

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE ÓLEOS VEGETAIS E SELÊNIO
PARA CORVINA (*Argyrosomus regius*)**

**STHELIO BRAGA DA FONSECA
Engenheiro de Pesca**

**AREIA - PB
FEVEREIRO DE 2015**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE ÓLEOS VEGETAIS E SELÊNIO
PARA CORVINA (*Argyrosomus regius*)**

Sthelio Braga da Fonseca

**AREIA - PB
FEVEREIRO DE 2015**

STHELIO BRAGA DA FONSECA

**SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE ÓLEOS VEGETAIS E SELÊNIO
PARA CORVINA (*Argyrosomus regius*)**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal Rural de Pernambuco e Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva - Orientador Principal

Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal

Prof. Dr. Rodrigo Otávio de Almeida Ozório

**AREIA - PB
FEVEREIRO DE 2015**

*Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.*

F676s Fonseca, Sthelio Braga da.

**Suplementação dietética de óleos vegetais e selênio para corvina
(*Argyrosomus regius*) / Sthelio Braga da Fonseca - Areia: UFPB/CCA, 2015.**

100 f. : il.

Tese (Doutorado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade
Federal da Paraíba, Areia, 2015.

Bibliografia.

Orientador: José Humberto Vilar da Silva.

1. Piscicultura – Suplementação dietética 2. Corvina – Dieta 3. *Argyrosomus regius*
I. Silva, José Humberto Vilar da (Orientador) II. Título.

UFPB/CCA

CDU: 639.3(043.2)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE TESE

TÍTULO: “Suplementação dietética óleos vegetais e selênio para corvina (*Argyrosomus regius*)”

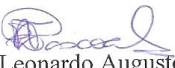
AUTOR: Sthélio Braga da Fonseca

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva

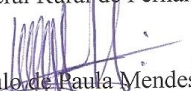
J U L G A M E N T O

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:


Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal
Presidente
Universidade Federal da Paraíba


Profa. Dra. Emiko Shinozaki Mendes
Examinador
Universidade Federal Rural de Pernambuco


Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes
Examinador
Universidade Federal Rural de Pernambuco


Prof. Dr. José Jordão Filho
Examinador
Universidade Federal da Paraíba


Prof. Dr. Daniel de Magalhães Araújo
Examinador
Instituto Federal de Alagoas

Areia, 23 de fevereiro de 2015

DEDICATÓRIA

*Dedico esse trabalho aos meus pais: **Marina Braga da Fonseca e Josias Rodrigues da Fonseca** que mesmo distantes fizeram-se presentes em minha vida, orientando e incentivando-me na busca por meus sonhos.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao grande Pai Celeste por estar guiando e orientando-me ao longo de minha jornada por esse mundo.

À Universidade Federal da Paraíba, em especial ao Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA) e Centro de Ciências Agrárias (CCA) e o Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia (PDIZ) pela infra-estrutura e apoio no desenvolvimento deste projeto. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado no Brasil e em Portugal.

À Analítica do Brasil pelo apoio financeiro para realização deste trabalho e a Alltech do Brasil pela doação do selênio utilizado neste trabalho.

Ao meu orientador, prof. José Humberto Vilar da Silva, pela confiança, paciência, compreensão, sinceridade em repassar seus conhecimentos e pela sua amizade paterna a qual tem dedicado ao longo dos últimos anos.

Aos meus co-orientadores: Profs. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal e Rodrigo Otávio de Almeida Ozório pelo apoio, amizade e atenção dedicado a minha pessoa assim como a este trabalho.

Aos membros da banca, prof^a Emiko Shinozaki Mendes, prof. Paulo de Paula Mendes, prof. José Jordão Filho e prof. Daniel de Magalhães Araújo pelas preciosas contribuições feitas a este trabalho.

Ao professor Weverson Scarpine do Instituto Federal do Maranhão por ter repassado-me os primeiros conhecimentos aquícolas os quais foram fundamentais para escolha de minha profissão e ao prof. Paulo de Paula Mendes da Universidade Federal Rural de Pernambuco por ter ensinado-me os primeiros passos no mundo científico, tornando-se um verdadeiro Pai Científico.

Aos Professores (as) do CCHSA, em especial: Alda Lúcia Amancio, George Beltrão, José Jordão Filho pela amizade, disponibilidade e ensinamentos repassados ao longo dessa etapa de minha vida.

Ao Dr. Carlos Gravato da Universidade de Aveiro pelo apoio, paciência e ensinamentos repassados ao longo de minha formação sobre biomarcadores e ao prof. Marco Lemos da Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar pelo apoio na determinação de ácidos graxos realizadas neste trabalho. Ao prof. José Fernando

Gonçalves do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar pela disponibilidade de seu laboratório e atenção dispensada para realização do ensaio das corvinas.

Aos professores Pedro Pousão e Laura Ribeiro da Universidade do Algarve pelo apoio e ensinamentos repassados ao longo de minha formação no Instituto Português do Mar e Atmosfera (IPMA).

Aos amigos do Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia e Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFPB: Adriano Leite, Aurora Melo, Cassio Ribeiro, José Matias Filho, Manuel Neto, Michel Lopes, Veruska Dilyanne Gomes, Taisa Gomes pelo companheirismo e amizade ao longo desses anos.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição, Crescimento e Qualidade de Peixe (LANUCE) do Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR) e do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS) da Universidade do Porto: Allan Sousa, Andreia Domingues, Augusto Cesar de Queiroz, Bruno Reis, Fernando Magalhães, Francisca Brito, Kanokwan Sansuwan, Lúcia Barriga Negra, Luis Pereira, Nicole Pelusio, Maria João Peixoto, Mariana Araújo, Miguel Semedo, Pedro Eloi, Sônia Batista e Vera Sousa pelo apoio, amizade e gargalhadas entre uma análise e outra.

Aos amigos do IPMA: Ana Daniela Fernandes, Ana Mendes, Barbara Moutinho, Hugo Ferreira, Joana Alves, Margarida Gamboa, Marina Cabral, Marisa Barata, Narjara Sousa, Paula Moura, Ravi Luna e Tânia Lourenço pelos ensinamentos e momentos de descontração vividos.

Aos amigos da Universidade de Aveiro: Carolina Correia, Jessica Lugo, João Pedrosa, Rhaul Oliveira e Thayres Andrade pelos bons momentos vividos.

Aos meus pais, irmãs, irmão, cunhados e sobrinhos que mesmo a distância apoiaram-me para concretizar esse objetivo.

A meus tios Arlete Araújo e Mauri Braga (*in memoriam*) pelo acolhimento, ensinamentos e apoio disponibilizado.

A Evelin Carolyne de França pelo amor e companheirismo ao longo destes anos.

E também aqueles que certamente foram esquecidos, entretanto, como tenho que entregar a tese logo, não tive tempo de lembrar/citar :D .

A todos vocês, Meus Sinceros Agradecimentos!

BIOGRAFIA

STHELIO BRAGA DA FONSECA, filho de Josias Rodrigues da Fonseca e Marina Braga da Fonseca, nasceu no município de Alegre, Estado do Espírito Santo, no dia 15 de dezembro de 1984. Em fevereiro de 2002 formou-se Técnico em Agropecuária na antiga Escola Agrotécnica Federal de Alegre-ES (EAFA), atual Instituto Federal do Espírito Santo - Campus Alegre. Em 2004 iniciou o curso de Engenharia de Pesca na Universidade Federal Rural de Pernambuco. Ao longo de sua jornada acadêmica foi estagiário da Estação de Aquicultura Continental Johei Koike. Também foi monitor concursado da disciplina Métodos Estatísticos Aplicados à Pesca sob orientação do prof. Paulo de Paula Mendes. Participou por dois anos consecutivos do Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq - desenvolvendo parte do projeto intitulado "Cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), em água doce: estratégias de cultivo e incidência de cianobactérias", sob orientação do prof. Paulo de Paula Mendes.

Em junho de 2008, Sthelio Braga da Fonseca concluiu o curso de Engenharia de Pesca. No ano seguinte iniciou seu mestrado no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar na Universidade Federal da Paraíba, sob orientação do prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva, onde defendeu, no ano de 2011, a dissertação intitulada "*Níveis de selênio orgânico e inorgânico e das vitaminas C e E na dieta de tilápia (Oreochromis niloticus)*". Ainda em 2011, ingressou no Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia (PDIZ) na Universidade Federal da Paraíba, sob orientação do prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva, onde desenvolveu a tese intitulada "*Suplementação de óleos vegetais e selênio na dieta de corvina (Argyrosomus regius)*", a qual foi desenvolvida em parceria com o Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR) e Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS) da Universidade do Porto - Portugal.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	xii
Resumo Geral	xv
General Abstract	xvi
Considerações Iniciais	2
 Capítulo 1: Conteúdo lipídico da dieta associados ou não com selênio sobre o crescimento e parâmetros imunes de corvina (<i>Argyrosomus regius</i>)	 4
Resumo	5
Abstract.....	6
Introdução	7
Material e métodos	9
Resultados.....	14
Discussão.....	19
Conclusão.....	23
Referências	24
 Capítulo 2: Capacidade digestiva e histologia intestinal de corvinas (<i>Argyrosomus regius</i>) alimentadas com selênio associado a diferentes fontes e níveis de óleo	 28
Resumo	29
Abstract.....	30
Introdução	31
Material e Métodos	33
Resultados.....	38
Discussão	40
Conclusão.....	43

Referências	44
-------------------	----

Capítulo 3: Estresse oxidativo em corvinas (*Argyrosomus regius*) induzido pelo conteúdo lipídico e selênio dietético

Resumo	48
Abstract.....	49
Introdução	50
Material e Métodos	52
Resultados.....	57
Discussão	60
Conclusão.....	65
Referências	65

Capítulo 4: Alterações no perfil de ácidos graxos e composição centesimal de corvinas (*Argyrosomus regius*) em função da composição lipídicas e selênio dietético.....

Resumo	71
Abstract.....	72
Introdução	73
Material e Métodos	75
Resultados.....	80
Discussão	91
Conclusão.....	96
Referências	96

Considerações Finais.....

	99
--	----

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1: Conteúdo lipídico da dieta associados ou não com selênio sobre o crescimento e parâmetros imunes de corvina (*Argyrosomus regius*)4

Tabela 1: Dietas experimentais contendo diferentes fontes e níveis de óleo, com e sem suplementação de selênio. 10

Tabela 2: Perfil de ácidos graxos das dietas experimentais constituídas por diferentes fontes e níveis de óleo, com e sem suplementação de selênio.... 11

Tabela 3: Desempenho de corvina alimentada com diferentes fonte e níveis de gordura suplementadas ou não com selênio..... 14

Tabela 4: Fator de conversão alimentar de corvinas alimentadas com diferentes fontes e níveis lipídicos na dieta..... 15

Tabela 5: Índice hepato-somático de corvinas alimentadas com diferentes fontes de óleo, com e sem suplementação de selênio.... 15

Tabela 6: Parâmetros imunes de corvinas alimentadas com diferentes fontes e níveis lipídicos, com o sem adição de selênio..... 16

Tabela 7: Parâmetros imunes de corvinas alimentadas com diferentes fontes e níveis lipídicos na dieta..... 17

Tabela 8: Atividade da lisozima em corvinas alimentadas com diferentes fontes lipídicas, com e sem adição de selênio.... 17

Tabela 9: Sistema complemento e atividade da lisozima em corvinas alimentadas com diferentes níveis de óleo, com e sem adição de selênio..... 18

Capítulo 2: Capacidade digestiva e histologia intestinal de corvinas (*Argyrosomus regius*) alimentadas com selênio associado a diferentes fontes e níveis de óleo..... 28

Tabela 1: Dietas experimentais contendo diferentes fontes e níveis de óleo, com e sem adição de selênio..... 34

Tabela 2: Perfil de ácidos graxos das dietas experimentais constituídas por diferentes níveis e fontes de óleo, com e sem adição de selênio..... 35

Tabela 3: Atividade de enzimas digestivas e nível de glicose sanguínea de corvinas alimentadas com dietas contendo fontes e níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.. 38

Tabela 4: Influência de diferentes fontes e níveis de óleo e suplementação de selênio na histologia intestinal e consumo de ração.. 39

Capítulo 3: Estresse oxidativo em corvinas (*Argyrosomus regius*) induzido pelo conteúdo lipídico e selênio dietético47

Tabela 1: Composição centesimal das dietas experimentais utilizadas para avaliar o efeito de diferentes fontes e níveis lipídicos, com e sem adição de selênio 53

Tabela 2: Perfil de ácidos graxos das dietas experimentais constituídas por diferentes níveis e fontes de óleo associados, com e sem adição de selênio..... 54

Tabela 3: Biomarcadores de corvina alimentada com diferentes fontes e níveis lipídicos, com e sem adição de selênio..... 57

Tabela 4: Atividade da catalase de corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes e níveis lipídicos.... 58

Tabela 5: Atividade da glutathione redutase de corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes lipídicas, com e sem presença de selênio..... 58

Tabela 6: Atividade da catalase, glutathione redutase (GR) e glutathione total (GT) de corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis lipídicos, com e sem adição de selênio. 59

Capítulo 4: Alterações no perfil de ácidos graxos e composição centesimal de corvinas (*Argyrosomus regius*) em função da composição lipídicas e selênio dietético70

Tabela 1: Dietas experimentais contendo diferentes fontes e níveis de óleo, com e sem adição de 1,0 mg de selênio por quilo da dieta..... 76

Tabela 2: Perfil de ácidos graxos das dietas experimentais constituídas por diferentes níveis e fontes de óleo, com e sem adição de selênio..... 77

Tabela 3: Composição centesimal e deposição corporal de selênio com base na matéria seca de corvinas alimentadas com diferentes perfis lipídicos e selênio..... 80

Tabela 4: Deposição de gordura na carcaça de corvinas alimentadas com diferentes fontes e níveis lipídicos.... 81

Tabela 5: Deposição de gordura na carcaça de corvinas alimentadas com diferentes fontes lipídicas, com e sem adição de selênio. 81

Tabela 6: Deposição de gordura hepática de corvinas alimentadas com diferentes fontes lipídicas, com e sem adição de selênio. 82

Tabela 7: Deposição de energia na carcaça de corvinas alimentadas com diferentes níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.	83
Tabela 8: Deposição de ácidos graxos muscular em corvinas alimentadas com diferentes fontes e níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.....	84
Tabela 9: Deposição de ácidos graxos muscular em corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes e níveis lipídicos.....	85
Tabela 10: Deposição de ácido araquidônico no músculo de corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes lipídicas, com e sem adição de selênio....	86
Tabela 11: Deposição muscular de EPA em corvinas alimentadas com diferentes níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.....	87
Tabela 12: Deposição de ácidos graxos no fígado de corvina alimentada com diferentes fontes e níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.....	88
Tabela 13: Deposição de ácidos graxos no fígado de corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes e níveis lipídicos.....	89
Tabela 14: Deposição hepática de ácidos graxos em corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes lipídicas, com e sem adição de selênio.....	90

RESUMO GERAL

Óleos vegetais poderão ser fontes alternativas ao óleo de peixes marinhos em rações para animais aquáticos. No entanto, não existe uma fonte isolada de óleo vegetal que apresente uma composição de ácido graxos apropriado para peixes marinhos. Por outro lado, uma mistura de óleos vegetais poderá ser uma solução para elaboração de dietas para esses organismos. Já o selênio é um mineral essencial para organismos aquáticos e é um co-fator da glutathione peroxidase, uma enzima antioxidante, que atua como agente protetor da membrana celular do animal. Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de óleos vegetais e selênio na dieta de corvina. Corvinas com peso médio inicial de $20,45 \pm 1,4$ g foram distribuídas experimentalmente e cultivadas num sistema de recirculação composto por 24 unidades experimentais de 80 litros, na densidade de 25 peixes por parcela. O sistema foi provido de filtro mecânico, biológico, ultravioleta e escumador. Os peixes foram alimentados com oito dietas experimentais, as quais foram compostas por duas fontes lipídicas (peixe e vegetal), dois níveis lipídicos (12 e 17%) adicionados ou não com selênio. Foram analisados os seguintes parâmetros: desempenho zootécnico, imunológicos, capacidade digestiva, histológicos, biomarcadores do estresse oxidativo, composição centesimal e deposição de ácidos graxos muscular e hepático. Corvinas alimentadas com óleos de peixe apresentaram maior peso final, ganho de peso e taxa de crescimento específico e melhor conversão alimentar em relação aos peixes alimentados com óleo vegetal. Além disso, dietas com 12% de inclusão de lipídeos aumentou o ganho de peso e taxa de crescimento específico dos peixes. A atividade da lisozima e peroxidase mostraram-se maiores nos peixes alimentados com óleo vegetal, enquanto o sistema do complemento foi mais ativo nas corvinas alimentadas com óleos de peixe. A atividade da catalase aumentou com o fornecimento de dietas contendo 17% de óleo de peixe em relação a 12% desta mesma fonte e a glutathione peroxidase aumentou quando as dietas foram compostas por selênio. Quanto à deposição hepática e muscular de ácidos graxos, verificou-se que as corvinas possuem capacidade de alongar e dessaturar ácidos graxos com mais de 20 carbonos a partir de seus precursores com 18 carbonos. Recomenda-se a adição de dietas para corvinas composta por 12% de óleo de peixe.

Palavras-chave: ácido graxo, HUFA, linhaça, meagre, PUFA.

GENERAL ABSTRACT

Vegetable oils are the alternative source to marine fish oils in aquaculture feeds. Nonetheless, since a single source of vegetable oil doesn't have the appropriate fatty acid composition as do marine fish diets, a blend of vegetable oils can be a solution to aquaculture feeds. Selenium is an essential micro-mineral in aquatic organisms' diets and is a co-factor of glutathione peroxidase, an antioxidant enzyme. Thus aimed to evaluate the effect of supplementation of vegetable oils and selenium in the meagre diet. Meagre with initial weight of 20.45 ± 1.4 g were distributed in a recirculation system consisting of 24 experimental units of 80 liters at a density of 25 fish per tank. To maintain water quality, the system was equipped with mechanical filter, biological, ultraviolet and skimmer. The fish were fed with eight experimental diets which were composed of two lipid sources (fish oil or vegetable oil), two lipid levels (12 and 17%) with or without added selenium. During the test the water temperature was 20.7 ± 0.7 ° C, oxygen 8.8 ± 1.7 mg L⁻¹ and Salinity 28.3 ± 2.1 ppt. The parameters analyzed were: animal performance, immunology, digestive capacity, histology, biomarkers of oxidative stress, chemical composition and muscle and liver fatty acids deposition. Meagre fed with fish oil showed higher final weight, weight gain and specific growth rate and better feed conversion than those fish fed with vegetable oil. In addition, diets containing 12% lipids including increased weight gain and fish specific growth rate. The activity of lysozyme and peroxidase were higher in fish fed with vegetable oil. In contrast, the complement system was more active in meagre fed with fish oils. Regarding oxidative stress biomarkers, it was found that the catalase activity increased with feeding diets containing 17% fish oil 12% compared to the same source. Already glutathione peroxidase activity increased when diets were composed of selenium. As liver and muscle fatty acids deposition, it was found that meagre possess the ability to elongase and desaturate fatty acids with more than 20 carbons from their 18-carbon precursors. It is recommended to add meagre diets comprised of 12% fish oil.

Keywords: fat acid, HUFA, linseed, meagre, PUFA.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Dentre as espécies de peixes recém-cultivadas, destaca-se a corvina (*Argyrosomus regius*) como uma potencial candidata para a diversificação da aquicultura mundial. Esta espécie apresenta diversas características de interesse, tanto para o produtores (fertilidade elevada, boa conversão alimentar, fácil adaptação ao cativeiro, espécie eurihalina e termoalina) quanto para o consumidor (carne magra, elevado teor de ácidos graxos poliinsaturados, boa palatabilidade). Entretanto, por ser uma espécie carnívora, a corvina necessita de elevada demanda protéica e lipídica, sendo esses nutrientes atendidos pela oferta dietética de farinha e óleo de peixe.

As dificuldades geradas pela limitada oferta de óleo de peixe, para compor as dietas para o setor aquícola, tem estimulado a elaboração de estudos voltados para desenvolvimento de alternativas que possam mitigar essa problemática. Assim, muitos pesquisadores vêm apostando na elaboração de dietas a base de óleo vegetal como potenciais substitutos ao óleo de peixe, em especial na aquicultura marinha.

Atualmente, não se conhece nenhuma fonte de óleo vegetal que apresente um perfil de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (n3 e n-6) similar ao encontrado no óleo de peixe. Por outro lado, existem óleos vegetais compostos por elevadas proporções de ácido graxo n-3, como o óleo de linhaça, e n-6, a exemplo dos óleos de canola e soja. A combinação desses óleos pode vir a ser uma alternativa para substituição do óleo de peixe na dieta de organismos aquáticos.

O papel dos ácidos graxos na fisiologia animal é variado e depende principalmente do grupo ao qual pertence. Ácidos graxos monoinsaturados, com seu alto conteúdo calórico são usados como fonte ou estoque de energia. Os ácidos graxos altamente insaturados são usados na manutenção da integridade da membrana celular, produção dos eicosanoides, além de desempenharem funções imunológicas. É conhecido também que o perfil e quantidade de ácidos graxos da dieta poderá modular a composição desses ácidos na composição lipídica do animal, tornando-o mais ou menos susceptível a oxidação.

O selênio é um micromineral que atua como co-fator da enzima glutathione peroxidase a qual combate os agentes oxidativos, em especial aqueles encontrados no citoplasma celular. Além disso, o selênio também atua sobre o crescimento e manutenção da homeostase animal. Sendo assim, avaliou-se no Capítulo 1 o efeito da

substituição de óleo de peixe por óleos vegetais associados a diferentes níveis de inclusão dietética com e sem adição de selênio sobre os parâmetros de desempenho zootécnico e imunologia de corvinas.

No Capítulo 2 são relatadas as avaliações do efeito do selênio, assim como das fontes e níveis lipídicos, sobre a capacidade digestiva e histologia intestinal de corvina.

No Capítulo 3 são descritas as avaliações dos efeitos das fontes e níveis lipídicos assim como os efeitos do selênio sobre o biomarcadores do estresse oxidativo em corvina.

No Capítulo 4 encontram-se descritos os efeitos das fontes e níveis lipídicos associados ou não com selênio sobre a deposição e metabolismo de ácidos graxos no músculo e fígado de corvinas.

CAPÍTULO 1

Conteúdo lipídico da dieta associados ou não com selênio sobre o crescimento e parâmetros imunes de corvina (*Argyrosomus regius*)

RESUMO

Objetivou-se estudar os parâmetros imunes e desempenho zootécnico de corvinas (*Argyrosomus regius*) alimentadas com dietas contendo diferentes fontes e níveis de óleos vegetais em substituição ao óleo de peixe, com e sem adição de selênio. Seiscentas corvinas com peso de $20,45 \pm 1,4$ g foram distribuídas em 24 tanques com capacidade de 80 litros, em um sistema de recirculação de água. Os peixes foram alimentados com oito dietas experimentais por 60 dias, duas vezes por dia, seis dias por semana. Foram avaliadas dietas com duas fontes de óleo (peixe e vegetal) dois níveis de lipídios (12 e 17%) com e sem adição de selênio (1,0 mg/kg). O óleo vegetal foi composto por uma mistura dos seguintes óleos: 45% de linhaça, 35% de canola e 20% de soja. Corvinas alimentadas com óleos de peixe apresentaram maior peso final, ganho de peso e taxa de crescimento específico e conversão alimentar em relação aos peixes alimentados com óleo vegetal. Além disso, dietas com 12% de inclusão de lipídeos aumentou o ganho de peso e taxa de crescimento específico dos peixes. Interação entre fonte e nível foi observada para conversão alimentar. A inclusão de selênio não afetou o desempenho zootécnico das corvinas. Lisozima e atividade da peroxidase mostrou-se maior nos peixes alimentados com mix de óleo vegetal. Em contraste, o sistema do complemento foi mais ativo nas corvinas alimentadas com óleos de peixe. Nenhum efeito isolado foi observado em decorrência dos diferentes níveis lipídicos na dieta para o sistema de complemento e atividade da peroxidase. No entanto, 17% de inclusão de lipídeos aumentou a atividade da lisozima. Corvinas alimentadas com selênio possuem menor atividade da lisozima e sistema complemento, entretanto, este mineral não gerou efeitos significativos na atividade da peroxidase. Interações no sistema complemento foram observadas para "fonte e nível" e "nível e selênio". Foram obtidas interações entre os fatores "fonte e nível", "fonte e selênio" e "nível e selênio" para a atividade da lisozima. A associação dos efeitos fonte e nível foram significativas para a atividade da peroxidase. A mistura de óleos vegetais nas proporções estudadas causou uma diminuição da resistência imunológica e reduziu o desempenho zootécnico de corvinas.

Palavras-Chave: ácido graxo, colza, imunologia, lipídio, meagre.

ABSTRACT

The main goal of this research work was to study immunological and growth performance of meagre (*Argyrosomus regius*) fed with different levels of vegetable and fish blend oils, with and without selenium. A total of 600 meagre with an average weight of $20.45 \pm 1.4\text{g}$ were randomly distributed in 24 tanks of 80 liters capacity, in a closed recirculation water system. Fish were fed with eight experimental diets for 60 days, twice a day, six days per week. In this experiment, we tested diets with two different oil sources (fish or vegetable oil blends) two lipid levels (12 and 17%) and selenium (presence or absence). Meagre fed with fish oils showed higher final weight, weight gain, and specific growth rate and feed conversion than fishes fed with vegetable oils. Furthermore, diets with 12% of lipid inclusion increased weight gain and specific growth rate. Interaction between Source and Level was observed in feed conversion. The selenium inclusion didn't affect meagre growth performance. Lysozyme and peroxidase activity proved to be higher in fish fed with vegetable oils instead of fish oil. In contrast, the complement system was more active in meagre fed with fish oils. No isolate effect was observed in dietary lipid levels for complement system and peroxidase activity. However, 17% of lipid inclusion increased lysozyme activity. Meagre fed with selenium showed lower lysozyme and complement system activity. But, selenium inclusion didn't affect peroxidase activity. Interactions were observed in "source and levels" and "levels and selenium" for ACH50. Lysozyme activity showed interaction between "source and level", "source and selenium" and "level and selenium". Peroxidase activity showed interaction for "source and level". The blend of vegetable oils in the studied proportions caused a decrease in immune resistance of meagre and their growth performance.

Keywords: colza, fat acid, imunology, lipid, meagre.

INTRODUÇÃO

O interesse dos profissionais da aquicultura em utilizar fontes de óleo vegetal em substituição ao óleo de peixe vem aumentando nos últimos anos em virtude de seus efeitos direto na redução dos custos de produção das dietas (Turchini et al., 2009) e por fornecer ácidos graxos essenciais para o desenvolvimento animal (Martino et al., 2002). Além disso, a utilização de óleo de peixe como única fonte dietética de ácidos graxos na aquicultura, tende a tornar a atividade insustentável a longo prazo (Turchini et al., 2005). Sendo assim, uma variedade de estudos vem sendo realizado ao longo dos últimos anos de forma a buscar fontes lipídicas alternativas ao óleo de peixe (Bell et al., 2006, Montero et al., 2008, Turchini et al., 2009, Montero et al., 2010, Ng e Gibon, 2011).

Os lipídios são componentes estruturais indispensáveis nos tecidos e membrana celular dos organismos. A maioria dos ácidos graxos polinsaturados da membrana são derivados do ácido linoleico (18:2 n-6) e ácido α -linoleico (18:3 n-3), sintetizados através de uma série de reações de dessaturação e alongamento. O ácido linoleico e o ácido α -linoleico são considerados ácidos graxos essenciais, uma vez que a sua aquisição é obtida através da dieta (Sargent et al., 2002). A sua importância é de tal ordem que, o cérebro é o segundo órgão com maior quantidade de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), principalmente o ácido araquidônico (20:4 n-6) e ácido docosahexaenóico (22:6 n-3), sendo este último o mais abundante (Bourre et al., 1993). Estes ácidos graxos controlam a composição da membrana celular, tendo efeito direto sobre sua fluidez, influenciando também na atividade enzimática da membrana, na ligação das moléculas aos seus receptores, nas interações celulares e no transporte de nutrientes (Bourre et al., 1993).

