A arginina possui diversas funções metabólicas, com capacidade precursora na síntese de ornitina, a qual é utilizada como substrato na produção de poliaminas, prolina e glutamato. Estimulando a secreção de uma gama de hormônios, em especial o hormônio do crescimento, glucagon, prolactina e insulina; potencializa a função das células imunes, a cicatrização de feridas, sendo também fundamental no ciclo da uréia, onde é eliminado compostos nitrogenados não essenciais (Sanz et al., 2004).

Os aminoácidos livres são absorvidos na membrana apical do enterócito, por transportadores não-dependentes de Na^+ , transportadores específicos dependentes de

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

Na⁺ e por difusão. Não há gasto de energia diretamente, mas é dependente da bomba de Na⁺/K⁺. A qual cria um gradiente de sódio favorável à sua entrada no enterócito. Do interior do enterócito o aminoácido passa por difusão para os capilares sanguíneos existentes nas dobras intestinais (Rotta, 2003).

Segundo Rotta, 2003 quando mais de um aminoácido é absorvido pelo mesmo transportador, ocorre a inibição de um e absorção do outro. Devido a isso é necessário a formulação correta das dietas para peixes quanto ao teor e proporção dos aminoácidos. Segundo estudos em peixes herbívoros ou onívoros as taxas de transporte de aminoácidos são menores do que em carnívoros.

Através de estudos, foi descoberto duas isoenzimas da arginase, a citosólica (A I) que se encontra nos eritrócitos e no fígado, com atividade ureagenica e catabólica e a arginase substancial mitocondrial (A II), presente no rim, cérebro, próstata e trato gastrointestinal, considerada como enzima biossintética no qual seu principal produto é a ornitina (Gotoh et al., 1997).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi a continuidade de um experimento realizado em um projeto de doutorado, no qual realizei um mês de estágio, podendo ???

Realizado de agosto de 2014 a março de 2015, utilizando-se 800 juvenis de *R. quelen*, provenientes de uma piscicultura localizada no município de Toledo/PR. Os juvenis foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Os peixes foram adensados em tanques-rede de 1m³ de volume útil, com malha 15 mm, cobertos com sombrite, instalados no reservatório de Itaipu, município de Foz do Iguaçu/PR. Cada unidade experimental foi composta por 40 peixes.

Os tratamentos foram constituídos de ração isoproteica (35% de proteína bruta) e isoenergética (3250 kcal.kg⁻¹ energia digestível) de acordo com Montes-Girao & Fracalossi (2006), Reidel et al., (2010) e NRC (2011), contendo diferentes níveis de arginina (1,37; 1,67; 1,97; 2,27 e 2,57 %) (Tabela 1) na forma extrusada. A ração foi preparada na fábrica de ração/escola do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

(GEMAg), da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, PR. As dietas foram oferecidas aos peixes três vezes ao dia até saciedade aparente.

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

Tabela 1. Composição percentual e química das rações experimentais com diferentes níveis de arginina.

Ingredientes (%)	Níveis de arginina (%)				
	1.37	1.67	1.97	2.27	2.57
Milho grão	40.85	41.27	41.69	42.11	42.53
Milho glúten 60%	31.73	31.19	30.65	30.11	29.57
Farinha de peixe	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00
Arroz quirera	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
L-alanina	1.50	1.19	0.88	0.56	0.25
Fosfato bicálcico	1.50	1.51	1.52	1.53	1.53
L-arginina	0.00	0.31	0.63	0.94	1.26
L-lisina	1.05	1.05	1.06	1.06	1.07
Calcário	0.30	0.29	0.28	0.27	0.26
L-treonina	0.62	0.63	0.64	0.65	0.66
Premix*	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Sal	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
L-triptofano	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17
DL-metionina	0.18	0.19	0.21	0.22	0.23
Cloreto de colina	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Vitamina C	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Antifúngico	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Antioxidante	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Óleo de soja	0.00	0.09	0.17	0.26	0.35
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Nutrientes					
Amido	34.33	34.33	34.33	34.33	35.04
Arginina Total	1.37	1.67	1.97	2.27	2.57
Cálcio	1.44	1.44	1.44	1.44	1.44
ED jundiá	3250.00	3250.00	3250.00	3250.00	3250.00
Fibra	1.09	1.09	1.09	1.09	1.09
Fósforo total	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Gordura	4.68	4.68	4.68	4.68	5.03
Lisina Total	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79
Met+cistina	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51
Proteína Bruta	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00
Treonina Total	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79
Triptofano total	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35

*Vitaminas e minerais suplementadas em 1 kg de produto: vit. A =2 000 000 IU; vit. D3=400 000 IU; vit.E=30 000 mg; vit. K3=2000 mg; vit. B1=4000 mg; vit. B2=4000mg; vit. B6=3000.00 mg; vit. B12=80 mg; ácido fólico=1000 mg; pantotenato de cálcio=10 000 mg; vit. C=60 000 mg; biotina=200 mg; colina=100 000 mg; niacina=20 000 mg; ferro =16 000 mg; cobre=2000 mg; manganês=6000 mg; iodo = 200 mg; and cobalto=60 mg.

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

A partir da instalação do experimento foram realizadas biometrias mensais por meio de pesagem (g) e medição (cm). Após as medições os peixes foram eutanasiados com solução de benzocaína (250 mg.L⁻¹). Em seguida, realizou-se uma incisão longitudinal na região ventral de 49 peixes para análise e retirada do intestino e fígado. O intestino foi medido para realização do coeficiente intestinal ($QI = \text{comprimento do intestino} / \text{comprimento do peixe}$), o fígado foi pesado para realização do índice hepatossomático ($IHS = \text{peso do fígado} / \text{peso do peixe} * 100$). Fragmentos do intestino e do fígado foram medidos e fixados em solução de ALFAC (Álcool 85% + Formol 10% + Ácido Acético Glacial 5%).

