

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**FONTES DE LIPÍDIOS POLIINSATURADOS NA
NUTRIÇÃO E SAÚDE DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis
niloticus*)**

DANIEL DE MAGALHÃES ARAUJO

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como
parte dos requisitos para a obtenção
do título de Doutor em Zootecnia.

BOTUCATU - SP

Julho de 2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

FONTES DE LIPÍDIOS POLIINSATURADOS NA
NUTRIÇÃO E SAÚDE DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis*
***niloticus*)**

DANIEL DE MAGALHÃES ARAUJO

Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como
parte dos requisitos para a obtenção
do título de Doutor em Zootecnia.

BOTUCATU – SP

Julho de 2009

DEDICATÓRIA

Dedico:

A Deus, por ter me dado a maior oportunidade da vida: a oportunidade de estudar.

Aos meus familiares: avós, tios, tias, primos, primas e padrinhos, pois foram sempre alegria, inspiração e refúgio.

Ao meu irmão, com amor, pela amizade e companheirismo, mesmo com a distância.

Aos meus pais, com amor, por serem meus exemplos, por me incentivarem, estarem sempre presentes, por lutarem para me proporcionar a melhor educação.

A minha esposa Luana Tiekko Omena Tamano, com amor, pelo exemplo de perseverança que me inspira a cada dia, pela força de vontade e dedicação ao estudo, por dividirmos nossos sonhos e por sempre me auxiliar na concretização dos mesmos...

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao Governo Federal do Brasil que, por meio de seus contribuintes, possibilitou meus estudos de graduação, mestrado e doutorado.

Agradeço a Universidade Federal de Alagoas – UFAL pela oportunidade de formação na primeira turma do curso de Zootecnia, a todos os funcionários e professores que contribuíram com minha formação. Agradeço aos colegas e amigos com os quais pude compartilhar experiências e conhecimento.

Agradeço especialmente ao professor André Maia Gomes Lages pelos ensinamentos e incentivo para que eu continuasse meus estudos de pós-graduação.

Agradeço a professora Edma Carvalho de Miranda pelos ensinamentos de vida e persistência, por compartilhar comigo seu amplo conhecimento científico na área de Zootecnia, pelo inestimável auxílio e orientação para que eu pudesse conduzir minha carreira acadêmica, desde a graduação até o doutorado. Serei eternamente grato por sempre ter sido minha madrinha de profissão.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, ao Centro de Ciências Agrárias e ao Centro de Formação de Tecnólogos da Universidade Federal da Paraíba – UFPB pela formação no mestrado em Zootecnia, a CAPES pela bolsa de estudos e a todos os funcionários e professores que me auxiliaram no aprimoramento de minha formação. Agradeço aos colegas e amigos com quem convivi durante o curso.

Agradeço aos amigos da área de avicultura com quem, durante meu curso de mestrado, tive a oportunidade de trabalhar: Marcelo Luis Gomes Ribeiro, José Jordão Filho, Edson Lindolfo da Silva, Elisanie Neiva de Magalhães Teixeira, José Anchieta de Araujo e Matheus Ramalho de Lima.

Agradeço, por tudo, aos grandes amigos: Ellio Celestino Chagas, Leonardo Augusto Fonseca Pascoal e Valdi de Lima Junior, por terem sido como meus irmãos durante o breve período em que moramos juntos.

Agradeço ao meu orientador do mestrado, professor José Humberto Vilar da Silva, pela orientação, por ter compartilhado comigo seus amplos conhecimentos, por ter me

proporcionado grande oportunidade de aprendizado e por me fazer ainda mais entusiasmado com a ciência. Sinto-me um privilegiado por ter sido seu orientado.

Agradeço ao Estado de São Paulo que, por meio de seus contribuintes, possibilitou minha formação no curso de doutorado em Zootecnia da UNESP.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho pelos estudos de doutorado. Da mesma forma, agradeço aos cursos de Pós-graduação: em Aqüicultura Continental do Centro de Aqüicultura da UNESP - CAUNESP; em Genética do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu; em Oceanografia do Instituto Oceanográfico da USP; em Biologia Celular e Tecidual do Instituto de Ciências Biomédicas da USP e em Fisiologia Geral do Instituto de Biociências da USP pelas disciplinas de pós-graduação que pude cursar como aluno vinculado.

Agradeço aos funcionários do Departamento de Melhoramento Zootécnico e Nutrição Animal Cilene e, especialmente, ao Luiz Carlos Fernandes; aos secretários da Seção de Pós-graduação em Zootecnia: Seila Cristina Cassineli Vieira, Danilo Juarez Teodoro Dias e Carmen Silvia de Oliveira Pólo pelo auxílio com a documentação, matrículas internas e externas, cumprimento das exigências e prazos e aos analistas do Laboratório de Bromatologia: Renato Monteiro da Silva e Gisele pela disponibilidade e auxílio na realização das análises.

Agradeço a todos os funcionários das Bibliotecas da UNESP, principalmente as da FCA, Denise e Solange, que são verdadeiros exemplos de profissionais dedicadas, com irrefutável atendimento ao público e disposição para a busca e oferta de material didático solicitado.

Agradeço aos professores doutores: Carlos Ducatti; Miriam Celí Pimentel Porto Foresti; Cláudio Angelo Agostinho; Maria José Tavares Ranzani de Paiva; Márcia Regina Fernandes Boaro Martins; Ricardo de Oliveira Orsi; Rodrigo Yudi Fujimoto; Edivaldo Antônio Garcia; Fausto Foresti; Maria Célia Portella; Luís E. C. Conceição; Gilson Luiz Volpato; Maria Ines Borella; June Ferraz Dias e Renata Guimarães Moreira pelas aulas.

Agradeço ao professor Dirlei Antonio Berto pelo fornecimento de ingredientes para a realização dos experimentos, pelas sugestões e correções ao trabalho, assim como por toda a sua disponibilidade e auxílio.

Agradeço ao professor Carlos Roberto Padovani, do Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu pelo auxílio na realização das análises estatísticas dos experimentos.

Agradeço ao professor José Roberto Sartori por toda atenção, ajuda, acolhida, pelas aulas e orientações, além da confiança, oportunidade de aprendizado e trabalho.

Agradeço a professora Margarida Maria Barros pela possibilidade de conduzir meus estudos de doutorado com nutrição de peixes em um dos melhores laboratórios da área no país. Agradeço pela disponibilidade, por todo o auxílio com o planejamento dos estudos que originaram este trabalho, assim como com a execução dos experimentos, em especial com os treinamentos e análises hematológicas, assim como pelas aulas e pelas correções da tese.

Agradeço ao professor Luiz Edivaldo Pezzato, meu co-orientador, também pela possibilidade de conduzir meus estudos de doutorado com nutrição de peixes, pelo auxílio com o planejamento dos estudos, pela viabilização de recursos para a realização dos experimentos e todas as análises, por todos os ensinamentos, pela disponibilidade, pelas aulas e pela preocupação com uma formação de qualidade para seus alunos.

Agradeço ao meu orientador, professor Antonio Celso Pezzato, por todas as oportunidades de estudo que me proporcionou, por me dar liberdade de direcionar meus estudos de doutorado de forma que pudesse extrapolar em mais que o dobro o número de créditos em disciplinas nas mais diversas áreas, por seus ensinamentos, pelas suas aulas, pelo companheirismo e entendimento.

Agradeço aos colegas da equipe de pesquisa do Laboratório de Nutrição de Peixes – AquaNutri, Dario Rocha Falcon, Igo Gomes Guimarães, Ademir Calvo Fernandes Junior, Vivian Gomes dos Santos, André Moreira Bordinhon, Blanca Stella Pardo Gamboa, Luiz Gabriel Quintero Pinto, Altevir Signor, Rosângela do Nascimento Fernandes, Fernando Cojima Nakagome, Caroline Pelegrina Teixeira, João Fernando Albers Kock, Graciela Pessoa Martins, assim como a todos os estagiários pelo auxílio.

Agradeço a todos os colegas que pude conviver durante as disciplinas que frequentei durante o doutorado nos cursos de pós-graduação, principalmente ao pessoal da avicultura, assim como a todos os outros com quem convivi fora das salas de aula, principalmente ao Lúcio Girão.

Agradeço aos amigos Jamerson e Márcia; Renato e Ticiane pela verdadeira amizade que construímos e pelos bons momentos que passamos juntos.

Agradeço a Agrocosta® - Sementes e Nutrição Animal, na época representada pela médica veterinária Enely Pisani, pelo fornecimento do óleo de linhaça utilizado nos estudos.

Agradeço ao CNPQ que, por meio do Edital Universal (Edital MCT / CNPq 15/2007 – Universal; Processo: 474489 / 2007 - 8) financiou este trabalho.

Agradeço ao Estado de Alagoas, do qual sou Natural, e aos seus contribuintes que, por meio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas – FAPEAL, concedeu Bolsa de Estudos (FAPEAL Processo: 20051131240-1; Projeto: 22821) para que eu pudesse realizar meus estudos de doutorado.

SUMÁRIO

	PÁGINA
CAPÍTULO I	
Considerações Iniciais	
1. Lipídeos	02
2. Ácidos Graxos	03
3. Ácidos Graxos Essenciais	06
4. Exigência Dietética de Ácidos Graxos pelos Peixes	10
5. Ácidos Graxos e Saúde dos Peixes	16
6. Referências Bibliográficas	20
 CAPÍTULO II	
Desempenho de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos poliinsaturados.....	
	25
Resumo	26
Abstract	27
Introdução	28
Material e Métodos	30
Resultados e Discussão	34
Conclusão	40
Referências Bibliográficas	41

CAPÍTULO III

Fontes de ácidos graxos poliinsaturados em dietas de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>): hematologia e lipídeos plasmáticos antes e após estímulo pelo frio.....	43
Resumo	44
Abstract	45
Introdução	46
Material e Métodos	49
Resultados e Discussão	54
Conclusão	60
Referências Bibliográficas	61

CAPÍTULO IV

Implicações	66
-------------------	----

LISTA DE TABELAS

TABELA	PÁGINA
 CAPÍTULO II	
Tabela 1. Ácidos graxos saturados e algumas características.....	06
Tabela 2. Ácidos graxos monoinsaturados, poliinsaturados e altamente insaturados.....	09
Tabela 3. Percentual de ácidos graxos dos óleos de girassol e linhaça.....	10
 CAPÍTULO II	
Tabela 1. Composição percentual e nutricional calculada das rações experimentais.....	33
Tabela 2. Peso final (PF, g), ganho de peso (GP, g/peixe/dia), consumo aparente de ração (CAR, g/peixe/dia), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de eficiência protéica (TEP), retenção de proteína bruta (RPB, %) e retenção de energia (TREB, %) de tilápias nilóticas alimentadas com rações contendo óleos de girassol, linhaça e suas misturas.....	35
Tabela 3. Composição químico-bromatológica da carcaça de tilápias nilóticas alimentadas com rações contendo óleos de girassol, linhaça e suas misturas.....	37
Tabela 4. Índices víscero-somático total (IVST), víscero-somático (IVS), hepato-somático (IHS), de gordura abdominal (IGA) e índice de comparação relativa da gordura abdominal (IRCGA) de tilápias nilóticas alimentadas com rações contendo óleos de girassol, linhaça e suas misturas.....	38

CAPÍTULO III

Tabela 1. Composição percentual e nutricional calculada das rações experimentais.....	50
Tabela 2. Parâmetros hematológicos (n = 6; médias±desvios padrão) de tilápias alimentadas com rações contendo óleos de girassol, linhaça e suas misturas antes e após estímulo pelo frio.....	52
Tabela 3. Índices hematimétricos absolutos (n = 6; médias±desvios padrão) de tilápias alimentadas com rações contendo óleos de girassol, linhaça e suas misturas antes e após estímulo pelo frio.....	56
Tabela 4. Parâmetros sanguíneos (n = 6; médias±desvios padrão) de tilápias alimentadas com rações contendo óleos de girassol, linhaça e suas misturas antes e após estímulo pelo frio.....	59

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. LIPÍDEOS

Lipídeos são um grupo amplo de compostos biológicos, heterogêneos, facilmente solubilizados por solventes orgânicos, como metanol, acetona, clorofórmio e benzeno; sendo insolúveis ou pouco solúveis em água pela falta de átomos polarizados em suas moléculas, assim como oxigênio, nitrogênio, enxofre e fósforo (Koolman e Roehm, 2005).

Três são as principais funções dos lipídeos nas células: 1. armazenamento de energia, 2. composição das membranas celulares e 3. sinalização celular; como hormônios esteróides: testosterona e estrogênio; ou como moléculas mensageiras na transmissão de sinais dos receptores de superfície celular para alvos no interior das células (Cooper, 2001).

Os lipídeos são a principal forma de armazenamento de energia pelos animais, importantes constituintes de membranas celulares (fosfolipídeos, glicolipídeos e colesterol), excelentes isolantes térmicos, mecânicos e elétricos, protegendo órgãos e células; sendo que a impermeabilidade da membrana com constituinte lipídico aos íons permite a formação do potencial de membrana, favorecendo sua seletividade (Koolman e Roehm, 2005). Além disto, esteróides, eicosanóides e fosfolipídeos agem como hormônios, mediadores e mensageiros celulares (Cooper, 2001). A partir de alguns lipídeos são produzidos cofatores enzimáticos e outros não são sintetizados nos organismos animais, sendo chamadas de ácidos graxos essenciais (AGE), devendo ser adicionados às dietas (Shiau, 2002).

Dentre os lipídeos de interesse nutricional estão: triacilgliceróis, fosfolipídeos e esteróis. Os triacilgliceróis, como constituintes das gorduras, representam a maioria dos lipídeos em alimentos, seguido pelos fosfolipídeos, que representam apenas cerca de 2% do consumo de lipídeos, embora sejam secretados em grandes quantidades pela vesícula biliar. Outros lipídeos, presentes em quantidades diminutas, ou não são digeridos e absorvidos, como as ceras, ou o são pobremente (Sikorski e Kolakowska, 2003).