Os HUFA (*High Unsaturated Fatty Acid*), em especial o ácido araquidônico e o ácido eicosapentaenóico (20:5 n-3), também estão relacionados com funções imunológicas essenciais para a saúde dos peixes. Esses ácidos graxos são precursores de diversos eicosanóides, como prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, os quais participam, dentre outras funções, das respostas imunes e inflamatórias dos animais (Tocher, 2003, Bell et al., 2006), assim como nos processos digestivos (Motta, 2011).

Os ácidos graxos insaturados são muito susceptíveis aos processos oxidativos, sendo menos estáveis em relação aos ácidos graxos saturados. A preservação das

insaturações dos ácidos graxos é mantida através de um complexo sistema antioxidante os quais são essenciais para um bom desenvolvimento animal. Desta forma, faz-se necessário incluir elementos antioxidantes na dieta.

O selênio é um micromineral essencial na dieta de organismos aquáticos que age protegendo os ácidos graxos contra danos oxidativos. Ele atua como precursor da enzima glutathione peroxidase, a qual tem a função de detoxificar peróxidos transformando-os em água (Nelson e Cox, 2008).

Apesar dos estudos sobre os efeitos nutricionais do selênio e das fontes alternativas de óleo abrangerem uma gama de espécies de interesse para aquicultura (Bell et al., 2006, Montero et al., 2010, Ng e Gibon, 2011, Torstensen e Tocher, 2011), pouca atenção tem sido dada a tal temática sobre produção de corvina (*Argyrosomus regius*), principalmente no que se refere aos efeitos sinérgicos envolvendo composição lipídica e mineral. Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito da substituição do óleo de peixe por óleo vegetal, assim como dos níveis de inclusão dietética de lipídios, associados ou não com selênio, sobre o desempenho e parâmetros imune de corvina (*Argyrosomus regius*).

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um ensaio¹ experimental de 60 dias, no qual avaliou-se o efeito de diferentes fontes e níveis de ácidos graxos na dieta da corvina, associadas ou não com selênio. O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado, composto por oito tratamentos e três repetições, cada uma contendo 25 corvinas. Foram utilizados 600 corvinas, oriundos do Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA) - Olhão-Portugal, com peso médio inicial de $20,45 \pm 1,4$ g, os quais foram distribuídos de forma aleatória em 24 tanques experimentais de 80 litros, em sistema de fechado de recirculação de água. Ao longo do experimento a temperatura da água foi $20,7 \pm 0,7$ °C, salinidade de $28,3 \pm 2,1$ ppt e oxigênio de $8,8 \pm 1,7$ mg/L.

Após a estocagem, os animais foram submetidos a 10 dias de aclimação recebendo uma dieta comercial para peixe carnívoro com aproximadamente 50% de proteína bruta e 20% de lipídios. Antes do início do ensaio, os animais passaram por um período de três dias de adaptação às dietas experimentais.

Dietas experimentais e avaliação das fontes de ácidos graxos

Os peixes foram alimentados *ad libitum* com oito dietas experimentais (Tabela 1), duas vezes ao dia (10:00 e 16:00 h) e seis vezes por semana. As dietas experimentais diferiram entre si quanto às fontes lipídicas (óleo de peixe marinho ou óleo vegetal), níveis lipídicos (12 e 17%), e inclusão de selênio (sem e com adição de 1,0 mg/kg). O óleo vegetal foi composto por uma mistura dos seguintes óleos: linhaça (45%), canola (35%) e soja (25%). Tal mistura foi realizada de forma a manter a mesma relação n3:n6 entre as diferentes fontes de óleo. A composição analisada de ácidos graxos das dietas experimentais está descritas na tabela 2.

¹Seguindo recomendações da *Federation of European Laboratory Animal Science Associations* (FELASA), de acordo com as orientações para utilização de animais com fins científicos da diretiva Européia 2010/63/UE.

Tabela 1: Dietas experimentais contendo diferentes fontes e níveis de óleo, com e sem suplementação de selênio.

Ingredientes	Dietas							
	Óleo de peixe				Óleo vegetal			
	12%		17%		12%		17%	
	Selênio		Selênio		Selênio		Selênio	
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
Concentrado Soja (%)	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40
Farinha de Vísceras Aves (%)	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00
Farinha de Penas (%)	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Farinha de Tilápia (56%)	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Farelo de Trigo (%)	8,80	8,80	6,80	6,80	8,80	8,80	6,80	6,80
Milho em Grão (%)	6,00	6,00	3,12	3,12	6,00	6,00	3,12	3,12
Farinha de Carne(43%)	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61
Glúten de Trigo(%)	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
DL – Metionina (%)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Binder (%)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fungistático (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Vitamina C (%)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Selênio (mg/kg)	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00
Óleo de Peixe (%)	6,16	6,16	11,36	11,36	-	-	-	-
Óleo de Canola (%)	-	-	-	-	2,16	2,16	3,97	3,97
Óleo de Linhaça (%)	-	-	-	-	2,77	2,77	5,11	5,11
Óleo de Soja (%)	-	-	-	-	1,23	1,23	2,27	2,27
Premix - Vit e Mineral (%)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Cloreto de Colina (%)	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Composição centesimal calculada das dietas experimentais								
Proteína bruta (%)	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Gordura bruta (%)	12,00	12,00	17,00	17,00	12,00	12,00	17,00	17,00
Energia digestível (Mcal/kg)	3,93	3,93	4,27	4,27	3,93	3,93	4,27	4,27
Fibra bruta (%)	2,19	2,19	1,92	1,92	2,19	2,19	1,92	1,92
Cálcio (%)	2,24	2,24	2,23	2,23	2,24	2,24	2,23	2,23
Fósforo total (%)	1,59	1,59	1,56	1,56	1,59	1,59	1,56	1,56
Fósforo disponível (%)	1,14	1,14	1,13	1,13	1,14	1,14	1,13	1,13
Lisina total(%)	2,54	2,54	2,51	2,51	2,54	2,54	2,51	2,51
Metionina total (%)	1,28	1,28	1,27	1,27	1,28	1,28	1,27	1,27
Met.+ Cistina total (%)	1,69	1,69	1,66	1,66	1,69	1,69	1,66	1,66

Níveis de garantia por kg de produto. Vit. A, 6000 UI; Vit. D, 6000 UI; Vit. K, 6,30 mg; Vit. B1, 11,76 mg; Vit.B2, 15,36 mg; Vit. B6, 12,74 mg; Vit. B12, 40 mcg; Ácido fólico, 1,92 mg; Ácido pantotênico, 39,20 mg; Colina, 800 mg; Niacina, 400 mg; Biotina, 0,2 mg; Antioxidante, 300 mg; Ferro, 257,15 mg; Zinco, 300 mg; Manganês, 133,45 mg; Cobre, 19,60 mg; Iodo, 9,40 mg.

Todos os ingredientes das dietas foram triturados, misturados em misturador tipo "Y" e, posteriormente, extrusados em pellet de 2-3mm. Parte da inclusão dos óleos foi realizada por cobertura, após o processo de extrusão. Após a extrusão, os pellets foram levados a estufa e posteriormente acondicionados em temperatura de 4°C.

Tabela 2: Perfil de ácidos graxos* das dietas experimentais constituídas por diferentes fontes e níveis de óleo, com e sem suplementação de selênio.

Ácido Graxo (g/100g)	Dietas							
	Óleo de peixe				Óleo vegetal			
	12%		17%		12%		17%	
	Selênio		Selênio		Selênio		Selênio	
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
C 12:0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0
C 13:0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C 14:0	4,2	4,2	4,8	4,5	1,1	0,9	0,7	0,7
C 14:1 n7	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
C 15:0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1
C 15:1 n7	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1
C 16:0	22,9	23,2	21,5	21,3	18,2	18,7	15,7	15,0
C 16:1 n7	4,9	4,9	5,0	4,8	2,3	2,4	1,8	1,7
C 16:2 n6	0,8	0,5	0,9	0,9	0,3	0,3	0,2	0,2
C 16:3 n3	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
C 16:4 n3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,1	0,1	0,0	0,1
C 18:0	4,6	5,6	5,1	5,9	4,0	3,8	4,7	7,6
C 18:1 n9	15,1	15,4	15,7	16,4	21,5	19,7	17,6	20,6
C 18:1 n7	1,9	1,7	1,9	1,8	2,1	2,5	1,6	1,3
C 18:2 n6	20,6	20,1	17,2	17,4	27,8	28,0	29,2	26,6
C 18:2 n3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
C 18:3 n3	3,2	2,6	2,9	2,8	17,5	19,3	24,5	22,8
C 18:4 n3	1,5	1,5	1,8	1,7	0,6	0,4	0,5	0,4
C 20:1 n9	0,8	0,8	0,7	0,7	0,6	0,7	0,6	0,5
C 20:2 n6	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
C 20:3 n3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0
C 21:0	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
C 20:4 n6	1,5	1,4	1,4	1,4	0,8	0,6	0,6	0,5
C 20:4 n3	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C 22:1 n9	0,6	0,5	0,5	0,6	0,3	0,3	0,3	0,3
C 20:5 n3	7,0	7,0	8,8	8,3	0,3	0,0	0,1	0,1
C 21:5 n3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C 22:3 n6	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
C 22:4 n6	0,4	0,4	0,4	0,4	0,2	0,2	0,1	0,1
C 22:5 n3	0,8	0,8	0,9	0,9	0,2	0,1	0,1	0,1
C 22:6 n3	5,5	5,7	6,9	6,5	0,3	0,1	0,1	0,1
N.D.	1,1	1,3	1,2	1,1	0,4	0,7	0,5	0,4
Saturado	32,7	33,9	32,2	32,6	23,8	23,9	21,6	23,7
Monoinsaturado	23,5	23,6	24,1	24,7	27,1	25,7	22,1	24,6
n-9	16,5	16,7	17,0	17,7	22,5	20,6	18,5	21,4
n-6	23,6	22,8	20,2	20,5	29,3	29,3	30,3	27,6
n-3	19,0	18,5	22,4	21,3	19,2	20,4	25,5	23,7
n-3/n-6	0,8	0,8	1,1	1,0	0,7	0,7	0,8	0,9

*Valores analisados.

Biometrias e análise de crescimento

Quinzenalmente foram realizadas biometrias, nas quais todos os peixes de cada unidade experimental foram capturados para mensuração do peso vivo. Os valores de ganho de peso foram utilizados para avaliar o desenvolvimento dos animais.

Foram avaliados o peso final dos animais; o ganho de peso, pela equação $P_f - P_i$, onde P_f é o peso final e P_i é o peso inicial; o fator de conversão alimentar foi determinado por: C/GP , onde C é o consumo de alimento e GP é o ganho de peso dos animais. A taxa de crescimento específico foi calculada pela seguinte equação: $(\ln P_f - \ln P_i) / \Delta t \times 100$, onde $\ln P_f$ é o logaritmo neperiano do peso final, $\ln P_i$ é o logaritmo do peso inicial e Δt é o tempo do experimento. A sobrevivência foi calculada por $(N_f / N_i) \times 100$, onde N_f é o número final de peixes e N_i é o número inicial de peixes. Além dessas, também foi avaliado o Índice Hepato-Somático (IHS) = peso do fígado / peso do peixe vivo.

Parâmetros imunológicos

Os parâmetros imunológicos foram determinados no plasma das corvinas. Punções na veia caudal dos peixes foram realizadas para obtenção do sangue, o qual foi imediatamente centrifugado a 10.000 rpm durante 5 minutos a 4°C, sendo o plasma coletado em seguida. Estes foram imediatamente identificados e estocados em nitrogênio líquido para posterior análise.

A determinação da via alternativa do sistema complemento (ACH50) foi realizada a partir do método de Sunyer e Tort (1995), recorrendo à utilização de hemácias de coelho (RaRBC; Probiologica Ltda, Portugal). Estas foram lavadas com soro fisiológico (0,9%), centrifugadas e ressuspendidas em tampão-teste (pH 7,3). A concentração celular foi ajustada para $2,8 \times 10^8$ células mL^{-1} . Na placa foram colocados a suspensão e o plasma diluído sequencialmente em tampão-teste.

Seguidamente, as placas foram incubadas a temperatura ambiente, durante 100 minutos com agitação constante, findos os quais se adicionou tampão-stop, para interromper a reação. Foi realizada uma centrifugação durante 2,5 minutos. O valor de hemólise foi determinado através da leitura de densidade ótica, a 414 nm. A unidade de ACH50 foi definida como sendo a concentração de plasma que provoca 50% de hemólise nos glóbulos vermelhos de coelho.

A atividade da lisozima foi determinada por turbimetria, de acordo com Lie et al. (1986). Foi preparada uma solução de *Micrococcus lysodeikticus* a 0,5 mg mL⁻¹ (Sigma-Aldrich), e utilizado um tampão de hidrogeno-fosfato de sódio (Na₂HPO₄; 0,05 M; pH 6,2; Sigma-Aldrich), que foram adicionados ao plasma do peixe. Também foi adicionado um padrão de lisozima HEWL (Hen Egg White Lysozyme), em diluições sucessivas para realização de uma curva-padrão. As leituras foram realizadas por espectrofotometria aos 0,5 e 4,5 minutos a uma absorbância de 450 nm.

A peroxidase no plasma foi determinada segundo Quade and Roth (1997). O plasma dos peixes foi diluído em HBSS (HBSS - Hank's Balanced Salt Solution; Gibco) e seguidamente adicionado TMB (3,3', 5,5' – tetremethylbenzidine hydrochloride; 10 mM; Sigma- Aldrich) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂; 5 mM; Sigma- Aldrich). A reação foi interrompida após mudança de cor, pela adição de ácido sulfúrico (H₂SO₄; 2 M; Sigma - Aldrich) e a densidade ótica lida a 450 nm. O valor da atividade da peroxidase (unidades mL⁻¹ plasma) foi então determinado com base no pressuposto que uma unidade de peroxidase produz uma alteração da absorbância de uma unidade ótica.

Análise estatística

A comparação das dietas estudadas foi realizada pela análise de variância a 5% (ANOVA) em esquema fatorial triplo. Os fatores estudados foram: fontes de óleo (peixe ou vegetal), níveis de inclusão de lipídica (12 e 17%) e suplementação de selênio (0,0 e 1,0 mg/kg), distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. A ANOVA foi precedida do teste de Bartlett para avaliar a homogeneidade das variâncias e do teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a normalidade dos dados. Sendo essas suposições atendidas, deu-se seguimento aos demais procedimentos e quando não, utilizou-se de transformadores para normalizar e/ou homogeneizar os dados. As análises foram realizadas no programa estatístico SAS[®], sendo os resultados obtidos pela estatística "F" da ANOVA a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

O peso final das corvinas foi influenciado diretamente pela fonte de óleo dietética, onde os peixes que receberam dietas a base de óleo de peixe obtiveram maior peso final quando comparado com aqueles alimentados dietas compostas por óleo vegetal (Tabela 3). Efeitos isolados da fonte de óleo e nível de lipídio na dieta foram observados para ganho de peso e taxa de crescimento específico, tendo o óleo de peixe e o nível de 12% de gordura, possibilitado os melhores resultados. Por outro lado, não foi verificado nenhum efeito para sobrevivência, sendo esta de 100% em todas as parcelas experimentais.

Tabela 3: Desempenho de corvina alimentada com diferentes fonte e níveis de gordura suplementadas ou não com selênio.

Fonte (F)	PI(g)	PF(g)	GP(g)	TCE (%)	FCA	IHS (g)
Peixe	19,96±1,6	33,05±1,51a	13,09±1,59a	0,84±0,13a	1,69±0,17b	1,27±0,26b
Vegetal	20,95±1,0	30,92±1,68b	9,97±1,68b	0,65±0,10b	2,26±0,45a	2,10±0,32a
Nível (N)						
12	20,16±1,7	32,46±1,29	12,30±1,79a	0,80±0,14a	1,87±0,24	1,71±0,51
17	20,75±1,0	31,51±2,36	10,76±2,49b	0,69±0,14b	2,08±0,57	1,66±0,53
Selênio (Se)						
Sem	20,52±1,4	31,73±1,90	11,20±2,40	0,73±0,16	2,05±0,52	1,54±0,39b
Com	20,38±1,4	32,24±1,99	11,86±2,16	0,77±0,14	1,90±0,36	1,84±0,59a
Valor da probabilidade (F) da ANOVA						
F	0,1369	0,0024*	<0,001*	0,0004*	0,0002*	<0,001*
N	0,3668	0,1263	0,0128*	0,0293*	0,0827	0,6133
Se	0,8280	0,3965	0,2515	0,3941	0,2140	0,0088*
FxN	0,6090	0,0674	0,1511	0,4962	0,0369*	0,9501
FxSe	0,9793	0,2267	0,2053	0,4459	0,7347	0,0396*
NxSe	0,9612	0,1667	0,1263	0,2874	0,0892	0,9659
FxNxSe	0,9884	0,5085	0,4883	0,6137	0,1406	0,3674
CV(%)	7,59	4,53	11,70	14,42	14,28	14,61

*Significante pela estatística F. ¹Letras diferentes difere o fator a 5%. F: Fonte; N: Nível; Se: Selênio. PI : Peso Inicial; PF: Peso Final; GP: Ganho de Peso; TCE: Taxa de Crescimento Específico; FCA: Fator de Conversão Alimentar; IHS: Índice Hepatossomático.

Foi detectada interação entre os fatores fonte e nível lipídico para conversão alimentar, onde não há diferença ao utilizar-se 12 ou 17% de lipídios quando este for oriundo de peixe marinho (Tabela 4). Por outro lado, 12% de óleo vegetal apresentou melhor conversão alimentar quando comparado com 17% de óleo dessa mesma fonte.

Dietas com 12 e 17 % de óleo de peixe geraram o melhor resultado quanto ao fator de conversão alimentar, quando comparado com a fonte vegetal.

Tabela 4: Fator de conversão alimentar de corvinas alimentadas com diferentes fontes e níveis lipídicos na dieta.

Fonte	Nível (%)	
	12	17
Peixe	1,72±0,18ay ¹	1,67±0,18ay
Vegetal	2,07±0,20bx	2,50±0,52ax

¹a e b na linha diferem os níveis de óleo dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada nível. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Quanto ao índice hepatossomático (IHS), foi detectado uma interação entre os fatores fonte e selênio (Tabelas 3 e 5), não sendo verificado efeito da suplementação de selênio nesta variável para os animais alimentados com óleo de peixe. Maiores valores de IHS foram observados nos peixes que consumiram dietas a base de óleo vegetal suplementadas com selênio em relação aquelas sem suplementação de selênio. Peixes alimentados com óleo vegetal apresentaram maiores IHS em relação aqueles alimentados com óleo de peixe, independente da suplementação de selênio. Em relação aos efeitos isolados, os peixes alimentados com óleo vegetal apresentaram um maior índice hepato-somático em relação aqueles alimentados com óleo de peixe (Tabela 3). Os peixes alimentados com dietas suplementadas com selênio também apresentaram um maior IHS em relação aos animais que consumiram dietas isentas deste mineral.

Tabela 5: Índice hepato-somático de corvinas alimentadas com diferentes fontes de óleo, com e sem suplementação de selênio.

Fonte	Selênio	
	Sem	Com
Peixe	1,24±0,26ay	1,31±0,28 ¹ ay
Vegetal	1,84±0,22bx	2,36±0,12ax

¹a e b na linha diferem a suplementação de selênio dentro de cada fonte de óleo. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada suplementação de selênio. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Em relação aos parâmetros imune, foram detectadas interações entre os fatores fonte e nível de óleo para o sistema complemento, lisozima e peroxidase (Tabelas 6 e 7). Peixes alimentados com dietas contendo 17% de lipídios usando óleo de peixe apresentaram maior atividade do sistema complemento quando comparado com os peixes alimentados com 12% da mesma fonte (Tabela 7). Resultado inverso ocorreu

com os peixes alimentados com óleo vegetal, sendo constatada uma maior atividade do sistema complemento quando os animais foram alimentados com 12% de óleo em relação aqueles alimentados com 17%. Ao se comparar as fontes dentro do mesmo nível de óleo, foi constatada uma maior atividade do sistema complemento nas dietas à base de óleo de peixe em relação ao óleo vegetal.

Tabela 6: Parâmetros imunes de corvinas alimentadas com diferentes fontes e níveis lipídicos com o sem adição de selênio.

Fonte	Complemento	Lisozima	Peroxidase
Peixe	180,20±32,33a	5,43±0,16b	33,78±18,88b
Vegetal	115,56±46,76b	5,85±0,91a	96,07±34,42a
Nível(%)			
12	154,01±49,37	5,26±0,13b	58,11±24,04
17	151,13±53,38	6,05±0,74a	75,19±55,52
Selênio			
Sem	175,78±39,58a	5,68±0,74a	59,82±38,76
Com	131,33±51,02b	5,56±0,55b	72,20±45,69
Valor da probabilidade (F) da ANOVA			
F	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*
N	0,6396	<0,0001*	0,1288
Se	0,0001*	0,0198*	0,0888
FxN	0,0012*	<0,0001*	0,0009*
FxSe	0,1132	0,0433*	0,4547
NxSe	<0,001*	0,0111*	0,4165
FxNxSe	0,7831	0,2525	0,1240
CV (%)	11,83	2,25	29,47

*Significante pela estatística F. ¹Letras diferentes difere o fator a 5%. F: Fonte; N: Nível; S: Selênio.

Foi constatado um aumento na atividade da lisozima nos animais que receberam dietas com 17% de óleo em relação aquelas com 12%, independente da fonte estudada (Tabela 7). Os peixes que receberam dietas com 12% de óleo de peixe apresentaram maior atividade de lisozima quando comparado com aqueles alimentados com o mesmo nível de óleo vegetal. Dietas com 17% de óleo vegetal acarretaram em maior atividade dessa enzima em relação as dietas com o mesmo nível de óleo de peixe.

A atividade da peroxidase não foi afetada nos animais que consumiram dietas com 12 ou 17% de óleo de peixe (Tabela 7). Por outro lado, a atividade dessa enzima foi significativamente aumentada quando os animais consumiram dietas com 17% de óleo vegetal em relação ao nível de 12%. Quanto às fontes de óleo, foi observada uma

maior atividade da peroxidase nos animais que consumiram dietas à base de óleo vegetal comparativamente ao óleo de peixe, independente do nível ofertado.

Tabela 7: Parâmetros imunes de corvinas alimentadas com diferentes fontes e níveis lipídicos na dieta.

Fonte	Complemento		Lisozima		Peroxidase	
	Nível (%)		Nível (%)		Nível (%)	
	12	17	12	17	12	17
Peixe	165,5±40,2bx	194,8±12,9ax	5,35±0,09bx	5,51±0,17ay	43,73±19,4ay	21,85±9,60ay
Vegetal	136,7±62,8ay	98,6±24,6by	5,16±0,07by	6,88±0,30ax	72,49±19,9bx	119,64±29,6ax

¹a e b na linha diferem os níveis de óleo dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada nível. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Interação entre os fatores fonte e selênio foram obtidas em relação a atividade da lisozima (Tabelas 6 e 8). Os animais que receberam dietas à base de óleo de peixe não tiveram a atividade da lisozima influenciada pela suplementação de selênio. Porém, os peixes que consumiram dietas à base de óleo vegetal sem esse mineral, apresentaram maior atividade dessa enzima. Ao se comparar as fontes de óleo, foi detectado um aumento significativo na atividade da lisozima nos animais que receberam dietas à base de óleo vegetal, comparativamente aqueles que receberam dietas à base de óleo de peixe, com ou sem adição de selênio (Tabela 8).

Tabela 8: Atividade da lisozima em corvinas alimentadas com diferentes fontes lipídicas, com e sem adição de selênio.

Fonte	Selênio	
	Sem	Com
Peixe	5,44±0,21ay	5,42±0,09 ¹ ay
Vegetal	5,96±1,07ax	5,74±0,82bx

¹a e b na linha diferem a inclusão de selênio dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes com e sem selênio. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Foram detectadas interações entre os fatores nível e selênio para a atividade do sistema complemento e lisozima (Tabela 6 e 9). Os animais que receberam dietas com 12% de óleo, sem suplementação de selênio, apresentaram maior atividade do sistema complemento quando comparado com aqueles alimentados com o mesmo nível de óleo suplementadas com selênio. Por outro lado, a suplementação de selênio não surtiu efeito na atividade do sistema complemento quando as dietas foram constituídas de 17% de óleo. Ao se comparar os níveis de inclusão de óleo na dieta suplementados com selênio, foi observada uma maior atividade do sistema complemento nas dietas com 17% de

óleo em relação aquelas com 12%. Entretanto, quando as dietas não foram suplementadas com selênio, o nível de 12% de óleo gerou maior atividade do sistema complemento comparativamente aquelas com 17%.

Tabela 9: Sistema complemento e atividade da lisozima em corvinas alimentadas com diferentes níveis de óleo, com e sem adição de selênio.

Nível	Complemento		Lisozima	
	Selênio		Selênio	
	Sem	Com	Sem	Com
12	196,43±15,97 ^{ax}	111,58±27,02 ^{by}	5,25±0,08 ^{ay}	5,26±0,17 ^{ay}
17	155,13±46,95 ^{ay}	147,79±62,50 ^{ax}	6,19±0,88 ^{ax}	5,92±0,65 ^{bx}

¹a e b na linha diferem a adição de selênio dentro de cada nível de óleo. x e y na coluna diferem os níveis de óleo dentro de cada adição de selênio. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Dietas com 12% de óleo não geraram diferenças na atividade da lisozima das corvinas, independente da suplementação de selênio. Porém, dietas com 17% de óleo sem suplementação de selênio geraram maior atividade dessa enzima em relação às dietas com suplementação de selênio. Já as dietas com 17% de óleo, suplementadas ou não com selênio, acarretaram maior atividade da lisozima em relação aquelas com 12% de óleo.

DISCUSSÃO

Corvinas alimentadas com óleo vegetal apresentaram um menor desempenho em relação às aquelas que receberam dietas a base de óleo de peixe marinho, o que pode estar relacionado com as diferenças existentes no perfil de ácidos graxos de óleos vegetais assim como suas vias de ação metabólica em relação ao óleo de peixe. Os óleos vegetais em sua natureza apresentam maiores quantidades de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), em especial o linoleico e linolênico, em relação aos óleos de peixes marinho, ricos em ácidos graxos altamente insaturados (HUFA).

As corvinas alimentadas com óleo vegetal apresentaram uma maior deposição de ácido linoleico (AL) no músculo ($21,17 \pm 0,70$ vs $14,20 \pm 0,48$) e fígado ($19,26 \pm 0,72$ vs $16,51 \pm 1,16$) (Capítulo 4, Tabela 8), quando comparado com aquelas alimentadas com óleo de peixe. Os peixes que possuem um aparato enzimático capaz de alongar e dessaturar ácidos graxos poderão obter o ácido araquidônico (AA) a partir de seu precursor, o ácido linoleico (AL). Os resultados deste estudo são sugestivos de que a corvina consegue utilizar tal via de conversão, uma vez que a deposição de AA tanto no músculo ($0,14 \pm 0,02$ vs $0,04 \pm 0,01$) quanto no fígado ($0,17 \pm 0,03$ vs $0,04 \pm 0,01$) foi significativamente maior nos peixes alimentados com óleo vegetal em relação às aqueles alimentados com óleo de peixe (Capítulo 4, Tabela 8).