. Após fixado fragmentos do intestino médio e do fígado foram levados para o Laboratório de Histologia do Bloco Multidisciplinar da Universidade Federal do Paraná setor Palotina para o processo de desidratação alcoólica crescente, em seguida diafanizados em xilol PA para posterior emblocamento e processamento para cortes histológicos. Seguindo para a técnica de rotina em Hematoxilina e Eosina (HE) e para análise da região do intestino médio com o ácido periódico de Schiff (PAS), o fígado foi corado com PAS. A captura de imagens foi realizada no Laboratório de Tecnologia do Pescado da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE em fotomicroscópio Olympus CX31 em objetiva de 10X, utilizando-se sistema de imagens computadorizado (Image Pro Plus – Versão 5.2- Media Cibernética). A morfometria da mucosa intestinal foi realizada em 10 vilos por animal e as medidas de: altura total do vilos sendo, a partir da extremidade superior do vilos até o fim da camada muscular, altura do vilos, a partir da extremidade superior do vilos até o início da camada muscular, a espessura da camada muscular, largura do vilos na parte superior. Também foram realizadas a contagem total de células caliciformes em cada vilos medido, e a contagem de vilos totais por amostra.

As alterações histopatológicas observadas no fígado foram avaliadas pelo método descrito por Bernet *et al.* (1999) de acordo a importância dos fatores: (1) importância patológica mínima, a lesão é facilmente reversível; (2) importância moderada, reversível em muitos casos e (3) importância marcante, geralmente irreversível, levando a diminuição das funções do órgão. De acordo com o grau de ocorrência, foram atribuídos valores para as alterações observadas em cada tratamento, sendo: (0) Inalterado, (2) Ocorrência ocasional, (4) Ocorrência moderada e (6) Ocorrência severa (lesão difusa). O Índice de lesão (IL) foi calculado de acordo com a seguinte equação:

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

$$II = \sum_{pr} \sum_{alt} (a \cdot w)$$

Onde : pr = padrão de reação, alt = alteração, a = valor atribuído à alteração e w = fator de importância.

Os valores obtidos nas análises somáticas e do intestino foram submetidos aos pressupostos (testes de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade das variâncias), e posterior análise de variância (*one-way* ANOVA) ao nível de 5% de significância e, quando significativa, aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey (5%). Para avaliar o índice de Bernet foi aplicada análise não paramétrica. As análises foram realizadas com auxílio do *software* Estatística 7.1.

4. RESULTADO

Após realizado a captura das vilosidades de modo aleatório e aplicado as análises estatísticas, foi verificado que a inclusão de arginina influenciou diretamente na morfologia do intestino de *R. quelen*. Analisando a (Tabela 2), é possível observar que conforme indicado pela letra b no que diz respeito a altura total dos vilos, os peixes alimentados com 2,27% de arginina apresentou um menor desenvolvimento em relação aos outros tratamentos e o parâmetro de altura dos vilos os tratamentos que apresentaram uma diferença significativa foram os alimentados com 1,97 e 2,27%, com um menor comprimento. Na largura os únicos que apresentaram diferença foram os peixes com menor presença de arginina (1,37%).

Tabela 2. Parâmetros avaliados no intestino de *Rhamdia quelen*, alimentados com diferentes níveis de arginina.

	Níveis de arginina na ração					p
	1,37	1,67	1,97	2,27	2,57	
Altura total	692,05a	708,10a	622,12ab	588,58b	678,84a	<0,01
Altura do vilo	376,36ab	414,36a	347,66b	346,33b	395,26ab	<0,01
Profundidade	127,45ab	122,52ab	115,5b	100,12c	133,42a	<0,01
Largura	118,93a	110,66ab	108,23ab	108,71ab	117,48ab	0,02
Túnica	187,92a	168,67ab	160,22abc	138,98c	143,39bc	0,02
n° de vilos	23,41b	25,14a	24,33ab	25,54a	23,4ab	<0,01

As células caliciformes, pode-se observar através da (Figura 1.) que os peixes alimentados com 1,97% de arginina obtiveram maior resultado, já os que apresentaram a menor concentração dessas células foram os alimentados com 2,27% de arginina, o qual pode ter sido influenciado pela menor altura das vilosidades como mostrado na (Tabela2).