Os lipídeos possuem características químicas e físicas, além de propriedades fisiológicas que fazem com que adquiram fundamental importância nutricional e em tecnologia de processamento de alimentos. Eles conferem características essenciais aos alimentos, como palatabilidade e textura (Nunes, 1998).

Em rações de peixes a proteína é o nutriente mais oneroso. Esta fração, que deve ser utilizada para maximizar o crescimento, em peixes, pode ser primariamente utilizada como fonte de energia, o que pode aumentar demasiadamente os custos. Os lipídeos possuem efeito economizador de proteína, podendo aumentar a eficiência de utilização deste nutriente pelos peixes. Portanto, o entendimento dos efeitos da adição de lipídeos pode melhorar o aproveitamento da proteína da dieta e reduzir os custos com alimentação (Shiau, 2002).

2. ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos (AG) são ácidos carboxílicos, com cadeias de hidrocarbonetos, que contém entre 4 e 36 átomos de carbono (C_4 a C_{36}), embora os mais comuns sejam compostos de 12 a 24 carbonos, e podem conter apenas ligações simples, sendo chamados saturados, ou duplas ligações, sendo chamados insaturados (Lehninger et al. 1995). Os AG saturados possuem o maior número possível de átomos de hidrogênio ligados por átomos de carbono; enquanto os que possuem uma ou mais duplas ligações são chamados insaturados (Cooper, 2001). As duplas ligações podem estar presentes em qualquer carbono da cadeia e conferir propriedades de isomeria (*cis* ou *trans*), sendo que o consumo dos *trans*, que podem ocorrer em óleos vegetais após exposição ao aquecimento, vem sendo associado a problemas de saúde (Sikorski e Kolakowska, 2003).

Os AG que possuem mais de uma e até três duplas ligações entre átomos de carbono são chamados de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs, da nomenclatura em inglês *Polyunsaturated Fatty Acids*), já os que possuem mais de três duplas ligações são chamados de ácidos graxos altamente insaturados (HUFAs, da nomenclatura em inglês *Highly Unsaturated Fatty Acids* *Unsaturated Fatty Acids*), sendo que alguns autores

denominam os PUFAs que possuem mais de 20 carbonos na molécula como ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, chamados LCFA (da nomenclatura em inglês *Long-chain Fatty Acids*) (Lehninger et al. 1995). Dentre os HUFAs ou LCFA estão os ácidos graxos eicosapentanóico (EPA), docosapentanóico (DPA), docosahexanóico (DHA), todos ômega-3 e o ácido araquidônico, ômega-6 (Shahidi e Finley, 2001).

Nomenclatura simplificada para estes compostos descreve o número de carbonos da molécula, seguido pela quantidade de insaturações. O ácido esteárico, por exemplo, é definido como C18:0, por ser uma molécula de 18 átomos de carbono e não possuir duplas ligações; já o ácido oléico é definido como C18:1, por possuir 18 carbonos e uma dupla ligação (Berg et al., 2006). Existem ainda notações para compostos que possuem mais de uma dupla ligação, sendo que à nomenclatura anterior é acrescida a posição da primeira dupla ligação, ou seja, o primeiro carbono a recebê-la, contando-se a partir do radical *metil*. O ácido α -linolênico (ALN), por exemplo, é definido como C18:3 ômega-3; portanto possuindo 18 átomos de carbono, três duplas ligações, sendo a primeira entre os carbonos C₃ e C₄ (Lehninger et al., 1995; Sikorski e Kolakowska, 2003; FAO, 1978). A notação ômega (ω), que pode ser representada ainda por “n” ou “w”, e indica a família a qual o ácido graxo pertence, sendo que nos ômega-6 a primeira dupla ligação ocorre entre os carbonos 6 e 7 e nos ômega-3 ocorre entre os carbonos 3 e 4, contando-se a partir da extremidade *metil* (Nunes, 1998).

Na Tabela 1 estão os nomes comuns, notações e locais onde podem ser encontrados os ácidos graxos saturados. As referências feitas a estes ácidos graxos no presente trabalho seguem o apresentado nesta tabela.

Embora tenham sido identificados quase 500 AG em plantas e bactérias, somente poucos são quantitativamente significantes. Isto por que aproximadamente 95% dos AG extraídos de vegetais consistem somente de sete componentes; os ácidos láurico, mirístico, palmítico, esteárico, oléico, linoléico (LA) e ALN (Sikorski e Kolakowska, 2003). Dentre os AG quantitativamente significantes, somente uma parte possui importância nutricional e metabólica, como os AGE e os formados no metabolismo a partir destes.

A composição em AG determina as propriedades físicas, a estabilidade e o valor nutricional dos lipídeos. Assim, a distribuição dos AG na molécula de triacilglicerol e dos

fosfolipídeos afetam as propriedades físicas e a estabilidade lipolítica e oxidativa, além da disponibilidade nutricional dos lipídeos (Sikorski e Kolakowska, 2003).

A composição dos lipídeos nos animais reflete a composição da dieta, que tem sido usada com sucesso na modificação do perfil lipídico dos animais de criação (Pezzato et al., 1992; Ribeiro, 2007). Nos animais, os AG estão presentes em lipídeos estruturais de todas as células (como em membranas mitocondriais), estando em altas concentrações nos órgãos reprodutores (Ribeiro, 2007).

O perfil lipídico da dieta exerce influência no aproveitamento da energia pelos animais. Comparadas com dietas enriquecidas com PUFAs, aquelas ricas em ácidos graxos saturados podem promover taxa de ganho de peso alterada com acúmulo de gordura corporal, sendo essencialmente obesogênicas. As gorduras saturadas são pouco usadas como fonte prontamente disponível de energia pelo metabolismo animal, que preferencialmente as estoca nos adipócitos. Para cadeias carbônicas de comprimento semelhante, os ácidos graxos monoinsaturados são mais eficientemente utilizados como fonte de energia, assim como os poliinsaturados da família ômega-3, sendo ambos melhor utilizados em comparação à família ômega-6 (Sikorski e Kolakowska, 2003). Como, com exceção das células vermelhas sanguíneas e do sistema nervoso central, todas as células do organismo animal utilizam diretamente AG como fonte de energia (Curi et al., 2001), maior atenção deve ser dada ao perfil de AG das dietas e à relação entre PUFAs ômega-6 e ômega-3.

Tabela 1. Ácidos graxos saturados e algumas características

Nome Comum	Abreviação	Ocorrência
Acético	C2:0	Principal produto final da fermentação microbiana no rúmen
Propiônico	C3:0	Produto final da fermentação microbiana no rúmen
Butírico	C4:0	Pequenas quantidades em algumas gorduras
Valérico	C5:0	(especialmente manteiga). Produto final da
Capróico	C6:0	fermentação microbiana no rúmen
Caprílico	C8:0	Óleos de coco, palma e babaçú
Cáprico	C10:0	
Láurico	C12:0	Óleo de coco, manteiga
Mirístico	C14:0	Óleos de coco e palma, manteiga, manteiga de
		cacau, banha suína e sebo bovino
Palmítico	C16:0	Comuns em todos os lipídeos de origem vegetal e
		animal
Esteárico	C18:0	Comuns em grande parte dos lipídeos de origem
		animal e vegetal
Araquídico	C20:0	Gordura do leite, banha suína, sebo bovino, óleo de
Behênico	C22:0	palma
Lignocérico	C24:0	

Adaptado: Murray et al. (2003); Metzler (2003); Koolman e Roehm (2005).

3. ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS

Uma substância é classificada pelos nutricionistas como essencial quando não pode ser sintetizada, ou é em quantidade não suficiente, para o metabolismo de uma espécie, podendo provocar deficiência nutricional, distúrbios metabólicos e posteriormente, em casos extremos, levar à morte (Nunes, 1998).

Os AG LA, ALN e araquidônico (ARA) são classificados como essenciais, entretanto, há discordância quanto ao ARA, já que este pode ser metabolizado a partir do LA em quantidades tidas como satisfatórias para algumas espécies (Nunes, 1998). Há ainda os HUFAs, que são aceitos atualmente como essenciais para várias espécies de peixes marinhos (Henderson e Tocher, 1987; Sargent et al., 2002). Portanto, a classificação quanto à essencialidade pode ser diferente para cada espécie e em cada estágio de desenvolvimento, já que a síntese endógena dos nutrientes pode ser variável em função do

grau de desenvolvimento do animal, sendo satisfatória em determinado período e insuficiente em outro.

A biossíntese dos ácidos LA e ALN ocorre apenas em organismos do reino vegetal, não sendo formados em animais que, entretanto, possuem sistema enzimático capaz de dessaturá-los e alongá-los (Sikorski e Kolakowska, 2003). Os AG ARA (ômega-6) e EPA e DHA (ômega-3) são obtidos por meio da dieta ou produzidos pelo organismo a partir dos ácidos LA e ALN, pela ação de enzimas denominadas alongases e dessaturases. As alongases atuam adicionando dois átomos de carbono à parte inicial da cadeia, e as dessaturases agem oxidando dois carbonos da cadeia, originando uma dupla ligação com a configuração *cis* (Martin et al., 2006). Aparentemente, todos os animais herbívoros e, provavelmente todos os onívoros podem converter ácido ALN em EPA e DHA (Brett e Navarra-Müller, 1997), sendo os precursores LA e ALN necessários para a biossíntese de eicosanóides, prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. Entretanto, para as espécies de peixes de água doce e marinha, a bioconversão destes ácidos é diferenciada (Sargent et al., 2002).

Inicialmente acreditava-se que o processo de biossíntese de AG em peixes seguia o mesmo padrão que em mamíferos, posteriormente, observou-se que os peixes marinhos não possuíam a capacidade de realizar tal processo de forma tão eficiente como a maioria das espécies de água doce, sendo que esta diferença influenciou de forma definitiva a determinação das exigências de AG entre as espécies marinhas e de água doce (Ribeiro, 2007). Provavelmente, os peixes marinhos, por terem fácil acesso aos HUFAs da família ômega-3, disponíveis no ecossistema marinho em várias espécies de fitoplânctons e algas, perderam a habilidade de bioconversão do ácido ALN nestes AG; que passaram a ser nutricionalmente essenciais. De acordo com Castell (1978), estas diferenças entre peixes marinhos e de água doce representam as adaptações fisiológicas das espécies ao ambiente.

Para a biossíntese de prostaglandinas via cicloxigenase ou de leucotrienos via lipoxigenases, há dependência da presença de ácidos graxos LA e ALN nas dietas. Elongação e dessaturação das cadeias carbônicas de LA a dihomog- γ -linolênico e a ARA ocorrem, sendo este último substrato para cicloxigenase e lipoxigenase. Entretanto, o ácido graxo EPA é utilizado eficientemente como substrato para a lipoxigenase e não para a

cicloxygenase. Neste contexto, é importante salientar que os AG LA, LNA e vários isômeros (*cis* e *trans*) competem biologicamente no metabolismo com os AG dihomog- γ -linolênico, ARA e EPA; que são precursores biológicos das prostaglandinas e leucotrienos (Sikorski e Kolakowska, 2003).

Na Tabela 2 estão os nomes, abreviações utilizadas neste trabalho, notações ômega e delta, assim como algumas fontes dos ácidos graxos poliinsaturados. As referências feitas a estes ácidos graxos no presente trabalho seguem o apresentado nesta tabela. Na Tabela 3. são apresentados os perfis de ácidos graxos dos óleos de girassol e linhaça, fontes utilizadas no presente estudo, disponíveis na literatura.

Tabela 2. Ácidos graxos monoinsaturados, poliinsaturados e altamente insaturados

Nome Comum	Notação		Ocorrência
	Ômega	Delta	
Palmitoléico	C16:1 ω -7	16:1 Δ 9c	Na maioria dos lipídeos
Oléico	C18:1 ω -9	18:1 Δ 9c	Provavelmente o mais comum em lipídeos naturais. Azeite de oliva, óleos de canola e girassol.
Erúcico	C22:1 ω -9	22:1 Δ 13c	Sementes de colza e mostarda
Nervônico	C24:1 ω -9	24:1 Δ 15c	Crambe (<i>Crambe abyssinica</i>)
α -Linoléico (LA)	C18:2 ω -6	18:2 Δ 9,12c	Óleos de Girassol (OG) , milho, soja, algodão, além de outros óleos e gorduras
γ -Linolênico	C18:3 ω -6	18:3 Δ 6,9,12c	Groselha preta, borage, prímula.
α -Linolênico (ALN)	C18:3 ω -3	18:3 Δ 9,12,15c	Quase ausente em animais Óleo de Linhaça (OL) e outros óleos vegetais
Dihomo- γ -linolênico	C20:3 ω -6	20:3 Δ 8,11,14c	Gorduras animais, óleos de peixe, intermediário do metabolismo do LA
Eicosatrienóico (ETra)	C20:3 ω -9	20:3 Δ 5,8,11c	Baixas quantidades em plasma e tecidos, sendo aumentado na deficiência de ácidos graxos essenciais
Araquidônico (ARA)	C20:4 ω -6	20:4 Δ 5,8,11,14c	Importante componente de fosfolipídeos de animais, encontrado nas gorduras e em alguns óleos
Eicosapentanóico (EPA)	C20:5 ω -3	20:5 Δ 5,8,11,14,17c	
Docosapentanóico (DPA)	C22:5 ω -3	22:5 Δ 7,10,13,16,19c	Componentes de peixes, especialmente os marinhos, e de seus óleos
Docosahexanóico (DHA)	C22:6 ω -3	22:6 Δ 4,7,10,13,16,19c	

Adaptado: Shanidi e Finley (2001); Murray et al. (2003); Metzler (2003); Sikorski e Kolakowska (2003); Yoshida et al. (2003); Koolman e Roehm (2005); Pollard et al. (2008); Broinizi et al. (2008).