O AA é substrato para produção de prostaglandinas, as quais exercem diferentes funções no metabolismo animal, como reprodução (PGF 2α) e digestão (PGE 2). A conversão do AA em prostaglandina ocorre no retículo endoplasmático liso, catalisado pelas enzimas ciclooxigenase e peroxidase (Motta, 2011). Desta forma, uma maior quantidade de AA poderá acarretar maior concentração de prostaglandinas, mediada pela elevação da ciclooxigenase (COX) e peroxidase (PER). A elevação da peroxidase nas corvinas que receberam dietas a base de óleo vegetal, em relação às aquelas alimentadas com óleo de peixe ($96,07 \pm 34,42$ vs $33,78 \pm 18,88$), pode estar relacionada a um possível aumento de atividade dessa via, tendo como produto, uma maior quantidade de prostaglandinas. Além disso, a menor atividade da peroxidase nos animais alimentados com óleo de peixe pode ser efeito da inibição da cascata de reações do ácido araquidônico, pela maior quantidade de ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) encontrada no óleo de peixe, a qual reduz a síntese de vários compostos dependentes do AA, incluindo as prostaglandinas (James et al., 2000; Harris

et al., 2006). Essa inibição da cascata de reações do AA pelo EPA e DHA ocorre através da inibição da atividade da ciclooxygenase, produzindo um efeito em cascata o qual irá reduzir a atividade da peroxidase (Kulmacz et al., 1994) e consequentemente, redução da produção de prostaglandinas.

Dentre as funções das prostaglandinas no processo de digestão, pode-se citar a inibição da secreção gástrica, mediada pela PGE2 (Monteiro et al., 2008, Motta, 2011). Essa inibição acarreta em menor aproveitamento das proteínas devido a reduzida secreção gástrica de ácido clorídrico, reduzindo a conversão do pepsinogênio em pepsina. Como consequência, tem-se um menor aproveitamento protéico em dietas a base de óleo vegetal, menor aproveitamento da vitamina C, ferro, entre outros nutrientes, ocasionando um estresse nutricional nas corvinas alimentadas com óleo vegetal. Dentre as consequências desse estresse, foram constatados efeitos como: pior fator de conversão alimentar, menor ganho de peso e pior taxa de crescimento específico, além de acúmulo de gordura hepática, constatada pelo aumento do índice hepatossomático.

A oxidação dos ácidos graxos requer que estes entrem no ciclo do ácido cítrico. Sua entrada se dá na forma de acetil coenzima A e para que isso ocorra ela deve estar ligada a uma molécula de oxaloacetato, para formação de citrato. Desta forma, a demanda de oxaloacetato pelas células hepáticas durante a gliconeogênese é tamanha que as mesmas ficam em depleção de oxaloacetato. Sendo assim, a ausência desta molécula impede a oxidação da Acetil coenzima A, a qual é convertida em corpos cetônicos. Os ácidos graxos formados nos hepatócitos e a formação dos triglicerídeos são estimulados, acarretando em acúmulo de gordura no fígado e consequentemente, aumento do índice hepatossomático (Reece, 2006). Em outros trabalhos também são relatados aumento na deposição de gordura hepática quando realizada a substituição do óleo de peixe por fontes vegetais, a exemplo do salmão do atlântico (Torstensen et al., 2000; Bell et al., 2001).

A lisozima é uma enzima classificada como um peptídio antimicrobiano. Além disso, ela pode atuar como antibiótico, destruindo a parede celular dos agentes infecciosos por hidrólise de seus polissacarídeos de membrana (Arts e Kohler 2009). Desta forma, a atividade da lisozima tende a aumentar em peixes marinhos submetidos a infecções ou a estresse ambiental (Saurabh e Sahoo 2008). Elevação na atividade da

lisozima também foi notada em corvinas submetidas a estresse nutricional, em especial aquele provocado pela substituição da proteína animal por uma fonte vegetal (Estévez et al., 2011). Com base nesses estudos e também nos resultados de desempenho obtidos neste trabalho, podemos sugerir que a maior atividade da lisozima encontrada entre as fontes de óleo (Tabelas 6 e 8), níveis de óleo (Tabelas 6 e 9), assim como presença ou não de selênio (Tabelas 6 e 9), estão relacionadas a um possível estresse nutricional dos peixes.

Uma maior atividade de lisozima também foi verificada em douradas, *Sparus aurata*, alimentadas com 100% de óleo de linhaça quando essas foram submetidas a desafio com *Photobacterium damsela sub piscida* em relação àquelas alimentadas com 100% de óleo de peixe ou soja (Montero et al., 2010). Salmões alimentados com óleo de linhaça ou girassol em substituição ao óleo de peixe não apresentaram diferença na atividade da lisozima (Bell et al., 1996). Entretanto, maiores níveis de lisozima foram obtidos em douradas alimentadas com óleo de peixe em relação àquelas alimentadas com uma mistura de óleos vegetais composto por linhaça, canola e soja (Montero et al., 2003).

A discrepância de resultados obtidos nos trabalhos de avaliação da atividade de lisozima em dietas com substituição do óleo de peixe por fontes vegetais pode estar relacionada às diferentes condições experimentais avaliadas - tipos de óleos vegetais, relações entre PUFA e a espécie estudadas (Saera-Vila et al., 2009).

O sistema complemento e a atividade fagocítica são indicadores muito utilizados em estudos sobre o efeito do estresse em peixes (Scott e Klesius, 1981; Yin et al., 1995; Tort et al., 1996; Ortuno et al., 2002). Em relação a este estudo, foi detectada uma menor atividade da via alternativa do sistema complemento nos peixes alimentados com óleo vegetal, sugerindo assim uma relação direta e antagônica deste parâmetro com o perfil de ácidos graxos encontrado nos óleos vegetais. A inclusão de óleos vegetais também reduziu a atividade da via alternativa do sistema complemento de *Sparus aurata*, assim como a atividade fagocítica de leucócitos no rim anterior (Montero et al., 2008). Além disso, níveis adequados de ômega 3, em especial HUFA, foram necessários para manutenção da via alternativa do sistema complemento de *Sparus aurata* (Montero et al., 1998). Também foi observado redução na atividade do sistema complemento de Salmão do Atlântico alimentados com dietas contendo óleo de linhaça

ou girassol (Bell et al., 1996). Resultados semelhantes foram encontrados em relação à atividade do sistema complemento e atividade fagocítica de *Sparus aurata* alimentadas com dietas contendo óleo de soja (Montero et al., 2003).

A redução na atividade do sistema complemento pode ser em função de uma má formação da membrana celular dos granulócitos dos peixes alimentados com baixos níveis de HUFA presente nos óleos vegetais (Montero et al., 1998). Os HUFA disponíveis na dieta são utilizados pelo organismo para formação e manutenção da membrana celular (Petropoulos et al., 2009). Assim, organismos que tem suas necessidades de HUFA atendidas tendem a manter a higidez de suas células. Desta forma, as células do sistema imune preservam seu efeito contra agentes infecciosos. Por outro lado, animais que não tem suas exigências de HUFA atendida, tendem a um comprometimento da estrutura membranar de suas células, incluindo aquelas do sistema imune, reduzindo a eficiência imunológica dos neutrófilos e macrófagos ativados pelo sistema complemento (opsonização, fagocitose e/ou quimiotaxia), assim como dos basófilos (efeitos inflamatórios).

Corroborando com esta teoria, uma menor atividade de macrófagos foi detectada em *Gadus morhua* alimentados com óleo de echium em relação àqueles alimentados com óleo de peixe (Bell et al., 2006). Uma maior atividade fagocítica foi obtida em garoupas (*Epinephelus malabaricus*) alimentadas com uma relação de 3:1 entre ácido linolênico e linoleico (Whu e Chen, 2012) e também com dietas enriquecidas com DHA na mesma espécie (Wu et al., 2003), semelhante aos resultados deste trabalho. Atrelado a isso, associa-se também uma redução do sistema complemento em peixes submetidos a agentes estressantes, como fatores nutricionais, devido a um aumento do cortisol sanguíneo e consequentemente, seu efeito imunossupressor sobre o sistema complemento (Montero et al., 1998).

CONCLUSÃO

Desta forma, pode-se concluir que o mix de óleo vegetal formado pelos óleos de linhaça, canola e soja compromete o desempenho zootécnico e imunológico de juvenis de corvinas (*A. regius*) quando comparado com óleo de peixe marinho. Conclui-se também que a inclusão de 12% de óleo nas dietas melhora o desempenho zootécnico de corvinas na fase juvenil.

REFERÊNCIAS

- Arts, M.T. and Kohler, C.C. (2009), Health and condition in fish: the influence of lipid on membrane competency and immune response. In: Lipids in Aquatic Ecosystems (Arts, M.T., Brett, M.T. & Kainz, M.J. Eds), pp. 237–256. Springer, New York, NY, USA
- Bell, J.G., Ashton, I., Secombes, C.J., Weitzel, B.R., Dick, J.R. and Sargent, J.R. (1996), Dietary affects phospholipid fatty acid compositions, eicosanoid production and immune function in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids, 54, 173–182.
- Bell, J.G., McEvoy, J., Tocher, D.R., McGhee, F., Campbell, P.J. and Sargent, J.R. (2001), Replacement of fish oil with rape seed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. The Journal of Nutrition 131: 1535–1543.
- Bell, J.G., Strachan, F., Good, J.E. and Tocher, D. R. (2006), Effect of dietary echium oil on growth, fatty acid composition and metabolism, gill prostaglandin production and macrophage activity in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Aquaculture Research, 37: 606–617.
- Bourre, J.M., Bonneil, M., Clément, M., Dumont, O., Durand, G., Lafont, H., Nalbone, G. and Piciotti, M. (1993), Function of dietary polyunsaturated fatty acids in the nervous system. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 48:5-15.
- Estévez, A., Trevino, L., Kotzamanis, Y., Karacostas, I., Tort, L. and Gisbert, E. (2011), Effects of different levels of plant proteins on the ongrowing of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles at low temperatures. Aquacult Nutr 17: E572–E582.
- Harris, W.S., Assaad, B. and Poston, W.C. (2006), Tissue omega-6/omega-3 fatty acid ratio and risk for coronary artery disease. Am J Cardiol. 98:19i-26i.
- James, M.J., Gibson R.A. and Cleland, L.G. (2000), Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. Am J Clin Nutr, 71 (suppl): 343 S - 348 S.
- Kulmacz, J.R., Pendleton, B.R., and Lands, E.M.W. (1994), Interaction between Peroxidase and Cyclooxygenase Activities in Prostaglandin-endoperoxide Synthase. The Journal of Biological Chemistry. V 269, N 8, p.5527-5536.
- Lie, O., Syed, M., Solbu, H. (1986), Improved agar plate assays of bovine lysozyme and haemolytic complement activity. Acta Vet Scand 27: 23–32
- Martino, R.C., Cyrino, J.E.P., Portz, L. and Trugo, L.C. (2002), Performance and fatty acid composition of surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) fed diets with animal and plant lipids. Aquaculture, 209: 233-246.
- Motta, Valter T. Bioquímica Básica. 2ª Edição, Rio de Janeiro. Ed. Medbook. 2011.

Montero, D., Grasso, V., Izquierdo, M.S., Real, F., Tort, L., Caballero, M.J. and Acosta, F. (2008), Total substitution of fish oil by vegetable oil in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: effects on hepatic Mx expression and some immune parameters. *Fish Shellfish Immunol*, 24:147-155.

Montero, M., Kalinowski, T., Obach, A., Robaina, L., Tort, L., Caballero, M.J. and Izquierdo, M.S. (2003), Vegetable lipid sources for gilthead sea bream (*Sparus aurata*): effects on fish health. *Aquaculture*, 225, 353–370.

Montero, D., Tort, L., Izquierdo, M.S., Robaina, L. and Vergara, J.M. (1998), Depletion of serum alternative complement pathway activity in gilthead seabream caused by α -tocopherol and n-3 HUFA dietary deficiencies. *Fish Physiology and Biochemistry* 18:399-407.

Montero, D., Mathlouthi, F., Tort, L., Afonso, J.M., Torrecillas, S., Fernández-Vaquero, A., Negrin, D. and Izquierdo, M.S. (2010), Replacement of dietary fish oil by vegetable oils affects humoral immunity and expression of pro-inflammatory cytokines genes in gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Fish & Shellfish Immunology*, 29. p. 1073-1081.

Montero, D., Grasso, V., Izquierdo, M.S., Ganga, R., Real, F., Tort, L., Caballero, M.J., Acosta, F. (2008), Total substitution of fish oil by vegetable oils in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: effects on hepatic Mx expression and some immune parameters. *Fish Shellfish Immunol*. 24, 147–155. doi:10.1016/j.fsi.2007.08.002

Nelson, David L., Albert L. Lehninger, and Michael M. Cox. *Lehninger principles of biochemistry*. Macmillan, 2008.

Ng, W.K. and Gibon, V. (2011), Palm oil and saturated fatty acid-rich vegetable oils. In: *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds* (Turchini, G.M., Ng, W.K, Tocher, D.R. eds), pp. 99–132. CRC Press, Taylor & Francis group, Boca Raton, FL.

Ortuno, J., Esteban, M.A. and Meseguer, J. (2002), Effects of tour anaesthetics on the innate immune response of gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Fish Shellfish Immunol.*, 12:49-59.

Petropoulos, I.K., Thompson, K.D., Morgan, a., Dick, J.R., Tocher, D.R., Bell, J.G., 2009. Effects of substitution of dietary fish oil with a blend of vegetable oils on liver and peripheral blood leucocyte fatty acid composition, plasma prostaglandin E2 and immune parameters in three strains of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquac. Nutr.* 15, 596–607. doi:10.1111/j.1365-2095.2008.00627.x

Quade, M.J., Roth, J.A. (1997), A rapid, direct assay to measure degranulation of bovine neutrophil primary granules. *Vet Immunol Immunopathol* 58:239–248

Reece, W.O. - Dukes- *Fisiologia dos Animais Domésticos*. 12^a ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2006. 926p.

- Saera-Vila, A., Benedito-Palos, L., Sitjà-Bobadilla, A., Nàcher-Mestre, J., Serrano, R., Kaushik, S. and Pérez-Sánchez, J. (2009), Assessment of the health and antioxidant trade-off in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed alternative diets with low levels of contaminants. *Aquaculture*, 296. p. 87-95.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R. and Bell, J.G. (2002), The lipids. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*. Academic Press, San Diego, pp. 181–257.
- Saurabh, S. and Sahoo, P.K. (2008), Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquacult Res* 39: 223–239.
- Scott, A. and Klesius, P.H. (1981), Chemiluminescence: a novel analysis of phagocytosis in fish. In: Anderson, D. P.; Hennessen, W. (Ed.). *Developments in Biological Standardization*. Karger: Basel, p. 243-256.
- Sunyer J.O., Tort, L. (1995), Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are effected by the alternative complement pathway. *Vet Immunol Immunopathol* 45:333–345
- Tocher, D.R. (2003). Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Reviews in Fisheries Science* 11, 107-184.
- Torstensen, B.E., Lie Ø. and Frøyland, L. (2000), Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L) effects of capelin oil, palm oil, and oleic acid-enriched sunflower oil as dietary lipid sources. *Lipids* 35: 653–664.
- Torstensen, B.E. and Tocher, D.R. (2011), The effects of fish oil replacement on lipid metabolism of fish. In: *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds* (Turchini, G.M. et al. eds), pp. 405–438. CRC Press, Taylor and Francis group, Boca Raton, FL.
- Tort, L., Gómez, E., Montero, D. and Sunyer, J.O. (1996), Serum haemolytic and agglutinating activity as indicators of fish immunocompetence: their suitability in stress and dietary studies. *Aquacul. Int.*, 4:31-41.
- Turchini, G. M., Mentasti, T., Caprino, F., Giani, I., Panseri, S., Bellagamba, F., Moretti, V. M. and Valfré, F. (2005), The relative absorption of fatty acids in brown trout (*Salmo trutta*) fed a commercial extruded pellet coated with different lipid sources *Italian journal of animal science*, 4: 241-252.
- Turchini, G.M., Torstensen, B.E. and Ng, W.K. (2009), Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture*, 1: 10–57.
- Wu, F.C. and Chen, H.Y. (2012), Effects of dietary linolenic acid to linoleic acid ratio on growth, tissue fatty acid profile and immune response of the juvenile grouper *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture* 324–325 (2012) 111–117.

Wu, F.C., Ting, Y.Y. and Chen, H.Y. (2003), Dietary docosahexaenoic acid is more optimal than eicosapentaenoic acid affecting the level of cellular defense responses of the juvenile grouper *Epinephelus malabaricus*. *Fish & Shellfish Immunology* 14, 223–238.

Yin, Z., Lam, T.J. and Sin, Y.M. (1995), The effects of crowding stress on the non-specific immune response in fancy carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish & Shellfish Immunol.*, 5:519-529.

CAPÍTULO 2

Capacidade digestiva e histologia intestinal de corvinas (*Argyrosomus regius*) alimentadas com selênio associado a diferentes fontes e níveis lipídicos

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho analisar a atividade das enzimas digestivas de corvina (*Argyrosomus regius*) alimentadas com diferentes fontes e níveis de óleo vegetal, em substituição ao óleo de peixe, com e sem selênio. Um total de 600 corvinas com peso médio de $20,45 \pm 1,4$ g foram distribuídas aleatoriamente em 24 tanques de 80 litros, em um sistema de recirculação de água. Durante o ensaio a temperatura da água foi de $20,7 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$ e oxigênio $8,8 \pm 1,7$ mg L⁻¹. Os peixes foram alimentados com oito dietas experimentais por 60 dias, duas vezes por dia durante seis dias por semana. Foram avaliadas dietas experimentais com duas fontes de óleo (peixe ou vegetal), dois níveis de lipídios (12 e 17%) e suplementação de selênio (presença ou ausência), sendo os resultados analisados em esquema fatorial. As enzimas digestivas analisadas foram: lipase, amilase, tripsina e quimiotripsina. As análises histológicas foram: camada muscular circular, camada muscular longitudinal, submucosa e altura do epitélio. As atividades da amilase e tripsina foram maiores quando os peixes consumiram óleo de peixe. Por outro lado, a atividade de lipase foi maior nos peixes que consumiram dietas a base de óleo vegetal. Quanto aos níveis de lipídios, dietas com 17% geraram maior atividade da amilase em relação às dietas com 12%. O inverso foi observado na atividade de quimiotripsina. Em relação à atividade da lipase, não foram observadas diferenças nos dois níveis de lipídios estudados. Não houve diferença na atividade das enzimas digestivas em relação a suplementadas de selênio. Diferença histológica foi observada entre as fontes de óleo e também entre os níveis. Pode-se concluir que a fonte e os níveis de lipídios avaliados tem influência na atividade das enzimas digestivas estudadas.

Palavras-chave: enzimas digestivas, fontes lipídicas, óleos vegetais, substituição.

ABSTRACT

This study aimed to analyze digestive enzymes activities of meagre (*Argyrosomus regius*) fed with different levels of vegetable oil blend in replacement of fish oil, associated or not with selenium. A total of 600 meagre with an average weight of $20.45 \pm 1.4\text{g}$ were distributed randomly in 24 tanks of 80 liters capacity, in a closed recirculation water system. During the trial the water temperature was $20.7 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$ and oxygen $8.8 \pm 1.7\text{ mg L}^{-1}$. The fishes were fed with eight experimental diets for 60 days, twice a day for six days per week. In this experiment, we studied experimental diets with two sources of oil (fish or vegetable), two lipid levels (12 and 17%) and selenium supplementation (presence or absence). The results were analyzed by three way factorial. The digestive enzymes analyzed were: lipase, amylase, trypsin and chymotrypsin. The histological analyses were: Circular Muscular layer, Long. Musc layer, Sub-mucosa and Epithelium height. Amylase and chymotrypsin activity was bigger in Fish oil when compared with vegetable oil. On the other hand, lipase activity was higher in vegetable oil. Regarding the levels of lipids, diets with 17% had higher amylase activity than diets with 12%. The inverse was observed in chymotrypsin activity. In relation to lipase activity, no differences were observed on the two levels of lipids studied. No differences in digestive enzymes activities were observed when diets were supplemented with selenium. Histological difference was seen in fish fed with vegetable source oil and those fish fed with 12% of lipid. In conclusion, our study showed that the source and levels of lipid in diets for meagre have influence in activity of digestive enzymes like amylase, lipase and chymotrypsin. Furthermore, levels of selenium do not cause an alteration in studied digestive enzymes.

Key-words: digestive enzymes, lipid source, replacement, vegetable oil.

INTRODUÇÃO

A produção aquícola mundial aumentou significativamente desde meados dos anos 1970, desempenhando um papel importante como fornecedor de proteína e lipídios com elevado valor nutricional (FAO, 2014). Dentre as espécies de peixes recém-cultivadas, destaca-se a corvina (*Argyrosomus regius*), como potencial candidata para a diversificação da aquicultura.

O interesse pela corvina *A. regius* tem crescido devido as suas características biológicas, como taxas de crescimento elevadas, ótima conversão alimentar, elevada fertilidade (Quéméner et al., 2002), facilidade de obtenção de larvas (Vallés e Estévez, 2013) e rápida aclimatização ao cativeiro (Duncan et al., 2012). Apesar da introdução da corvina na indústria aquícola, ainda existem poucos conhecimentos sobre sua exigência nutricional, assim como dos ingredientes ideais para composição de sua dieta (Estevez et al., 2011). Desta forma, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos que avaliem, dentre outros, sua demanda por macronutrientes e micronutrientes, como proteínas e lipídios, vitaminas e minerais.

A eficiência com a qual os macronutrientes da dieta são disponibilizados para o metabolismo do animal depende, primeiramente, da presença de enzimas digestivas no trato intestinal. Além disso, o tipo e a concentração dos nutrientes presentes na dieta tem relação direta com a secreção enzimática intestinal. Assim como os minerais, lipídios devem ter relação direta com a secreção de enzimas pancreáticas.

O óleo de peixe é um ingrediente muito utilizado em dietas para peixes marinhos. Entretanto, sua limitada oferta no mercado fez com que aumentasse a busca por fontes lipídicas alternativas a esse ingrediente (Turchini et al., 2009). Alguns autores têm apontado os óleos vegetais como possíveis candidatos a substituírem o óleo de peixe na elaboração de dietas para peixes marinhos (Bahurmiz and Ng, 2007; Turchini et al., 2009). Além disso, por apresentar elevado teor energético, diferentes fontes e níveis de óleo poderão modular o consumo de ração pelos peixes, podendo acarretar em alterações na secreção de enzimas digestivas assim como na histologia intestinal.

É provável que a presença de minerais, associados com alterações na composição lipídica das dietas, tenha efeito direto sobre a secreção enzimática de peixes, intervindo assim no processo de digestão de todos nutrientes. O selênio é um

micromineral essencial na dieta de organismos aquáticos que age protegendo os ácidos graxos contra danos oxidativos. Além disso, problemas relacionados à redução da secreção de enzimas digestivas são observados em dietas com baixos níveis de selênio (Cantor et al., 1975). Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes fontes e níveis de lipídios na dieta de corvina (*Argyrosomus regius*), associado à suplementação de selênio sobre a atividade enzimática e histologia intestinal.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste trabalho¹, foram elaboradas oito dietas experimentais isoproteicas (Tabelas 1 e 2) constituídas por duas fontes de óleo (peixe marinho ou mix de óleo vegetal), dois níveis de inclusão deste óleo (12 e 17%) com e sem suplementação de 1,0 mg/kg de selênio. O óleo vegetal foi composto por 45% de óleo de linhaça, 35% de óleo de canola e 20% de óleo de soja. A inclusão de óleo nas dietas foi realizada em duas etapas, sendo a primeira durante o processo de mistura dos ingredientes e a segunda realizada por cobertura após o processamento. Os ingredientes das dietas foram finamente moídos e misturados em misturador tipo "Y". Posteriormente, as dietas foram extrusadas em peletes com 2-3 mm e armazenadas a 4°C até o momento da oferta. As mesmas foram ofertadas *ad libitum* duas vezes ao dia (10:00 e 16:00 h), seis dias por semana.

¹Desenvolvido segundo as recomendações da *Federation of European Laboratory Animal Science Associations* (FELASA), de acordo com as orientações para utilização de animais com fins científicos da diretiva Européia 2010/63/UE.

Tabela 1: Dietas experimentais contendo diferentes fontes e níveis de óleo, com e sem adição de selênio.

Ingredientes	Dietas							
	Óleo de peixe				Óleo vegetal			
	12%		17%		12%		17%	
	Selênio		Selênio		Selênio		Selênio	
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
Concentrado Soja (%)	28,4	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40
Farinha de Visceras Aves (%)	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00
Farinha Penas (%)	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Farinha Tilápia (56%)	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Farelo Trigo (%)	8,80	8,80	6,80	6,80	8,80	8,80	6,80	6,80
Milho Grão (%)	6,00	6,00	3,12	3,12	6,00	6,00	3,12	3,12
Farinha Carne(43%)	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61
Glúten Trigo(%)	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
DL – Metionina (%)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Binder (%)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fungistático (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Vitamina C (%)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Selênio (mg kg ⁻¹)	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	1,0
Óleo de Peixe (%)	6,16	6,16	11,36	11,36	-	-	-	-
Óleo de Canola (%)	-	-	-	-	2,16	2,16	3,97	3,97
Óleo de Linhaça (%)	-	-	-	-	2,77	2,77	5,11	5,11
Óleo de Soja (%)	-	-	-	-	1,23	1,23	2,27	2,27
Premix - Vit e Mineral (%)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Cloreto de Colina (%)	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Composição centesimal calculada das dietas experimentais								
Proteína bruta (%)	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
Gordura (%)	12,0	12,0	17,0	17,0	12,0	12,0	17,0	17,0
Energia digestível (Mcal kg ⁻¹)	3,93	3,93	4,27	4,27	3,93	3,93	4,27	4,27
Fibra bruta (%)	2,19	2,19	1,92	1,92	2,19	2,19	1,92	1,92
Cálcio (%)	2,24	2,24	2,23	2,23	2,24	2,24	2,23	2,23
Fósforo total (%)	1,59	1,59	1,56	1,56	1,59	1,59	1,56	1,56
Fósforo disponível (%)	1,14	1,14	1,13	1,13	1,14	1,14	1,13	1,13
Lisina total(%)	2,54	2,54	2,51	2,51	2,54	2,54	2,51	2,51
Metionina total (%)	1,28	1,28	1,27	1,27	1,28	1,28	1,27	1,27
Met.+ Cistina total (%)	1,69	1,69	1,66	1,66	1,69	1,69	1,66	1,66

Níveis de garantia por kg de produto. Vit. A, 6000 UI; Vit. D, 6000 UI; Vit. K, 6,30 mg; Vit. B1, 11,76 mg; Vit.B2, 15,36 mg; Vit. B6, 12,74 mg; Vit. B12, 40 mcg; Ácido fólico, 1,92 mg; Ácido pantotênico, 39,20 mg; Colina, 800 mg; Niacina, 400 mg; Biotina, 0,2 mg; Antioxidante, 300 mg; Ferro, 257,15 mg; Zinco, 300 mg; Manganês, 133,45 mg; Cobre, 19,60 mg; Iodo, 9,40 mg.

Tabela 2: Perfil de ácidos graxos* das dietas experimentais constituídas por diferentes níveis e fontes de óleo, com e sem adição de selênio.