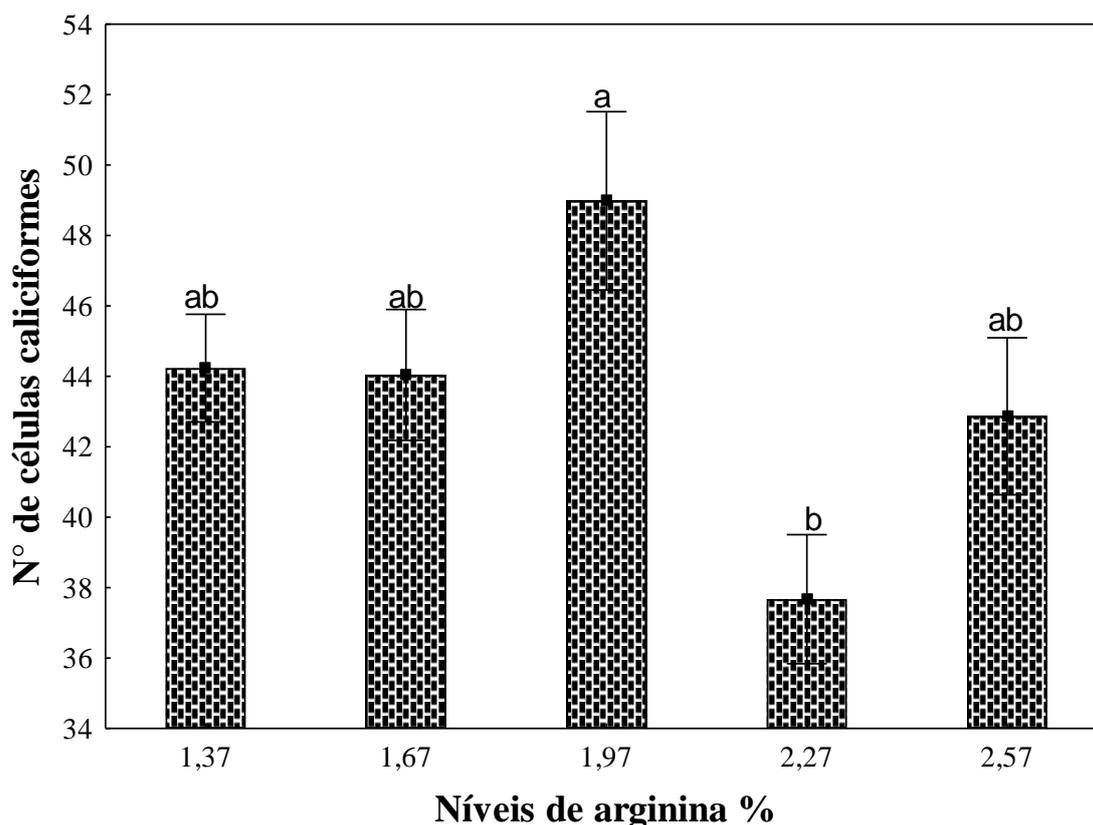


Figura 1. Número total de células caliciformes observadas em todo corte histológico do intestino de *Rhamdia quelen* alimentados com diferentes níveis de arginina

O coeficiente intestinal dos peixes foi inferior a 1 e não diferiu entre os tratamentos (Tabela 3). O índice hepatossomático permaneceu em média de 2,00%, enquanto o índice de gordura visceral foi inferior para os peixes alimentados com 2,27% de arginina ($p=0,05$).

Tabela 3. Coeficiente intestinal e índices hepatossomático e de gordura visceral de *Rhamdia quelen* alimentados com arginina.

	Níveis de arginina %					p
	1,37	1,67	1,97	2,27	2,57	
Coeficiente intestinal	0,56	0,65	0,57	0,58	0,59	ns
Índice hepatossomático	2,53	2,23	2,31	2,24	2,08	ns
Índice de gordura visceral	1,66 ab	2,14ab	2,32a	1,56b	1,70ab	0,05

A figura 2 apresenta cortes histológicos de intestino de *R. quelen* alimentados com 2,277% de arginina, corados com PAS. Apresentando alto número de vilos, com todos na mesma altura, tendo uma alta concentração de células caliciformes em todos os vilos.

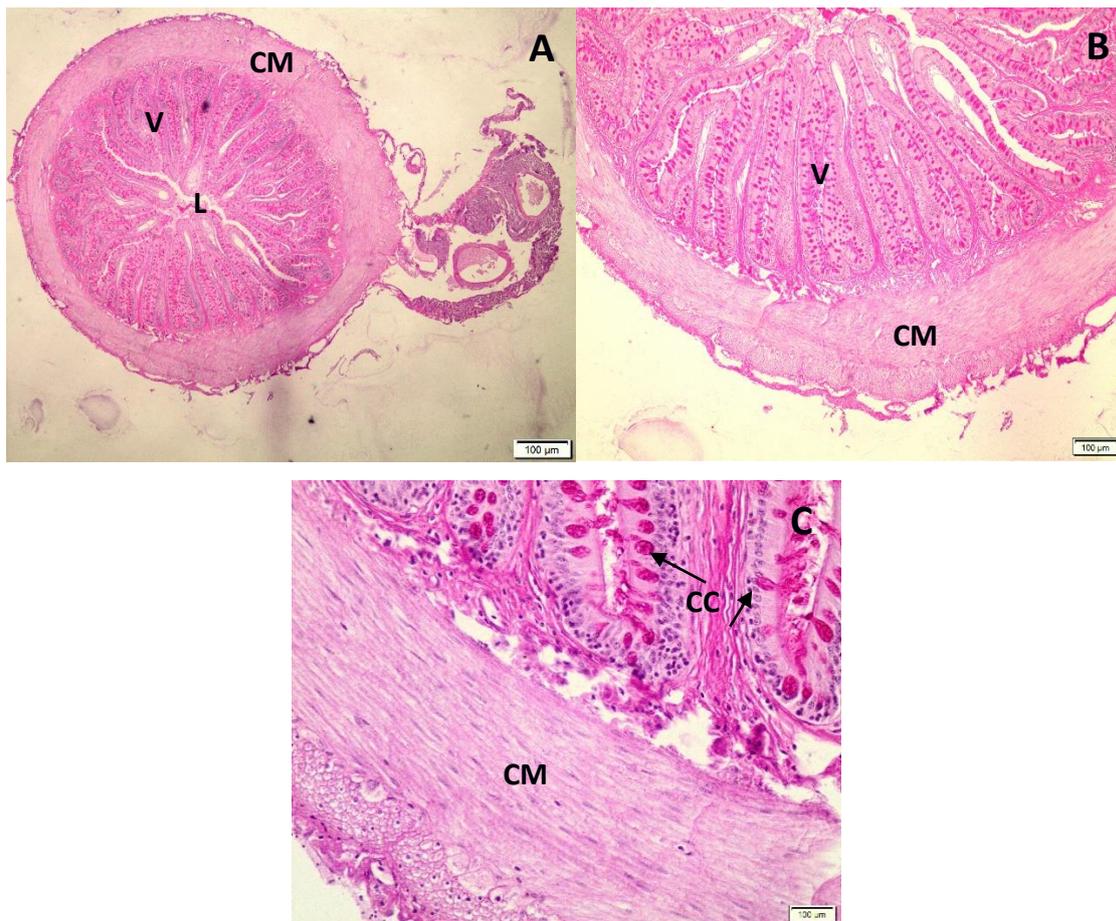


Figura 2. Fotomicrografia do intestino de *Rhamdia quelen* alimentadas com 1,97% de arginina, coradas em PAS. A: aumento 4x. B: aumento 10x. C: aumento 40x. CC: Células caliciformes, V: Vilosidades, CM: tecido muscular e L:Luz.

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

A figura 3 apresenta cortes histológicos de intestino de peixes alimentados com o maior nível de arginina (2,27%), corados em PAS, onde pode-se observar uma alta concentração de células caliciformes (7C), as vilosidades apresentaram crescimento desordenado, com alguns dobramento ao longo da vilosidade, com espaço da luz intestinal reduzido, e um crescimento desordenado na camada muscular (7A;B).