Tabela 3. Percentual de ácidos graxos dos óleos de girassol e linhaça

PERCENTUAL DE ÁCIDOS GRAXOS					
ÓLEO DE GIRASSOL					
AUTOR	Palmítico	Estearíco	Oléico	Linoléico	Linolênico
ZAMBLIAZI ¹	5,70	4,79	15,26	71,17	0,45
ZAMBLIAZI ²	5,76	4,76	16,86	70,69	0,28
ROMERO	6,51	4,74	22,70	59,50	0,08
FILARDI	6,20	3,45	21,73	65,62	0,30
SIKORSKI ³	6,50	4,50	26,50	57,00	0,50
ÓLEO DE LINHAÇA					
	Palmítico	Estearíco	Oléico	Linoléico	Linolênico
NGUYEN	5,40	3,30	17,80	15,10	56,90
REKLEWSKA	6,80	5,70	18,02	16,07	49,70
SOUZA	7,96	8,11	21,52	17,82	44,58
ZAMBLIAZI	4,81	3,03	21,42	15,18	54,24
SIKORSKI	7,00	4,00	20,00	17,00	52,00

Romero et al. (2000); Nguyen (2002); Reklewska et al. (2002); Zambiazzi et al. (2007); Souza (2007). ¹Óleo canadense. ²Óleo Brasileiro. ³Médias de intervalo de máxima e mínima.

4. EXIGÊNCIA DIETÉTICA DE ÁCIDOS GRAXOS PELOS PEIXES

A demanda para a maior incorporação de AG ômega-3 nos produtos da aquicultura, pela adição de gorduras e óleos nas rações, além da possibilidade de aumento dos custos de produção, pode conduzir a outros prejuízos, pois pouca atenção tem sido dada às exigências nutricionais para máximo desempenho e para manutenção da saúde dos peixes que consomem estas dietas. Portanto, as exigências nutricionais e a relação entre AG ômega-6 e ômega-3 devem ser avaliadas antes da tentativa de incorporação destes nutrientes nos tecidos dos peixes.

Entre os peixes, os marinhos, como o salmão (*Salmo salar* L.), geralmente apresentam maior quantidade de EPA e DHA nos tecidos que os peixes oriundos de águas continentais. Martin et al. (2006) afirma que isto ocorre devido à expressiva quantidade desses AG no plâncton, que provê a sua distribuição ao longo da cadeia alimentar marinha. Estes autores afirmam ainda que, nos alimentos provenientes de animais terrestres, que não

foram submetidos a dietas com fontes adicionais de PUFA's, geralmente a concentração de EPA e DHA é baixa; contudo, alguns desses alimentos são fontes de ácido ARA.

Nos peixes, os lipídeos e seus constituintes, AG, assim como seus derivados metabólicos, exercem funções essenciais e dinâmicas na manutenção do crescimento, na eficiência alimentar, na higidez, funções renais e de brânquias, no desenvolvimento neural e visual, na reprodução e na qualidade do filé (Lim e Webster, 2001). Além dos lipídeos serem fontes de energia e de AGE, também participam do processo de absorção das vitaminas lipossolúveis (NRC, 1993).

Como os peixes não sintetizam, em quantidade e velocidade adequadas, os AGE ômega-6 e ômega-3, estes devem, portanto, ser supridos pela dieta, de acordo com a exigência da espécie, entretanto, em alguns casos, exceção é feita ao ácido ARA, o qual pode ser sintetizado a partir do LA em quantidades satisfatórias em algumas espécies de peixe (Henderson e Tocher, 1987).

A deficiência de AGE em peixes implica em sinais clínicos semelhantes aos de deficiências vitamínicas (Pearson, 1982). As deficiências em ômega-3 e ômega-6 podem promover, ainda, sintomas diferenciados, dos quais alguns são predominantes, que incluem crescimento retardado, lesões de pele, problemas reprodutivos, excesso de gordura hepática, além de desordens no balanço hídrico, sendo que a deficiência em ômega-3, normalmente, não é associada à redução do crescimento, mas sim a problemas com a reprodução (Sikorski e Kolakowska, 2003). Inchaço e palidez hepática, erosão de nadadeiras, conteúdo de água muscular e corporal aumentado, além de patologias branquiais também podem ser sinais de deficiência de AGE (Yang et al., 1994). Um sinal considerado típico de deficiência de ômega-3 é uma alta relação (superior a 0,4) entre os AG eicosatrienóico (ETrA) e DHA no fígado e no músculo (Chou et al., 2001). Relações anormais entre AG ômega-6 e ômega-3 estão correlacionadas com a modificação da composição lipídica da membrana e o aumento da incidência de arterosclerose e desordens inflamatórias (Sikorski e Kolakowska, 2003).

A exigência em AG é bastante variável dentre as espécies. Os peixes geralmente possuem maior exigência por ômega-3 que por ômega-6, principalmente se considerarmos as espécies marinhas (Sargent et al., 1987). A suplementação dietética de EPA e DHA para

peixes marinhos, então, se faz necessária pela ausência da $\Delta 5$ -dessaturase funcional (Takeuchi et al., 1990). A exigência em AG é de muito difícil determinação (Bezard et al., 1994), pois sofre influência de vários fatores, como a qualidade da fonte de gordura, a relação entre AG saturados e insaturados e entre ômega-6 e ômega-3 na ração, a fase de desenvolvimento do animal, além dos fatores ambientais. Outro fator que dificulta a determinação das exigências destes nutrientes pela tilápia é o fato de haver, na composição da maioria das dietas ofertadas, quantidades de ômega-6 normalmente superiores à recomendação mínima do NRC (1993), mesmo naquelas em que não são utilizados óleos ou gorduras.

Tem sido demonstrada a exigência em dietas ricas em HUFAs para peixes em estágio larval, tanto de água doce, como marinhos, pois, nesta fase, os peixes são mais exigentes nestes AG do que os adultos, devido a sua elevada taxa de crescimento somático e também pela capacidade limitada de conversão do ALN em HUFAs ômega-3, que provavelmente varia consideravelmente durante seu ciclo de vida (Brett e Navarra-Müller, 1997). Esta eficiência de conversão de ALN em HUFAs ômega-3 é dependente de vários fatores; como a concentração de ômega-6 na dieta, já que competem pelo mesmo sistema enzimático, resultando em baixa eficiência de conversão (Crawford et al., 2000). Diante disto, quando comparadas às taxas de crescimento de peixes que recebem diretamente os ácidos graxos EPA e DHA ou os que teriam que sintetizá-los a partir do ácido ALN, as melhores respostas são para os que os recebem em sua dieta (Brett e Navarra-Müller, 1997).

A relação entre ômega-6 e ômega-3 em peixes é reduzida com a diminuição da temperatura, já que os fatores ambientais, como a temperatura, a pressão e a profundidade em que a espécie habita podem também influenciar nas exigências em AG pelos peixes, podendo ser uma indicação das exigências em AG das espécies sob diversas condições ambientais (Castell, 1978).

Vários estudos têm sido conduzidos com o objetivo de determinar as exigências nutricionais de ácidos graxos pelas tilápias e, embora de forma geral, tenham reportado que não há exigências em ômega-3 para o máximo crescimento de tilápias, há discordância com relação ao grau de insaturação destes ácidos graxos.

Takeuchi et al. (1983) formularam dietas com 5% de metil ésteres de ácidos graxos e determinaram as exigências de ácidos graxos para o máximo desempenho da tilápia do Nilo como sendo entre 0,5 a 1% de ômega-6, não indicando os PUFA's ômega-3, independente do tamanho da cadeia carbônica, como essenciais para a espécie. De acordo com estes autores, para as tilápias, apenas os ômega-6 possuem ação sobre o desempenho. É importante salientar que o NRC (1993) adotou os achados destes autores para a recomendação das exigências de ácidos graxos por tilápias do Nilo.

Stickney e MacGeachini (1983) também estudaram os efeitos do consumo de dietas com diferentes perfis de ácidos graxos por 10 semanas, entretanto, sobre o desempenho de tilápias azuis (*Oreochromis aureus*) de 4,7g de peso inicial. Para isto, trabalharam com dietas purificadas e desengorduradas, formuladas com ésteres de ácidos graxos esteárico (saturado), oléico (monoinsaturado), LA (PUFA ômega-6) e ALN (PUFA ômega-3) purificados, além de óleo de menhaden (*Brevoortia tyrannus*). Os peixes que consumiram as rações com 6% de ácidos graxos ou óleo de menhaden, as combinações do ácido esteárico com o oléico em 4:2 e 5:1, respectivamente, ou do esteárico com o LA em 4:2, respectivamente, como também a mistura do esteárico com o oléico, AL e LNA em 3:1:1:1, respectivamente, além do óleo de menhaden, apresentaram melhor desempenho, com o peso médio final variando de 21,1 a 26,3g. O consumo das rações com o ácido esteárico isoladamente ou com as suas combinações com o LNA em 4:2 e 5:1, respectivamente, resultaram nos piores desempenhos dos peixes, com o peso médio final variando de 7,3 a 12,6g. Segundo conclusão destes autores, para tilápias azuis somente há exigência em torno de 1% em ômega-6 e não são necessários os ômega-3.

Kanazawa et al. (1980) estudaram as exigências nutricionais de ácidos graxos essenciais para a tilápia *zillii*. Para os dois estudos, os autores formularam dietas com 5% de ésteres de ácidos graxos, óleo de soja ou óleo de fígado de *Pollachius pollachius* e alimentaram as tilápias de 0,5g por quatro semanas. No primeiro estudo, as tilápias que receberam somente LA apresentaram o melhor desempenho, seguidas das que receberam óleo de soja, de fígado de *pollachius* e o ácido oléico, respectivamente. Os peixes que receberam dietas com o ALN, desengorduradas ou com o ácido láurico, respectivamente, apresentaram os piores resultados de desempenho. A taxa de eficiência protéica também foi

maior, 3,12; 3,03 e 2,25, para os peixes consumindo rações com ácido linoléico, óleo de soja e óleo de fígado de *pollachius*, respectivamente. Em segundo ensaio, com 5% de ácidos graxos e o ácido láurico como lipídeo basal, com adição de LA, ALN, ARA ou EPA em 0,5; 1,0 ou 2,0%, os autores afirmam que as misturas de todos ácidos graxos ao láurico nas rações melhoram o desempenho das tilápias. Entretanto, ressaltam que os ômega-6 são mais efetivos que os ômega-3 na promoção do desempenho, tendo maior função de ácidos graxos essenciais para a espécie.

Stickney e Wurts (1986) alimentaram tilápias azuis com rações contendo níveis crescentes (0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10%) de óleo de bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) e de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) e observaram o melhor desempenho com 10% de óleo de menhaden. Chou e Shiau (1999), analisando os resultados acima descritos, afirmam que isto evidencia que altos níveis de ALN (presente no óleo de bagre do canal) causam depressão do desempenho das tilápias azuis, o que não ocorreu ao consumirem ácidos graxos ômega-3 de alto peso molecular (presentes no óleo de menhaden), EPA e DHA. A partir desta afirmação evidencia-se que o tamanho da cadeia carbônica dos AG insaturados deve ser observado e levado em consideração quando da determinação das exigências nutricionais em ácidos graxos ômega-3; isto é se são PUFAs com menos ou mais de 18 carbonos.

Chou et al. (2001) estudaram os efeitos do consumo de dietas isonutricionais, com oito níveis crescentes (de zero a 5%) de óleo de fígado de bacalhau, em substituição ao ácido láurico, por oito semanas, sobre o desempenho de tilápias híbridas (♀ *Oreochromis niloticus* x ♂ *Oreochromis aureus*) de 0,83g e encontraram os melhores resultados a partir do consumo de rações com 2% de óleo. Estes autores afirmaram que o pior desempenho das tilápias que consumiram dietas com zero ou 0,5% de óleo de fígado de bacalhau pode ser atribuído a baixa quantidade de ômega-3 destas dietas, pois os peixes demonstraram um sinal típico desta deficiência, que é uma alta relação (superior a 0,4) entre os ácidos graxos ETrA e DHA no fígado e no músculo, de 0,47 a 0,52 e de 0,47 a 0,53, respectivamente.

Chou e Shiau (1999) avaliaram o desempenho de tilápias híbridas (♀ *Oreochromis niloticus* x ♂ *Oreochromis aureus*) alimentadas com rações contendo 5% de banha suína, óleo de milho ou de fígado de bacalhau, ou ainda suas possíveis misturas. Eles

demonstraram que o melhor desempenho foi obtido sempre que o óleo de fígado de bacalhau esteve presente nas rações, sendo que a mistura equivalente das três fontes de AG proporcionou os melhores resultados. Os autores afirmam, então, que as tilápias possuem exigência para os HUFAs ômega-3 para seu máximo crescimento. A obtenção de melhor desempenho quando da mistura das três fontes de AG é um indicativo de que as relações entre os ácidos graxos possuem influência direta na determinação das exigências em AGE.

De forma geral os estudos de Kanazawa et al. (1980); Takeuchi et al. (1983) e Stickney e MacGeachini (1983) utilizaram ácidos graxos isolados ou substituíram um AG saturado por outros AG de diferentes graus de insaturação, assim como AG de diferentes famílias, para avaliar os efeitos sobre o desempenho de tilápias. Com isto, afirmaram não haver exigências por AG da família ômega-3 para máximo desempenho. Entretanto, como as exigências em AG variam em função de vários fatores, como os níveis de lipídeos, o percentual de AG saturados, monoinsaturados, PUFAs e HUFAs, além das relações entre saturados e insaturados ou ômega-6 e ômega-3, devem ser mais atentamente levadas em consideração estas possíveis interações, principalmente com o uso de óleos e/ou gorduras para a formulação de níveis ou perfis de AG em dietas práticas.