Ácido Graxo (g/100g)	Dietas							
	Óleo de peixe				Óleo vegetal			
	12%		17%		12%		17%	
	Selênio		Selênio		Selênio		Selênio	
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
C 12:0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0
C 13:0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C 14:0	4,2	4,2	4,8	4,5	1,1	0,9	0,7	0,7
C 14:1 n7	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
C 15:0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1
C 15:1 n7	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1
C 16:0	22,9	23,2	21,5	21,3	18,2	18,7	15,7	15,0
C 16:1 n7	4,9	4,9	5,0	4,8	2,3	2,4	1,8	1,7
C 16:2 n6	0,8	0,5	0,9	0,9	0,3	0,3	0,2	0,2
C 16:3 n3	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
C 16:4 n3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,1	0,1	0,0	0,1
C 18:0	4,6	5,6	5,1	5,9	4,0	3,8	4,7	7,6
C 18:1 n9	15,1	15,4	15,7	16,4	21,5	19,7	17,6	20,6
C 18:1 n7	1,9	1,7	1,9	1,8	2,1	2,5	1,6	1,3
C 18:2 n6	20,6	20,1	17,2	17,4	27,8	28,0	29,2	26,6
C 18:2 n3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
C 18:3 n3	3,2	2,6	2,9	2,8	17,5	19,3	24,5	22,8
C 18:4 n3	1,5	1,5	1,8	1,7	0,6	0,4	0,5	0,4
C 20:1 n9	0,8	0,8	0,7	0,7	0,6	0,7	0,6	0,5
C 20:2 n6	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
C 20:3 n3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0
C 21:0	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
C 20:4 n6	1,5	1,4	1,4	1,4	0,8	0,6	0,6	0,5
C 20:4 n3	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C 22:1 n9	0,6	0,5	0,5	0,6	0,3	0,3	0,3	0,3
C 20:5 n3	7,0	7,0	8,8	8,3	0,3	0,0	0,1	0,1
C 21:5 n3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C 22:3 n6	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
C 22:4 n6	0,4	0,4	0,4	0,4	0,2	0,2	0,1	0,1
C 22:5 n3	0,8	0,8	0,9	0,9	0,2	0,1	0,1	0,1
C 22:6 n3	5,5	5,7	6,9	6,5	0,3	0,1	0,1	0,1
N.D.	1,1	1,3	1,2	1,1	0,4	0,7	0,5	0,4
Saturado	32,7	33,9	32,2	32,6	23,8	23,9	21,6	23,7
Monoinsaturado	23,5	23,6	24,1	24,7	27,1	25,7	22,1	24,6
n-9	16,5	16,7	17,0	17,7	22,5	20,6	18,5	21,4
n-6	23,6	22,8	20,2	20,5	29,3	29,3	30,3	27,6
n-3	19,0	18,5	22,4	21,3	19,2	20,4	25,5	23,7
n-3/n-6	0,8	0,8	1,1	1,0	0,7	0,7	0,8	0,9

*Valores analisados.

Sistema de cultivo

Juvenis de corvina ($20,45 \pm 1,4$ g) foram obtidas do Instituto Português do Mar e Atmosfera (IPMA) e transportados até o Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS), onde passaram por um período de adaptação ao sistema de recirculação. Os peixes foram distribuídos em 24 tanques de fibra de vidro (80 L) numa densidade de 25 corvinas por tanque, onde passaram por um período de 10 dias de adaptação as instalações seguidos de mais três dias de adaptação as dietas experimentais. A qualidade de água no sistema foi mantida com auxílio de um escumador e filtros mecânicos, de areia e ultravioleta. Cada tanque recebeu aeração individual e um sistema emergencial para suprimento de oxigênio puro em caso de falha do aerador principal. Ao longo dos 60 dias de ensaio, foram obtidos os seguintes valores médios para as variáveis físico-químicas da água: temperatura de $20,7 \pm 0,7$ °C; oxigênio de $8,8 \pm 1,7$ mg L⁻¹.

Enzimas digestivas

Para determinação da atividade das enzimas digestivas, os intestinos de seis peixes de cada tratamento foram coletados e homogeneizados segundo Rungruangsak-Torrison (2007). A quantificação do conteúdo proteico intestinal foi realizada segundo metodologia de Lowry et al. (1951). Posteriormente, a atividade enzimática foi calculada com base no valor proteico e determinada em unidade de atividade enzimática por miligrama de proteína total. A atividade da alfa-amilase foi determinada com base na quantificação da formação de maltose, segundo Areekijserree et al. (2004). A determinação da atividade da lipase foi realizada tomando como base a decomposição de um complexo lipídico, segundo o método de digestão do p-nitrophenyl palmitato, como descrito por Winkler e Stuckmann (1979). A atividade da tripsina e quimotripsina foram mensuradas pelo método de produção da nitroanilina, de acordo com Rungruangsak-Torrison (2006).

Morfologia intestinal

Para desenvolvimento desta técnica, foram coletadas seis amostras por tratamento da porção médio distal do intestino. Em seguida as amostras foram lavadas com PBS, fixadas em formol tamponado a 4%, identificadas e armazenadas a 4°C por 24 h. Posteriormente, as amostras foram retiradas do formol sendo efetuada três

lavagens com PBS em pH 7,4. Em seguida, as amostras foram acondicionadas e mantidas em álcool 70% até seu processamento.

A confecção das lâminas histológicas foram realizadas a partir da fixação das amostras intestinos em 10% de formol tamponado (pH 7,2) e posteriormente embebidas em parafina. Secções de 5µm, obtidos em micrótomo Leica[®] RM-2155 (Leyca, Viena, Áustria), foram corados com hematoxilina-eosina para observações histológicas gerais. Cortes longitudinais de intestino posterior foram examinadas ao microscópio binocular, Nikon Eclipse Ci, e as fotos foram tiradas com a câmera Nikon DS-Fi2. Subcamada muscular, a altura do epitélio e as medições da espessura da camada muscular foram utilizados como critérios para avaliar a morfologia intestinal (Uran et al., 2008; Martínez-Llorens et al., 2012), onde seis medições de cada parâmetro foram realizadas em duas secções de cada peixe (seis peixes de cada tratamento), resultando num total de 72 medições.

Medições e processamento de imagens foram feitas usando o programa Image J 1.48p (EUA), e todas as médias e gráficos subsequentes foram operados em Microsoft Office Excel 2010[®] para Windows[®].

Determinação da Glicose

Punções na veia caudal dos peixes foram realizadas para coleta de sangue, sendo esse imediatamente adicionado a uma fita de glicose para leitura em glicosímetro. As unidades de glicose foram expressas em mg/dL de sangue.

Análise estatística

As variáveis experimentais foram analisadas em triplicado com base num delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2x2x2, composto por duas fontes de óleo (peixe marinho ou mix de óleo vegetal), dois níveis lipídicos (12 e 17%) e inclusão ou não de 1mg/kg de selênio. Para realização da ANOVA foi constada a homogeneidade dos dados pelo teste de Bartlett assim como sua normalidade, pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. As médias foram comparadas com base na estatística "F" da ANOVA a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

As fontes de óleo na dieta geraram diferenças na atividade da lipase intestinal das corvinas na qual o óleo vegetal proporcionou maior atividade desta enzima (Tabela 3). Por outro lado, a atividade da amilase, tripsina, quimotripsina e nível de glicose sanguínea foram maiores nas dietas à base de óleo de peixe. Apesar dos níveis lipídicos das dietas não terem efeitos na atividade da lipase, maior atividade da amilase e nível de glicose sanguínea foram constatados em peixes alimentados com dietas contendo 12% lipídios. A quimotripsina apresentou maior atividade quando os animais foram alimentados com 17% de óleo na dieta. Em relação à suplementação de selênio, não foi observado nenhum efeito desse mineral no nível de glicose sanguínea e nem na atividade das enzimas digestivas estudadas.

Tabela 3: Atividade de enzimas digestivas e nível de glicose sanguínea de corvinas alimentadas com dietas contendo fontes e níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.

Fonte (F)	Lipase	Amilase	Tripsina	Quimotripsina	Glicose
Peixe	30,12±7,31b ¹	4,07±1,20a	273,13±123,1a	9,67±3,06a	98,68±21,11a
Vegetal	43,56±14,59a	2,95±0,91b	164,87±75,8b	8,31±3,14b	46,36±15,67b
Nível (N)					
12	35,75±12,38	3,99±1,23a	238,8±117,8	8,04±2,13b	84,80±30,23a
17	36,63±13,71	3,03±1,18b	211,5±116,9	9,86±3,55a	63,44±32,06b
Selênio (Se)					
Sem	35,43±12,43	3,36±1,19	229,45±112,1	8,52±2,47	75,79±34,47
Com	37,02±13,75	3,76±1,22	218,39±123,5	9,54±3,61	71,71±31,74
Valor da probabilidade (F) da ANOVA					
F	0,0006*	0,0085*	0,0026*	0,0445*	<0,001*
N	0,8375	0,0443*	0,6335	0,0439*	0,0212*
Se	0,7270	0,2110	0,7222	0,3278	0,7073
FxN	0,4895	0,6192	0,8475	0,3145	0,5457
FxSe	0,8181	0,4183	0,9346	0,7976	0,9452
NxSe	0,9503	0,1992	0,2277	0,0702	0,5316
FxNxSe	0,5328	0,3792	0,3914	0,7755	0,5109
CV (%)	32,89	21,05	28,43	21,58	24,35

*Significante pela estatística F. ¹Letras diferentes na coluna difere o fator a 5%. Valores de lipase e quimotripsina expressos em mU/mg, amilase em U/mg e glicose em mg/dL. CV: Coeficiente de variação.

Em relação à histologia intestinal, foi detectado efeito isolado dos fatores fonte e nível para a camada de músculo circular, onde as corvinas alimentadas com óleo de peixe ou 12% de óleo apresentaram maior espessura deste músculo (Tabela 4). Além disso, foram detectados efeitos isolados dos fatores nível e selênio na espessura do

músculo longitudinal dos animais que consumiram dietas com 12% de óleo, assim como, dos que receberam dietas suplementadas com selênio, que apresentaram maior espessura deste músculo. Por outro lado, nenhum efeito significativo dos fatores estudados foi detectado na submucosa e altura do epitélio. Quanto ao consumo de ração, efeitos isolados foram detectados para os fatores fonte e nível, onde os maiores consumos foram detectados nos animais que receberam dietas à base de óleo de peixe e 12% de lipídios.

Tabela 4: Influência de diferentes fontes e níveis de óleo e suplementação de selênio na histologia intestinal e consumo de ração.

Fonte (F)	Músculo circular	Músculo longitudinal	Submucosa	Altura do epitélio	Consumo de ração
Peixe	46,23±13,62a	25,36±5,31	14,04±3,90	10,88±2,18	21,57±1,24a
Vegetal	38,01±13,45b	26,32±9,62	13,88±3,66	10,31±1,70	20,34±1,23b
Nível (N)					
12	47,56±13,14a ¹	27,89±5,62a	14,34±3,62	10,95±1,81	21,79±1,15a
17	38,28±13,54b	24,05±8,48b	13,66±3,91	10,34±2,10	20,12 ±1,01b
Selênio(Se)					
Sem	39,97±13,05	23,35±7,35b	13,54±4,37	10,05±2,18	21,06±1,53
Com	45,02±14,77	28,24±6,97a	14,40±3,06	11,19±1,60	20,85±1,23
Valor da probabilidade (F) da ANOVA					
F	0,040*	0,412	0,948	0,474	0,004*
N	0,029*	0,041*	0,576	0,291	0,001*
Se	0,230	0,036*	0,357	0,084	0,579
FxN	0,302	0,164	0,906	0,207	0,805
FxSe	0,944	0,410	0,418	0,517	0,469
NxSe	0,469	0,246	0,213	0,781	0,090
FxNxSe	0,175	0,058	0,694	0,682	0,432
CV (%)	30,40	25,68	28,21	18,46	4,32

*Significante pela estatística F. ¹Letras diferentes diferem o fator a 5%. Medições apresentadas em µm.

CV: Coeficiente de variação. Consumo ração: gramas por animal.

DISCUSSÃO

Os níveis de glicose foram influenciados pela fonte de óleo disponível na dieta assim, como o nível de inclusão (Tabela 3). Dentre os fatores que influenciam nos níveis de glicose sanguínea, pode-se destacar: fotoperíodo, tempo de jejum (Pavlidis et al., 1999), tamanho do peixe e temperatura da água (Hemre et al., 1999). Além disso, por ser afetada por condições adversas, a glicose também atua como um indicador de estresse animal (Rotllant e Tort, 1997; Rotllant et al., 1997; Pottinger, 1998). Desta forma, pode-se evidenciar que as corvinas alimentadas com óleo vegetal e também com 17% de lipídios na dieta foram submetidos a estresse nutricional por apresentarem menores níveis de glicose sanguínea.

Baixos níveis de glicose estimulam a produção dos hormônios glucagon e epinefrina, os quais ativam a lipase de triacilglicerol hormônio sensível, presente nos adipócitos, disponibilizando os lipídios de reserva para serem oxidados pelos tecidos (ex: músculo esquelético e coração) (Motta, 2011). *Sparus aurata* submetidas a dietas com óleo vegetal (linhaça, canola e girassol) em substituição ao óleo de peixe apresentaram aumento na lipase hormônio sensível em relação aos peixes alimentados com óleo de peixe, tendo como consequência um aumento na lipólise desses peixes (Garcia et al., 2011). Com base nos dados obtidos neste trabalho, pode-se supor que há também um estímulo da lipase pancreática para maximizar o aproveitamento dos lipídios dietéticos, como forma de suprir a demanda energética gerada pelo estresse nutricional desses peixes.

Em relação à capacidade digestiva dos animais, foi evidenciado um efeito significativo das fontes de óleo sobre a atividade da lipase, amilase, tripsina e quimotripsina. Além disso, os níveis de óleo influenciaram diretamente na atividade da amilase e quimotripsina. Com base nos dados apresentados na Tabela 3, em especial para os níveis de glicose e lipase, pode-se supor que o estresse nutricional gerado pela alimentação das corvinas com dietas a base de óleo vegetal estimulou a gliconeogênese na tentativa de manter os níveis de glicose sanguínea e suprimento de sua demanda energética. Um aumento dos níveis de lipase sanguínea e muscular foi verificado em ratos submetidos a estresse (Hülsmann e Dubelaar, 1986). Além disso, um aumento na expressão da lipase hepática e do tecido adiposo foi detectado em *Pagrus major* submetidas a jejum prolongado (Liang et al., 2002), semelhante aos resultados obtidos

neste trabalho. Atualmente, pouco se conhece a respeito dos efeitos nutricionais e hormonais sobre a atividade da lipase em peixes (Turchini et al., 2009). Entretanto, pode-se supor que sua atividade tende a ser aumentada quando o animal é submetido a agentes estressores, como aqueles relacionados aos fatores nutricionais.

É conhecido também que a digestibilidade dos ácidos graxos é influenciada diretamente pelo comprimento da cadeia e também pelo seu grau de insaturação (Ng et al., 2004; Francis et al., 2007). A quantidade de ácidos graxos saturados na dieta é outro fator que interfere negativamente em sua digestibilidade (Ng et al., 2003), comprometendo o desempenho dos animais (Ng e Gibon, 2011), por reduzir sua digestibilidade e, conseqüentemente, o consumo e conversão alimentar (Turchini et al., 2013). Entretanto, esse fato não foi observado neste trabalho, onde as dietas com maior quantidade de ácidos graxos saturados (óleo de peixe) geraram o melhor desempenho das corvinas. Tal fato reforça a afirmativa de que o pior desempenho dos animais alimentados com óleo vegetal deve-se ao estresse nutricional provocado.

Uma maior espessura do músculo circular dos animais alimentados com óleo de peixe foi detectado neste trabalho. Tais resultados corroboram com os obtidos por Yadav et al. (2014), que observaram um encurtamento dos músculos intestinais (circular e longitudinal) de bagres africano (*Clarias batrachus*) alimentados com óleo de soja e óleo de linhaça. Segundo Boonyaratpalin et al. (1998), as alterações histológicas no intestino podem reduzir o desempenho dos animais alimentados com dietas à base de óleo vegetal. Além disso, Yadav et al. (2014) sugeriram que a alteração da fonte lipídica na dieta está diretamente relacionada com alterações histológicas intestinais de *Clarias batrachus*. Tais resultados estão de acordo com os encontrados neste estudo, em que os peixes alimentados com dietas à base de óleo vegetal apresentaram menor desempenho em relação àqueles que consumiram óleo de peixe (Capítulo 1, Tabela 3).

O nível de óleo estudado também apresentou efeito significativo nos músculos longitudinal e circular, onde o nível de 12% gerou maior área desses músculos. Tais resultados estão de acordo com o desempenho dos animais, nos quais peixes alimentados com 12% de óleo tiveram maior ganho de peso e taxa de crescimento específico em relação aos alimentados com 17% de óleo (Capítulo 1, Tabela 3). O melhor desempenho desses animais pode estar associado, além de outros fatores, a maior área desses músculos. Isso se justifica, pois a contração do músculo circular reduz

a luz do trato intestinal (Junqueira e Carneiro, 2008), promovendo assim uma maior mistura do conteúdo presente no lúmen com as enzimas digestivas ali presentes. Este processo acarreta melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta. Já o músculo longitudinal, juntamente como músculo circular, é responsável pela mistura, circulação e propulsão do conteúdo encontrado no lúmen intestinal (Junqueira e Carneiro, 2008), facilitando a absorção dos nutrientes.

A maior espessura dos músculos longitudinal e circular pode estar relacionado com o maior consumo de alimento dos animais que receberam as dietas com 12% de óleo, assim como daqueles que receberam dietas à base de óleo de peixe. Como ingredientes a base de peixe apresentam uma boa palatabilidade (Lovell, 1984), é provável que esse fator tenha estimulado o consumo. Além disso, alguns autores sugerem que dietas a base de óleos vegetais, como soja, pioram a palatabilidade da dieta, tendo como consequência um menor consumo (Fowler, 1980, Boonyaratpalin et al., 1998).

O maior consumo de ração gerado pelas dietas contendo 12% de lipídios pode está relacionado à demanda energética do animal. Tendo em vista que o consumo é regulado pela energia ingerida e que existe uma relação inversa entre consumo e energia ingerida (Sakomura et al., 2014), pode-se admitir que o menor consumo dos animais que receberam dietas com 17% de óleo deve-se ao maior teor energético dessa dieta. Sendo assim, o maior consumo dos animais alimentados com 12% de óleo e com dietas a base de óleo de peixe pode ter promovido uma maior movimentação do intestino, para digerir e absorver os nutrientes da ração, a qual gerou uma maior movimentação dos músculos circulares e longitudinais, tendo como consequência um aumento de suas espessuras.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a substituição de óleo de peixe por uma mistura de óleos vegetais altera significativamente a atividade de algumas enzimas digestivas, assim como os níveis de glicose sanguínea. Além disso, a mistura de óleo vegetal avaliada neste trabalho acarretou menor área do músculo circular. Dietas com 17% de óleo gerou menor área dos músculos circular e longitudinal de corvinas em relação às dietas com 12% de óleo.

REFERÊNCIAS

- Areekijseree, M., Engkagul, A., Kovitvadhi, U., Thongpan, A., Mingmuang, M., Pakkong, P. and Rungruangsak-Torrissen, K. (2004), Temperature and pH characteristics of amylase and proteinase of adult freshwater pearl mussel, *Hyriopsis* (*Hyriopsis*) *bialatus* Simpson 1900. *Aquaculture*, 234: 575–587.
- Bahurmiz, O.M. and Ng, W.K. (2007), Effects of dietary palm oil source on growth, tissue fatty acid composition and nutrient digestibility of red hybrid tilapia, *Oreochromis sp.*, raised from stocking to marketable size. *Aquaculture* 262, 382–392. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.11.023
- Boonyaratpalin, M., Suraneiranat, P. and Tulpibal, T. (1998), Replacement of fish meal with various types of soybean products in diets for the Asian seabass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture* 161, 67–78.
- Cantor, A.H., M.L. Langevin, T. Noguchi. and Scott M.L. (1975), Efficacy of Se in Se compounds and feedstuffs for prevention of pancreatic fibrosis in chicks. *Journal Nutrition*. p.105- 106.
- Duncan, N.J., Estévez, A., Porta, J., Carazo, I., Norambuena, F., Aguilera, C., Gairin, I., Bucci, F., Vallés, R. and Mylonas, C.C. (2012), Reproductive development, GnRH-induced spawning and egg quality of wild meagre (*Argyrosomus regius*) acclimatised to captivity. *Fish Physiol. Biochem.* 38, 1273–1286.
- Estévez, a., Treviño, L., Kotzamanis, Y., Karacostas, I., Tort, L. and Gisbert, E. (2011), Effects of different levels of plant proteins on the ongrowing of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles at low temperatures. *Aquac. Nutr.* 17, e572–e582.
- FAO, 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture 2014 (SOFIA). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Francis, D.S., Turchini, G.M., Jones, P.L. and De Silva, S.S. (2007), Effects of fish oil substitution with a mix blend vegetable oil on nutrient digestibility in Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. *Aquaculture*, 269, 447–455.
- Fowler, L.G. (1980), Substitution of soybean and cottonseed products for fishmeal in diets fed to chinook and coho salmon. *Prog. Fish-Cult.* 42, 87–91.
- Garcia, L.C., Gurmaches, J.S., Bouraoui, L., Vila, A.S., Sánchez, J.P., Gutiérrez, J. and Navarro, I. (2011) Changes in adipocyte cell size, gene expression of lipid metabolism markers, and lipolytic responses induced by dietary fish oil replacement in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.), *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, Volume 158, Issue 4, Pages 391-399.
- Hemre, G.I. and Sandnes, K. (1999), Effect of dietary lipid level on muscle composition in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture Nutrition* 5, 9–16.

- Hülsmann, W.C. and Dubelaar, M.L. (1986), Lipoprotein lipases and stress hormones: studies with glucocorticoids and cholera toxin. *Biochim Biophys Acta.* 3;875(1):69-75.
- Junqueira, Luiz Carlos Uchoa; Carneiro, Jose. *Histologia básica: [texto, atlas]*. 11. ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 2008.
- Liang, X.F., Ogata, H.Y. and Oku, H. (2002), Effect of dietary fatty acids on lipoprotein lipase gene expression in the liver and visceral adipose tissue of fed and starved red sea bream *Pagrus major*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 132: 913–919.
- Lovell, R.T. (1984), Use of soybean products in diets for aquaculture species. *Animal Nutrition Bulletin. American Soybean Association*, February 1984, pp. 1–6.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. (1951), Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. biological chemistry*, 193(1), 265-275.
- Martínez-Llorens, S., Baeza-Ariño, R., Nogales-Mérida, S., Jover-Cerdá, M. and Tomás-Vidal, A. (2012), Carob seed germ meal as a partial substitute in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: Amino acid retention, digestibility, gut and liver histology. *Aquaculture* 338-341, 124–133. doi:10.1016/j.aquaculture.2012.01.029.
- Motta, Valter T. *Bioquímica Básica*. 2ª Edição, Rio de Janeiro. Ed. Medbook. 2011.
- Ng, W.K. and Gibon, V. (2011), Palm oil and saturated fatty acid-rich vegetable oils. In: *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds* (Turchini, G.M., Ng, W.K, Tocher, D.R. eds), pp. 99–132. CRC Press, Taylor & Francis group, Boca Raton, FL.
- Ng, W.K., Campbell, P.J., Dick, J.R. and Bell, J.G. (2003), Interactive effects of dietary palm oil concentration and water temperature on lipid digestibility in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Lipids*, 38, 1031–1038.
- Ng, W.K., Sigholt, T. and Bell, J.G. (2004), The influence of environmental temperature on the apparent nutrient and fatty acid digestibility in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed finishing diets containing different blends of fish oil, rapeseed oil and palm oil. *Aquacult. Res.*, 35, 1228–1237.
- Pavlidis, M., Paspatis, M., Koistinen, M., Paavola, T., Divanach, P. and Kentouri, M. (1999). Diel rhythms of serum metabolites and thyroid hormones in red porgy held in different photoperiod regimes. *Aquaculture International* 7, 29–44.
- Pottinger, T.G. (1998). Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets. *Journal of Fish Biology*, 53: 728–742.
- Quémener, L., Suquet, M., Mero, D. and Gaignon, J.L. (2002), Selection method of new candidates for finfish aquaculture: the case of the French Atlantic, the Channel and the North Sea coasts. *Aquat. Living Resour.* 15, 293–302.

Rotllant, J., Pavlidis, M., Kentouri, M., Adad, M.E. and Tort, L. (1997), Non-specific immune responses in the red porgy, *Pagrus pagrus*, after crowding stress. *Aquaculture* 156, 279–290.

Rotllant, J. and Tort, L. (1997), Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. *Journal of Fish Biology* 51, 21–28.

Rungruangsak-Torrissen, K., Moss, R., Andresen, L.H., Berg, A. and Waagbø, R. (2006), Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Physiol. Biochemistry*, 32: 7–23.

Rungruangsak-Torrissen, K. (2007), Digestive efficiency, growth and qualities of muscle and oocyte in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed on diets with krill meal as an alternative protein source. *J. Food Biochemistry*, 31: 509–540.

Sakomura, N.K., Silva, J.H.V., Costa, F.G.P., Fernandes, J.B.K., Hauschild, L. *Nutrição de Não Ruminantes*. 1. ed. Jaboticabal - São Paulo: FUNEP - Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão, 2014. v. 1000. 678p. ISBN: 978-857805132-7

Turchini, G.M., Torstensen, B.E. and Ng, W.K. (2009), Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture*, 1: 10–57.

Turchini, G.M., Hermon, K., Cleveland, B.J., Emery, J.A., Rankin, T. and Francis, D.S. (2013), Seven fish oil substitutes over a rainbow trout grow-out cycle: I) Effects on performance and fatty acid metabolism. *Aquaculture Nutrition*, 19: 82–94.

Urán, P.A., Schrama, J.W., Rombout, J.H.W.M., Obach, A., Jensen, L., Koppe, W. and Verreth, J.A.J. (2008). Soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) at different temperatures. *Aquaculture Nutrition* 14: 324-330.

Vallés, R. and Estévez, A. (2013). Light conditions for larval rearing of meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture* 376–379, 15–19.

Winkler, U.K. and Stuckmann, M., (1979), Glycogen, hyaluronate and some other polysaccharides greatly enhance the formation of exolipase by *Serratia marcescens*. *J. Bacteriological*, 138: 663–670.

Yadav, A.K., Srivastava, P.P., Chowdhary, S. and Lakra, W.S. (2014). Histological alterations in the intestine of threatened Asian catfish, *Clarias batrachus*, fed with different types of fats through semi-purified diets 5, 35–41.

CAPÍTULO 3

Estresse oxidativo em corvinas (*Argyrosomus regius*) induzido pelo
conteúdo lipídico e selênio dietético

RESUMO

Objetivou-se avaliar os bioindicadores do estresse oxidativo em corvinas (*Argyrosomus regius*) alimentadas com diferentes níveis de óleo vegetal com e sem selênio (1,0 mg/kg), em substituição as dietas tradicionais que contêm óleo de peixe. Corvinas com peso inicial de $20,45 \pm 1,4$ g foram mantidos num sistema fechado composto por 24 tanques (80 L) e submetidas às seguintes variáveis físico-químicas da água: temperatura de $20,7 \pm 0,7^\circ\text{C}$ e oxigênio $8,8 \pm 1,7 \text{ mg L}^{-1}$. Os peixes foram alimentados duas vezes por dia, seis dias por semana, com oito diferentes dietas experimentais por 60 dias. As dietas foram compostas por duas fontes de óleo (peixe ou mistura de óleos vegetais com 45% de linhaça, 35% de canola e 20% de óleo de soja), dois níveis de lipídios (12 e 17%) com e sem adição de 1,0 mg/kg de selênio na dieta. A peroxidação lipídica (LPO), glutathione redutase (GR), glutathione peroxidase (GPx), glutathione total (GT) e catalase (CAT) hepáticas foram analisados. CAT, GPx e GR não foram significativamente alteradas em peixes alimentados com dietas contendo diferentes fontes de óleo. No entanto, maiores níveis de GT e menores níveis de LPO foram observados nos peixes alimentados com dietas composta por óleo de peixe em relação aos animais alimentados com dietas à base de óleos vegetal. Verificou-se que os peixes alimentados com 17% de lipídios apresentaram maior nível de glutathione total, quando comparado com os peixes alimentados com 12%. Por outro lado, os peixes alimentados com 12% de lipídios apresentaram menor peroxidação lipídica. Os peixes alimentados com dietas suplementadas com selênio apresentaram um aumento significativo da atividade da GPx. Verificou-se interação entre "nível de lipídios na dieta e presença de selênio" para as atividades da CAT e GR, bem como, os níveis de GT e LPO. Observou-se interação significativa entre a "fonte de óleo e presença de selênio" na CAT e GR. Em conclusão, a capacidade antioxidante de corvina é influenciada pela fonte e nível de lipídios, assim como pela presença de selênio na dieta.