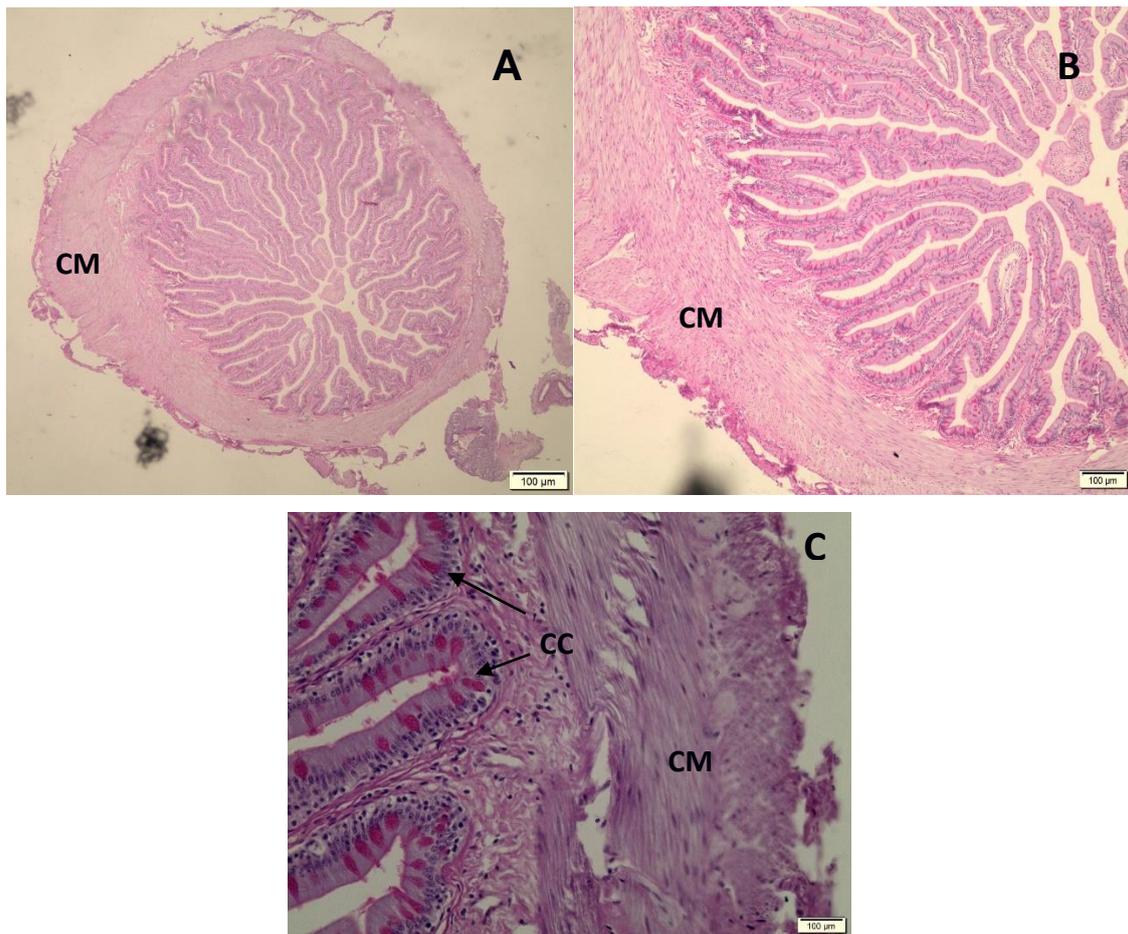


Figura 3. Fotomicrografia do intestino de *Rhamdia quelen* alimentadas com 2,27% de arginina, coradas em PAS. A: aumento 4x. B: aumento 10x. C: aumento 40x. CC: Células caliciformes, Vi: Vilosidades e CM: Camada muscular.

As alterações histopatológicas foram verificadas principalmente nos fígados dos peixes alimentados com 2,57% de arginina e apresentaram um alto índice de alterações ($p < 0,05$), verificando-se principalmente dilatação dos sinusoides, infiltração leucocitária, irrigação sanguínea, perda do limite celular e degradação da cápsula. A partir dos tratamentos 1,97 e 2,27 também apresentaram altas concentrações de irrigações

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

sanguínea, verificada pelo aparecimento de um grande número de vasos sanguíneos (Figura 4).

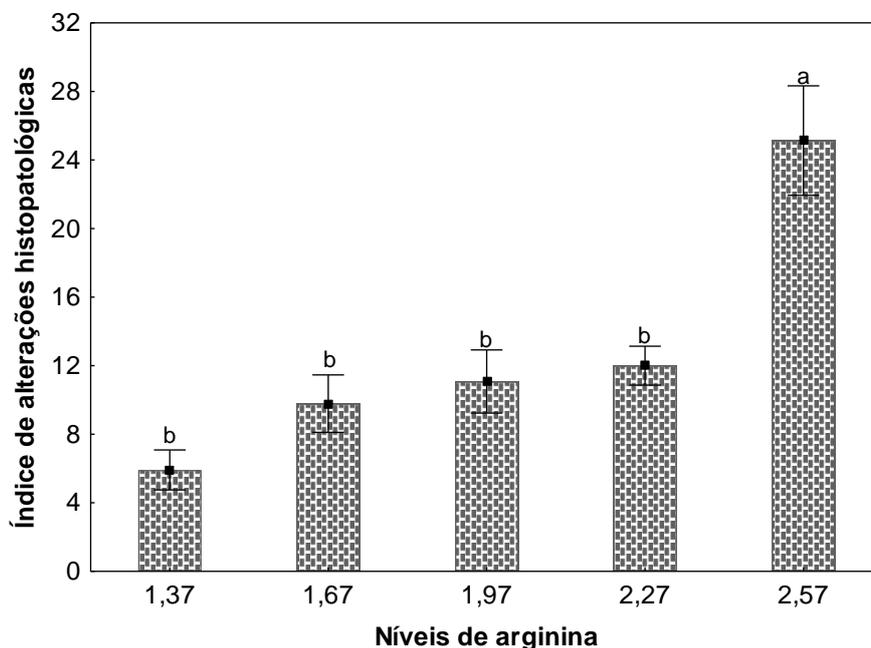


Figura 4. Índices de alterações no fígado de *Rhamdia quelen* alimentados com diferentes níveis de arginina.