Stickney e Wurts (1986); Chou e Shiau (1999) e Chou et al. (2001), trabalharam com dietas práticas em que houve uso isolado de óleos ou gorduras com maior ou menor quantidade de determinados PUFAs ou HUFAs das famílias ômega-6 ou ômega-3. Com isto, seus estudos estiveram mais próximos ao que ocorre na prática nas fábricas de ração, onde não há o uso isolado de ácidos graxos, mas sim de lipídeos como fonte de vários ácidos graxos, e demonstram a exigência de tilápias por HUFAs ômega-3.

Como os resultados disponíveis na literatura a respeito das exigências de AG ainda são controversos, Shiau (2002) afirma que há necessidade em determinar estas exigências para as tilápias e seus híbridos. Além disto, é essencial conhecer os efeitos do consumo de diferentes ácidos graxos sobre a saúde dos peixes em condições ótimas de cultivo, assim como sob influência de fatores estressores, como baixas temperaturas.

5. ÁCIDOS GRAXOS E SAÚDE DOS PEIXES

A variação da ingestão de nutrientes específicos sabidamente influencia o estado de saúde dos peixes, assim como sua capacidade de resposta imunológica. Com relação aos PUFAs, os mecanismos pelos quais afetam esta resposta ainda não são completamente conhecidos, entretanto, várias teorias demonstram que eles a modulam, promovendo alterações físicas e biológicas (Guimarães, 1992).

A quantidade e a natureza dos AG da dieta podem modular a composição lipídica dos linfócitos (Guimarães, 1992). Isto pode ser explicado pelo fato de que os AG ômega-6 e ômega-3 da dieta são absorvidos praticamente inalterados pelos animais monogástricos, sendo incorporados ao tecido adiposo e às membranas celulares, de onde podem ser dessaturados e alongados (Jakobsen, 1999).

Os PUFAs e os HUFAs afetam a fluidez das membranas celulares por possuírem muito baixo ponto de fusão, quando comparados a outros lipídeos. Além disto, auxiliam a manutenção da higidez dos peixes em baixas temperaturas, sendo considerados lipídeos “anti-congelamento” das membranas (Brett e Navarra, 1997). Bell et al. (1986) destacaram que essa fluidez depende do balanço apropriado de AG saturados e insaturados, como componentes dos fosfolipídios da membrana.

A relação entre ômega-6 e ômega-3 da dieta tem grande influência sobre a produção de HUFAs ômega-3, sendo que relações elevadas resultam na diminuição da produção do ácido eicosapentanóico (EPA), condição que contribui para o desenvolvimento de doenças alérgicas, inflamatórias e cardiovasculares (Martin et al., 2006). Isto porque o aumento de AG ômega-6 resulta em intensa resposta inflamatória, associada à produção exacerbada de eicosanóides pró-inflamatórios. A redução dos AG ômega-6 ou aumento exacerbado dos ômega-3 também não são desejáveis, por diminuir a concentração de ARA nos fosfolipídeos e a produção dos eicosanóides, reduzindo a resposta inflamatória e prejudicando os mecanismos de defesa (Jump, 2002).

Em dietas com excesso de ômega-6, os produtos metabólicos do ARA, os eicosanóides, mais especificamente prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos e lipoxinas, são formados também em excesso, quando comparados aos formados a partir dos ômega-3,

especificamente o EPA. Os eicosanoides formados a partir do ARA são biologicamente ativos, mesmo em pequenas quantidades e se são formadas em grandes quantidades, eles contribuem para a formação da trombose e arterosclerose, com o desenvolvimento de desordens inflamatórias e alérgicas, além de proliferação celular. Assim, dietas excessivamente ricas em AG ômega-6 alteram o estado fisiológico, que se torna protrombótico, proagregatório, com aumentos da viscosidade do sangue, de vasoespasmos, de vasoconstrição, decrescendo o tempo de coagulação (Simopoulos, 1999).

O consumo mínimo de PUFAs ômega-3 necessário para produzir efeitos benéficos depende do consumo dos outros AG. Os níveis dietéticos de ácido LA, bem como a relação deste com o ALN (relação PUFAs ômega-6/ômega-3) é importante para a bioconversão do ALN em HUFAs ômega-3 (Simopoulos, 1999). O DHA, por exemplo, é importante para o desenvolvimento de atividades fisiológicas normais do cérebro e olhos (Brett e Navarra, 1997). Entretanto, elevado consumo de EPA resulta na sua incorporação dentro das células (plaquetas), onde particularmente substitui o ARA. Como consequência, há uma baixa produção de tromboxanos A₂, associado com a geração de tromboxano A₃ biologicamente inativo; além de agregação plaquetária reduzida e tempo de sangramento prolongado (Crawford et al., 2000).

Lim e Webster (2001) relataram que a tolerância ao estresse de larvas de peixes pode ser melhorada, se sua ração contiver os níveis adequados de HUFAs, principalmente EPA e DHA, além de fosfolipídeos, especialmente fosfatidil-colina e fosfatidil-inositol. Ressaltaram, os autores que pesquisas são necessárias para melhor identificação dos mecanismos pelos quais os lipídeos são responsáveis pelo aumento da resistência ao estresse em peixes. Nesse sentido, Bell et al. (1991) observaram que dietas contendo altas concentrações de ômega-6 e ômega-3 podem aumentar a resistência em salmão do Atlântico (*Salmo salar L.*) em períodos de estresse.

Segundo Kim e Lovell (1995), peixes em temperaturas abaixo da faixa considerada de conforto para a espécie, apresentaram metabolismo reduzido, com menor ingestão de alimentos e reduzida capacidade de resposta imunológica. Sellner e Hazel (1982) afirmaram que a aclimação ao frio geralmente aumenta a insaturação dos lipídeos da membrana. Segundo Hochachka e Somero (1984) existem três regras básicas para a

adaptação bioquímica em relação a mudanças de temperatura: conservação de apropriado parâmetro das estruturas macromoleculares, manutenção do fluxo metabólico contínuo e da rápida resposta do metabolismo.

A resposta fisiológica em peixes é influenciada por alterações no meio ambiente, como por exemplo, mudanças bruscas de temperatura, nas concentrações de oxigênio e pela presença de agentes tóxicos (Blazer, 1992). Esse mesmo autor relatou que o peixe, mesmo quando arraçoado com dieta formulada para bom desempenho, pode apresentar deficiência, denominada marginal. Nessas condições o peixe pode ter crescimento adequado, estar aparentemente saudável, porém com reduzida resistência a doenças. Essa condição pode ser agravada quando os animais estiverem submetidos a estresse.

Todos os AGE e seus derivados metabólicos são importantes para adequada resposta imunológica e em situações adversas (Higgs & Dong, 2000), então o consumo de quantidades adequadas, nas devidas proporções de cada um destes componentes pode resultar em modulação para a saúde e maior resistência aos fatores estressantes, muitas vezes inevitáveis nos ambientes de criação.

No CAPÍTULO II intitulado: Desempenho de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos poliinsaturados teve-se por objetivo avaliar os efeitos do fornecimento de dietas práticas com os óleos de girassol, de linhaça e suas misturas, fontes de ácidos graxos ômega-6 e ômega-3, respectivamente, sobre o desempenho, a composição químico-bromatológica e índices viscerais de tilápias do Nilo. No CAPÍTULO III intitulado: Fontes de ácidos graxos poliinsaturados em dietas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*): hematologia e lipídeos plasmáticos antes e após estímulo pelo frio teve-se por objetivo avaliar os efeitos do fornecimento de dietas práticas com os óleos de girassol, de linhaça e suas misturas, fontes de ácidos graxos ômega-6 e ômega-3, respectivamente, sobre os parâmetros hematológicos e lipídeos plasmáticos das tilápias antes e após estímulo pelo frio. Ambos os capítulos foram redigidos conforme as normas de publicação da Revista Brasileira de Zootecnia (ISSN 1516-3598).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELL, J.G., McVICAR, A.H., PARK, M.T., SARGENT, J.R. High dietary linoleic acid affects the fatty acid compositions of individual phospholipids from tissues of Atlantic salmon (*Salmo salar*): association with stress susceptibility and cardiac lesion. **Journal of Nutrition**, v.121, p.1163-72, 1991.
- BELL, M.V., HENDERSON, R.J., SARGENT, J.R. The role of polyunsaturated fatty acid in fish. **Comparative Biochemistry. Physiology B**, v.83, p.711-9, 1986.
- BEZARD, J.; BLOND, J.P.; BERNARD, A.; CLOUET, P. The metabolism and availability of essential fatty acids in animal and human tissues. **Reproduction Nutrition Dev**, v.34, p.539-568, 1994.
- BLAZER, V.S. Nutrition and disease resistance in fish. **Annual Review of Fish Disease**, p.309-23, 1992.
- BRETT, M.T.; NAVARRA-MÜLLER, D.C. The Role of Highly Unsaturated Fatty Acids in Aquatic Foodweb Processes. **Freshwater Biology**, v.38, p.483-499, 1997.
- BROINIZI, P.R.B.; ANDRADE-WARTHA, E.R.S.; OLIVEIRA, A.M.; TORRES, R.P.; AZEREDO, H.M.C.; ALVES, R.E.; MANCINI-FILHO, J. Propriedades antioxidantes em subproduto do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.): efeito sobre a lipoperoxidação e o perfil de ácidos graxos poliinsaturados em ratos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.4, p.773-781, 2008.
- CASTELL, J.D. Review of Lipid Requirements of Finfish. EIFAC/FAO **Symposium on Finfish Nutrition and Feed Technology**, Hamburg, Germany, p.1-39, 1978.
- CHOU, B-S.; SHIAU, S-Y. Both ômega-6 and ômega-3 Fatty Acids Are Required for Maximal Growth for Hybrid Tilapia. **North American Journal of Aquaculture**, v.61, p.13-20, 1999.
- CHOU, B-S.; SHIAU, S-Y.; HUNG, S.S.O. Effect of dietary cod liver oil on growth and fatty acids of juvenile hybrid tilapia Hung. **North American Journal of Aquaculture**, v.63, n.4, p.277-284, 2001.
- COOPER, G.M. **A Célula: uma abordagem molecular**. 2aEd. trad. Itabajara da Silva Vaz Junior et al. Artmed Editora, Porto Alegre. 712p., 2001.

- CRAWFORD, M.; GALLI, C.; VISIOLI, F.; RENAUD, S.; SIMOPOULOS, A.; SPECTOR, A. A. Role of Plant-Derived Omega-3 Fatty Acids in Human Nutrition. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v.44, p.263-265, 2000.
- CURI, R.; POMPEIA, C.; MIYASAKA, C.K.; ARAÚJO FILHO, J.P. **Entendendo a Gordura. Os Ácidos Graxos**. Editora Manole, São Paulo, 1.ed., 580p., 2001.
- FAO. **Fish Feed Technology**. College of Fisheries, University of Washington, Seattle, Washington, 1978. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/X5738E/x5738e00.htm#Contents>. Acesso: 23 de agosto de 2007.
- GUIMARÃES, A.R.P. Influência das Dietas Ricas em Ácidos Graxos Poliinsaturados e Saturados Sobre o Sistema Imunológico. **TESE (Doutorado)**. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 150p., 1992.
- HENDERSON, R.J., TOCHER, D.R. The lipid composition and biochemistry fish. **Progress in Lipid Research**, v.26, p.281-347, 1987.
- HIGGS, D.A.; DONG, F.M. **Lipids and fatty acids**. In: STICKNEY, R.R. **The Encyclopedia of Aquaculture**. New York: John Wiley and Sons, Inc., p.1-20, 2000.
- HOCHACHKA, P.W.; SOMERO, G.N. **Biochemical Adaptation**. Princeton University Press, Princeton, 538p., 1984.
- JAKOBSEN, K. Dietary Modifications of Animal Fats: Status and Future Perspectives. **Feet Lipid**, v.101, n.12, S., p.475-483, 1999.
- JUMP, D.B. Nutrients as Regulators of Gene Expression. **Proceedings of a Symposium of Scientific Advances in Animal Nutrition: Promise for the New Century**. Committee on Animal Nutrition, Board on Agriculture and Natural Resources, National Research Council. National Academy Press, Washington, 102p., 2002.
- KANAZAWA, A.; TESHIMA, S.; SAKAMOTO, M.; AWAL, M.A. Requirements of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society of Science of Fisheries**, v.46, p.1353-1356, 1980.
- KIM, M.K., LOVELL, R.T. Effect of overwinter feeding regimen on body weight, body composition and resistance to *Edwardsiella ictaluri* in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v.134, p.237-46, 1995.
- KOOLMAN, J.; ROEHM, K.-H. **Color Atlas of Biochemistry**. Second edition, revised and enlarged. Thieme, Stuttgart - New York. 467p., 2005.