Palavras-chave: antioxidante; biomarcador; fontes; radical livre; substituição de óleo.

ABSTRACT

The main goal of this research work was to study the antioxidant capacity of meagre (*Argyrosomus regius*) fed with different levels of vegetable blend oil with and without selenium in replacement of traditional diets containing fish oil. Meagre (600 animals) were kept in 24 tanks (80 L) with constant renovation and aeration and maintained at $20.7 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$ and oxygen $8.8 \pm 1.7 \text{ mg L}^{-1}$. Fish were fed twice per day, six days per week, with eight different experimental diets for 60 days. Diets were formulated to have two different oil sources (fish or blend of vegetable oils with 45% of linseed, 35% of rapeseed and 20% of soybean oil), two lipid levels (12 and 17%) and two selenium supplementation (0 and 1 mg/kg diet). Lipid peroxidation (LPO), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx), total glutathione (TG) and catalase (CAT) were analyzed in liver of fish. CAT, GPx and GR activities were not significantly altered in fish fed with diets with different oil sources. However, TG in fish fed with fish oil diet was higher than the levels observed in fish fed with vegetable blend oil. Furthermore, fish fed with fish oil diet showed lower lipid peroxidation when compared with fish fed vegetable blend oil diet. Concerning the oil level in diet, it was observed that fish fed with a diet of 17% lipids had a higher level of total glutathione when compared to fish fed with a diet of 12% lipids. On the other hand, the fish fed with a diet with 12% lipids showed lower levels of lipid peroxidation when compared to fish fed with a diet of 17% lipids. Fish fed with diets supplemented with selenium showed a significantly increased activity of GPx when compared with fish fed without selenium. Three-way ANOVA analysis showed that dietary lipid level and the presence of selenium have a significant interaction on the activities of CAT and GR, as well as, levels of TG and LPO. A significant interaction between the source of oil and the presence of selenium on CAT and GR activities was observed. In conclusion, the antioxidant capacity of meagre is influenced by the source of oil, the level of lipids and the presence of selenium in their diet.

Key-words: biomarker; meagre; antioxidant; free radicals; fish oil replacement.

INTRODUÇÃO

A possibilidade de estagnação da produção aquícola em função da limitada oferta de óleo de peixe marinho tem estimulado a elaboração de vários estudos em busca de fontes alternativas de óleo, isolada ou em conjunto, que possa ser utilizada de forma eficiente na aquicultura (Turchini et al., 2009). Além desta limitação, a utilização do óleo de peixe como única fonte lipídica na aquicultura tende a tornar a atividade insustentável a longo prazo (Turchini et al., 2005).

Em estudos tem sido apontado que os óleos vegetais são potenciais substitutos ao óleo de peixe na dieta para organismos aquáticos (Bahurmiz e Ng, 2007; Turchini et al., 2009). Os óleos de soja, linhaça, canola e girassol tem se destacado como os mais estudados na busca por fontes alternativas ao óleo de peixe, nas dietas para peixes de clima temperado, entretanto sua utilização altera a composição lipídica dos animais (Izquierdo et al., 2005; Montero et al., 2005; Francis et al., 2006), podendo gerar danos oxidativos ao animal.

O estresse oxidativo se estabelece no organismo quando a capacidade de neutralizar os radicais livres ou espécies reativas de oxigênio é reduzida devido a grande formação de tais agentes oxidativos (Nishiyama et al., 1998). Alguns metabólitos são gerados no processo de oxidação, os quais podem ser utilizados como biomarcadores do estresse oxidativo (Edwin et al., 2013). Os marcadores são oriundos da oxidação de lipídios, proteínas e DNA, sendo a maior parte da formação oriunda da oxidação lipídica (Mayne, 2003; Halliwell, 2004; Vicent et al., 2007).

Os organismos apresentam alguns artifícios para combater as espécies reativas de oxigênio ou radicais livres, na tentativa de manter a integridade celular (Stone e Collins, 2002; Costa e Ferreira, 2001). Esses mecanismos podem ser classificados em enzimáticos e não enzimáticos. Dentre os não enzimáticos pode-se destacar algumas vitaminas, glutathionas, flavonóides, entre outros (Reischl et al., 2007). Entre os agentes antioxidantes enzimáticos destacam-se as enzimas glutathione peroxidase, catalase, glutathione reductase, glutathione S-transferase, superóxido dismutase e glicose 6-fosfato desidrogenase (Van Der Oost et al., 2003; Reischl et al., 2007).

O selênio é um micromineral essencial na dieta de organismos aquáticos (NRC 2011), sendo requerido para um normal desenvolvimento do animal, crescimento e manutenção de sua homeostase (Lin e Shiau, 2005). Ele também atua como cofator da

enzima antioxidante glutathione peroxidase (Rotruck et al., 1973), a qual protege as membranas celulares dos danos oxidativos (Lin e Shiau, 2005).

Em diversos estudos o fígado tem sido apontado como um dos primeiros órgãos a sofrer danos oxidativos (Deng et al., 2009; Feidantsis et al., 2009; Antonopoulou et al., 2013), e também o local onde aparecem os primeiros sinais de tais danos (Antonopoulou et al., 2013). Desta forma, objetivou-se avaliar a capacidade antioxidante de corvinas (*Argyrosomus regius*) alimentadas com diferentes níveis de óleo vegetal, com e sem selênio, em substituição as dietas tradicionais que contêm óleo de peixe.

MATERIAL E MÉTODOS

Para desenvolvimento deste trabalho¹, foram formuladas oito dietas isoproteicas e com diferentes perfis de ácidos graxos (Tabelas 1 e 2) para avaliar o efeito de diferentes fontes e níveis lipídicos, com e sem adição de selênio orgânico (1,0 mg/kg) na resposta oxidativa de corvina (*A. regius*). As dietas foram compostas por duas fontes lipídicas (óleo de peixe ou *blend* de óleo vegetal, composto por 45% de óleo de linhaça, 35% de óleo de canola e 20% de óleo de soja), dois níveis de lipídios (12 e 17%) com e sem a adição de 1,0 mg de selênio por quilo de dieta. As dietas foram extrusadas em peletes de 2-3 mm, conforme o tamanho da boca dos animais, sendo uma parte da inclusão de óleo misturada aos ingredientes antes do processo de extrusão e o restante aplicado por cobertura após seu processamento. Após o processamento, as dietas foram estocadas a 4°C até sua utilização. As dietas foram ofertadas aos peixes *ad libitum* em duas alimentações diárias (10:00 e 16:00 horas), durante seis dias por semana.

¹O qual foi realizado segundo as recomendações da *Federation of European Laboratory Animal Science Associations* (FELASA), de acordo com as orientações para utilização de animais com fins científicos da diretiva Européia 2010/63/UE.

Tabela 1: Composição centesimal das dietas experimentais utilizadas para avaliar o efeito de diferentes fontes e níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.

Ingredientes	Dietas							
	Óleo de peixe				Óleo vegetal			
	12%		17%		12%		17%	
	Selênio		Selênio		Selênio		Selênio	
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
Concentrado Soja (%)	28,4	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40
Farinha de Visceras Aves (%)	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00
Farinha Penas (%)	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Farinha Tilápia (56%)	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Farelo Trigo (%)	8,80	8,80	6,80	6,80	8,80	8,80	6,80	6,80
Milho Grão (%)	6,00	6,00	3,12	3,12	6,00	6,00	3,12	3,12
Farinha Carne(43%)	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61
Glúten Trigo(%)	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
DL – Metionina (%)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Binder (%)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fungistático (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Vitamina C (%)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Selênio (mg kg ⁻¹)	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00
Óleo de Peixe (%)	6,16	6,16	11,36	11,36	-	-	-	-
Óleo de Canola (%)	-	-	-	-	2,16	2,16	3,97	3,97
Óleo de Linhaça (%)	-	-	-	-	2,77	2,77	5,11	5,11
Óleo de Soja (%)	-	-	-	-	1,23	1,23	2,27	2,27
Premix - Vit e Mineral (%)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Cloreto de Colina (%)	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Composição centesimal calculada das dietas experimentais								
Proteína bruta (%)	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
Gordura (%)	12,0	12,0	17,0	17,0	12,0	12,0	17,0	17,0
Energia digestível (Mcal kg ⁻¹)	3,93	3,93	4,27	4,27	3,93	3,93	4,27	4,27
Fibra bruta (%)	2,19	2,19	1,92	1,92	2,19	2,19	1,92	1,92
Cálcio (%)	2,24	2,24	2,23	2,23	2,24	2,24	2,23	2,23
Fósforo total (%)	1,59	1,59	1,56	1,56	1,59	1,59	1,56	1,56
Fósforo disponível (%)	1,14	1,14	1,13	1,13	1,14	1,14	1,13	1,13
Lisina total(%)	2,54	2,54	2,51	2,51	2,54	2,54	2,51	2,51
Metionina total (%)	1,28	1,28	1,27	1,27	1,28	1,28	1,27	1,27
Met.+ Cistina total (%)	1,69	1,69	1,66	1,66	1,69	1,69	1,66	1,66

Níveis de garantia por kg de produto. Vit. A, 6000 UI; Vit. D, 6000 UI; Vit. K, 6,30 mg; Vit. B1, 11,76 mg; Vit.B2, 15,36 mg; Vit. B6, 12,74 mg; Vit. B12, 40 mcg; Ácido fólico, 1,92 mg; Ácido pantotênico, 39,20 mg; Colina, 800 mg; Niacina, 400 mg; Biotina, 0,2 mg; Antioxidante, 300 mg; Ferro, 257,15 mg; Zinco, 300 mg; Manganês, 133,45 mg; Cobre, 19,60 mg; Iodo, 9,40 mg.

Tabela 2: Perfil de ácidos graxos* das dietas experimentais constituídas por diferentes níveis e fontes de óleo, com e sem adição de selênio.

Ácido Graxo (g/100g)	Dietas							
	Óleo de peixe				Óleo vegetal			
	12%		17%		12%		17%	
	Selênio		Selênio		Selênio		Selênio	
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
C 12:0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0
C 13:0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C 14:0	4,2	4,2	4,8	4,5	1,1	0,9	0,7	0,7
C 14:1 n7	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
C 15:0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1
C 15:1 n7	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1
C 16:0	22,9	23,2	21,5	21,3	18,2	18,7	15,7	15,0
C 16:1 n7	4,9	4,9	5,0	4,8	2,3	2,4	1,8	1,7
C 16:2 n6	0,8	0,5	0,9	0,9	0,3	0,3	0,2	0,2
C 16:3 n3	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
C 16:4 n3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,1	0,1	0,0	0,1
C 18:0	4,6	5,6	5,1	5,9	4,0	3,8	4,7	7,6
C 18:1 n9	15,1	15,4	15,7	16,4	21,5	19,7	17,6	20,6
C 18:1 n7	1,9	1,7	1,9	1,8	2,1	2,5	1,6	1,3
C 18:2 n6	20,6	20,1	17,2	17,4	27,8	28,0	29,2	26,6
C 18:2 n3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
C 18:3 n3	3,2	2,6	2,9	2,8	17,5	19,3	24,5	22,8
C 18:4 n3	1,5	1,5	1,8	1,7	0,6	0,4	0,5	0,4
C 20:1 n9	0,8	0,8	0,7	0,7	0,6	0,7	0,6	0,5
C 20:2 n6	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
C 20:3 n3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0
C 21:0	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
C 20:4 n6	1,5	1,4	1,4	1,4	0,8	0,6	0,6	0,5
C 20:4 n3	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C 22:1 n9	0,6	0,5	0,5	0,6	0,3	0,3	0,3	0,3
C 20:5 n3	7,0	7,0	8,8	8,3	0,3	0,0	0,1	0,1
C 21:5 n3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C 22:3 n6	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
C 22:4 n6	0,4	0,4	0,4	0,4	0,2	0,2	0,1	0,1
C 22:5 n3	0,8	0,8	0,9	0,9	0,2	0,1	0,1	0,1
C 22:6 n3	5,5	5,7	6,9	6,5	0,3	0,1	0,1	0,1
N.D.	1,1	1,3	1,2	1,1	0,4	0,7	0,5	0,4
Saturado	32,7	33,9	32,2	32,6	23,8	23,9	21,6	23,7
Monoinsaturado	23,5	23,6	24,1	24,7	27,1	25,7	22,1	24,6
n-9	16,5	16,7	17,0	17,7	22,5	20,6	18,5	21,4
n-6	23,6	22,8	20,2	20,5	29,3	29,3	30,3	27,6
n-3	19,0	18,5	22,4	21,3	19,2	20,4	25,5	23,7
n-3/n-6	0,8	0,8	1,1	1,0	0,7	0,7	0,8	0,9

*Valores analisados.

Sistema de cultivo

Os juvenis de corvina utilizados neste estudo foram obtidos do Instituto Português do Mar e Atmosfera (IPMA), os quais foram transportados até o Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - ICBAS - e distribuídos em um sistema de recirculação de água composto por 24 tanques de fibra de vidro com volume útil de 80 litros. O sistema foi equipado com escumador e sistema de filtro mecânico, areia e ultravioleta para manutenção da qualidade da água. Cada tanque foi estocado com 25 peixes ($20,45 \pm 1,4$ g), os quais passaram por um período de 10 dias de adaptação ao sistema de cultivo seguidos de mais três dias de adaptação as dietas experimentais. Ao longo dos 60 dias de ensaio as variáveis físico-químicas da água foram: temperatura de $20,7 \pm 0,7$ °C; salinidade $28,3 \pm 2,1$ ppt, oxigênio de $8,8 \pm 1,7$ mg L⁻¹ e fotoperíodo natural.

Ao término do ensaio todos os animais passaram por um período de jejum (*overnight*), para posterior amostragem. Para amostragem hepática, dois peixes de cada unidade experimental foram atordoados por imersão em gelo e sacrificados por secção medular. O fígado coletado foi identificado e imediatamente congelado em nitrogênio líquido para posterior análise.

Biomarcadores do estresse oxidativo

O fígado foi homogeneizado em buffer k-fosfato (pH 7,4, 0,1M). Uma parte deste homogeneizado foi utilizado para determinação da peroxidação lipídica (LPO), através da determinação das espécies reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com Ohkawa (1979) e Bird e Draper (1984), com adaptação de Torres et al. (2002). O valor de TBARS foi expresso em nmol TBARS/mg de tecido.

O restante do homogeneizado foi centrifugado a 10.000 G, durante 20 minutos, a 4°C, de modo a isolar o sobrenadante pós-mitocondrial (PMS). Este sobrenadante foi utilizado, posteriormente, para determinação dos níveis de atividade de Glutathione Total (GT), bem como os níveis da Glutathione S-Transferase (GST), Glutathione Peroxidase (GPx), Glutathione Redutase (GR) e Catalase (CAT). A atividade de GST foi quantificada através da conjugação da glutathione reduzida (GSH) com 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) a 340 nm (Habig et al., 1974) e adaptado à leitura por microplaca. A atividade da GPx foi determinada através da medição da diminuição do

valor de NADPH lido por espectrofotometria a 340 nm, recorrendo ao valor consumido de H_2O_2 enquanto substrato (Flohé e Gunzler, 1984).

A atividade da catalase foi avaliada a partir da medição do consumo de H_2O_2 a 240 nm de acordo com Clairborne (1985). Quanto aos valores de atividade de GR, estes foram determinados de acordo com Cribb et al. (1989). O conteúdo de GT (GSH + GSSG) foi determinado por espectrofotometria a 412 nm, utilizando um método baseado na reciclagem de GSH com 5,50-ditiobis (2-ácido nitobenzóico), na presença de GR em excesso (Tietze, 1969; Baker et al., 1990). Todos os resultados das atividades enzimáticas e a GT foram expressos em nmol/min/mg proteína, exceto a catalase, que foi expressa em $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ proteína.

A quantificação proteica foi realizada de acordo com Bradford (1976) adaptado a microplacas, utilizando γ -globulinas bovinas como padrão a um comprimento de onda de 600 nm. Todos os procedimentos acima indicados foram realizados a 25 °C.

Análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, composto por oito tratamentos e três repetições. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) em arranjo fatorial 2x2x2. Os fatores analisados foram: fonte de óleo (peixe ou vegetal), nível lipídios (12 e 17%) e suplementação de selênio (0,0 ou 1,0 mg kg^{-1}). A ANOVA foi precedida pelos testes de Bartlett e Kolmogorov-Smirnov para avaliação da homogeneidade e normalidade dos dados, respectivamente. Sendo essas condições satisfeitas, deu-se prosseguimento ao teste estatístico, sendo as diferenças entre os fatores obtidas pela estatística "F" da ANOVA, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

Efeitos isolados foram detectados para a atividade da glutathione peroxidase, glutathione total e lipoperoxidação (Tabela 3), na qual a glutathione peroxidase teve sua atividade aumentada quando houve suplementação de selênio. A glutathione total apresentou maiores valores para os animais alimentados com óleo de peixe enquanto os animais que receberam dietas a base de óleo vegetal e com 12% de lipídio dietético apresentaram maior lipoperoxidação.

Tabela 3: Biomarcadores de corvina alimentada com diferentes fontes e níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.

Fonte (F)	Catalase²	GPx³	GR³	GT³	LPO⁴	GST
Peixe	10,19 ± 2,43	10,95 ± 1,46	3,05 ± 0,68	1,20 ± 0,47a ¹	46,37 ± 21,08b	Nd ⁵
Vegetal	9,74 ± 2,34	12,11 ± 1,32	2,91 ± 0,47	0,87 ± 0,13b	106,01 ± 45,70a	Nd
Nível (N)						
12%	9,18 ± 2,00	11,61 ± 1,76	3,07 ± 0,51	0,88 ± 0,17b	51,27 ± 25,33b	Nd
17%	10,85 ± 2,46	11,57 ± 1,14	2,90 ± 0,65	1,20 ± 0,47a	87,85 ± 44,98a	Nd
Selênio(Se)						
Sem	9,85 ± 2,56	10,66 ± 1,11b	2,90 ± 0,47	1,05 ± 0,48	78,06 ± 30,08	Nd
Com	10,12 ± 2,20	12,53 ± 1,19a	3,07 ± 0,70	1,03 ± 0,23	61,06 ± 36,79	Nd
Valor da probabilidade (F) da ANOVA						
F	0,4091	0,0971	0,4025	0,0124*	<0,001*	-
N	0,0898	0,5713	0,4275	0,0327*	0,0033*	-
Se	0,9553	0,0052*	0,4356	0,7512	0,0687	-
FxN	0,0231*	0,6071	0,0975	0,0634	0,3913	-
FxSe	0,4371	0,6387	0,0081*	0,9627	0,1930	-
NxSe	0,0058*	0,4725	0,0036*	0,0366*	0,3358	-
FxNxSe	0,3129	0,2967	0,2966	0,2204	0,6598	-
CV (%)	18,15	9,93	13,75	26,85	29,54	-

¹Letras diferentes na coluna representa diferença entre os fatores (P<0.05) pela estatística "F"; ²μmol/min/mg prot.; ³nmol/min/mg prot.; ⁴nmol TBARS/mg tecido; ⁵Nd = Não detectada. CV: Coeficiente de Variação.

Não foi verificado efeito isolado dos fatores estudados sobre a atividade da catalase (Tabela 3). Entretanto, foi detectado uma interação para os fatores fonte e nível de óleo (Tabelas 3 e 4), na qual os animais alimentados com dietas constituídas de 17% de óleo de peixe apresentaram maior atividade de catalase em relação aos peixes que receberam dietas com 12%. Nenhuma diferença foi observada na atividade da catalase quando os animais foram alimentados com 12 ou 17% de óleo de origem vegetal. Também não foi verificada diferença entre a atividade dessa enzima entre as fontes de óleo quando a dieta foi constituída por 12% de óleo. Entretanto, dietas com 17% de óleo

de peixe geraram maior atividade da catalase em relação às dietas compostas por 17% de óleo vegetal.

Tabela 4: Atividade da catalase de corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes e níveis lipídicos.

Fonte	Nível	
	12	17
Peixe	8,54±1,74 bx	11,85±1,84 ax
Vegetal	9,82±2,20 ax	9,65±2,77 ay

¹a e b na linha diferem os níveis de óleo dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada nível. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Interação entre os fatores fonte e selênio foi obtida para atividade da glutathione redutase (Tabelas 3 e 5). Nesta, as dietas à base de óleo de peixe suplementadas com selênio apresentaram maior atividade de glutathione redutase em relação às dietas com a mesma fonte de óleo, isentas de selênio. Entretanto, nenhuma diferença foi obtida em relação à suplementação de selênio nos animais que receberam as dietas à base de óleo vegetal. Ao avaliar o efeito das fontes de óleo nas dietas suplementadas com selênio sobre a atividade da glutathione redutase, pode-se observar uma maior atividade dessa enzima nos peixes que receberam dietas à base de óleo de peixe. Entretanto, nenhuma diferença foi constatada entre as fontes de óleo nas dietas isentas de selênio.

Tabela 5: Atividade da glutathione redutase de corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes lipídicas, com e sem presença de selênio.

Fonte	Selênio	
	Sem	Com
Peixe	2,71±0,36 bx	3,38±0,79 ax
Vegetal	3,09±0,51 ax	2,70±0,34 ay

¹a e b na linha diferem os níveis de óleo dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada nível. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Interação entre nível de óleo e selênio foi obtida para catalase, glutathione redutase e glutathione total (Tabelas 3 e 6). As dietas com 12% de óleo suplementadas com selênio apresentaram maior atividade da catalase em relação às dietas compostas pelo mesmo nível de óleo sem suplementação de selênio. Entretanto, dietas isentas de selênio com 17% de óleo geraram maior atividade da catalase em relação às dietas com 12% de óleo suplementadas com selênio. Ao se comparar a atividade da catalase gerada entre os níveis de óleo nas dietas sem suplementação de selênio, pode-se verificar uma maior atividade desta enzima quando as dietas foram compostas por 17% de lipídios.

Por outro lado, os níveis de óleo não afetaram a atividade desta enzima quando as dietas foram suplementadas com selênio.

Em relação a interação obtida entre os fatores nível e selênio na atividade da glutathione redutase (Tabelas 3 e 6), pode-se verificar que a suplementação de selênio não afetou a atividade desta enzima quando as dietas foram constituídas por 12% de óleo. Entretanto, dietas com 17% de óleo compostas por selênio geraram maior atividade da glutathione redutase em comparação aquelas com o mesmo nível de óleo sem suplementação de selênio. Ao se comparar os níveis de óleo dentro das dietas isentas de suplementação com selênio, pode-se verificar uma maior atividade da glutathione redutase nos animais que receberam dietas com 12% de óleo. Entretanto, nenhuma diferença na atividade dessa enzima foi obtida entre os níveis de óleo quando as dietas foram suplementadas com selênio.

Tabela 6: Atividade da catalase, glutathione redutase (GR) e glutathione total (GT) de corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.

Nível	Catalase		GR		GT	
	Selênio		Selênio		Selênio	
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
12%	7,93±1,20by	10,42±1,92ax	3,27±0,29ax	2,83±0,64ax	0,79±0,13ay	0,99±0,15ax
17%	11,76±2,04ax	9,75±2,69bx	2,53±0,26by	3,27±0,74ax	1,30±0,57ax	1,07±0,31ax

¹a e b na linha diferem a inclusão de selênio dentro dos níveis lipídico. x e y na coluna diferem os níveis lipídicos dentro do fator selênio. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Quanto à interação obtida entre nível e selênio na glutathione total (Tabelas 3 e 6), pode-se notar que não houve efeito da suplementação de selênio neste parâmetro, independente do nível lipídico. Também não foi verificado efeito dos níveis de óleo na glutathione total quando as dietas foram suplementadas com selênio. Entretanto, dietas com 17% de óleo, sem suplementação de selênio, geraram maiores valores de glutathione total em relação aqueles com 12% de óleo, isentas de selênio.

DISCUSSÃO

Os sistemas antioxidantes tem a função de detoxificar espécies reativas de oxigênio, de forma a não danificarem as macromoléculas e comprometerem o desempenho dos animais devido a danos a estruturas como DNA e membranas celulares (Jacob et al., 2003; Halliwell e Gutteridge 2007; Ramakrishnan, et al., 2007). Os lipídios e proteínas são os principais constituintes da membrana celular (Motta, 2011) sendo as moléculas lipídicas as mais susceptíveis a oxidação devido a presença abundante de insaturações em suas estruturas (Poster et al., 1995). A oxidação dos ácidos graxos gera malonaldeído como produto final, sendo essa substância um dos principais indicadores dos danos oxidativos (Edwin et al., 2013).

Neste estudo foi detectada uma maior formação de malonaldeído no fígado dos peixes alimentados com óleo vegetal, podendo-se inferir que a ingestão de tal fonte de óleo gera um maior comprometimento das estruturas celulares hepáticas quando comparado com a ingestão de óleo de peixe marinho. Tais problemas podem ser oriundos das alterações estruturais ocorridas nas bicamadas lipídicas das membranas celulares em função da maior lipoperoxidação, o que também gera problemas como desestabilização das membranas biológicas e modificação de sua fluidez, alterando assim sua função de barreira entre o meio intra e extracelular, podendo comprometer a integridade das organelas e até mesmo da própria célula (Kuhn e Borchert 2002, Barreiros et al., 2006).

O tecido muscular é a principal via da beta oxidação em peixes, a qual pode ser influenciada por fatores dietéticos (Henderson e Tocher, 1987). Wijekoon et al. (2014) citaram que a beta oxidação ocorre prioritariamente sobre as MUFA (*Monounsaturated Fatty Acid*), em especial a 18:1 w-9 (Bell et al., 2003). Sendo assim, a maior quantidade de MUFA 18:1 w-9 encontrada nas dietas à base de óleo vegetal pode ter estimulado um aumento da beta oxidação nas corvinas, o que acarretou em maiores danos oxidativos gerados pelo aumento das Espécies Reativas de Oxigênio - ERO. Tais resultados estão de acordo com os encontrados para dourada (*Sparus aurata*), as quais apresentaram redução em sua capacidade antioxidante ao serem alimentadas com dieta composta por um mix de óleo vegetal, contendo linhaça, canola e palma (Saera-Vila et al., 2009).

O equilíbrio entre formação e detoxificação de EROS é o que mantém a integridade das estruturas celulares. Qualquer desequilíbrio nessa relação gerará danos

ao organismo. A glutathiona reduzida (GSH) é um agente antioxidante não enzimático que atua na proteção celular contra agentes oxidativos, sendo considerada o principal tampão redox intracelular (Fang e Yang, 2002, Amanvermez e Celik, 2004). Sua redução pode ser interpretada como um indicativo de lesão celular (Jacob et al., 2003). A redução dos níveis hepáticos de glutathiona total nos animais que consumiram dietas a base de óleo vegetal (Tabela 3) e também nos animais que consumiram dietas com 12% de óleo isenta de selênio (Tabela 6), podem ser indicativos de danos oxidativos gerados por tais dietas. Saera-Vila et al. (2009) também constataram redução nos níveis hepáticos de glutathiona total em douradas alimentadas com óleo vegetal em substituição ao óleo de peixe.