Nos cortes histológicos do fígado é possível observar que no tratamento com 1,37% de arginina não apresentam grandes alterações no tecido. O tecido (Figura 5) apresentou-se íntegro, porém com menor quantidade de glicogênio. Digite a equação aqui, se comparado com o tratamento com maior quantidade de arginina (Fig. 6, C).

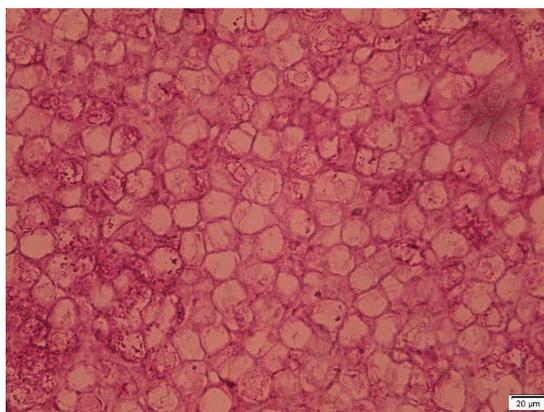


Figura 5. Fotomicrografia do fígado de *Rhamdia quelen* alimentadas com 1,37% de arginina, coradas em ácido periódico de Schiff (PAS). Aumento 40x.

A figura 6 apresenta cortes histológicos no fígado de peixes alimentados com o maior nível de arginina (2,57%) e pode-se observar a presença de um número maior de

alterações no fígado, tais como o grande número de vasos sanguíneos (Fig 6A), extensas áreas de infiltração leucocitária (6B) e a presença constante de sinusóides dilatados concomitantemente com congestão dos sinusoides. Estes resultados indicam que o excesso de arginina causa um grande número de lesões no fígado do *R. quelen*.

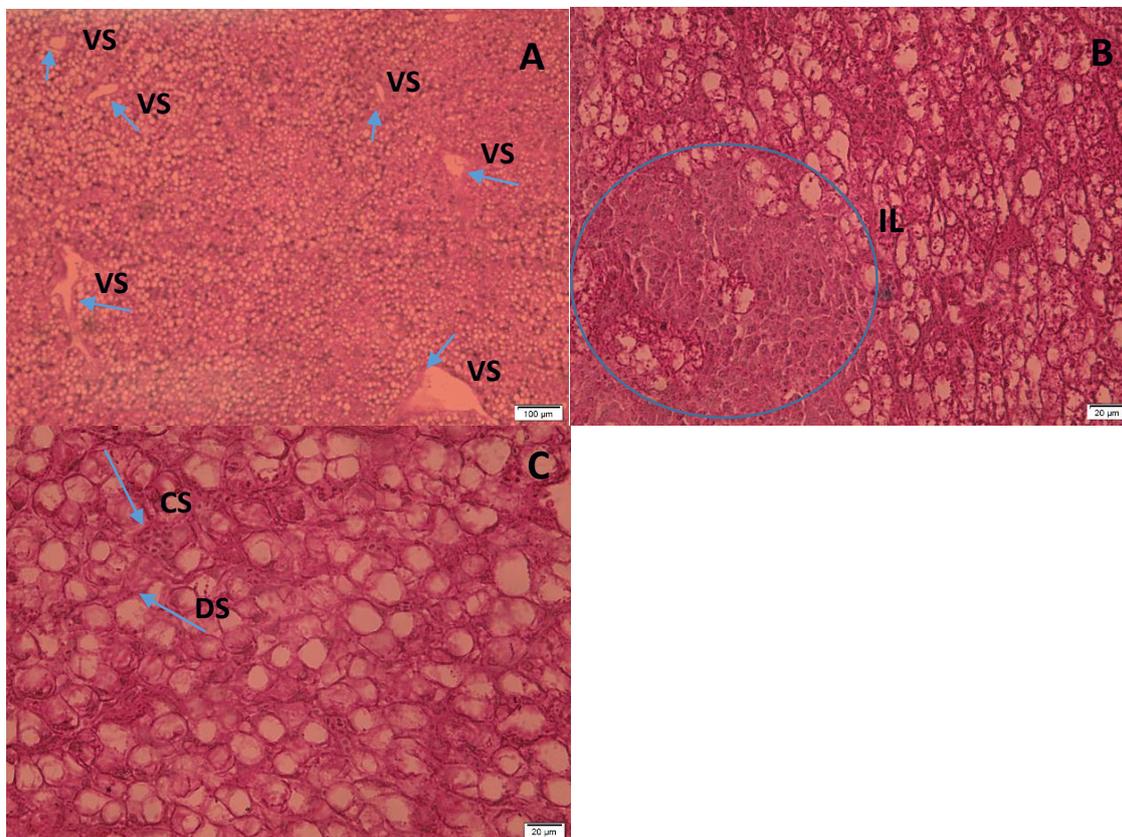


Figura 6. Fotomicrografia do fígado de *Rhamdia quelen* alimentadas com 2,57% de arginina, coradas em ácido periódico de Schiff (PAS). A: aumento 4x. B: aumento 40x. C: aumento 40x. VS: Veias; IL: Infiltração Leucocitária; DS: Dilatação dos Vasos Sinusoides; CS: Congestão dos Sinusoides.

5. DISCUSSÃO

A arginina é considerada um aminoácido funcional (Wu, 2009) que participa das vias metabólicas necessárias para a manutenção, crescimento, reprodução e imunidade dos vertebrados (Suenaga et al. 2008). Neste trabalho observou-se que este aminoácido também influencia na morfologia intestinal do *R. quelen*.