- LEHNINGER, A.L., NELSON, D.L., COX, M.M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Savier, 463p., 1995.
- LIM, C.; WEBSTER, C.D. **Nutrition and fish health**. New York: Haworth Press, 365p., 2001.
- MARTIN, C.A.; ALMEIDA, V.V.; RUIZ, M.R.; VISENTAINER, J.E.L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J.V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.19, n.6, p.761-770, 2006.
- METZLER, D.E. **BIOCHEMISTRY. The Chemical Reactions of Living Cells**. Elsevier Academic Press. 2Ed., vol1., 937p., 2003.
- MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. **Harper's Illustrated Biochemistry**. Twenty-sixth edition. Lange Medical Books/McGraw-Hill. 693p., 2003.
- NGUYEN, L.Q. Fatty acid supply of growing pigs in Central Vietnam. **Doctoral Thesis** (with a summary in Dutch). Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine., 114p., 2002.
- NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academy Press, 124p., 1993.
- NUNES, I.J. **Nutrição animal básica**. 2.ed. Belo Horizonte: FEP FMVZ, 388p., 1998.
- PEARSON, W.E. **The nutrition of fish** (Information Service ROCHE), Unilever Research Laboratory, Sharnbrood, Bedford, England, 47p., 1982.
- PEZZATO, L.E.; CASTAGNOLLI, N.; BARROS, M.M.; DEL CARRATORE, C.R.; PEZZATO, A.C. 1992. Efeito de diferentes níveis de gordura animal e vegetal sobre o desempenho e deposição de ácidos graxos em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: Congresso Brasileiro de Aqüicultura, 7, 1992, Peruíbe. **Anais...** Peruíbe: Academia de Ciências do Estado de São Paulo, p.104-111, 1995.
- POLLARD, M.A.; HERON, C. **Archaeological Chemistry**. Cambridge. Royal Society of Chemistry, Great Britain. 2Ed., 456p., 2008.
- REKLEWSKA, B.; OPRZADEK, A.; REKLEWSKI, Z.; PANICKEC, L.; KUCZYNSKA, B.; OPRZADEK, J. Alternative for modifying the fatty acid composition and decreasing the cholesterol level in the milk of cows. **Livestock Production Science**. v.76, p.235-243, 2002.

- RIBEIRO, P.A.P. Efeito de Fontes de Ácidos Graxos na Dieta e da Redução da Temperatura Sobre o Metabolismo Lipídico de Tilápias Nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e Trutas Arco-Íris (*Oncorhynchus mykiss*). **TESE. Doutorado em Zootecnia**. Universidade Federal de Lavras – UFLA., p.162., 2007.
- ROMERO, A.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J.; CUESTA, C. Deep fat frying of frozen foods in sunflower oil. Fatty acid composition in fryer oil and frozen prefried potatoes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.80, p.2135-2141, 2000.
- RUYTER, B.; ROSJO, C.; EINEN, O.; THOMASSEN, M.S. Essential fatty acids in Atlantic salmon: effects of increasing dietary doses of ômega-6 and ômega-3 fatty acids on growth, survival and fatty acid composition of liver, blood and carcass. **Aquaculture Nutrition**, v.6, n.2, p.119-127, 2000.
- SARGENT, J.R., PARKER, R.J., MUELLER-HARVEY, I.; HENDERSON, R.J. Lipid Biomarkers in Marine Ecology, *In*: SLEIGH, M.A. ed. **Microbes and the sea**. Ellis Harwood Ltd, Chich-ester, UK., p.119-138., 1987.
- SARGET, J.R.; TOCHER, D.R.; BELL, J.G. The Lipids. Cap.4, p.181-257. *In*: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. **Fish Nutrition**. Third Edition. Academic Press. 824p., 2002
- SELLNER, P.A., HAZEL, J.R. Desaturation and elongation of unsaturated fatty acids in hepatocytes from thermally acclimated rainbow trout. **Arch Biochem Biophys**, v.213, p.58-66, 1982.
- SHAHIDI, F.; FINLEY, J.W. **Omega-3 Fatty Acids. Chemistry, Nutrition, and Health Effects**. American Chemical Society. 330p., 2001.
- SHIAU, S.-Y. Tilapia, *Oreochromis* spp. *In*: WEBSTER C.D.; LIM, C. eds. **Nutrient Requirement and Feeding of Finfish for Aquaculture**. CABI Publishing, London. p.273–292., 2002.
- SIMOPOULOS, A.P. Essential fatty acids in health and chronic disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.70, SUP, p.560–569, 1999.
- SOUZA, J.G. Desempenho Zootécnico e Qualidade dos Ovos de Poedeiras Comerciais Submetidas a Dietas com Óleo de Linhaça. **TESE (DOUTORADO EM ZOOTECNIA)**. Universidade Federal da Paraíba. 93p., 2007.
- STICKNEY, R.R.; MCGEACHIN, R.B. Responses of *Tilapia aurea* to semipurified diets of differing fatty acid composition. *In*: FISHELSON, L.; YARON, Z. (Editores). **Proceedings of the International Symposium on Tilapia in Aquaculture**. Tel Aviv University Press. Tel Aviv, Israel, p.346-355, 1983.

- STICKNEY, R.R.; WURTS, W.A. Growth response of blue tilapia to selected levels of dietary menhaden and catfish oils. **The Progressive Fish-Culturist**, v.48, p.107-109, 1986.
- SIKORSKI, Z.E.; KOLAKOWSKA, A. **Chemical and Functional Properties of Food Lipids**. CRC Press, Boca Raton, Flórida. p.388., 2003.
- TAKEUCHI, T.; SATOH, S.; WATANABE, T. Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v.49, p.1127-1134, 1983.
- TAKEUCHI, T.; TOYOTA, M.; SATOH, S.; WATANABE, T. Requirement of juvenile red sea bream (*Pagrus major*) for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. **Nippon Suisan Gak-kaishi**, v.56, p.1263-1269, 1990.
- YANG, X.; TOBACHEK, J.L.; DICK, T.A. Effects of dietary ômega-3-polyunsaturated fatty acids on lipid and fatty acid composition and haematology of juvenile Arctic charr (*Salvenus alpinus* L.). **Fish Physiology Biochemistry**, v.12, p.409-420, 1994.
- YOSHIDA, H.; SOH, H.; SANDO, K.; WASA, M.; TAKAGI, Y.; OKADA, A. Beneficial Effects of n-9 Eicosatrienoic Acid on Experimental Bowel Lesions. **Surgery Today**, v.33, p.600-605, 2003.
- ZAMBIAZI, R.C.; PRZYBYLSKI, R.; ZAMBIAZI, M.W.; MENDONÇA, C.B. Fatty acid composition of vegetable oils and fats. **B.CEPPA**, v.25, n.1, p.111-120, 2007.

CAPÍTULO II

**Desempenho de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*)
alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos
poliinsaturados**

Desempenho de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos poliinsaturados

RESUMO: Os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) exercem importantes funções metabólicas no organismo animal, sendo indispensáveis ao crescimento e higidez em peixes. Foram avaliados os efeitos de diferentes relações entre PUFAs ômega-6 e ômega-3 sobre o desempenho, composição químico-bromatológica da carcaça e índices corporais de tilápias do Nilo. Foram utilizados alevinos revertidos ($7,5g \pm 0,21$), distribuídos em 40 aquários, sendo oito peixes por aquário. Foram confeccionadas oito rações (tratamentos) experimentais: basal (sem adição de óleo); 6% de óleo de girassol (OG); 5% de OG + 1% de óleo de linhaça (OL); 4% de OG + 2% de OL; 3% de OG + 3% de OL; 2% de OG + 4% de OL; 1% de OG + 5% de OL; 6% de OL. O arraçoamento foi feito até aparente saciedade quatro vezes ao dia (8:30, 11:30, 14:30 e 17:30 horas). Ao final de 85 dias, foram determinados o peso final, ganho de peso, consumo alimentar aparente, conversão alimentar aparente, taxa de eficiência protéica, retenção de proteína e retenção de energia. Foram avaliados também a composição químico-bromatológica da carcaça, os índices corporais e a deposição de gordura visceral. Não houve efeito das dietas sobre o desempenho produtivo e composição corporal de tilápias do Nilo. Apenas a gordura visceral foi alterada dentre os índices corporais. Todas as relações entre PUFAs ômega-6 e ômega-3 proporcionaram desempenho zootécnico semelhante em tilápias do Nilo. Recomenda-se escolher a dieta de acordo com o custo de produção.

Palavras - chave: ácidos graxos essenciais, linoléico, linolênico, nutrição de peixe, óleo de linhaça, óleo de girassol

**Polyunsaturated fatty acid sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)
diets: growth performance**

ABSTRACT: The polyunsaturated fatty acids (PUFAs) have indispensable metabolic function in fish growth and health. This study was set out to determine the effect of eight diets with different omega-6 and omega-3 PUFAs ratios in performance index, body chemical composition and body indexes of Nile tilapia juveniles. Fish (320 male of 7.50 ± 0.21 g mean) were totally randomly distributed, with five replicates, into 40 plastic aquaria (250 L; 8 fish per aquarium). Eight diets were formulated: basal (with no oil supplementation); 6% sunflower oil (SO); 5% SO + 1% linseed oil (LO); 4% SO + 2% LO; 3% SO + 3% LO; 2% SO + 4% LO; 1% SO + 5% LO; and 6% LO. Fish were fed four times per day (8:30; 11:30; 14:30; and 17:30 hours) for 85 days. At the 85th day, performance index, body chemical composition and body indexes were evaluated. There were no significant differences in fish productive performance and body chemical composition. Visceral fat index in fish fed 6% oils diets contented were high. All diets provided equal tilapia growth performance.

Key Words: essential fatty acids, linoleic, linolenic, fish nutrition, linseed oil, sunflower oil

INTRODUÇÃO

A tilápia do Nilo vem se destacando dentre as espécies mundialmente cultivadas em aquicultura, dentre outros fatores, pela disponibilidade de alevinos, em consequência do domínio das técnicas reprodutivas, com alta prolificidade, pela capacidade em aclimatar-se aos diferentes ambientes de criação, pelos índices zootécnicos desejáveis e pela aceitação de sua carne pelo mercado consumidor.

Embora, em praticamente todo o mundo, há décadas, vários estudos venham sendo desenvolvidos com esta espécie, as suas exigências nutricionais não foram totalmente elucidadas. Existem controvérsias acerca das suas exigências para alguns nutrientes, ainda pouco estudados, além disto, em outros casos, são utilizados valores determinados há décadas e que necessitam ser revistos, pois os sistemas de criação vêm se aprimorando e a seleção genética a qual os animais têm sido submetidos pode alterar as suas exigências com relação ao ambiente de criação e à nutrição.

Dentre os nutrientes que devem ser revistos, pode-se citar os componentes lipídicos denominados ácidos graxos essenciais (AGE; linoléico, LA; linolênico, ALN e araquidônico, ARA), devido as suas funções metabólicas, relacionadas à homeostase e à higidez dos peixes.

Os lipídeos são um grupo heterogêneo de compostos, insolúveis em água e extraídos das células e dos tecidos por solventes não polares. São a principal forma de armazenamento de energia corporal; devido as suas características de hidrofobicidade, facilidade no acondicionamento das moléculas de triacilgliceróis no interior dos adipócitos e pela quantidade de energia fornecida, em relação ao carboidrato e à proteína. Além disso, participam de diversas outras funções orgânicas, como na constituição da parede celular, formação dos hormônios esteróides, produção de mensageiros intra e extracelulares (Lehninger et al., 1995). Os lipídeos são responsáveis ainda pela manutenção da flexibilidade e permeabilidade das membranas celulares (Shiau, 2002), além de serem fonte dos AGE e auxiliarem na absorção de vitaminas lipossolúveis (Ruyter et al., 2000; Shiau, 2002).

Os ácidos graxos (AG) são os principais constituintes dos lipídeos e os polinsaturados (PUFAs) das famílias ômega-6 e ômega-3 são, provavelmente, essenciais para todos os vertebrados, entretanto, a exata exigência por estas duas famílias difere entre as espécies (Sargent et al., 1995). Dentre os PUFAs ômega-6, como possuem em comum uma dupla ligação entre os carbonos 6 e 7, o ARA pode ser metabolizado a partir do LA. Devido a isto, alguns autores não consideram o ARA essencial, embora a questão de essencialidade seja apenas com relação ao fornecimento na dieta, pois tanto o LA e o ARA (ômega-6), assim como o ALN (ômega-3) são essenciais ao metabolismo. Devido à inabilidade dos animais em insaturar (colocar duplas ligações) na extremidade *metila* os ácidos graxos de uma série não podem ser metabolizados em outra (Nunes, 1998), devendo ambas as séries estar presentes em quantidade e relação adequadas nas dietas.

Mamíferos, por exemplo, geralmente possuem maior exigência por ômega-6 que por ômega-3 (Yamada et al., 1981; Bjerve et al., 1987), enquanto em várias espécies de peixes, principalmente marinhos, ocorre o oposto (Sargent et al., 1987). Para a tilápia nilótica, entretanto, de acordo com o NRC (1993), não há exigência pelos ômega-3, enquanto para ômega-6 a exigência é de 0,5 a 1,0%. A exigência em AG é de difícil determinação (Bezard et al., 1994). Isto se deve ao fato de que vários outros fatores, como a qualidade da fonte de gordura, a relação entre AG saturados e insaturados e entre ômega-6 e ômega-3 no alimento, a fase de desenvolvimento do animal, além dos fatores ambientais, exercem influência sobre as exigências. Outro fator que contribui para a difícil determinação das exigências pela tilápia é o fato de que, na composição da maioria das dietas ofertadas há quantidades de ômega-6 normalmente maiores do que a recomendação mínima do NRC (1993), mesmo naquelas em que não são utilizados óleos ou gorduras.

Com o presente estudo foram avaliados os efeitos do fornecimento de dietas práticas com os óleos de girassol, de linhaça e suas misturas, fontes de AG ômega-6 e ômega-3, respectivamente, sobre o desempenho, a composição químico-bromatológica e índices viscerais de tilápias do Nilo.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Universidade Estadual Paulista *Julio de Mesquita Filho* – UNESP, campus de Botucatu-SP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ, nas dependências do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – AquaNutri, do Departamento de Melhoramento Zootécnico e Nutrição Animal.

Foram utilizados alevinos invertidos sexualmente, para machos, de tilápia do Nilo com $7,5 \pm 0,21$ g, distribuídos em 40 tanques experimentais com capacidade de 250L, em uma densidade de oito alevinos por aquário, totalizando 320 peixes.