A principal via enzimática de defesa antioxidante é o sistema redox da glutathiona, o qual reduz peróxido de hidrogênio e lipoperóxidos através da oxidação da GSH a sua forma oxidada (GSSG). A glutathiona redutase é outra enzima que participa ativamente no sistema redox da glutathiona. Apesar de não atuar diretamente no combate a radicais livres, a glutathiona redutase recicla a forma oxidada da glutathiona (GSSG) a sua forma reduzida (GSH), a custa de NADPH (Saera-Vila et al., 2009), mantendo assim o ciclo metabólico da glutathiona (Meister e Anderson, 1983). Neste trabalho, a atividade da glutathiona redutase não foi influenciada por fatores isolados. Entretanto, foram detectados efeitos na atividade da glutathiona redutase nas interações "fonte e selênio" e "nível e selênio" (Tabelas 5 e 6), constatando assim uma ação em conjunto desses fatores sobre a atividade desta enzima. De forma semelhante, Saera-Vila et al., (2009) não encontraram alteração na expressão hepática de glutathiona redutase em douradas alimentadas com óleo vegetal em substituição ao óleo de peixe.

A glutathiona peroxidase é uma enzima que também atua na via antioxidante da glutathiona, protegendo a membrana celular contra danos oxidativos (Herbette et al., 2007). Esta enzima catalisa as reações de conversão do peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos em água, utilizando a glutathiona reduzida para tal reação (Lin e Shiau, 2005). Atualmente, são conhecidos seis tipos de glutathiona peroxidase (GPx1, GPx2, GPx3, GPx4, GPx5 e GPx6), as quais variam de acordo com o substrato de atuação, distribuição tecidual e localização celular. Dentre elas, as GPX1 a GPX4 são selenodependentes, sendo a GPX1 e GPX4, encontradas no fígado (Herbette et al., 2007). Apesar das dietas contendo selênio terem gerado maiores atividades de

glutathione peroxidase no fígado das corvinas, não foi verificado um efeito direto e significativo na proteção contra danos celulares. Aumentos na atividade de glutathione peroxidase também foram detectados em função do aumento de selênio na dieta de tilápia, *Oreochromis niloticus*, còbia, *Rachycentron canadum*, e garoupa, *Epinephelus malabaricus* (Fonseca et al., 2013; Liu et al., 2010; Lin e Shiau, 2005), entretanto, tais autores não avaliaram o perfil oxidativo desses animais.

A catalase é uma enzima presente em grande quantidade nos peroxissomos, onde protege a célula de danos oxidativos através da conversão do peróxido de hidrogênio à água (Nelson e Cox, 2005). Os peroxissomos são organelas celulares responsáveis por uma pequena parte da beta-oxidação, em especial aquela referente ao metabolismo dos ácidos graxos com mais de 20 carbonos (Nelson e Cox, 2005; Motta, 2011). Tais ácidos graxos são encurtados nos peroxissomos, sendo o produto resultante da reação oxidados pela beta-oxidação mitocondrial (Motta, 2011). Desta forma, pode-se supor que a inclusão de 17% de óleo de peixe (rico em ácidos graxos de cadeia longa) nas dietas de corvina estimulou a beta-oxidação nos peroxissomos, gerando assim uma maior quantidade de peróxidos de hidrogênio. Em resposta a tal estímulo, justifica-se o aumento na atividade da catalase nos animais que consumiram dietas com 17% de óleo de peixe (Tabela 4), de forma a compensar a maior formação de peróxido de hidrogênio. Como os óleos vegetais são pobres em ácidos graxos de cadeia longa, não foi observada tal diferença na atividade da catalase entre as dietas com 12 e 17% desta fonte de óleo. Semelhante aos resultados deste trabalho, corvinas alimentadas com 13 e 17% de óleo de peixe também apresentaram maior atividade de catalase com o maior nível de óleo (Antonopoulou et al., 2014). Linguados, *Solea senegalense*, alimentadas com 11 e 21% de óleo de peixe também apresentaram maior atividade de catalase com as dietas constituídas por 21% de lipídios (Rueda-Jasso et al., 2004).

A glutathione S-transferase (GST) é uma enzima que protege o organismo contra danos oxidativos devido sua atuação contra lipoperóxidos e substâncias estranhas ao organismo, conhecidas por xenobióticos (Leaver e George, 1998), sendo assim muito utilizada como biomarcador (Stegeman et al., 1990; Bucheli e Fent, 1995). Ela atua conjugando os lipoperóxidos ou xenobióticos a GSH, reduzindo a atividade destes compostos e facilitando sua eliminação (Cimen, 2008). Apesar de sua atuação contra lipoperóxidos, não foi detectada atividade desta enzima no fígado das corvinas

utilizadas neste trabalho. Outros trabalhos também encontraram inatividade das enzimas estudadas como uma inatividade da catalase no músculo branco de *Dentex dentex* alimentado com diferentes níveis de macronutrientes (Perez-Jimenes et al., 2009).

CONCLUSÃO

Desta forma, pode-se concluir que a inclusão de óleo vegetal na dieta de corvina aumenta o estresse oxidativo hepático. A quantidade de glutathione total aumenta com a inclusão dietética de óleo de peixe. A inclusão de 17% de óleo de peixe aumenta a atividade da catalase hepática de corvinas. A inclusão dietética de selênio acarreta em maior atividade da glutathione peroxidase.

REFERÊNCIAS

- Amanvermez, R. and Celik, C. (2004), Superoxide dismutase, glutathione, vitamin C, total antioxidant and total thiol levels in hydatid cysts. *Turk. Clin. J. Med. Sci.*, n. 24, p. 213–218, 2004.
- Antonopoulou, E., Kousidou, E., Tserga, E., Feidantsis, K. and Chatzifotis, S. (2014), Dietary lipid levels in meagre (*Argyrosomus regius*): Effects on biochemical and molecular indicators of liver. *Aquaculture* 428-429, 265–271. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.03.024
- Antonopoulou, E., Kentepozidou, E., Feidantsis, K., Roufidou, C., Despoti, S. and Chatzifotis, S. (2013), Starvation and re-feeding affect Hsp expression, MAPK activation and antioxidant enzymes activity of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 165, 79–88. doi:10.1016/j.cbpa.2013.02.019
- Bahurmiz, O.M. and Ng, W.K. (2007), Effects of dietary palm oil source on growth, tissue fatty acid composition and nutrient digestibility of red hybrid tilapia, *Oreochromis sp.*, raised from stocking to marketable size. *Aquaculture* 262, 382–392. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.11.023
- Baker, M.A., Cerniglia, G.J. and Zaman, A. (1990), Microtiter plate assay for the measurement of glutathione and glutathione disulfide in large numbers of biological samples. *Anal. Biochem.*, 190, pp. 360–365.
- Barreiros, A.L.B.S., David, J.M., David, J.P., 2006. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova* 29, 113-123.
- Bell, J.G., McGhee, F., Campbell, P.J. and Sargent, J.R. (2003), Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil “wash out”. *Aquaculture* 218, 515–528.
- Bird, R.P. and Draper, A.H. (1984), Comparative studies on different methods of malondialdehyde determination. *Methods Enzymol.* 90, 105-110.
- Bradford, M.M. (1976), A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- Bucheli, T.D. and Fent, K. (1995), Induction of Cytochrome-P450 as a biomarker for environmental contamination in aquatic ecosystems. *Crit Rev Env Sci Tec*, v.25, n.3, p.201-268.
- Cimen, M.Y.B. (2008), Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clin. Chim Acta*, v. 390, p. 1-11.

Clairborne, A. (1985), Catalase activity. In: Greenwald, R.A. (Ed.), CRC Handbook of Methods in Oxygen Radical Research, pp. 283-284. CRC Press, Boca Raton, FL.

Costa V. and Moradas-Ferreira P. (2001), Oxidative stress and signal transduction in *Saccharomyces cerevisiae*: insights into ageing, apoptosis and diseases. Mol Aspects Med 22(4-5):217-246.

Cribb, A.E., Leeder, J.S. and Spielberg, S.P. (1989), Use of a microplate reader in an assay of glutathione reductase using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). Anal. Biochem. 183, 195-196.

Deng, D.F., Wang, C., Lee, S., Bai, S. and Hung, S.S.O. (2009), Feeding rates affect heat shock protein levels in liver of larval white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Aquaculture 287, 223–226. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.10.041

Edwin Ho, Keyvan Karimi Galougahi, Chia-Chi Liu, Ravi Bhindi and Gemma A. Figtree. (2013), Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. Redox biology. 1, 1, 483–491 doi: 10.1016/j.redox.2013.07.006

Fang, Y.Z. and Yang, S.W.G. (2002), Free radicals, antioxidants and nutrition. Nutrition, v. 18, p. 872–879.

Flohé, L. and Gunzler, W.A. (1984), Assays of glutathione peroxidase Methods Enzymol., 105 , pp. 114–121

Francis D.S., Turchini, G.M., Jones, P.L. and De Silva, S.S. (2006), Effects of dietary oil source on growth and fillet fatty acid composition of Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. Aquaculture, Amsterdam, 253: 547– 556.

Feidantsis, K., Pörtner, H.O., Lazou, A., Kostoglou, B. and Michaelidis, B. (2009), Metabolic and molecular stress responses of the gilthead seabream *Sparus aurata* during long-term exposure to increasing temperatures. Mar. Biol. 156, 797–809. doi:10.1007/s00227-009-1135-z

Fonseca, S.B., Silva, J.H.V., Beltrão Filho, E.M., Mendes, P.P., Fernandes, J.B.K., Amancio, A.L.L., Jordão Filho, J., Lacerda, P.B. and Silva, F.R.P. (2013), Influence of levels and forms of selenium associated with levels of vitamins C and E on the performance, yield and composition of tilapia fillet. Ciênc. Tecnol. Aliment. [online]. 33, 1.1, 109-115. ISSN 1678-457X .

Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B. (1974), Glutathione-S-transferases, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. J. Biol. Chem. 249, 7130-7139.

Halliwell, B., Gutteridge, J. Free Radicals in Biology and Medicine. Nova York: Oxford University Press, v.1, 2007. 851p.

Halliwell B. and Whiteman, M. (2004), Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol.* 142(2): 231-55.

Henderson R. J. and Tocher D. R. (1987), The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid Res.* 26, 281-347.

Herbette, S., Roeckel-Drevet, P. and Drevet, J.R. (2007), Seleno-independent glutathione peroxidases. More than simple antioxidant scavengers. *FEBS J.* 274, 2163–2180.

Izquierdo, M.S., Montero, D., Robaina, L., Caballero, M.J., Rosenlund, G. and Ginés, R. (2005), Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture*, 250: 431– 444.

Jacob, C., Giles, G.I., Giles, N.M. and Sies, H. (2003), Sulfur and selenium: the role of oxidation state in protein structure and function. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 42(39), 4742–58. doi:10.1002/anie.200300573

Kuhn, H. and Borchert, A. (2002), Regulation of enzymatic lipid peroxidation: the interplay of peroxidizing and peroxide reducing enzymes. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 33, n. 2, p. 154-172.

Leaver, M.J and George, S.G. (1998), A piscine glutathione S-transferase which efficiently conjugates the end-products of lipid peroxidation. *Mar Environ Res*, 46:71-74.

Lin, Y.H., and Shiau, S.Y. (2005), Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture*, 250(1-2), 356–363. doi:10.1016/j.aquaculture.2005.03.022

Liu, K., Wang, J.X., Ai, Q., Mai, K and Zhang, W. (2010), Dietary selenium requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture Research*, e594–e601. doi:10.1111/j.1365-2109.2010.02562.x

Mayne, S.T. (2003), Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr.* 133(Suppl 3): 933-40.

Meister, A. and Anderson, M. E. (1983), Glutathione. *Annual. Rev. Biochem.* 52, p. 711-60.

Montero, D., Robaina L., Caballero, M.J., Ginés, R. and Izquierdo, M.S. (2005), Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: a time-course study on the effect of a re-feeding period with a 100% fish oil diet. *Aquaculture*, 248: 121–134.

Motta, Valter T. Bioquímica Básica. 2ª Edição, Rio de Janeiro. Ed. Medbook. 2011.

Nelson, David L. and Cox, Michael M., "Lehninger Principles of Biochemistry", 4ª edição, W. H. Freeman, 2005, ISBN 978-0716743392

Nishiyama, Y., H. Ikeda, N. Haramaki, N. Yoshida and T. Imaizume. (1998), Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure. American Heart Journal, 135:115-120

NRC, 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academies Press, Washington D.C., USA, pp. 1–376.

Ohkawa, H. (1979), Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal. Biochem. 95, 351-358.

Pérez-Jiménez, A., Hidalgo, M.C., Morales, A.E., Arizcun, M., Abellán, E. and Cardenete, G. (2009), Antioxidant enzymatic defenses and oxidative damage in *Dentex dentex* fed on different dietary macronutrient levels. Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. 150, 537–45. doi:10.1016/j.cbpc.2009.07.011

Poster, D.L., Hoff, R.M. and Baker, J.E. (1995), Measurements of the particle-size distributions of semivolatile organic contaminants in the atmosphere. Environmental Science and Technology 29 (8), 1990–1997.

Ramakrishnan, S., Rajesh, M. and Sulochana, K.N. (2007), Eales' disease: oxidant stress and weak antioxidant defense. Indian J Ophthalmol, v.55, n.2, p.95-102.

Reischl, E., Dafre, A.L., Franco, J.L. and Wilhelm Filho, D. (2007), Distribution, adaptation and physiological meaning of thiols from vertebrate hemoglobins. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, v.146, n.1-2, p.22-53.

Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G. and Hoekstra, W.G. (1973), Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science 179, 585–590.

Rueda-Jasso, R., Conceição, L.E.C., Dias, J., De Coen, W., Gomes, E., Rees, J.F., Soares, F., Dinis, M.T. and Sorgeloos, P. (2004), Effect of dietary non-protein energy levels on condition and oxidative status of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. Aquaculture 231, 417–433. doi:10.1016/S0044-8486(03)00537-4

Saera-Vila, A., Benedito-Palos, L., Sitjà-Bobadilla, A., Nácher-Mestre, J., Serrano, R., Kaushik, S. and Pérez-Sánchez, J. (2009), Assessment of the health and antioxidant trade-off in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed alternative diets with low levels of contaminants. Aquaculture, 296(1-2), 87–95. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.07.028

Stegeman, J.J., Renton, K.W., Woodin, B.R., Zhang, Y.S. and Addison, R.F. (1990), Experimental and Environmental Induction of Cytochrome-P450E in Fish from Bermuda Waters. J Exp Mar Biol Ecol, v.138, n.1-2, p.49-67.

Stone, J.R. and Collins, T. (2002), The role of hydrogen peroxide in endothelial proliferative responses. *Endothelium* 9(4):231-238.

Tietze, F. (1969), Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione *Anal. Biochem.*, 27, pp. 502–522

Torres, M.A., Testa, C.P., Gáspari, C., Masutti, M.B., Panitz, C.M.N., Curi-Pedrosa, R., Almeida, E.A., Di Mascio, P. and Wilhelm Filho, D. (2002), Oxidative stress in the mussel *Mytella guyanensis* from polluted mangroves on Santa Catarina Island, Brazil *Mar. Pollut. Bull.*, 44, pp. 923–932

Turchini, G.M., Mentasti, T., Caprino, F., Giani, I., Panseri, S., Bellagamba, F., Moretti, V. M. and Valfré, F. (2005), *Italian journal of animal science*, 4: 241-252.

Turchini, G.M., Torstensen, B.E. and Ng, W.K. (2009), Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture*, 1: 10–57. doi: 10.1111/j.1753-5131.2008.01001.x

Van Der Oost, R., Beyer, J. and Vermeulen, N.P.E. (2003), Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13: 57-149.

Vincent, H.K., Innes, K.E. and Vincent, K.R. (2007), Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes Metab.* 9(6):813-39

Wijekoon, M.P.A., Parrish, C.C. and Mansour, A. (2014), Effect of dietary substitution of fish oil with flaxseed or sunflower oil on muscle fatty acid composition in juvenile steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at varying temperatures. *Aquaculture*, 433, 74–81. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.05.028

CAPÍTULO 4

Alterações no perfil de ácidos graxos e composição centesimal de corvinas
(*Argyrosomus regius*) em função da composição lipídicas e selênio
dietético

RESUMO

Objetivou-se avaliar a deposição muscular e hepática de ácidos graxos em corvinas (*Argyrosomus regius*) alimentadas com diferentes fontes e níveis lipídicos com e sem adição de selênio. Seiscentas corvinas foram mantidas em sistema fechado, composto por 24 tanques (80 L) e submetidas as seguintes variáveis físico-químicas da água: temperatura de $20,7 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$ e oxigênio $8,8 \pm 1,7 \text{ mg L}^{-1}$. Os peixes foram alimentados duas vezes por dia, seis dias por semana, com oito diferentes dietas experimentais por 60 dias. As dietas foram compostas por duas fontes de óleo (peixe ou óleo vegetal), dois níveis de lipídios (12 e 17%) com e sem adição de 1,0 mg de selênio/kg de dieta. O teor proteico e lipídico na carcaça das corvinas foi diretamente influenciado pela fonte de óleo utilizada na dieta. Além disso, o nível lipídico e suplementação de selênio, utilizada na dieta, afetou diretamente em sua deposição no filé dos peixes. Uma maior deposição de gordura hepática foi detectada nos peixes alimentados com óleo vegetal em relação aqueles alimentados com óleo de peixe. Diversos efeitos foram detectados entre os fatores avaliados no perfil de ácidos graxos, dentre eles uma conversão de PUFA-n3 para HUFA-n3 e PUFA-n6 para HUFA-n6 nas corvinas que consumiram dietas a base de óleo vegetal. Embora não atenda completamente suas necessidades, as corvinas possuem a capacidade de alongar PUFA até HUFA.

Palavras-chave: alongase, dessaturase, HUFA, meagre, PUFA.

ABSTRACT

The present work aimed to study the fillet fatty acid deposition in meagre (*Argyrosomus regius*) feed with different source and levels of lipid diet and selenium supplementation. Meagre (600 animals) were kept in 24 tanks (80 L) with constant renovation and aeration and maintained at $20.7 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$ and oxygen $8.8 \pm 1.7 \text{ mg L}^{-1}$. Fish were fed twice per day, six days per week, with eight different experimental diets for 60 days. Diets were formulated to have two different oil sources (fish or blend of vegetable oils with 45% of linseed, 35% of rapeseed and 20% of soybean oil), two lipid levels (12 and 17%) and two selenium supplementation (0 and 1 mg/kg diet). The protein and lipid fillet deposition were affected by the oil source in the diet. Moreover, lipid and selenium fillet deposition was higher with the increment of this nutrient in the diets. A superior lipid liver deposition was observed for meagre feed with vegetable oil then with fish oil. Three-way ANOVA analysis showed significant interactions in fillet fat acid analyses. Moreover, meagre showed the ability to converted PUFA-n3 to HUFA-n3 and PUFA-n6 to HUFA-n6 when the vegetable oil was included in their diet. Meagre can to elongate and desaturate PUFA to HUFA.

Keywords: elongase, dessaturase, HUFA, meagre, PUFA.

INTRODUÇÃO

A produção aquícola mundial tem aumentado significativa nas últimas cinco décadas, desempenhando um papel importante como fornecedor de proteína e lipídios com elevado valor nutricional (FAO, 2014). Dentre as espécies de peixes recém cultivadas, destaca-se a corvina (*Argyrosomus regius*) como uma potencial candidata para a diversificação da aquicultura, tendo sido classificada como a oitava espécie com potencial para aquicultura marinha, num total de 27 espécies avaliadas (Quéméner et al., 2002). O interesse nesta espécie tem aumentado devido a fatores como: taxas de crescimento relativamente elevadas, ótima conversão alimentar e elevada fertilidade (Quéméner et al, 2002), aclimatização rápida a cativeiro (Duncan et al, 2012) e relativa facilidade de obtenção de larvas (Vallés e Estévez, 2013).

Peixes carnívoros, como a corvina, tem uma elevada demanda por proteína e lipídios, sendo a farinha e o óleo de peixe os principais ingredientes a serem incluídos na dieta de tais animais (Tacon e Metian 2008). Entretanto, a limitada oferta desses produtos no mercado, em especial do óleo de peixe, tende a tornar a atividade insustentável a longo prazo (Turchini et al., 2005). De acordo com alguns autores (Pike e Barlow, 2003; Tacon, 2004), a procura por óleo de peixe por parte da indústria alimentícia e farmacêutica poderá exceder os recursos disponíveis num futuro próximo.

Alguns ingredientes utilizados para formulação de dietas para aquicultura dependem da pesca extrativista, dentre os quais podem ser citados a farinha e o óleo de peixe. A dependência é tal que para a produção de 1 kg de peixe em cultivo são necessários 2-5 kg de peixe selvagem (Lang et al., 2009). Tal fato justifica os estudos sobre fontes lipídicas que venham substituir o óleo de peixe na dieta de animais aquáticos, assim como as alterações que estas possam gerar sobre o pescado, sobretudo em termos de sua qualidade lipídica.

Os óleos vegetais se apresentam como candidatos imediatos e com grande aceitabilidade na substituição dos óleos de peixe, apenas com a adversidade da sua pequena composição em ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa n-3 (HUFA), particularmente o ácido eicosapentaenóico (EPA; 20:5n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA; 22:6n-3) (Mourete e Bell, 2006; Codabaccus et al., 2011). A composição lipídica encontrada nos organismos animais está intimamente relacionada com o tipo de lipídio encontrado em sua dieta (Ribeiro et al., 2008). Dependendo da composição em

ácidos graxos da dieta é possível melhorar o desempenho do animal, assim como a qualidade de seus produtos. Os lipídios estão presentes na constituição de praticamente todos os animais, sendo encontrados, dentre outras formas, como lipídios estruturais nas membranas celulares.

Os ácidos graxos podem ser definidos quimicamente por moléculas constituídas por um grupo carbônico no final da primeira cadeia alifática e por um grupo metil no final de sua cadeia. Os ácidos graxos podem apresentar cadeia simples (saturadas) ou com a presença de duplas ligações, também denominadas por insaturadas (Vance e Vance, 1985). Em geral, as duplas ligações são introduzidas nos ácidos graxos com seis ou oito átomos de carbono. Deste modo, os ácidos graxos insaturados são formados a partir dos saturados mediante incorporação de duplas ligações determinadas por enzimas, as desaturases, as quais são distribuídas variavelmente entre animais e plantas (Vance e Vance, 1985).

Alguns organismos (animal e vegetal) têm a capacidade de sintetizar ácidos graxos de cadeia poliinsaturada (PUFA), os quais atuam no metabolismo animal como precursores hormonais e também na regularização funcional da membrana celular. Além disso, a incorporação de PUFA na carcaça dos animais ou em seus produtos tende a proporcionar benefícios, tanto para o animal quanto para o consumidor. Por outro lado, a incorporação de ácidos graxos insaturados na carcaça do animal, torna-o mais susceptível a processos oxidativos.

O selênio é considerado antioxidante, pois atua como cofator e parte integrante da enzima glutathione peroxidase (GPx) (Rotruck et al., 1973). A glutathione peroxidase atua protegendo o citoplasma celular dos danos causados pela oxidação, reagindo com o peróxido de hidrogênio e os hidroperóxidos (Watanabe e Satoh, 1997), tendo como produto final desta reação água e formas alcoólicas de ácidos graxos. Desta forma, a enzima protege o citoplasma celular dos danos causados pelo processo de oxidação. Sendo assim, objetivou-se avaliar a deposição de ácidos graxos na carcaça de corvinas (*Argyrosomus regius*) alimentadas com diferentes fontes e níveis de ácidos graxos, com e sem adição de selênio.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado¹ no Instituto de Ciências Biomédicas Abél Salazar (ICBAS) da Universidade do Porto - Portugal, entre agosto e outubro de 2013. Foram utilizados 600 juvenis de corvina com $20,45 \pm 1,4$ g oriundos do Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA) - Olhão-Portugal. Os animais foram distribuídos aleatoriamente num sistema de recirculação de água, composto por 24 tanques de fibra de vidro de 80 L e equipado com filtro mecânico, biofiltro, escumador, filtro UV e sistema de aeração. A temperatura da água no sistema foi de $20,7 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$, oxigênio $8,8 \pm 1,7 \text{ mg L}^{-1}$ e fotoperíodo natural.

Após a estocagem, os animais foram submetidos a dez dias de aclimação recebendo uma dieta comercial para peixe carnívoro, com aproximadamente 50% de PB e 8% de lipídios. Antes do início do ensaio os animais passaram por um período de três dias de adaptação às dietas experimentais, as quais foram ofertadas por 60 dias.

Dietas

Foram formuladas oito dietas experimentais isoproteicas (Tabela 1 e 2) com diferentes níveis lipídicos (12 e 17%), parte dos quais foram compostos por duas fontes de óleo (peixe marinho ou vegetal), com e sem adição de 1,0 mg de selênio por quilo de dieta. A fonte lipídica de origem vegetal foi composta por uma mistura dos seguintes óleos: 45% de óleo de linhaça, 35% de óleo de colza e 20% de óleo de soja.

¹Seguindo recomendações da *Federation of European Laboratory Animal Science Associations* (FELASA), de acordo com as orientações para utilização de animais com fins científicos da diretiva Européia 2010/63/UE.

Tabela 1: Dietas experimentais contendo diferentes fontes e níveis de óleo, com e sem adição de 1,0 mg de selênio por quilo da dieta.

Ingredientes	Dietas							
	Óleo de peixe				Óleo vegetal			
	12%		17%		12%		17%	
	Selênio		Selênio		Selênio		Selênio	
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
Concentrado Soja (%)	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40	28,40
Farinha de Visceras Aves (%)	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00
Farinha Penas (%)	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Farinha Tilápia (56%)	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Farelo Trigo (%)	8,80	8,80	6,80	6,80	8,80	8,80	6,80	6,80
Milho Grão (%)	6,00	6,00	3,12	3,12	6,00	6,00	3,12	3,12
Farinha Carne(43%)	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61	5,61
Glúten Trigo(%)	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
DL – Metionina (%)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Binder (%)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fungistático (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Vitamina C (%)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Selênio (mg kg ⁻¹)	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00
Óleo de Peixe (%)	6,16	6,16	11,36	11,36	-	-	-	-
Óleo de Canola (%)	-	-	-	-	2,16	2,16	3,97	3,97
Óleo de Linhaça (%)	-	-	-	-	2,77	2,77	5,11	5,11
Óleo de Soja (%)	-	-	-	-	1,23	1,23	2,27	2,27
Premix - Vit e Mineral (%)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Cloreto de Colina (%)	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Composição centesimal calculada das dietas experimentais								
Proteína bruta (%)	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
Gordura (%)	12,0	12,0	17,0	17,0	12,0	12,0	17,0	17,0
Energia digestível (Mcal kg ⁻¹)	3,93	3,93	4,27	4,27	3,93	3,93	4,27	4,27
Fibra bruta (%)	2,19	2,19	1,92	1,92	2,19	2,19	1,92	1,92
Cálcio (%)	2,24	2,24	2,23	2,23	2,24	2,24	2,23	2,23
Fósforo total (%)	1,59	1,59	1,56	1,56	1,59	1,59	1,56	1,56
Fósforo disponível (%)	1,14	1,14	1,13	1,13	1,14	1,14	1,13	1,13
Lisina total(%)	2,54	2,54	2,51	2,51	2,54	2,54	2,51	2,51
Metionina total (%)	1,28	1,28	1,27	1,27	1,28	1,28	1,27	1,27
Met.+ Cistina total (%)	1,69	1,69	1,66	1,66	1,69	1,69	1,66	1,66

Níveis de garantia por kg de produto. Vit. A, 6000 UI; Vit. D, 6000 UI; Vit. K, 6,30 mg; Vit. B1, 11,76 mg; Vit.B2, 15,36 mg; Vit. B6, 12,74 mg; Vit. B12, 40 mcg; Ácido fólico, 1,92 mg; Ácido pantotênico, 39,20 mg; Colina, 800 mg; Niacina, 400 mg; Biotina, 0,2 mg; Antioxidante, 300 mg; Ferro, 257,15 mg; Zinco, 300 mg; Manganês, 133,45 mg; Cobre, 19,60 mg; Iodo, 9,40 mg.