Comparando os resultados da Tabela 2 com a Figura 1, observa-se que a inclusão de 2,27% de arginina na dieta de *R. quelen* promoveu um menor desenvolvimento na altura das vilosidades e conseqüentemente menor presença de células caliciformes. Enquanto isso, os animais alimentados com ração contendo 1,67% de arginina

apresentaram aumento das vilosidades considerável, e também maior número de células caliciformes, sendo compatível isto com a quantidade de secreção de muco e absorção. Jowerek et al., (2000) estudando ratos e Tan et al., (2010) estudando suínos verificaram que a arginina tem influência benéfica no pâncreas e intestino promovendo integridade no tecido e proliferação celular. A absorção de nutrientes pelo intestino, interfere diretamente na altura das vilosidades intestinais e dependendo da estratégia da absorção dos nutrientes deste alimento pode haver um aumento em seu tamanho (Fries, 2014), sendo que quanto maior a vilosidade, mais aproveitado será o alimento (Junqueira e Carneiro, 2005).

Quando o intestino responde a algum agente com desequilíbrio na renovação, ocorre uma transformação na altura e no perímetro das vilosidades. Além disso, se houver uma elevada taxa de mitose com ausência, decréscimo ou manutenção da taxa de extrusão, surgirá um aumento no número de células, aumentando também o tamanho e perímetro das vilosidades, ocorrendo ainda pregueamento da parede intestinal. Se o estímulo provocar um acréscimo na taxa de extrusão, havendo manutenção ou redução na taxa de proliferação, o intestino responderá com a diminuição na altura dos vilos, acarretando uma diminuição da capacidade de digestão e absorção (Pluske et al., 1997).

Ainda são escassos os estudos que avaliem a morfologia intestinal de peixes, e inexistem estudos sobre o efeito da arginina no desempenho do *R. quelen*. De acordo com Neu et al, (2016) níveis apropriados de arginina na ração (1,36%) promovem melhor crescimento, retenção de nutrientes e composição corporal em tilápia do Nilo, entretanto não relata o efeito deste aminoácido no intestino e no fígado dos peixes. Quando oferecida em excesso a arginina pode causar déficits no crescimento dos peixes devido a diferentes mecanismos como: desbalanço de aminoácidos da dieta que afeta a absorção e utilização do pool de aminoácidos; a um efeito tóxico da arginina; a uma acumulação de aminoácidos ou dos seus produtos de degradação que podem atuar como agentes estressores das enzimas digestivas, diminuindo sua eficiência; o aumento do gasto metabólico do animal para excretar e desaminar o excesso de aminoácidos do corpo; e a um aumento da liberação de insulina que atuaria diminuindo o apetite e consequentemente diminuindo o desempenho dos peixes (Khan e Adib, 2011; Khan et al., 2013).

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

Pohlenz et al. (2012) apontaram que a suplementação de arginina na dieta pode aumentar os níveis de substâncias como a ornitina, glutamina e glutamato para a biossíntese de poliaminas. Tais poliaminas (putrescina, espermidina e espermina) exercem efeito significativo sobre o crescimento da mucosa gastrointestinal de diferentes animais, incluindo peixes (Peres e Zambonino-Infante, 1997).

Em aves as concentrações teciduais de poliaminas, são responsivas à manipulação dietética dos níveis de arginina (Quinn et al., 2002). Segundo Ruetemle et al., (1999) as poliaminas inibe a migração, proliferação e apoptose das células intestinais. Deste modo, a arginina como precursor das poliaminas pode-se considerar como um agente trófico, o qual estimula o desenvolvimento da mucosa intestinal, acelerando o processo mitótico na área entre cripta-vilo, podendo ocorrer maior proliferação de células e o tamanho do vilo (Uni et al., 1998).

O fígado de *R. quelen* representou cerca de 2% do peso corporal em todos os tratamentos, entretanto não foi observado efeito da arginina sobre o IHS. Este órgão apresenta inúmeras funções, dentre elas, destacam-se sua capacidade de acumular substâncias de reserva, especialmente sob a forma de glicogênio e lipídios (Ferguson, 2006), e as variações no armazenamento de substâncias dependem da espécie, idade, sexo, condição nutricional, maturação gonadal e de aclimatação térmica.

A avaliação histológica em fígados de *R. quelen* tratados com concentração de arginina a 2,57% (FIG 6) mostra um maior número de alterações no tecido. De acordo com Campos (2012) o fígado é um órgão muito irrigado, devido as suas funções de processar e armazenar os nutrientes absorvidos no trato digestivo e de neutralização, eliminação de substâncias tóxicas e de secreção da bile. Essas áreas de irrigação aumentaram de forma expressiva no fígado dos peixes alimentados com a maior concentração de arginina (2,57%), podendo ser observados um grande número de veias e também intensa dilatação dos vasos sinusoides, este resultado pode ser devido a função vasodilatadora do óxido nítrico (Calver et al., 1993). De acordo com Moncada et al., (1989) em todos os tecidos a arginina é convertida em óxido nítrico. Além disso, a grande concentração de endotélio sugere que a com irrigação a circulação de arginina no fígado pela circulação sanguínea venha a atuar no sistema imunológico do peixe, fazendo com que regiões de células leucocitárias (FIG 6B) venha a atuar no sistema imune do peixe uma vez que, a arginina também tem papel de aumentar a resposta ao sistema imune.

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

Visualmente os peixes alimentados com 2,27 e 2,57 % de arginina apresentaram maior deposição de glicogênio, que pode servir como reserva energética ou ser encaminhada para manutenção de outros órgãos. Sugere-se então que seja feita a quantificação do glicogênio para que seja possível sua relação com os resultados encontrados.

Os estudos avaliando o efeito da arginina para jundiá ainda são escassos, existem lacunas sobre a sua ação sobre os órgãos, portanto sugere-se que este estudo seja levado adiante, avaliando também o desempenho zootécnico dos animais e o possível efeito imunológico da arginina sobre o *R. quelen*.

6. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a utilização de 2,27% de arginina prejudica a mucosa intestinal de *R. quelen*, causando diminuição da altura das vilosidades, enquanto a inclusão de 2,57% de arginina promove o aumento vasos e infiltrações leucocitárias no fígado. Em relação a absorção, desenvolvimento das vilosidades e mucosa intestinal, pode-se concluir com este trabalho que o nível ideal de arginina na alimentação de *Rhamdia quelen* varia entre 1,9 e 2,0%.