Os aquários estavam ligados em sistema de recirculação de água, com aquecimento controlado por sistema digital, para manter constante a temperatura da água (26,0°C). Ao sistema de recirculação estava acoplada uma central de aeração e filtragem físico-biológica, para a manutenção da qualidade da água.

Os tratamentos consistiam de oito rações experimentais: basal (B, sem adição de óleo), 6% de óleo de girassol (OG); 5% de OG + 1% de óleo de linhaça (OL); 4% de OG + 2% OL; 3% de OG + 3% de OL; 2% de OG + 4% de OL; 1% de OG + 5% de OL; 6% de OL. As dietas, isonutricionais, foram formuladas para conter 32% de proteína digestível e 3.420 kcal ED/kg de ração. O percentual dos ingredientes e a composição químico-bromatológica das rações experimentais estão apresentados na Tabela 1.

Para a confecção das rações, os ingredientes foram moídos em partículas menores que 0,07 mm, homogeneizados manualmente antes e após serem umedecidos, em 18 a 20% do peso, com água aquecida a 55°C, sendo posteriormente extrusadas. Após a extrusão, as rações foram secas em estufa com circulação forçada de ar, por 24 horas, em temperatura de 55°C, retiradas e, após resfriadas à temperatura ambiente, identificadas conforme o tratamento, ensacadas e armazenadas em freezer a -10°C até o uso. Para o arraçoamento, as rações foram moídas e peneiradas até a obtenção de grânulos homogêneos adequados ao tamanho da boca dos peixes. O arraçoamento foi realizado quatro vezes ao dia (8h:30min, 11h:30min, 14h:30min e 17h:30min horas), até aparente saciedade e de modo a evitar sobras.

Os aquários foram sifonados sempre que necessário e o sistema de contenção de matéria orgânica do filtro físico-biológico foi lavado diariamente, uma vez ao dia nos primeiros 40 dias e duas ou três vezes ao dia até a conclusão do estudo, procedimentos realizados com objetivo de retirar o excesso de matéria orgânica do sistema, para a manutenção da qualidade da água. Temperatura da água, oxigênio dissolvido e pH, com médias de $25,8 \pm 1,1^\circ\text{C}$; $6,7 \pm 0,9$ mg/L e $7,3 \pm 0,6$, respectivamente, estão de acordo com os padrões estabelecidos como ideais para a espécie (Boyde e Tucker, 1998).

Ao final de 85 dias, todos os peixes e sobras de ração foram pesados para a determinação do peso final (PF, g), ganho de peso (GP, g/peixe/dia), consumo aparente de ração (CAR, g/peixe/dia), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de eficiência protéica (TEP, %), retenção de proteína bruta (RPB, %), e retenção de energia bruta (TREB, %) conforme equações abaixo:

$$\text{GP} = \text{PF} - \text{PI};$$

$$\text{CAA} = \text{CAR} \div \text{GP};$$

$$\text{TEP} = \text{GP} \div \text{PB consumida}$$

$$\text{RPB} = [(\text{PF} \times \text{PB final}) - (\text{PI} \times \text{PB inicial}) \times 100 / (\text{CARt} \times \text{PB da ração})];$$

$$\text{TREB} = [(\text{PF} \times \text{EB peixe final}) - (\text{PI} \times \text{EB peixe inicial}) \times 100 / (\text{CARt} \times \text{ED da ração})].$$

Ainda ao final dos 85 dias, 17 peixes de cada tratamento foram sacrificados (superdosagem de benzocaína). Cinco peixes de cada tratamento foram embalados em sacos plásticos, identificados e congelados em freezer (-20°C). Posteriormente, foram retiradas as escamas e os peixes foram moídos inteiros, em moinho de carne, por duas vezes, para evitar resíduos de espinhas inteiras e pele, colocados em potes plásticos identificados e congelados novamente até análises posteriores. Umidade, proteína bruta e cinzas dos peixes inteiros, conforme a AOAC (2000), assim como a energia bruta, em bomba calorimétrica, foram determinadas. De cada tratamento foram realizadas cinco repetições com duplicata por amostra.

Em 12 peixes realizou-se dissecação para a coleta de vísceras e separação do fígado e da gordura abdominal. A separação do fígado foi imediatamente após a dissecação. Para a separação da gordura visceral, entretanto, foi necessário o resfriamento das vísceras em freezer (-5°C) por alguns minutos e a separação foi realizada em Placas de Petri sobre gelo, para evitar perda da gordura por conta da liquefação da mesma devido a temperatura, com o auxílio de pinças e bisturis. Durante a retirada das vísceras, dos fígados e da gordura abdominal, os mesmos foram mantidos em Placas de Petri identificadas. Estes tecidos foram posteriormente pesados, para a determinação dos índices víscero-somático total (IVST), que consiste do percentual de peso de todas as vísceras em relação ao peso do peixe; víscero-somático (IVS), que consiste do percentual de peso das vísceras, exceto o fígado, em relação ao peso do peixe; hepato-somático (IHS), que consiste do percentual de peso do fígado em relação ao peso do peixe e o índice de gordura visceral (IGV), pela separação e pesagem da gordura contida entre as vísceras, que consiste do percentual de peso da gordura abdominal em relação ao peso do peixe, conforme equações descritas abaixo, respectivamente. Todas as unidades de massa são notadas em grama.

$$\text{IVST} = [(\text{peso das vísceras} * 100) / \text{peso do peixe}];$$

$$\text{IVS} = [(\text{peso das vísceras} - \text{peso do fígado}) * 100 / \text{peso do peixe}];$$

$$\text{IHS} = [(\text{peso do fígado} * 100) / \text{peso do peixe}];$$

$$\text{IGA} = [(\text{peso da gordura abdominal} * 100) / \text{peso do peixe}]$$

Para a realização das análises estatísticas da composição químico-bromatológica e dos índices viscerais, cada peixe foi considerado como repetição, sendo que cada valor representa a média de cinco ou de 12 repetições, respectivamente. As médias de todas as variáveis estudadas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e, quando detectadas diferenças, foi aplicado o teste de Tukey a 5% para a comparação das médias.

Tabela 1. Composição percentual e nutricional calculada das rações experimentais

Ingredientes	B	6G¹	5G:1L	4G:2L	3G:3L	2G:4L	1G:5L	6L²
Farelo de soja (47% PB)	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Glúten de milho (60 % PB)	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Quirera de arroz	17,00	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50
Farelo de trigo	7,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Amido de milho	14,06	11,54	11,54	11,54	11,54	11,54	11,54	11,54
Óleo de girasol	0,00	6,00	5,00	4,00	3,00	2,00	1,00	0,00
Óleo de linhaça	0,00	0,00	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00	6,00
DL-Metionina	0,65	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67
Triptofano	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Treonina	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Fosfato bicálcico	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60
Calcáreo	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Vitamina C	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloreto de colina	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
NaCl	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento vitamínico ³	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento mineral ⁴	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Etoxiquin ⁵	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Matéria Seca, %	96,75	97,95	97,87	97,44	97,26	97,22	97,04	96,75
Proteína Bruta, %	32,53	32,27	32,27	32,27	32,27	32,27	32,27	32,27
Proteína Digestível (PD)	30,08	29,93	29,93	29,93	29,93	29,93	29,93	29,93
ED, kcal/kg	3.420	3.420	3.420	3.420	3.420	3.420	3.420	3.420
ED/PD	113,7	114,27	114,27	114,27	114,27	114,27	114,27	114,27
Extrato Etéreo, %	2,57	8,17	8,17	8,17	8,17	8,17	8,17	8,17
Cálcio (Ca), %	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12
Fósforo (P) Disponível, %	0,70	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
Ca/P Disponível	1,61	1,63	1,63	1,63	1,63	1,63	1,63	1,63
Metionina + Cistina D, %	0,96	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98
Lisina D, %	2,08	2,08	2,08	2,08	2,08	2,08	2,08	2,08
Triptofano D, %	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Treonina D, %	1,28	1,28	1,28	1,28	1,28	1,28	1,28	1,28
AAS D, %	1,35	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36
Fibra Bruta, %	4,36	4,41	4,41	4,41	4,41	4,41	4,41	4,41
AG Calculados, %								
Ômega-6 (ômega-6)	0,53	4,47	3,94	3,41	2,88	2,35	1,82	1,29
Ômega-3 (ômega-3)	0,08	0,07	0,60	1,14	1,67	2,20	2,74	3,27
ômega-6/ômega-3	6,61	63,28	6,52	3,00	1,72	1,07	0,66	0,39

B = Basal, sem Adição de Óleo. ¹Percentual de Óleo de girassol. ²Percentual de Óleo de Linhaça. ³Níveis de garantia por kg da dieta: vitamina A, 16060 UI; vitamina D3, 4510 UI; vitamina E, 250 UI; vitamina K, 30 mg; vitamina B1, 32 mg; vitamina B2, 32 mg; pantotenato de cálcio, 80 mg; niacina, 170 mg; biotina, 10 mg; ácido fólico, 10 mg; vitamina B12, 32 µg; vitamina B6, 32 mg. ⁴Níveis de garantia por kg da dieta: Na₂SeO₃, 0,7 mg; MnO, 50 mg; ZnO, 150 mg; FeSO₄, 150 mg; CuSO₄, 20 mg; CoSO₄, 0,5 mg; I₂Ca, 1 mg. ⁵Antioxidante; dihidro-etoxi-trimetilquinolina. D = digestível.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os peixes que consumiram a ração Basal, isenta e óleo, tiveram desempenho semelhante aos que consumiram as dietas com 6% de óleo de girassol, linhaça ou suas misturas, conforme pode ser observado na Tabela 2.

Quando do início do fornecimento das rações experimentais, foi observada menor aceitação pelos peixes das rações com os maiores níveis de óleo de linhaça o que não provocou redução do desempenho ao final do período experimental. Yildirim-Aksoy et al. (2007) também observou menor aceitação de dietas contendo óleo de linhaça como fonte de ômega-3, comparando à ração contendo óleo de peixe.

No presente estudo não houve redução do crescimento em decorrência do consumo de rações com óleo de linhaça, rico em ALN, resultados que se contrapõem aos encontrados por Stickney e MacGeachini (1983) e ao que afirma Takeushi et al. (1983) de que o consumo de dietas com altas concentrações de ALN reduz o desempenho produtivo de tilápias. Neste sentido, Stickney e Wurts (1986) alimentaram tilápias azuis (*Oreochromis aureus*) com rações contendo níveis crescentes de óleo de bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) e de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) e observaram maior desempenho com 10% de óleo de menhaden. Chou e Shiau (1996), analisando os resultados acima descritos, também afirmam que isto evidencia que altos níveis de ALN causam depressão do desempenho das tilápias azuis, o que não ocorreu ao consumirem AG ômega-3 de cadeia mais longa (EPA e DHA).

Yildirim-Aksoy et al. (2007) estudaram os efeitos do consumo de rações purificadas com 7% de diferentes óleos e suas misturas, ricas em PUFAs ômega-6 e ômega-3, em tilápias do Nilo e observaram que o desempenho foi semelhante, o que é corroborado pelos resultados obtidos no presente estudo para as diferentes misturas dos óleos de girassol (rico em PUFAs ômega-6) e de linhaça (rico em PUFA ômega-3).

Alguns fatores diferenciam este estudo dos citados anteriormente e devem ser considerados. O primeiro deles é o fato de que a suplementação de ALN nas dietas não foi isolada, nem combinada a um ácido graxo saturado, mas sim na composição lipídica natural do óleo de linhaça e em suas misturas com o óleo de girassol. Talvez isoladamente, ou em

combinação com apenas um ácido graxo saturado, o desequilíbrio das relações entre os ácidos graxos ômega-6 e ômega-3 e mesmo entre os saturados e insaturados nas dietas possa ser um dos fatores decisivos na redução do desempenho das tilápias dos estudos citados anteriormente. Além disso, neste estudo foi utilizada dieta prática e não dieta purificada ou desengordurada. Em dietas práticas os ingredientes naturalmente possuem AG ômega-6 e ômega-3 em sua composição, o que fez com que, neste estudo, mesmo na dieta que continha 6% de óleo de linhaça, ainda assim houvesse fontes de ômega-6. Se considerarmos que o NRC (1993) recomenda apenas 0,5 a 1,0% de ômega-6 para a tilápia do Nilo, em uma dieta prática convencional, mesmo sem a adição de óleos, este percentual é normalmente alcançado, o que não ocorre em dietas purificadas e desengorduradas.

Tabela 2. Peso final (PF, g), ganho de peso (GP, g/peixe/dia), consumo aparente de ração (CAR, g/peixe/dia), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de eficiência protéica (TEP), retenção de proteína bruta (RPB, %) e retenção de energia (TREB, %) de tilápias nilóticas alimentadas com rações contendo óleos de girassol, linhaça e suas misturas

	PF	GP	CAR	CAA	TEP	RPB	TREB
Basal ¹	132,45	1,39	1,51	1,09	2,82	34,39	145,08
6G ²	124,76	1,30	1,54	1,19	2,52	31,96	140,63
5G:1L	118,35	1,23	1,47	1,20	2,58	32,25	145,01
4G:2L	119,26	1,24	1,52	1,26	2,53	33,54	138,86
3G:3L	126,22	1,32	1,52	1,15	2,68	33,58	148,50
2G:4L	123,18	1,28	1,50	1,18	2,64	32,69	143,11
1G:5L	123,49	1,29	1,47	1,14	2,71	34,98	144,53
6L ³	135,03	1,42	1,53	1,09	2,85	33,19	155,13
ANOVA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV, %	13,05	13,78	7,75	10,74	8,66	6,95	6,70

¹Sem Adição de Óleo. ²Percentual de Óleo de girassol. ³Percentual de Óleo de Linhaça.
ns = não significativo (P>0,05) pelo teste de Tukey.