Tabela 2: Perfil de ácidos graxos* das dietas experimentais constituídas por diferentes níveis e fontes de óleo, com e sem adição de selênio.

Ácido Graxo (g/100g)	Dietas							
	Óleo de peixe				Óleo vegetal			
	12%		17%		12%		17%	
	Selênio		Selênio		Selênio		Selênio	
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
C 12:0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0
C 13:0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C 14:0	4,2	4,2	4,8	4,5	1,1	0,9	0,7	0,7
C 14:1 n7	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
C 15:0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1
C 15:1 n7	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1
C 16:0	22,9	23,2	21,5	21,3	18,2	18,7	15,7	15,0
C 16:1 n7	4,9	4,9	5,0	4,8	2,3	2,4	1,8	1,7
C 16:2 n6	0,8	0,5	0,9	0,9	0,3	0,3	0,2	0,2
C 16:3 n3	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
C 16:4 n3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,1	0,1	0,0	0,1
C 18:0	4,6	5,6	5,1	5,9	4,0	3,8	4,7	7,6
C 18:1 n9	15,1	15,4	15,7	16,4	21,5	19,7	17,6	20,6
C 18:1 n7	1,9	1,7	1,9	1,8	2,1	2,5	1,6	1,3
C 18:2 n6	20,6	20,1	17,2	17,4	27,8	28,0	29,2	26,6
C 18:2 n3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
C 18:3 n3	3,2	2,6	2,9	2,8	17,5	19,3	24,5	22,8
C 18:4 n3	1,5	1,5	1,8	1,7	0,6	0,4	0,5	0,4
C 20:1 n9	0,8	0,8	0,7	0,7	0,6	0,7	0,6	0,5
C 20:2 n6	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
C 20:3 n3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0
C 21:0	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
C 20:4 n6	1,5	1,4	1,4	1,4	0,8	0,6	0,6	0,5
C 20:4 n3	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C 22:1 n9	0,6	0,5	0,5	0,6	0,3	0,3	0,3	0,3
C 20:5 n3	7,0	7,0	8,8	8,3	0,3	0,0	0,1	0,1
C 21:5 n3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C 22:3 n6	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
C 22:4 n6	0,4	0,4	0,4	0,4	0,2	0,2	0,1	0,1
C 22:5 n3	0,8	0,8	0,9	0,9	0,2	0,1	0,1	0,1
C 22:6 n3	5,5	5,7	6,9	6,5	0,3	0,1	0,1	0,1
N.D.	1,1	1,3	1,2	1,1	0,4	0,7	0,5	0,4
Saturado	32,7	33,9	32,2	32,6	23,8	23,9	21,6	23,7
Monoinsaturado	23,5	23,6	24,1	24,7	27,1	25,7	22,1	24,6
n-9	16,5	16,7	17,0	17,7	22,5	20,6	18,5	21,4
n-6	23,6	22,8	20,2	20,5	29,3	29,3	30,3	27,6
n-3	19,0	18,5	22,4	21,3	19,2	20,4	25,5	23,7
n-3/n-6	0,8	0,8	1,1	1,0	0,7	0,7	0,8	0,9

*Valores analisados.

Todos os ingredientes das dietas foram triturados e colocados em misturador tipo "Y" sendo posteriormente extrusados em pellets de 2 milímetros. A inclusão dos óleos foi realizada em duas etapas, antes e após o processo de extrusão, sendo a última realizada por cobertura. Após a extrusão, os pellets foram levados a estufa e posteriormente estocados a 4°C. As dietas foram ofertadas *ad libitum*, até saciedade aparente, durante seis dias na semana, sendo duas refeições diárias, às 10 e 16:00 horas.

Amostragens

Ao término do ensaio, os animais foram submetidos a um período jejum (*overnight*) para posterior amostragem. Antes do abate os peixes foram insensibilizados com benzocaína sendo posteriormente abatidos por secção da coluna cervical. Em seguida, realizou-se a coleta de músculo (filetagem) em quatro animais de cada tratamento, os quais foram congelados e estocados a -20°C. O fígado de seis animais de cada tratamento foi coletado, congelado imediatamente em nitrogênio líquido e armazenado a -80°C.

Composição centesimal

Para analisar a qualidade da carcaça, três animais de cada unidade experimental foram abatidos, eviscerados, homogeneizados, congelados e liofilizados para posteriores análises. As análises bromatológicas foram efetuadas em duplicata e de acordo com o AOAC (1996). Os animais e as dietas foram analisados para a matéria seca (105°C durante 24 h), matéria mineral (550°C durante 6 h), proteína bruta (N×6,25, Analisador de N da Leco, Modelo FP-528, Leco Corporation, St. Joseph, USA), gordura bruta (por extração com éter de petróleo, Soxtherm, Gerhardt, Germany) e energia bruta (bomba adiabática calorimétrica, Werke C2000, IKA, Germany).

Determinação de selênio

Para quantificação de selênio, seis animais de cada tratamento foram filetados e liofilizados. A determinação foi realizada por digestão ácida, pelo método de Reis e Almeida (2008), sendo a determinação realizada em triplicado por Espectrometria de Absorção Atômica por atomização eletrotérmica, onde a quantidade de selênio (Se) na

amostra analisada foi detectada devido à absorção de radiação ultravioleta no comprimento de onda de 196.0 nm. As concentrações obtidas foram calculadas com base na reta padrão gerada com soluções-padrão aquosas de selênio, sendo os resultados expressos em mg/kg (tecido liofilizado).

Perfil de ácidos graxos

A extração e quantificação lipídica foi adaptada de Bligh e Dyer (1959) seguindo método de determinação em matéria seca. Os ácidos graxos foram preparados segundo o método de Lepage e Roy (1986) e Masoud et al. (2005). Após o preparo, 0,015mg de gordura bruta foi dissolvida em 5ml de acetil chloride:metanol (1:19 v/v) e aquecido por uma hora em banho Maria a 80°C. Posteriormente, foram adicionados a solução 1ml de água ultrapura e 2ml de n-heptane. Em seguida a mesma foi homogenizada em vortex por um minuto sendo posteriormente centrifugada a 1500x g por cinco minutos, sendo o supernadante separado e analisado em cromatografia gasosa.

Foi utilizado um cromatógrafo a gás equipado com: colunas capilares Thermo TR-FAME (60 m × 0.25 mm ID, 0.25µm film thickness), injetor automático AS 3000 da Thermo Electron Corp. (Boston, Mass., U.S.A) e um detector por ionização de chamas, os quais foram utilizados para analisar o perfil de ácidos graxos. O injetor, em modo *splitless*, e o detector foram configurados para trabalhar em 250 e 280°C, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 100°C por um minuto, sendo elevado 10°C/min até 160°C e mantida por 10 minutos, seguindo um aumento de 4°C/min para 235°C e mantido por 10 minutos. Foi utilizado o Hélio como gás de arraste a uma vazão de 1,5ml/min. Ar e hidrogênio foram fornecidos ao detector a uma vazão de 350 e 35 ml/min, respectivamente.

Análise estatística

Os dados foram submetidos a uma Análise de Variância (ANOVA) dentro do delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial, o qual foi composto por três fatores (fonte, nível lipídico e suplementação de selênio). A ANOVA foi precedida pelos testes de Bartlett e Kolmogorov-Smirnov para avaliação da homogeneidade e normalidade dos dados, respectivamente. Sendo essas condições satisfeitas, deu-se

prosseguimento ao teste estatístico, sendo as diferenças entre os fatores obtidas pela estatística "F" da ANOVA, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

A deposição de proteína no corpo dos animais foi diretamente influenciada pela fonte de óleo, onde os animais alimentados com óleo de peixe tiveram maior deposição protéica (Tabela 3). Por outro lado, a deposição de selênio muscular e valor energético da carcaça dos peixes foram mais elevados nos animais que consumiram dietas a base de óleo vegetal. Nenhum efeito das fontes de óleo foi verificado em relação ao teor de matéria seca e cinzas dos animais.

Tabela 3: Composição centesimal e deposição corporal de selênio com base na matéria seca de corvinas alimentadas com diferentes perfis lipídicos e selênio.

<i>Fonte (F)</i>	Proteína	Gordura carcaça	Gordura hepática	Energia	Matéria seca	Matéria mineral	Selênio
Peixe	74,2±3,1a ¹	13,4±1,6b	31,6±7,2b	21,0±0,7b	98,2±1,6	17,9±1,8	0,31±0,08b
Vegetal	70,4±1,9b	14,6±1,3a	51,7±6,3a	21,5±0,7a	99,0±0,3	18,4±1,2	0,38±0,12a
Nível (%) (N)							
12	72,02±2,1	13,04±1,3b	40,9±12,0	21,3±0,5	99,1±0,3	17,4±0,8	0,39±0,12a
17	72,52±4,0	14,97±1,2a	42,4±12,5	21,1±0,9	98,1±1,6	18,9±1,7	0,30±0,07b
Selênio (Se)							
Sem	72,9±3,4	13,8±1,3	41,2±9,8	21,1±0,8	98,2±1,6	18,6±1,7	0,28±0,05b
Com	71,6±2,9	14,2±1,8	42,2±14,4	21,3±0,6	99,0±0,4	17,6±1,1	0,42±0,11a
Valor da probabilidade (F) da ANOVA							
F	0,0283*	0,0104*	<0,0001*	0,0478*	0,1072	0,5052	0,0404*
N	0,7354	0,0006*	0,4186	0,3836	0,0699	0,0729	0,0010*
Se	0,3740	0,3402	0,5786	0,4883	0,0995	0,1888	0,0002*
FxN	0,2510	0,0269*	0,3615	0,5104	0,1828	0,7739	0,4367
FxSe	0,9847	0,0469*	0,0021*	0,4521	0,1579	0,3489	0,3378
NxSe	0,6121	0,0969	0,6332	0,0372*	0,1700	0,4246	0,0883
FxNxSe	0,7469	0,0630	0,3893	0,7424	0,3449	0,3634	0,2791
CV (%)	3,97	5,02	14,99	3,05	0,90	7,63	15,83

*Significante pela estatística F. ¹Letras diferentes difere o fator a 5%. F: Fonte; N: Nível; Se: Selênio.

Em relação a deposição de gordura na carcaça, foi detectada uma interação entre os fatores fonte e nível (Tabela 4) e fonte e selênio (Tabela 5). Na primeira, foi detectado que dietas compostas por 12% de óleo vegetal acarretam em animais com maior quantidade de gordura em relação aqueles alimentados com 12% de óleo de peixe. Por outro lado, não houve diferença significativa na deposição de gordura entre

as fontes de óleo quando os animais foram alimentados com dietas contendo 17% de óleo.

Os animais alimentados com 17% de óleo de peixe apresentaram maior deposição de gordura na carcaça. Entretanto, não foi verificada diferença significativa na deposição de gordura em animais alimentados com 12 ou 17% de óleo vegetal.

Tabela 4: Deposição de gordura na carcaça de corvinas alimentadas com diferentes fontes e níveis lipídicos.

Fonte	Nível (%)	
	12	17
Peixe	11,98±0,20by ¹	14,86±0,58ax
Vegetal	14,11±0,80ax	15,08±1,68ax

¹a e b na linha diferem os níveis de óleo dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada nível. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Na interação entre fonte e selênio para deposição de gordura (Tabela 5) não foi verificado diferença na deposição de gordura quando os animais são alimentados com ou sem selênio, desde que a dieta seja à base de óleo de peixe. Por outro lado, quando a dieta é composta por óleo vegetal, a inclusão de selênio na dieta aumentou a deposição de gordura na carcaça das corvinas.

Em relação a inclusão de selênio dentro das fontes de óleo, verificou-se que dietas a base de óleo vegetal suplementadas com selênio acarretam em animais com maior deposição de gordura em relação aquelas suplementadas com selênio, porém constituídas por óleo de peixe. Já as dietas isentas de selênio não apresentam diferença significativa na deposição de gordura, independente da fonte de óleo estudada.

Tabela 5: Deposição de gordura na carcaça de corvinas alimentadas com diferentes fontes lipídicas, com e sem adição de selênio.

Fonte	Selênio	
	Sem	Com
Peixe	13,6±1,8ax	13,2±1,6ay ¹
Vegetal	14,0±0,7bx	15,2±1,7ax

¹a e b na linha diferem os níveis de óleo dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada nível. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Também foi detectada uma interação dupla entre os fatores fonte e selênio para deposição de gordura hepática das corvinas (Tabelas 3 e 6). Nesta, não foi detectado

efeito significativo da adição ou não de selênio sobre a deposição de gordura no fígado das corvinas quando as dietas foram compostas por óleo de peixe. Entretanto, dietas a base de óleo vegetal isentas de selênio acarretam em menor deposição de gordura hepática.

Ao avaliar a deposição de gordura no fígado das corvinas alimentadas com dietas a base de óleo vegetal, constatou-se que tal fonte de óleo acarreta em maior deposição de gordura hepática quando comparado com corvinas que consumiram dietas a base de óleo de peixe, independente da suplementação ou não de selênio (Tabela 6).

Tabela 6: Deposição de gordura hepática de corvinas alimentadas com diferentes fontes lipídicas, com e sem adição de selênio.

Fonte	Selênio	
	Sem	Com
Peixe	34,0±7,8ay	29,1±5,9ay ¹
Vegetal	48,3±5,5bx	55,2±5,0ax

¹a e b na linha diferem os níveis de óleo dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada nível. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Efeitos isolados do nível de óleo na dieta foi detectado para deposição de selênio na carcaça, onde os animais que consumiram dietas com 12% de gordura obtiveram maior deposição de selênio em relação aqueles que consumiram 17% de gordura (Tabela 3). Já a deposição de proteína, energia, teor de matéria seca e cinzas não apresentaram diferenças em relação do nível de óleo incluso na dieta.

Foi detectada uma interação dupla entre os fatores Nível e Selênio para o teor de energia na carcaça das corvinas (Tabela 7). Nesta, a inclusão ou não de selênio não alterou o teor energético da carcaça dos animais quando a dieta foi composta por 12% de gordura. Por outro lado, quando a dieta foi constituída por 17% de gordura com selênio, houve um aumento no teor energético da carcaça dos animais em relação as dietas isentas deste mineral.

As dietas compostas por 12 ou 17% de gordura, desde que suplementadas com selênio, não geraram efeito significativo no teor de energia na carcaça das corvinas (Tabela 7). Entretanto, dietas com 17% de gordura, isentas de selênio, acarretaram em menor teor energético em relação aquelas dietas com 12% de gordura, também isentas de selênio.

Tabela 7: Deposição de energia na carcaça de corvinas alimentadas com diferentes níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.

Nível (%)	Selênio	
	Sem	Com
12	21,5±0,6ax	21,0±0,4ax ¹
17	20,7±0,9by	21,5±0,7ax

¹a e b na linha diferem os níveis de óleo dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada nível. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Efeito isolado para a inclusão de selênio na dieta foi detectada para deposição muscular desse mineral nas corvinas, onde aqueles animais que consumiram dietas com selênio apresentaram maior quantidade desse mineral no músculo quando comparado com os animais que consumiram dietas isentas de selênio (Tabela 3). Nenhum efeito da inclusão de selênio foi detectado para proteína, gordura, energia, matéria seca e cinzas.

Diversos efeitos foram obtidos com as análises dos ácidos graxos no músculo e fígado das corvinas (Tabela 8 e 12). Entretanto, este estudo focou nos resultados dos principais ácidos graxos das famílias ômega 3 e 6. Efeitos isolados para fonte e nível foram detectados para os ácidos linoleico (C18:2n6), linolênico (C18:3n3), araquidônico (C20:4n6), eicosapentaenóico (C20:5n3 ou EPA) e docosahexaenóico (C22:6n3 ou DHA).

Em relação a fonte de óleo, maiores quantidades de EPA e DHA foram detectados no músculo dos animais alimentados com dietas a base de óleo de peixe. Por outro lado, maiores quantidades de ácidos linolênico, linoleico e araquidônico foram obtidos nos animais que consumiram dietas a base de óleo vegetal. Em relação ao nível de inclusão de óleo na dieta, maiores quantidades de todos ácidos graxos supracitados foram detectados nos animais que receberam dietas constituídas por 17% de lipídios, exceto o ácido graxo linoleico, presente em maiores quantidades nos animais alimentados com dietas a base de 12% de óleo (Tabela 8).

Tabela 8: Deposição de ácidos graxos muscular em corvinas alimentadas com diferentes fontes e níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.

Ácido Graxo	Fatores						Anova (Pr>F)						
	Fonte (F)		Nível (N)		Selênio (Se)		F	N	Se	FxN	FxSe	NxSe	FxNxSe
	OP	Veg	12	17	Sem	Com							
C14:0	1,42±0,30	0,66±0,20	0,98±0,38	1,10±0,54	0,98±0,44	1,10±0,49	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C15:0	0,30±0,04	0,14±0,02	0,21±0,07	0,23±0,10	0,22±0,09	0,22±0,09	**	**	ns	**	ns	ns	ns
C15:1n9	0,04±0,01	0,02±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C16:0	17,50±0,22	13,87±0,69	15,88±1,71	15,49±2,13	15,63±1,93	15,73±1,9	**	*	ns	**	ns	ns	ns
C16:1n5	0,27±0,02	0,12±0,02	0,18±0,08	0,21±0,08	0,20±0,08	0,19±0,08	**	**	ns	ns	ns	ns	ns
C16:1n7	2,51±0,43	1,62±0,31	2,09±0,47	2,04±0,70	1,99±0,58	2,13±0,60	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C16:1n9	0,20±0,02	0,19±0,05	0,21±0,03	0,18±0,05	0,20±0,02	0,19±0,05	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C16:2n4	0,16±0,04	0,04±0,02	0,09±0,06	0,11±0,07	0,09±0,06	0,11±0,07	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C16:2n7	0,37±0,02	0,20±0,02	0,27±0,09	0,29±0,09	0,29±0,09	0,28±0,09	**	**	ns	ns	ns	ns	ns
C16:3n4	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C17:0	0,30±0,04	0,08±0,03	0,17±0,10	0,21±0,13	0,18±0,12	0,20±0,12	**	**	*	**	ns	ns	ns
C18:0	7,88±0,47	8,25±0,80	8,09±0,73	8,04±0,63	8,28±0,57	7,85±0,71	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C18:1n7	1,96±0,19	1,33±0,31	1,59±0,33	1,70±0,48	1,61±0,38	1,68±0,44	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C18:1n9	17,27±1,76	24,99±1,24	21,80±3,59	20,46±4,75	20,88±4,37	21,38±4,1	**	**	ns	*	ns	ns	ns
C18:2n6	14,20±0,95	21,17±0,69	18,10±3,23	17,27±4,07	17,71±3,83	17,66±3,5	**	**	ns	**	ns	ns	ns
C18:3n3	1,39±0,19	7,96±0,68	4,47±0,14	4,87±0,69	4,55±0,41	4,79±0,45	**	**	ns	**	ns	ns	ns
C18:3n6	0,13±0,02	0,05±0,04	0,09±0,04	0,09±0,06	0,09±0,05	0,10±0,05	**	ns	ns	*	ns	ns	ns
C18:4n4	0,11±0,01	0,07±0,01	0,09±0,02	0,09±0,02	0,09±0,02	0,09±0,02	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C18:4n3	0,46±0,10	0,15±0,05	0,28±0,15	0,33±0,20	0,29±0,18	0,31±0,18	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C20:1n9	0,82±0,11	0,91±0,09	0,87±0,09	0,85±0,13	0,86±0,12	0,87±0,10	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C20:2n6	0,16±0,01	0,10±0,01	0,13±0,03	0,13±0,04	0,13±0,03	0,13±0,03	**	ns	ns	*	ns	ns	ns
C20:3n3	2,51±0,23	1,60±0,18	2,05±0,38	2,06±0,61	2,12±0,52	1,99±0,49	**	ns	*	*	ns	ns	ns
C20:3n6	0,29±0,03	0,38±0,02	0,35±0,05	0,32±0,05	0,34±0,05	0,33±0,04	**	*	ns	ns	ns	ns	ns
C20:4n3	0,30±0,02	0,12±0,03	0,24±0,09	0,21±0,10	0,21±0,10	0,25±0,09	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C20:4n6	0,04±0,01	0,14±0,03	0,08±0,04	0,10±0,07	0,09±0,05	0,09±0,06	**	*	ns	*	*	ns	ns
C20:5n3	6,25±0,38	1,80±0,26	3,93±2,15	4,12±2,48	4,09±2,36	3,96±2,28	**	*	ns	*	ns	*	ns
C21:5n3	0,15±0,01	0,04±0,01	0,09±0,05	0,10±0,06	0,10±0,06	0,10±0,06	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C22:1n9	0,25±0,09	0,22±0,09	0,23±0,09	0,24±0,09	0,21±0,08	0,26±0,09	ns	ns	*	*	ns	ns	ns
C22:2n6	0,11±0,02	0,05±0,02	0,08±0,04	0,08±0,03	0,08±0,04	0,09±0,04	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C22:3n6	0,25±0,02	0,22±0,03	0,25±0,03	0,21±0,02	0,24±0,03	0,23±0,03	**	**	*	ns	ns	ns	ns
C22:5n3	1,44±0,08	0,77±0,06	1,10±0,34	1,11±0,36	1,11±0,35	1,10±0,35	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C22:5n6	0,83±0,11	0,45±0,05	0,62±0,17	0,66±0,25	0,66±0,22	0,62±0,21	**	ns	ns	*	ns	ns	ns
C22:6n3	16,25±2,56	8,94±1,11	11,79±3,26	13,40±4,92	12,84±4,39	12,35±4,1	**	*	ns	*	ns	ns	ns
C24:0	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C24:1n9	0,45±0,06	0,39±0,05	0,41±0,05	0,43±0,07	0,41±0,05	0,43±0,07	*	ns	ns	ns	*	ns	*
Sat.	27,47±0,19	23,08±0,63	25,43±2,11	25,12±2,49	25,33±2,21	25,22±2,4	**	*	ns	ns	*	ns	ns
Mono.	24,18±1,95	30,05±1,61	27,71±2,72	26,51±4,08	26,69±3,58	27,53±3,4	**	*	ns	ns	ns	ns	ns
Poli.	45,55±2,01	44,37±1,50	44,19±1,25	45,73±2,06	45,25±1,97	44,67±1,7	*	*	ns	ns	ns	ns	ns
Sat/Insat	0,39±0,00	0,31±0,01	0,35±0,04	0,35±0,05	0,35±0,04	0,35±0,05	**	*	ns	*	ns	ns	ns
n3	29,95±2,97	22,10±1,23	24,85±3,46	27,20±5,32	26,33±4,89	25,72±4,3	**	*	ns	*	ns	ns	ns
n6	16,17±0,90	22,70±0,72	19,85±3,03	19,03±3,81	19,48±3,60	19,40±3,3	**	*	ns	*	ns	ns	ns
n3/n6	1,87±0,28	0,97±0,05	1,30±0,37	1,54±0,58	1,44±0,53	1,40±0,47	**	**	ns	*	ns	ns	ns
n9	19,12±1,71	26,80±1,37	23,56±3,58	22,36±4,77	22,67±4,34	23,25±4,1	**	*	ns	*	ns	ns	ns

NS: Não significativo. *Diferenças a 5% pela estatística "F".** Diferenças a 1% pela estatística "F".

Interações entre os fatores fonte e nível foram detectados para os ácidos graxos linoleico, linolênico, araquidônico, EPA e DHA (Tabelas 8 e 9). Em relação ao ácido linoleico, observou-se que animais que consumiram 12% de óleo de peixe apresentaram maior deposição deste ácido graxo em relação aqueles que consumiram 17% desta mesma fonte de óleo (Tabela 9). Entretanto, nenhuma diferença foi obtida em sua deposição quando os animais consumiram 12 ou 17% de óleo de origem vegetal. Ao comparar a deposição de ácido linoleico entre as fontes de óleo, observou-se que as dietas a base de óleo vegetal acarretam em maiores deposição deste ácido graxo no filé de corvina em relação ao óleo de peixe, independente do nível de inclusão estudado.

Na interação fonte e nível para os ácidos linolênico e araquidônico, não se observou diferença em suas deposições no filé das corvinas quando estas foram alimentados com 12 ou 17% de óleo de peixe. Por outro lado, dietas compostas por 17% de óleo vegetal acarretam em maiores deposições dos ácidos linolênico e araquidônico na carcaça de corvinas em relação as dietas com 12% desta mesma fonte de óleo. Ao avaliar a deposição destes mesmos ácidos graxos entre as fontes de óleo, foi detectado uma maior deposição nos animais que consumiram dietas a base de óleo vegetal em relação aqueles que consumiram dietas a base de óleo de peixe (Tabela 9).

Tabela 9: Deposição de ácidos graxos muscular em corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes e níveis lipídicos.

Fonte	A. Linoleico		A. Linolênico		A. Araquidônico		EPA		DHA	
	Nível		Nível		Nível		Nível		Nível	
	12	17	12	17	12	17	12	17	12	17
Peixe	15,0±	13,4±	1,5±	1,3±	0,04±	0,04±	6,0±	6,5±	14,7±	17,8±
	0,5ay	0,4by	0,2ay	0,2ay	0,01ay	0,01ay	0,2bx	0,3ax	1,7bx	2,3ax
Vegetal	21,2±	21,2±	7,5±	8,4±	0,12±	0,16±	1,8±	1,7±	8,9±	8,9±
	0,6ax	0,8ax	0,5bx	0,5ax	0,02bx	0,03ax	0,2ay	0,3ay	0,9ay	1,4ay

¹a e b na linha diferem os níveis de óleo dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada nível. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Na interação fonte e nível para os ácidos graxos EPA e DHA observou-se que os animais alimentados com 17% de óleo de peixe apresentaram maiores deposições destes ácidos graxos no filé. Tal fato não foi observado nos animais alimentados com óleo vegetal, onde não foi verificado diferença significativa entre os níveis de inclusão deste óleo sobre a deposição dos ácidos graxos EPA e DHA no filé das corvinas (Tabela 9).

Foram detectadas interações entre os fatores fonte e selênio para o ácido araquidônico (Tabela 10) assim como interação entre nível e selênio para o EPA (Tabela 11). Em relação a interação fonte e selênio para o ácido araquidônico (Tabela 10), percebe-se que não houve efeito do selênio na deposição do referido ácido graxo quando a dieta é constituída por óleo de peixe. Entretanto, quando a dieta foi composta por óleo vegetal, a não suplementação dietética com selênio reduziu a deposição de ácido araquidônico no filé de corvinas. Já em relação as fontes de óleo, independente da suplementação dietética de selênio, as dietas a base de óleo vegetal acarretaram maiores deposições do ácido araquidônico no filé de corvinas.

Tabela 10: Deposição de ácido araquidônico no músculo de corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes lipídicas, com e sem adição de selênio.

Fonte	Selênio	
	Sem	Com
Peixe	0,05±0,01ay	0,04±0,01ay
Vegetal	0,13±0,03bx	0,15±0,04ax

^a a e b na linha diferem os níveis de óleo dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada nível. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Na interação nível e selênio para deposição de EPA no filé de corvina (Tabela 11), não foi observado efeito significativo da suplementação dietética de selênio quando os animais receberam dietas contendo 12% de óleo. Entretanto, dietas contendo 17% de óleo, isentas de selênio, acarretam em maior deposição do referido ácido graxo em relação aquelas dietas com o mesmo nível de óleo, porém suplementadas com este mineral. Além disso, a suplementação de selênio não altera a deposição do EPA em dietas compostas por 12 e 17% de óleo. Por outro lado, a isenção de selênio nas dietas com 17% de óleo, favorece a deposição desse ácido graxo em relação as dietas com 12% de óleo, também isentas de selênio.

Tabela 11: Deposição muscular de EPA em corvinas alimentadas com diferentes níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.