7. AGRADECIMENTO

- Agradeço primeiramente a Deus o qual permitiu que tudo acontecesse, ao longo da minha vida, e não somente nestes anos de universidade, mas em todos os momentos foi e é o maior mestre.
- Aos meu pais Antonio e Mereide que em todos os momentos estiveram ali me dando força, me puxando orelha e me forçando a terminar a Universidade Federal, mesmo que seja pra guardar o certificado no fundo da gaveta, mas sempre me amparando e aconselhando.

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

- A minha irmã Danielle, devo um agradecimento mais, mais e mais que especial, que além de ser aquela irmã chata, que briga, tem ciúme. Sempre esteve ao meu lado, tanto na vida social, familiar, como acadêmica me incentivando, corrigindo meu trabalho, falando acorda menina que sua apresentação já está aí. Se não fosse ela, tenho certeza que não teria feito um trabalho tão bom.
- Ao meu namorado Vinicius e seus pais Gilberto e Rosicler, que nos últimos dois anos estiveram do meu lado, com muita paciência, com palavras de força e sempre me acolhendo muito bem em sua família.
- A todos os professores que se fizeram presente em toda minha vida acadêmica, em especial o meu orientador Milton Rönnau, que mesmo não me conhecendo como aluna, me acolheu de braços abertos, quando eu já estava desanimada, e sempre me apoiou e me aconselhou tanto na vida pessoal, quanto acadêmica.
- Ao Professor Dr. Fábio Bittencourt e Dr. Elizabeth Romagosa pela oportunidade de realização deste trabalho juntamente com a Universidade Estadual do Oeste do Paraná, bem como a oportunidade de estágio.
- Aos meus amigos, Carlos, Juliana, Gabi, Miriam, Jéssica E. e Juliana Z. que sem eles tenho certeza que teria desistido de Palotina, pois foram a família que eu escolhi nesses básicos 6 anos. Em especial aos meus amigos irmãos Vanessa e Guilherme que foram peças fundamentais nesses anos, com seus jeitinhos peculiares difícil de lidar, mas que sempre acabávamos nos entendendo e um cuidando do outro. As minhas amigas Ana, Line, Bia, Kamilinha e Nathalie, que mesmo distante, sempre pude contar com elas.
- A toda minha Família, em especial meus avós Orlando, Amélia, Geni e João em memória, que tiveram uma contribuição valiosa nessa caminhada.

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

- A Universidade Federal do Paraná e seu corpo docente, direção, administração, servidores que contribuíram com essa conquista.

8. REFERÊNCIAS

ABIDI, S. F.; KHAN, M. A. **Dietary arginine requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton) based on growth, nutrient retention efficiencies, RNA/DNA ratio and body composition.** *Journal of Applied Ichthyology*, Malden, v. 25, n. 6, p. 707-714, 2009

BALDISSEROTTO, B., **Fisiologia de peixes aplicada á piscicultura.** Universidade Federal de Santa Maria UFMS, 2009. 2 ed., 352p.

BALS, R. **Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection.** Ludwig-Maximilians-Universität, Munich, Germany Resp. Res. v.1, p. 141- 150, 2000.

BALL, R. O.; URSCHER, K. L.; PENCHARZ, P. B.; **Nutritional consequences of interspecies differences in arginine and lysine metabolism.** *The journal of nutrition*, Bethesda, v. 137, p. 1626-1641, 2007.

CABALLERO, M., IZQUIERDO, M., KJORSVIK, E., MONTERO, D., SOCORRO, J., FERNÁNDEZ, A., ROSENLUND, G. **Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources.** *Aquaculture*, v.225, p.325–340, 2003.

CALVER, A., COLLIER, J. AND VALLANCE, P., **Nitric oxide and cardiovascular control.** *Exp. Physiol*, v. 78, p. 303-326, 1993.

CAMILO POHLENZ, C., BUENTELLO, A., CRISCITIELLO, M. F., MWANGI W., SMITH. R., GATLIN III, D. M. **Synergies between vaccination and dietary arginine and glutamine supplementation improve the immune response of channel catfish against *Edwardsiella ictaluri*.** *Fish and Shellfish Immunology*. 2012.

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

CHEN, G.; FENG, L.; KUANG, S.; LIU, Y.; JIANG, J.; HU, K.; JIANG, W.; LI, S.; TANG, L.; ZHOU, X. **Effect of dietary arginine on growth, intestinal enzyme activities and gene expression in muscle, hepatopancreas and intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)**. British Journal of Nutrition, Cambridge, v. 108, n. 2, p. 195-207, 2012.

CHIPPARI-GOMES, A.R. **Temperaturas letais de larvas e alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD, 1824 – PISCES, PIMELODIDAE)**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Pós graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, 1998.

DÍAZ, A.O.; GARCÍA, A.M.; GOLDEMBERG, A.L. **Glycoconjugates in the mucosa of the digestive tract of *Cynoscion guatucupa*: A histochemical study**. Acta Histochemica, v. 110, p.76-85, 2008.

FRACALOSSO, D.M., BORBA, M.R. DE, OLIVEIRA-FILHO, P.R.C. DE, MONTES-GIRAO, P.J., CANTON, R.. **O mito da onivoria do jundiá**. Pak. Vet. J., v. 17, p. 36–40. 2007.

FACCIOLI, C. K. **Estudos morfológicos e histoquímicos do tubo digestivo de *Hemisorubim platyrhynchos*(VALENCIENNES, 1840)**. Dissertação (Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista UNESP, Jaboticabal, 89 p., 2012.

FERGUSON, H.W. Systemic pathology of fish: a text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease. **London: Scotian**, 2nd ed, 366p., 2006.

FREITAS, B. C. F., BAIÃO, N. C., NUNES, I. J. **Fisiologia digestiva do frango de corte nos primeiros dias de vida: digestão da gordura**. Cad Téc Vet Zootec, Belo Horizonte: FEP MVZ. v. 34, p. 7-13, 2001.