Kanazawa et al. (1980), estudaram as exigências nutricionais de ácidos graxos essenciais para a tilápia *zillii* em dois ensaios e observaram que as tilápias que receberam somente LA apresentaram o melhor desempenho e as que receberam somente o ALN apresentaram os piores resultados de desempenho. Os autores verificaram também que a mistura de qualquer dos ácidos graxos LA, ALN, ARA ou EPA ao ácido láurico nas rações melhora o desempenho das tilápias. Entretanto, ressaltam que os ômega-6 são mais

efetivos que os ômega-3 na promoção do desempenho, tendo maior função de ácidos graxos essenciais para a espécie.

Chou e Shiau (1999) estudando o desempenho de híbridos (♀ *Oreochromis niloticus* x ♂ *Oreochromis aureus*) de tilápias demonstraram que melhor desempenho foi obtido sempre que o óleo de fígado de bacalhau esteve presente, sendo que a mistura equivalente dos três óleos proporcionou os melhores resultados e afirmam que as tilápias possuem exigência em ácidos graxos altamente insaturados (HUFAs; mais que 3 insaturações) ômega-3 para seu máximo crescimento. Chou et al. (2001) também demonstraram que há exigência em HUFA's ômega-3 para tilápias híbridas e afirmam que níveis inferiores a 2% de óleo deprimem o desempenho e que baixa quantidade de ômega-3 promove o aparecimento de sinais de deficiência.

O que diferencia os resultados de desempenho das tilápias após o consumo de rações com fontes de ômega-3 obtidos neste ensaio dos obtidos nos trabalhos de Chou e Shiau (1999) e de Chou et al. (2001) são a utilização de tilápias híbridas e a fonte de ômega-3 utilizada. Enquanto neste ensaio utilizou-se tilápias do Nilo, nos citados anteriormente foram utilizadas tilápias híbridas. Outra diferença é que neste ensaio foi utilizado o óleo de linhaça como fonte de PUFA ômega-3, substituindo o óleo de girassol, enquanto os autores citados anteriormente utilizam o óleo de fígado de bacalhau, que é rico em HUFAs ômega-3, e foi substituindo o ácido láurico. A presença do ácido láurico em dietas pobres em ácidos graxos essenciais tem sido relacionada a retarde no crescimento e aumento da velocidade de aparecimento dos sinais de deficiência (Kanazawa et al. 1980).

Embora o ALN seja um precursor metabólico dos HUFAs ômega-3, as tilápias não são eficientes em insaturá-lo e alongá-lo em níveis adequados e, embora haja aumento da formação de insaturações nos ALN quando estes peixes são alimentadas com óleos vegetais, não é suficiente para manter os níveis de EPA e DHA dos tecidos nos mesmos níveis dos peixes que os receberam nas dietas (Stickney e Macgeachini, 1983; Stickney e Hardy, 1989; Tocher et al., 2002).

Há consenso na literatura que os peixes de água fria necessitam de maiores quantidades de HUFAs ômega-3, enquanto que os tropicais, como as tilápias, exigem maiores quantidades de AG ômega-6 (Chou e Shiau, 1999). Também tem sido aceito na

literatura que, em geral, as tilápias possuem maior exigência em ácidos graxos ômega-6 e que os ômega-3 são menos efetivos na promoção do desempenho destas espécies. Entretanto, deve-se atentar para o grau de insaturação destes ácidos graxos, pois os HUFAs ômega-3 podem ter função semelhante na promoção do desempenho das tilápias, conforme demonstraram Chou e Shiau (1999) e Chou et al. (2001).

Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) para as variáveis de composição corporal de tilápias em função do consumo das rações, conforme pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3. Composição químico-bromatológica da carcaça de tilápias nilóticas alimentadas com rações contendo óleos de girassol, linhaça e suas misturas

	Umidade, %	Energia, cal/g	Proteína, %	Cinzas, %
Basal ¹	71,13	5.507,20	16,43	2,86
6G ²	69,51	5.690,20	16,73	2,89
5G:1L	69,01	5.844,00	16,42	2,85
4G:2L	70,00	5.525,60	16,89	2,96
3G:3L	69,43	5.858,60	16,99	2,22
2G:4L	71,05	5.722,80	16,44	2,68
1G:5L	70,93	5.654,80	16,88	2,86
6L ³	71,41	5.751,40	15,83	2,32
ANOVA	ns	ns	ns	ns
CV, %	2,07	4,02	5,41	21,02

¹Sem Adição de Óleo. ²Percentual de Óleo de girassol. ³Percentual de Óleo de Linhaça. ns = não significativo ($P<0,05$) pelo teste de Tukey.

É mais provável haver variação da composição da carcaça dos peixes quando há alteração da composição em macronutrientes da ração, o que não ocorreu no presente estudo. Os valores médios de umidade (entre 69,01 e 71,41%) e proteína bruta (entre 15,83 a 16,99%) do corpo inteiro das tilápias do presente ensaio assemelham-se aos encontrados por Yildirim-Aksoy et al. (2007), que foram entre 70,4 a 70,9% e 14,6 a 15,3% para a umidade e a proteína bruta, respectivamente. Entretanto o percentual corporal de cinzas, que variou de 2,22 a 2,89% foi inferior aos verificados por estes autores, entre 3,2 a 3,6%.

Dentre os índices corporais de tilápias, apenas foi verificada diferença ($P<0,05$) para o índice de gordura abdominal, que foi maior nos peixes que consumiram dietas com a

mistura equivalente dos óleos de girassol e linhaça ou de 1% de girassol e 5% de linhaça (Tabela 4).

Tabela 4. Índices víscero-somático total (IVST), víscero-somático (IVS), hepato-somático (IHS), de gordura abdominal (IGA) e índice de comparação relativa da gordura abdominal (IRCGA) de tilápias nilóticas alimentadas com rações contendo óleos de girassol, linhaça e suas misturas

	IVST, %	IVS, %	IHS, %	IGA, %	IRCGA, %
Basal ¹	10,39	6,40	2,30	1,68a	100,00
6G ²	9,81	5,53	2,11	2,17ab	129,17
5G:1L	11,35	5,46	2,23	2,65ab	157,74
4G:2L	10,39	5,30	1,98	2,75ab	163,69
3G:3L	10,78	5,78	2,02	2,98b	177,38
2G:4L	11,19	6,32	2,04	2,83ab	168,45
1G:5L	11,23	5,94	2,17	3,11b	185,12
6L ³	10,21	5,72	2,07	2,41ab	143,45
ANOVA	ns	ns	ns	P<0,05	-
CV, %	16,24	26,50	28,57	36,61	-

¹Sem Adição de Óleo. ²Percentual de Óleo de girassol. ³Percentual de Óleo de Linhaça. Médias nas colunas seguidas por letras diferentes são diferentes (P<0,05) pelo teste de Tukey. ns = não significativo.

Embora, estatisticamente, os peixes que consumiram as dietas isentas de óleo apresentem a mesma taxa de deposição de gordura abdominal que a maioria dos peixes dos outros tratamentos, que consumiram dietas com 6% de óleo, com a utilização de um índice relativo de comparação, fica evidenciado que o menor aumento do percentual de gordura é de 29,17%, que pode ser de até 85,12%, o que representa um desvio energético considerável para este armazenamento, o que não é interessante sob o ponto de vista de produção comercial.

Mesmo em peixes alimentados com dietas isoenergéticas, é comum haver maior deposição de gordura abdominal nos que consomem dietas suplementadas com óleos ou gorduras, em comparação aos que recebem dietas isentas de óleo, como demonstrado por Lanna et al. (2004) e Falcon et al. (2007). Estes últimos encontraram valores de índice de gordura abdominal de 0,42; 1,29; 1,41 e 2,03% em peixes que consumiram dietas com zero, 6, 8 e 12% de lipídeos, respectivamente, e afirmaram que a energia adicional proveniente dos lipídeos é depositada na cavidade abdominal, na forma de gordura visceral. Aqueles

valores, em especial dos peixes que consumiram dietas em que não houve adição de óleos, são inferiores aos do presente ensaio. A maior deposição de gordura abdominal pode estar associada ao menor incremento calórico dos lipídeos em relação aos carboidratos da dieta.

CONCLUSÃO

A dieta isenta de óleo, assim como as dietas contendo 6% de óleo de girassol, linhaça ou suas misturas proporcionam semelhante desempenho zootécnico e não modificam a composição químico-bromatológica da carcaça de tilápias do Nilo. Os peixes que consomem dietas com óleo apresentam maior deposição de gordura abdominal. Como nenhuma das dietas modificou o desempenho zootécnico, recomenda-se utilizar a de menor custo.

LITERATURA CITADA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. 17th ed. AOAC International Ed. Maryland, USA, 2200p., 2000.
- BEZARD, J.; BLOND, J.P.; BERNARD, A.; CLOUET, P. The metabolism and availability of essential fatty acids in animal and human tissues. **Reproduction Nutrition Dev**, v.34, p.539-568, 1994.
- BJERVE, K.S.; MOSTAD, I.L.; THORESEN, L. Alpha-linolenic acid deficiency in patients on long-term gastric tube feeding; estimation of linolenic acid and long chain unsaturated ω -3 fatty acid requirement in man. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.45, p.66-77, 1987.
- CHOU, B-S.; SHIAU, S-Y. Both ω -6 and ω -3 fatty acids are required for maximal growth for hybrid tilapia. **North American Journal of Aquaculture**, v.61, p.13-20, 1999.
- CHOU, B-S.; SHIAU, S-Y.; HUNG, S.S.O. Effect of dietary cod liver oil on growth and fatty acids of juvenile hybrid tilapia Hung. **North American Journal of Aquaculture**, v.63, n.4, p.277-284, 2001.
- FALCON, D.R.; BARROS, M.M. PEZZATO, L.E.; VALLE, J.B. Lipídeo e vitamina C em dietas preparatórias de inverno para tilápias do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, p.1462-1472, 2007 (Supl.).
- KANAZAWA, A.; TESHIMA, S.; SAKAMOTO, M.; AWAL, M.A. Requirements of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v.46, p.1353-1356, 1980.
- LANNA, E.A.T.; PEZZATO, L.E.; FURUYA, W.M.; VICENTINI, C.A.; CECON, P.R.; BARROS, M.M. Fibra Bruta e Óleo em Dietas Práticas para Alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.2177-2185, 2004 (Supl. 3).
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Savier, 463p., 1995.
- NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academy Press, 1993.
- NUNES, I.J. **Nutrição animal básica**. 2.ed. Belo Horizonte: FEP FMVZ, 1998. 388p.

- RUYTER, B.; ROSJO, C.; EINEN, O.; THOMASSEN, M.S. Essential fatty acids in Atlantic salmon: effects of increasing dietary doses of ω -6 and ω -3 fatty acids on growth, survival and fatty acid composition of liver, blood and carcass. **Aquaculture Nutrition**, v.6, n.2, p.119-127, 2000.
- SARGENT, J.R.; BELL, J.G.; BELL, M.V.; HENDERSON, R.J.; TOCHER, D.R. Requirement criteria for essential fatty acids. **Journal of Applied Ichthyology**, v.11, p.183-198, 1995.
- SARGENT, J.R.; PARKER, R.J.; MUELLER-HARVEY, I.; HENDERSON, R.J. Lipid biomarkers in marine ecology, In: SLEIGH, M. A. (ed.). **Microbes and the sea**. Ellis Harwood Ltd, Chich-ester, UK. p. 119-138, 1987.
- SHIAU, S.-Y. Tilapia, *Oreochromis* spp. In: WEBSTER, C.D.; LIM, C. (eds). **Nutrient Requirement and Feeding of Finfish for Aquaculture**. CABI Publishing, London. p.273–292, 2002.
- STICKNEY, R.R.; HARDY, R.W. Lipid requirements of some warmwater species. **Aquaculture**, v.79, p.145-156, 1989.
- STICKNEY, R.R.; MCGEACHIN, R.B. Responses of *Tilapia aurea* to semipurified diets of differing fatty acid composition. In: FISHELSON, L.; YARON, Z. (Eds). **Proceedings of the International Symposium on Tilapia in Aquaculture**. Tel Aviv University Press. Tel Aviv, Israel, p.346-355, 1983.
- STICKNEY, R.R.; WURTS, W.A. Growth response of blue tilapia to selected levels of dietary menhaden and catfish oils. **The Progressive Fish-Culturist**, v.48, p.107-109, 1986.
- TAKEUCHI, T.; SATOH, S.; WATANABE, T. Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society of Science of Fisheries**, v.49, p.1127-1134, 1983.
- TOCHER, D.R.; AGABA, M.; HASTINGS, N.; BELL, J.G.; DICK, J.R.; TEALE, A.J. Nutritional regulation of hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition in zebrafish (*Danio rerio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.24, p.309-320, 2002.
- YAMADA, W.K.; CLEMANS, G.W.; HUTCHINSON, M.C. Essential fatty acids deficiency in humans. **Progress in Lipid Research**, v.19, p.187-215, 1981.
- YILDIRIM-AKSOY, M.; LIM, C.; DAVIS, A.; SHELBY, R.; KLESZIUS, P.H. Influence of dietary lipid sources on the growth performance, immune response and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, to *Streptococcus iniae* challenge. **Journal of Applied Aquaculture**, v.19, n.2, p.29-49, 2007.