Nível	Selênio	
	Sem	Com
12%	3,89±1,20 ^{ay}	3,97±1,26 ^{ax}
17%	4,29±1,64 ^{ax}	3,95±1,47 ^{bx}

¹a e b na linha diferem os níveis de óleo dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada nível. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Em relação aos ácidos graxos hepáticos, foram detectadas maiores quantidades dos ácidos linoleico, linolênico e araquidônico no fígado das corvinas alimentadas com óleo vegetal (Tabela 12). Por outro lado, maiores quantidades de EPA e DHA foram determinados no fígado de corvinas alimentados com óleo de peixe. Quanto ao nível de inclusão de óleo, foi detectada maior deposição hepática de todos ácidos graxos anteriormente comentados nas corvinas que receberam dietas com 17% de óleo, exceto para o DHA que não apresentou efeito para o fator nível. Já as dietas com inclusão de selênio apresentaram maiores quantidade dos ácidos graxos linolênico e araquidônico. Os ácidos graxos linoleico, EPA e DHA não foram afetados pelo fator selênio.

Tabela 12: Deposição de ácidos graxos no fígado de corvina alimentada com diferentes fontes e níveis lipídicos, com e sem adição de selênio.

Ácido Graxo	Fatores						Anova (Pr>F)						
	Fonte (F)		Nível (N)(%)		Selênio (Se)		F	N	Se	FxN	FxSe	NxSe	FxNxSe
	OP	OV	12	17	Sem	Com							
C 12:0	0,11±0,01	0,06±0,01	0,10±0,02	0,07±0,01	0,08±0,02	0,09±0,01	ns	ns	ns	ns	ns ¹	ns	ns
C 14:0	2,22±0,46	0,41±0,12	1,23±0,76	1,40±1,16	1,29±0,39	1,35±0,30	**	*	ns	**	ns	ns	ns
C 14:1	0,12±0,02	0,03±0,01	0,08±0,04	0,08±0,06	0,08±0,01	0,08±0,02	**	ns	ns	*	*	*	*
C 15:0	0,47±0,09	0,09±0,02	0,25±0,16	0,30±0,23	0,27±0,02	0,28±0,07	**	**	ns	**	ns	ns	ns
C 15:1	0,09±0,02	0,04±0,01	0,07±0,03	0,06±0,03	0,06±0,01	0,06±0,01	**	*	ns	ns	*	ns	ns
C 16:0	20,28±1,17	9,73±1,93	15,87±4,84	14,14±6,18	15,03±5,27	14,98±3,9	**	**	ns	**	*	ns	ns
C 16:1 n5	0,32±0,04	0,07±0,01	0,19±0,12	0,19±0,07	0,20±0,13	0,18±0,05	**	*	ns	**	ns	ns	ns
C 16:1 n7	5,85±1,85	2,87±0,62	4,64±1,42	4,08±1,51	4,39±1,03	4,33±1,08	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C 16:1 n9	0,64±1,34	0,50±0,11	0,49±0,11	0,65±0,34	0,43±0,17	0,71±0,32	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C 16:2 n4	0,25±0,07	0,07±0,10	0,13±0,11	0,23±0,12	0,17±0,13	0,19±0,08	**	**	ns	ns	ns	ns	ns
C 16:2 n7	0,50±0,04	0,27±0,03	0,39±0,13	0,37±0,11	0,38±0,12	0,38±0,13	**	ns	ns	*	*	ns	ns
C 17:0	0,40±0,13	0,10±1,24	0,22±0,13	0,28±0,12	0,23±0,17	0,27±0,19	**	*	ns	**	*	ns	ns
C 18:0	8,25±1,84	10,77±0,34	10,66±1,10	8,36±2,07	9,41±2,21	9,60±1,83	**	**	ns	**	ns	ns	ns
C 18:1 n7	2,12±0,33	1,39±0,34	1,85±0,46	1,59±0,50	1,70±0,34	1,76±0,61	**	*	ns	ns	*	ns	ns
C 18:1 n9	22,91±3,57	40,99±1,16	32,33±8,83	31,57±10,3	31,77±10,3	32,13±8,8	**	Ns	ns	*	ns	ns	ns
C 18:2 n6	16,51±1,49	19,26±1,81	16,79±1,30	18,98±2,29	17,61±2,35	18,16±1,9	**	**	ns	*	ns	ns	ns
C 18:3 n3	1,75±0,40	8,52±1,59	4,53±3,13	5,74±2,01	4,78±1,13	5,49±1,91	**	**	*	*	*	ns	ns
C 18:3 n6	0,17±0,03	0,02±0,01	0,08±0,07	0,10±0,02	0,09±0,01	0,09±0,01	**	**	ns	**	ns	ns	ns
C 18:4 n4	0,14±0,02	0,07±0,01	0,10±0,03	0,10±0,04	0,11±0,04	0,10±0,03	**	ns	ns	*	ns	*	*
C 18:4 n3	0,67±0,19	0,11±0,03	0,32±0,21	0,45±0,18	0,39±0,03	0,39±0,11	**	**	ns	**	ns	ns	ns
C 20:1 n11	0,08±0,03	0,06±0,20	0,10±0,20	0,05±0,01	0,09±0,02	0,05±0,01	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C 20:1 n9	0,88±0,17	1,12±0,24	1,02±0,26	0,98±0,21	0,97±0,28	1,03±0,19	*	ns	ns	*	ns	ns	ns
C 20:2 n6	0,24±0,07	0,17±0,03	0,20±0,06	0,20±0,07	0,21±0,07	0,20±0,06	**	ns	ns	ns	ns	ns	*
C 20:3 n3	1,40±0,61	0,31±0,11	0,82±0,71	0,89±0,31	0,94±0,08	0,77±0,11	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C 20:3 n6	0,30±0,04	0,33±0,05	0,30±0,04	0,33±0,05	0,31±0,04	0,32±0,05	*	*	ns	*	*	ns	ns
C 20:4 n3	0,20±0,07	0,02±0,01	0,09±0,08	0,13±0,12	0,12±0,01	0,11±0,03	**	**	ns	**	ns	ns	ns
C 20:4 n6	0,04±0,01	0,17±0,05	0,09±0,06	0,12±0,08	0,10±0,02	0,11±0,02	**	**	*	*	*	ns	ns
C 20:5 n3	3,35±1,31	0,06±0,03	1,34±1,42	2,08±0,25	1,91±0,25	1,51±0,45	**	*	ns	*	ns	ns	ns
C 22:1 n9	0,16±0,04	0,17±0,02	0,16±0,04	0,17±0,03	0,17±0,03	0,16±0,04	ns	ns	ns	ns	ns	*	*
C 22:5 n3	0,57±0,33	0,05±0,02	0,25±0,25	0,37±0,43	0,37±0,04	0,25±0,01	**	*	ns	ns	ns	ns	ns
C 22:6 n3	5,55±1,37	0,30±0,18	2,44±0,95	3,41±1,88	3,58±1,28	2,26±0,91	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Sat.	31,75±1,98	21,14±1,98	28,32±5,12	24,57±6,03	26,33±5,67	26,57±6,1	**	**	ns	*	*	*	ns
Mono	33,73±4,97	47,41±1,18	41,45±7,18	39,70±8,40	40,21±9,22	40,94±6,2	*	ns	ns	ns	*	ns	ns
Poli	32,35±5,55	29,86±3,11	28,28±2,96	33,93±4,28	31,45±6,09	30,75±2,5	*	**	ns	ns	*	ns	ns
Sat/Insat	0,48±0,04	0,28±0,05	0,41±0,11	0,34±0,11	0,38±0,11	0,38±0,12	**	**	ns	ns	ns	*	ns
n3	13,09±6,32	9,32±1,53	9,61±3,40	12,80±5,73	11,87±6,80	10,55±1,5	*	*	ns	ns	*	ns	ns
n6	17,85±1,41	20,12±1,85	17,84±1,13	20,12±2,03	18,67±2,20	19,30±1,7	**	**	*	*	ns	ns	ns
n3/n6	0,76±0,45	0,46±0,05	0,55±0,24	0,67±0,43	0,67±0,48	0,55±0,09	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
n9	25,14±3,75	42,99±1,25	34,39±8,74	33,73±10,2	33,75±10,3	34,37±8,6	**	ns	ns	*	ns	ns	ns

NS: Não Significativo. *Diferença a 5% (Teste "F").** Diferença a 1% (Teste "F").

Interações entre os fatores "Fonte e Nível" foram obtidas para os ácidos graxos linoleico, linolênico, araquidônico e EPA (Tabela 13). Independente do nível lipídico da dieta, maiores deposições hepáticas dos ácidos graxos linoleico, linolênico e araquidônico foram detectadas nos animais que receberam dietas a base de óleo vegetal. Os animais que consumiram dietas a base de óleo de peixe apresentaram maior deposição de EPA.

Quanto ao efeito do nível de óleo dentro da fonte vegetal, foi constatado uma maior deposição dos ácidos graxos linoleico, linolênico e araquidônico com dietas compostas por 17% de óleo. A deposição de EPA não foi afetada pelo nível de inclusão de óleo quando o óleo foi oriundo de fonte vegetal. Já em relação ao nível de óleo dentro da fonte animal, foi detectada maior deposição dos ácidos linoleico e EPA com dietas compostas por 17% de óleo. Já a deposição dos ácidos linolênico e araquidônico não foram afetados pelos níveis de óleo.

Tabela 13: Deposição de ácidos graxos no fígado de corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes e níveis lipídicos.

Fonte	A. linoleico		A. linolênico		A. araquidônico		EPA	
	Nível		Nível		Nível		Nível	
	12	17	12	17	12	17	12	17
Peixe	15,91±	17,11±	1,51±	2,00±	0,03±	0,04±	2,62±	4,09±
	0,90by	1,74ay	0,25ay	0,38ay	0,02ay	0,01ay	0,81bx	1,31ax
Vegetal	17,67±	20,85±	7,56±	9,48±	0,14±	0,20±	0,06±	0,06±
	1,00bx	0,55ax	0,66bx	1,68ax	0,02bx	0,04ax	0,03ay	0,04ay

¹a e b na linha diferem os níveis de óleo dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada nível. Diferenças a 5% pela estatística "F".

Interações entre os fatores "Fonte e Selênio" foram constatadas para a deposição hepática dos ácidos graxos linolênico e araquidônico (Tabela 14). Independente da inclusão de selênio, maiores deposições desses ácidos graxos foram obtidas com dietas composta por óleo vegetal. Por outro lado, não houve efeito da adição de selênio sobre a deposição dos ácidos linolênico e araquidônico quando as dietas foram compostas por óleo de peixe. Porém, dietas compostas por óleo vegetal suplementada com selênio geraram maiores deposições dos ácidos linolênico e araquidônico em relação aquelas com a mesma fonte de óleo e isentas desse mineral.

Tabela 14: Deposição hepática de ácidos graxos em corvinas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes lipídicas, com e sem adição de selênio.

Fonte	A. linolênico		A. araquidônico	
	Selênio		Selênio	
	Sem	Com	Sem	Com
Peixe	1,74±0,38ay	1,76±0,44ay	0,04±0,02ay	0,03±0,01ay
Vegetal	7,82±1,62bx	9,21±1,26ax	0,15±0,04bx	0,19±0,05ax

¹a e b na linha diferem a adição de selênio dentro de cada fonte. x e y na coluna diferem as fontes de óleo dentro de cada inclusão de selênio. Diferenças a 5% pela estatística "F".

DISCUSSÃO

A deposição lipídica na carcaça de corvinas alimentadas com óleo de peixe aumentou conforme o incremento de óleo na dieta. Tal resultado está de acordo com aqueles encontrados por Chatzifotis et al., (2010), os quais também notaram um aumento na deposição de gordura corporal ao fornecerem dietas com 13, 17 e 21% de óleo de peixe para corvinas. Por outro lado, não foi verificado aumento significativo na deposição de gordura na carcaça de corvinas alimentadas com 12 e 17% de óleo vegetal. Além disso, os animais alimentados com óleo vegetal apresentaram menor deposição de proteína corporal. Tais resultados são indícios de que a dieta a base de óleo vegetal estimula as corvinas a catabolizarem a proteína como fonte de energia, reduzindo assim sua deposição corporal.

Em relação a deposição de selênio, foram demonstrados efeitos isolados entre seu nível de inclusão na dieta e sua deposição na carcaça. Além disso, também foi observado maior deposição deste mineral quando as dietas foram compostas por óleo de peixe e também por 12% de óleo. A maior deposição de selênio em relação a sua inclusão na dieta está de acordo com os resultados de Hilton et al. (1980) o qual avaliou sua deposição e toxicidade em trutas (*Salmo Gairdneri*). Além disso, Lin e Shiau (2007) e Liu et al. (2010) também encontraram aumento na deposição de selênio em função de seu aumento na dieta de garoupa (*Epinephelus malabaricus*) e beijupirá (*Rachycentrum canadum*), respectivamente.

Uma maior deposição de gordura hepática foi observada em corvinas alimentadas com óleo vegetal. Este fato pode estar relacionado com a beta oxidação dos ácidos graxos, a qual requer sua entrada no ciclo do ácido cítrico. A entrada dos ácidos graxos no ciclo do ácido cítrico dar-se na forma de acetil coenzima A e para que isso ocorra ela deve estar ligada a uma molécula de oxaloacetato, para formação de citrato. Entretanto, a elevada demanda de oxaloacetato pelas células hepáticas durante a gliconeogênese, gera uma depleção desta molécula. Sendo assim, a ausência de oxaloacetato impede a oxidação da Acetil coenzima A, a qual é convertida em corpos cetônicos. Os ácidos graxos formados nos hepatócitos e a formação dos triglicerídeos são estimulados, acarretando em acúmulo de gordura no fígado (Reece, 2006). Outros autores também demonstraram haver um aumento na deposição de gordura hepática

quando realizada a substituição do óleo de peixe por fontes vegetais, a exemplo do salmão do Atlântico (Torstensen et al., 2000; Bell et al., 2001).

Os óleos vegetais em sua natureza apresentam maiores quantidades de ácidos graxos polinsaturados (PUFA), em especial o linoleico e linolênico, em relação aos óleos de peixes marinho, ricos em ácidos graxos altamente insaturados (HUFA).

As corvinas alimentadas com óleo vegetal apresentaram uma maior deposição de ácido linoleico (AL) no músculo ($21,17 \pm 0,69$ VS $14,20 \pm 0,95$) e fígado ($19,26 \pm 0,72$ VS $16,51 \pm 1,16$), quando comparado com aquelas alimentadas com óleo de peixe. Os peixes que possuem um aparato enzimático capaz de alongar e dessaturar ácidos graxos poderão obter o ácido araquidônico (AA) a partir de seu precursor, o ácido linoleico (AL). Os resultados deste estudo sugerem que a corvina consegue utilizar tal via de conversão, uma vez que a deposição de AA tanto no músculo ($0,14 \pm 0,02$ VS $0,04 \pm 0,01$) quanto no fígado ($0,17 \pm 0,03$ VS $0,04 \pm 0,01$) foram significativamente maiores nos peixes alimentados com óleo vegetal em relação aqueles alimentados com óleo de peixe.

Foi observada uma maior deposição de EPA ($1,80 \pm 0,26$) e DHA ($8,94 \pm 1,11$) no músculo das corvinas alimentadas com óleo vegetal em relação a quantidade presente nas dietas a base desta mesma fonte de óleo (EPA=0,125 e DHA=0,15). Isso indica que tal espécie também consegue alongar e dessaturar o ácido linolênico para formação de EPA e DHA, respectivamente.

As enzimas alongases exercem a função de adicionar átomos de carbono (dois a dois) na parte inicial da cadeia do ácido graxo. Já as dessaturases atuam inserindo insaturações a cadeia, dando origem a uma nova dupla ligação (Martin et al., 2006). Segundo Ribeiro et al. (2008), os peixe de água doce expressam as alongases e dessaturases, sendo assim capazes de alongar e dessaturar PUFA até HUFA, desde que os primeiros estejam presentes na dieta. Entretanto, os peixes marinhos, por terem uma dieta rica em alimentos contendo EPA e DHA (fitoplâncton), não possuem capacidade de alongar e dessaturar tais ácidos graxos (Visentainer et al., 2007), fazendo-se necessário sua inclusão na dieta. Apesar disso, estudos sobre a expressão gênica das alongases e dessaturases em corvinas alimentadas com óleo vegetal são sugestivos de que tal espécie é capaz de alongar e dessaturar PUFA para formação de HUFA (Silva Brito et al., 2014).

As interações encontradas para os fatores fonte e nível nos principais ácidos graxos avaliados neste trabalho refletem diretamente seu nível de inclusão dietético. Com o aumento do nível de óleo de peixe (pobre em ácido linoleico) de 12 para 17% houve a necessidade de redução na quantidade de milho (rico em ácido linoleico, segundo Rostagno et al., 2011) na dieta de 6,0 para 3,12%. Desta forma, a redução do milho nas dietas a base de 17% de óleo de peixe acarretou na redução de ácido linoleico nessas dietas. Já a sua maior deposição gerada na carcaça das corvinas em função da ingestão de dietas a base de óleo vegetal refletiu a maior incidência deste ácido graxo nesta fonte de óleo. Estudos substituindo o óleo de peixe dietético por fonte de ácido linoleico no cultivo do salmão e truta acarretaram em maior deposição deste ácido graxo no músculo destes peixes (Torstensen et al., 2000; Bell et al., 2001, 2003; Wijekoon et al., 2014), sendo assim, este trabalho corrobora com de tais estudos.

A mistura de óleo vegetal utilizada neste trabalho possui 45% de óleo de linhaça, o qual é rico em ácido linolênico, refletindo assim numa maior deposição deste ácido graxo nos peixes que consumiram 17% de óleo vegetal em relação aos que consumiram dietas compostas por 12% desta mesma fonte. Além disso, como o óleo de peixe marinho é pobre em ácido linolênico, houve uma menor deposição muscular deste ácido graxo nos animais que consumiram dietas contendo óleo de peixe. Menoyo et al. (2005) ao substituírem gradativamente o óleo de peixe por óleo de linhaça também detectaram um aumento dos níveis de ácido linolênico na carcaça de salmão. Resultados similares foram encontrados por Mourente et al. (2005) ao utilizarem dietas com óleo de linhaça em substituição ao óleo de peixe na alimentação de robalo (*Dicentrarchus labrax*).

Apesar de haver maior quantidade de ácido araquidônico nas dietas a base de óleo de peixe, foi detectada maior deposição muscular deste ácido graxo nos animais que consumiram dietas a base de óleo vegetal. Além disso, o aumento do teor de óleo vegetal na dieta estimulou a deposição de ácido araquidônico pelo animal.

Em relação a interação fonte e nível para os HUFA da série n-3 (EPA e DHA), foi constatado uma maior deposição destes nos peixes que consumiram dietas a base de óleo de peixe. Tal resultado comprova a afirmação de que a dieta consumida pelo animal interfere diretamente em sua composição corporal (Visentainer et al., 2005) em especial para o perfil lipídico da mesma. Além disso, a maior deposição de EPA e DHA nos animais que consumiram dietas a base de óleo vegetal, em relação ao que foi

disponibilizado na dieta, sustentam a teoria de que as corvinas conseguem produzir tais ácidos graxos a partir de seu precursor, o ácido linolênico. Entretanto, o aumento de ácido linolênico na dieta, avaliado neste trabalho, não interferiu na produção de HUFA-n3.

CONCLUSÃO

Desta forma, pode-se concluir que os animais alimentados com a mistura de óleo vegetal utilizada neste trabalho tendem a entrar em gliconeogênese, metabolizando a proteína corporal para gerar energia. Além disso, há indícios de que a corvina consegue alongar e dessaturar PUFA para produção de HUFA.

REFERÊNCIAS

- Association Of Official Analytical Chemists - AOAC. Official methods of analysis. 16.ed. Arlington: 1996. 1137p.
- Bell, J.G., McEvoy, J., Tocher, D.R., McGhee, F., Campbell, P.J. and Sargent, J.R. (2001), Replacement of fish oil with rape seed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. The Journal of Nutrition 131: 1535–1543.
- Bell, J.G., McGhee, F., Campbell, P.J. and Sargent, J.R. (2003), Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil “wash out”. Aquaculture 218, 515–528.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959), A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry, v.37, n.8, p.911-917.
- Chatzifotis, S., Panagiotidou, M., Papaioannou, N., Pavlidis, M., Nengas, I. and Mylonas, C.C. (2010), Effect of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and serum metabolites of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles. Aquaculture 307, 65–70.
- Codabaccus, S., Bridle, A., Nichols, P. and Carter, C. (2011), An extended feeding history with a stearidonic acid enriched diet from parr to smolt increases n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids biosynthesis in white muscle and liver of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture 322-323 (2011) 65–73
- Duncan, N.J., Estévez, A., Porta, J., Carazo, I., Norambuena, F., Aguilera, C., Gairin, I., Bucci, F., Vallés, R. and Mylonas, C.C. (2012), Reproductive development, GnRHa-induced spawning and egg quality of wild meagre (*Argyrosomus regius*) acclimatised to captivity. Fish Physiol. Biochem. 38, 1273–1286
- FAO, 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture 2014 (SOFIA). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Hilton, J.W., Hodson, P.V. and Slinger, S.J. (1980), The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Nutr. 110, 2527–35.
- Lang, T., Barling, D. and Caraher, M. (2009), Food policy: integrating health, environment and society. New York (USA): Oxford University Press.
- Lepage, G. and Roy, C. (1986), Direct transesterification of all classes of lipid in a one step reaction. J Lipid Res. 27:114-20.
- Lin, Y.H. and Shiau, S.Y. (2007), The effects of dietary selenium on the oxidative stress of grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed high copper. Aquaculture 267, 38–43.

Liu, K., Wang, X.J., Ai, Q., Mais, K. and Zhang, W. (2010), Dietary selenium requirement for juvenile cobia. *Aquaculture Research* 41, 594–601.

Martin, C.A., Almeida, V.V., Ruiz, M.R., Visentainer, J.E.L., Matshushita, M., Souza, N.E. and Visentainer, J.V. (2006), Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Revista de Nutrição, Campinas*, v.19, n.6, p.761-770.

Masood, A., Stark, K.D. and Salem JR, N. (2005), A simplified and efficient method for the analysis of fatty acid methyl esters suitable for large clinical studies. *J. Lipid Res.*, v.46, p.2299-2305.

Menoyo, D., López-Bote, C.J., Obach, A. and Bautista, J.M. (2005), Effect of dietary fish oil substitution with linseed oil on the performance, tissue fatty acid profile, metabolism, and oxidative stability of Atlantic salmon. *J. Anim. Sci.* 83, 2853–62.

Mourente, G., Good, J.E. and Bell, J.G. (2006), Partial replacement of dietary fish oil with blends of vegetable oils (rapeseed, linseed and palm oils) in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) over a long term growth study: Effects on muscle and liver fatty acid composition and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 145 389–399

Mourente, G., Good, J.E. and Bell, J.G. (2005), Partial substitution of fish oil with rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): effects on flesh fatty acid composition, plasma prostaglandins E₂ and F_{2a}, immune function and effectiveness of a fish.

Pike, I.H., Barlow, S.M. (2003), Impact of Fish Farming on Fish Stocks. *International Aquafeed Directory 2003*, 24-29.

Quémener, L., Suquet, M., Mero, D. and Gaignon, J.L. (2002), Selection method of new candidates for finfish aquaculture: the case of the French Atlantic, the Channel and the North Sea coasts. *Aquat. Living Resour.* 15, 293–302.

Reece, W.O. - Dukes- Fisiologia dos Animais Domésticos. 12ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2006. 926p

Reis, P. and Almeida C.M.R. (2008), Matrix importance in animal material pre-treatment for metal determination. *Food Chemistry*, 107 : 1294-1299.

Ribeiro, P.A.P., Logato, P.V.R., Paula, D.A.J., Costa, A.C., Murgas, L.D.S. and Freitas, R.T.F. (2008), Efeito do uso de óleo na dieta sobre a lipogênese e o perfil lipídico de tilápias-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.37, n.8, p.1331-1337.

Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Donzele, J.L., Gomes, P.C., Oliveira, R.F., Lopes, D.C., Ferreira, A.S., Barreto, S.L.T., Euclides, R.F. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos. 3ª edição, Viçosa, MG: UFV, 252 p., 2011.

Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G. and Hoekstra, W.G. (1973), Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 179, 558-560.

Silva-Brito, F., Fonseca, S.B., Peixoto, M.J.D., Domingues, A.F., Damasceno-Oliveira, A., Gonçalves, J.F., Castro, F.C., Cunha, I. and Ozorio, R.A. (2014). Metabolic regulation in meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801): Study of gene-diet interactions on lipid metabolism. *Front. Mar. Sci. Conference Abstract: IMMR | International Meeting on Marine Research 2014*. doi: 10.3389/conf.FMARS.2014.02.00014

Tacon, A. (2004) Use of fishmeal and fish oil in aquaculture: A global perspective. *Aquatic Resources, Culture and Development*. 1(1): 3-14. DOI:10.1079/ARC2004005

Tacon, A.G.J. and Metian, M. (2008), Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 7: 146–158.

Torstensen, B.E., Lie Ø. and Frøyland, L. (2000), Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L) effects of capelin oil, palm oil, and oleic acid-enriched sunflower oil as dietary lipid sources. *Lipids* 35: 653–664.

Turchini, G.M., Mentasti, T., Caprino, F., Giani, I., Panseri, S., Bellagamba, F., Moretti, V. M. and Valfré, F. (2005), *Italian journal of animal science*, 4: 241-252.

Vallés, R. and Estévez, A. (2013), Light conditions for larval rearing of meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture* 376–379, 15–19.

Vance, D.E. and J.E Vance. (1985), *Biochemistry of lipids and membranes*. Edited by D E Vance and J E Vance. pp 593. Benjamin/Cummings, California

Visentainer, J.V., Souza, N.E., Matsushita, M., Hayashi, C. and Franco, M.R.B. (2005), Influence of diets enriched with flaxseed oil on the α - linoleic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic fatty acids in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Chemistry, Barking*, v. 90, n. 4, p. 557-560.

Visentainer, J.V., Noffs, M.D.A., Carvalho, P.O., Almeida, V.V., Oliveira, C.C. and Souza, N.E. (2007), Lipid content and fatty acid composition of 15 marine fish species from the southeast coast of Brazil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Chicago, v. 84, p. 543- 547.

Watanabe, T., Kiron, V. and Satoh, S. (1997), Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture* 151, 185-207.

Wijekoon, M.P.A., Parrish, C.C. and Mansour, A. (2014), Effect of dietary substitution of fish oil with flaxseed or sunflower oil on muscle fatty acid composition in juvenile steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at varying temperatures. *Aquaculture* 433, 74–81.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho poderão servir de suporte para entender parte do funcionamento e modificações no metabolismo de corvinas (*Argyrosomus regius*) quando alimentadas com óleo vegetal em substituição ao óleo de peixe. Ainda que não atenda suas exigências metabólicas, confirmamos a capacidade que as corvinas possuem em alongar e dessaturar ácidos graxos de 18 carbonos até aqueles compostos por 20 ou mais carbonos, em especial os membros da família ômega 3 e 6.

Com as informações obtidas nesta tese, pode comprovar que a redução lipídica dietética de 17 para 12% potencializa o desempenho zootécnico de corvinas. Tal fato é de interesse para a aquicultura, uma vez que a menor exigência lipídica poderá mitigar a demanda de óleo para compor as dietas para a espécie em estudo além de proporcionar um melhor desenvolvimento para o animal em cultivo.

A catalase poderá ser utilizada como indicador da beta oxidação de ácidos graxos com mais de 20 carbonos, sendo assim, uma análise a ser considerada em estudos que objetivam avaliar o melhor nível dietético de HUFA para peixes.

Novos estudos são necessários para melhor compreensão das relações existentes entre o metabolismo do selênio com as diferentes fontes e níveis lipídicas estudadas neste trabalho. Por outro lado, foi possível confirmar sua atuação como cofator da enzima glutathione peroxidase.