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

FRIES, E. M. **Fitase na digestibilidade de alimentos proteicos vegetais para o jundiá *Rhamdia voulezi***. Dissertação (Mestrado *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2014.

GALVÃO, M.N.S.; FENERICH-VERANI, N.; YAMANAKA, N.; OLIVEIRA, I.R. **Histologia do sistema digestivo da tainha *Mugil platunus* Gunther, 1880 (Osteithes, Mugilidae) durante as fases larval e juvenil**. Boletim do Instituto de Pesca, v.24, p.91-100, 1997.

GÓES, R.M.; TABOGA, S.R. Células Caliciformes. In: CARVALHO, H.F.; COLLARES-BUZATO, C.B. (Org.). **A célula. Uma abordagem multidisciplinar**. São Paulo: Manole, 2005. p.163-173.

GOTOH, T., ARAKI, M., MORI, M., **Chromosomal localization of the human arginase II gene and tissue distribution of its mRNA**. Biochem. Biophys. Res. Commun., v.233, p. 487-491, 1997.

GUEDES, D.S. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (*Rhamdia spp*) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, Pimelodidae)**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, 1980.

GURBUZ A.T.; KUNZELMAN J.; RATZER E.E. **Supplemental dietary arginine accelerates intestinal mucosal regeneration and enhances bacterial clearance following radiation enteritis in rats**. Journal of Surgical Research. v. 74, p. 149–154, 1998.

HERNÁNDEZ, D.R.; PÉREZ GIANESELLI, M.; DOMITROVIC, H.A. **Morphology, histology and histochemistry of the digestive system of south american catfish (*Rhamdia quelen*)**. International Journal of Morphology, v.27, p.105-111, 2008

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

ITZÉS, I. ET AL. **Ovulation induction in jundiá (*Rhamdia quelen* Heptapteridae) using carp pituitary extract or salmon GnRH analogue combined with dopamine receptor antagonists.** *Aquaculture Research*, v.46, p.2924–2928, 2015..

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 10ª edição, 2004.

KHAN, M. A.; ABIDI, S. F. **Dietary arginine requirement of *Heteropneustes fossilis* fry (Bloch) based on growth, nutrient retention and haematological parameters.** *Aquaculture Nutrition*, Malden, v. 17, n. 4, p. 418-428, 2011.

LEOCÁDIO, P. C. L. **Efeito do pré-tratamento com L-arginina na mucosite intestinal induzida por 5-fluorouracil em camundongos.** Dissertação (Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

MAIORKA, A.; BOLELI, I. C.; MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: Macari, M.; Furlan, R.L.; Gonzales, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte.** Jaboticabal: FUNEP/UNESP. p. 113-120, 2008.

MONTES-GIRAO, P. J., Fracalossi, D.M.. **Dietary Lysine Requirement as Basis to Estimate the Essential Dietary Amino Acid Profile for Jundiá, *Rhamdia quelen*.** v. 37. p. 388-396, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of fish,** Whashington: National Academic Press, p. 114, 1993.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of fish and shirimp.** Whashington: National Academic Press, p. 376, 2011.

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas

NEU, H. D., **Exigências dietéticas de arginina e isoleucina para tilápias do Nilo**. Tese (Doutorado em Zootecnia da Área de Concentração: Produção Animal) Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2013.

NEU, D. H., BOSCOLO, W. R., ZAMINHAN, M., ALMEIDA, F., SARY, C., FURUYA, W., **Growth Performance, Biochemical Responses, and Skeletal Muscle Development of Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, Fed with Increasing Levels of Arginine**. Journal of the world aquaculture society. 2016.

PAMPLONA, J. H. **Avaliação dos efeitos tóxicos da dipirona sódica em peixe *Rhamdia quelen*: estudo bioquímico, hematológico e Histopatológico**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia, Departamento de Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

PEDERSEN, H.E; SISSONS, J.W., **Effect of antigenic soyabean protein on the physiology and morphology of the gut in the preruminant calf**. Can J Anim Sci v. 64, p. 183–184, 1984.

REIDEL A., BOSCOLO W.R., FEIDEN A. & ROMAGOSA E. **The effect of diets with different levels of pro-teín and energy on the process of final maturation of the gametes of *Rhamdia quelen* stocked in cages**. Aquaculture, v. 298, p. 354–359, 2010.

ROBERTIS, E. M. F. DE; HIB, J. **Bases da biologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 3ª ed., p. 408, 2001.

RODWELL, V.W.; KENNELLY, P.J. Amino acids and peptides. In: MURRAY, K.R.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. **Harper's Illustrated Biochemistry**. New York: McGraw-Hill Companies. 2003. p. 14-20.

ROTTA, M.A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura**. Corumbá: Série Documentos, Embrapa, 2003, 49p.

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfológicas

RUEMMELE, F. M., C.; RUEMMELE, E.; LEVY; E. SEIDMAN. Les mécanismes moléculaires de la régulation du renouvellement de cellules épithéliales intestinales par des nutriments. Gast. Clin. Biol. v.23 p.47–55, 1999.

SILFVERGRIP, A.M.C. A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae). Stockholm, Sweden. (PhD Thesis) - Department of Zoology, Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, 156p., 1996.

UNI, Z., PLATIN, R., SKLAN, D. Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus. J Comp Phys.168(4) p. 241-247. 1998.

WILLIAMS, G.M.; IATROPOULOS, M.J. Alteration of liver cell function and proliferation: differentiation between adaptation and toxicity. Toxicologic Pathology., v. 30, n.1, p. 41-53, 2002.

WU, G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. Amino Acids, v. 37, p. 1-17, 2009a.

WU, G.; BAZER, F.W.; DAVIS, T.A.; KIM, S.W.; LI, P.; RHOADS, J.M.; SATTERFIELD, M.C.; SMITH, S.B.; SPENCER, T.E.; YIN, Y. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. Amino Acids, v. 37, p. 153-168, 2009b.

Efeito de diferentes concentrações de arginina, no fígado e intestino médio de jundiá (*Rhamdia quelen*), a partir de análises morfométricas