CAPÍTULO III

Fontes de ácidos graxos poliinsaturados em dietas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*): hematologia e lipídeos plasmáticos antes e após estímulo pelo frio

**Fontes de ácidos graxos poliinsaturados em dietas de tilápias do Nilo
(*Oreochromis niloticus*): hematologia e lipídeos plasmáticos antes e após
estímulo pelo frio**

RESUMO: Os ácidos graxos poliinsaturados exercem função metabólica indispensável para a homeostase em peixes. O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos do consumo de rações com diferentes relações entre ácidos graxos poliinsaturados ômega-6 e ômega-3 sobre os parâmetros hematológicos e lipídeos plasmáticos de tilápias do Nilo antes e após estímulo pelo frio. Foram utilizados alevinos invertidos para macho ($\pm 7,5g$), distribuídos em 40 tanques experimentais (250L), em densidade de oito alevinos por aquário. Foram confeccionadas oito rações: basal (B, sem adição de óleo), 6% de óleo de girassol (OG); 5% de OG + 1% de óleo de linhaça (OL); 4% de OG + 2% OL; 3% de OG + 3% de OL; 2% de OG + 4% de OL; 1% de OG + 5% de OL; 6% de OL, que consistiram os oito tratamentos. O arraçoamento foi feito quatro vezes ao dia (8:30, 11:30, 14:30 e 17:30 horas) até a saciedade aparente e de modo a evitar sobras. Ao final de 85 dias e após três dias de desafio pelo frio, foram determinados os parâmetros hematológicos e os lipídeos plasmáticos. Não houve efeito da dieta sobre nenhuma das variáveis analisadas no período anterior ao desafio. O número de leucócitos foi afetado pelo consumo das dietas nos peixes estimulados pelo frio. O estímulo pelo frio provocou piora do estado geral de saúde, como leucopenia. Tilápias consumindo a dieta com 6% de óleo de linhaça estavam aparentemente menos preparadas para o estresse causado pelo frio.

Palavras-chave: ácidos graxos poliinsaturados, nutrição de peixes, *Oreochromis niloticus*, saúde de peixes, relação ômega-6/ômega-3

**Polyunsaturated fatty acid sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)
diets: hematology and plasma lipids before and after cold stress**

ABSTRACT: The polyunsaturated fatty acids (PUFAs) have indispensable metabolic function in fish homeostasis. This study was set out to determine the effect of eight diets with different omega-6 and omega-3 PUFA ratios in hematology and plasma lipids of Nile tilapia juveniles before and after cold stress. Fish (320 male tilapia of 7.50 g mean) were totally randomly distributed, with five replicates, into 40 plastic aquaria (250 L; 8 fishes per aquarium). Eight diets were formulated: basal (without oil supplementation); 6% sunflower oil (SO); 5% SO + 1% linseed oil (LO); 4% SO + 2% LO; 3% SO + 3% LO; 2% SO + 4% LO; 1% SO + 5% LO; and 6% LO. Fishes were fed four times per day (8:30; 11:30; 14:30; and 17:30 hours) for 85 days. At the 85th day and also after three days of cold stress blood were collected and hematological parameters and plasma lipids were evaluated. There was no significant difference in hematological parameters between fish fed omega-6 and omega-3 PUFA ratio diets before cold stress. Leucocytes were reduced in fish fed the 6% linseed oil diet after cold stress. Cold stress reduced fish health and Nile tilapia fed 6% linseed oil diet were more affected.

Key Words: fish nutrition, fish health, linseed oil, sunflower oil, *Oreochromis niloticus*, polyunsaturated fatty acids, omega-6 and omega-3 fatty acid ratio

INTRODUÇÃO

Os lipídeos consistem a principal forma de armazenamento de energia pelos animais, são constituintes de membranas celulares (fosfolipídeos, glicolipídeos e colesterol), excelentes isolantes térmicos, mecânicos e elétricos, protegendo órgãos e células. A impermeabilidade da membrana, com constituinte lipídico, aos íons permite a formação do potencial de membrana, favorecendo sua seletividade. Além disto, esteróides, eicosanóides e fosfolipídeos (metabolizados a partir de lipídeos) têm ação de hormônios, mediadores e mensageiros celulares. Alguns destes lipídeos produzem cofatores para ação enzimática e outros não são sintetizados nos organismos animais, sendo chamadas de ácidos graxos essenciais (Koolman e Roehm, 2005).

A biossíntese dos AGE linoléico (ômega-6) e linolênico (ômega-3) apenas ocorre em organismos do reino vegetal, não em animais que, entretanto, podem possuir sistema enzimático capaz de dessaturá-los e alongá-los (Sikorski e Kolakowska, 2003) com eficiência que varia com a espécie, estágio de desenvolvimento, dentre outras.

Segundo Pompéia (2001) os ácidos graxos essenciais (AGE), que não podem ser sintetizados pelo organismo e devem estar nas dietas, são imprescindíveis por estarem associados à saúde da pele, dos sistemas visual e nervoso, envolvidos no bom funcionamento de diversos órgãos e sistemas; pelo fato de que são convertidos em eicosanóides, mediadores lipídicos que incluem as prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanas e lipoxinas; sendo que a ausência destes nutrientes nas dietas está associada a síndromes que podem levar à morte.

As temperaturas médias ideais para a criação da tilápia do Nilo estão entre 26 e 28°C, com mínimas e máximas entre 23 e 33°C, respectivamente. As temperaturas abaixo de 18°C e acima de 30°C são exacerbadamente estressantes e devem ser evitadas (Lim e Webster, 2006). Entretanto, mesmo no Brasil, onde as temperaturas médias são altas, é comum que, em algumas regiões e meses do ano, a temperatura da água de cultivo seja inferior aos 18°C, temperatura que pode perdurar por vários dias, sendo evidente a importância de se conhecer os efeitos da exposição às baixas temperaturas sob as condições de saúde dos peixes.

Conforme Fletcher (1997) alguns ácidos graxos, constituintes dos fosfolipídeos de membrana, como os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), conferem adequada fluidez de membrana, principalmente em baixas temperaturas. O estado de fluidez é um importante fator para a manutenção da seletividade e troca de fluidos celulares. Os PUFAs podem auxiliar na adequação do estado de fluidez em baixas temperaturas pelo fato de possuírem ponto de fusão muito baixo, sendo considerados lipídeos “anti-congelamento” das membranas (Brett e Navarra-Müller, 1997). O ponto de fusão é que faz com que os ácidos graxos saturados sejam, normalmente, mais sólidos (alto ponto de fusão) e os insaturados sejam mais líquidos (baixo ponto de fusão) em temperatura ambiente. A modificação da composição lipídica das membranas celulares é importante para a aclimatação dos peixes às baixas temperaturas. Bell et al. (1986) destacaram que a fluidez da membrana depende do balanço apropriado de ácidos graxos saturados e insaturados, como componentes dos fosfolipídeos da membrana.

A nutrição lipídica exerce influência determinante sobre o desempenho zootécnico e características da carcaça dos animais em geral, inclusive dos peixes. Entretanto, o estudo das características hematológicas pode indicar o estado nutricional dos peixes, pois o sangue é um dos tecidos mais dinâmicos do organismo e se altera em função do tipo de dieta consumida. De acordo com Ranzini-Paiva e Silva-Souza (2004) a aplicação da hematologia em pesquisas com animais é bem aceita e considerada como procedimento de rotina em métodos de diagnóstico. Entretanto, em peixes, este tipo de diagnóstico tem se aperfeiçoado nos últimos 15 anos e ainda necessitam de novas informações (Hrubec e Smith, 2006). De toda forma, este tipo de estudo se constitui em importante ferramenta para o diagnóstico, não só de estados patológicos, mas do estado nutricional dos peixes.

Em pesquisas no Brasil se tem buscado elucidar os efeitos da nutrição sobre os parâmetros hematológicos dos peixes, em especial de tilápias do Nilo, como as conduzidas por Barros et al. (2002; 2004) que estudaram os efeitos de níveis de vitamina C e ferro, ou da substituição do farelo de soja pela farinha de sangue nas rações, respectivamente; Ferrari et al. (2004) que avaliaram os efeitos do consumo de dietas com níveis crescentes de cobre; Sá et al. (2004) que avaliaram os efeitos do consumo de dietas com diferentes níveis de zinco; Signor (2007) que estudou a suplementação de dietas com levedura autolisada e

zinco; Falcon et al. (2007) que avaliaram os efeitos dos níveis de lipídeos e de vitamina C em dietas preparatórias para o inverno; Martins et al. (2008) que estudaram os efeitos da suplementação das vitaminas C e E nas dietas; Fernandes Junior (2008) que estudou os efeitos de dietas com níveis crescentes de colina; Quintero Pinto (2008) que avaliou as respostas ao consumo de rações com níveis crescentes de fósforo.

A hematologia de peixes determinou, ao longo dos anos, valores obtidos em peixes sobre condições patológicas e de estresse, sem correlacioná-los a valores de referência de peixes saudáveis, o que constitui uma lacuna para a utilização da hematologia (Hrubec e Smith, 2006). As características hematológicas normais de peixes sadios devem ser conhecidas para que o diagnóstico do seu estado de saúde, ou nutricional, seja confiável, principalmente por apresentarem ampla variação em função de fatores bióticos e abióticos, que representam a amplitude de variação fisiológica de cada espécie, em cada ambiente de criação (Ranzini-Paiva e Silva-Souza, 2004). Então, o conhecimento dos valores médios dos parâmetros hematológicos, em ambiente natural e em cativeiro (nos mais diversos sistemas de criação comercial), em condições de homeostase e de estresse, é importante para a identificação das alterações fisiológicas, derivadas da nutrição e de fatores ambientais, como a temperatura, que possam interferir na hematopoiese.

O objetivo com o presente estudo foi avaliar os efeitos do fornecimento de dietas práticas com os óleos de girassol, de linhaça e suas misturas, como fontes de ácidos graxos ômega-6 e ômega-3, respectivamente, sobre os parâmetros hematológicos, colesterol, triglicerídios e lipoproteínas séricas de tilápias do Nilo antes e após estímulo pelo frio.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Universidade Estadual Paulista *Julio de Mesquita Filho* – UNESP, campus de Botucatu-SP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ, nas dependências do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – AquaNutri, do Departamento de Melhoramento Zootécnico e Nutrição Animal.

Foram utilizados alevinos invertidos sexualmente, para machos, de tilápia do Nilo com $7,5 \pm 0,21$ g, distribuídos em 40 tanques experimentais com capacidade de 250L, em uma densidade de oito alevinos por aquário, totalizando 320 peixes.

Os aquários estavam ligados em sistema de recirculação de água, com aquecimento controlado por sistema digital integrado, para manter constante a temperatura da água (26,0°C). Ao sistema de recirculação estava acoplada central de aeração e filtragem físico-biológica, para a manutenção da qualidade da água.

Os tratamentos consistiam de oito rações experimentais: basal (B, sem adição de óleo), 6% de óleo de girassol (OG); 5% de OG + 1% de óleo de linhaça (OL); 4% de OG + 2% OL; 3% de OG + 3% de OL; 2% de OG + 4% de OL; 1% de OG + 5% de OL; 6% de OL. As dietas, isonutricionais, foram formuladas para conter 30% de proteína digestível e 3.420 kcal ED/kg de ração. A composição percentual e químico-bromatológica das dietas experimentais está apresentada na Tabela 1.

Para a confecção das rações, os ingredientes foram moídos em partículas menores que 0,07 mm, homogeneizados manualmente antes e após serem umedecidos, em 18 a 20% do peso, com água aquecida a 55°C, sendo posteriormente extrusadas. Após a extrusão, as rações foram secas em estufa com circulação forçada de ar, por 24 horas, em temperatura de 55°C, retiradas e, após resfriadas à temperatura ambiente, identificadas conforme o tratamento, ensacadas e armazenadas em freezer a -10°C até o uso. Para o arraçoamento, as rações foram moídas e peneiradas até a obtenção de grânulos homogêneos adequados ao tamanho da boca dos peixes. O arraçoamento foi realizado quatro vezes ao dia (8h:30min, 11h:30min, 14h:30min e 17h:30min), até aparente saciedade e de modo a evitar sobras.

Tabela 1. Composição percentual e nutricional calculada das rações experimentais

Ingredientes	B	6G¹	5G:1L	4G:2L	3G:3L	2G:4L	1G:5L	6L²
Farelo de soja (47% PB)	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Glúten de milho (60 % PB)	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Quirera de arroz	17,00	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50
Farelo de trigo	7,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Amido de milho	14,06	11,54	11,54	11,54	11,54	11,54	11,54	11,54
Óleo de girasol	0,00	6,00	5,00	4,00	3,00	2,00	1,00	0,00
Óleo de linhaça	0,00	0,00	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00	6,00
DL-Metionina	0,65	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67
Triptofano	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Treonina	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Fosfato bicálcico	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60
Calcáreo	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Vitamina C	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloreto de colina	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
NaCl	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento vitamínico ³	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento mineral ⁴	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Etoxiquin ⁵	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Matéria Seca, %	96,75	97,95	97,87	97,44	97,26	97,22	97,04	96,75
Proteína Bruta, %	32,53	32,27	32,27	32,27	32,27	32,27	32,27	32,27
Proteína Digestível (PD)	30,08	29,93	29,93	29,93	29,93	29,93	29,93	29,93
ED, kcal/kg	3.420	3.420	3.420	3.420	3.420	3.420	3.420	3.420
ED/PD	113,7	114,27	114,27	114,27	114,27	114,27	114,27	114,27
Extrato Etéreo, %	2,57	8,17	8,17	8,17	8,17	8,17	8,17	8,17
Cálcio (Ca), %	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12
Fósforo (P) Disponível, %	0,70	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
Ca/P Disponível	1,61	1,63	1,63	1,63	1,63	1,63	1,63	1,63
Metionina + Cistina D, %	0,96	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98
Lisina D, %	2,08	2,08	2,08	2,08	2,08	2,08	2,08	2,08
Triptofano D, %	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Treonina D, %	1,28	1,28	1,28	1,28	1,28	1,28	1,28	1,28
AAS D, %	1,35	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36
Fibra Bruta, %	4,36	4,41	4,41	4,41	4,41	4,41	4,41	4,41
AG Calculados, %								
Ômega-6 (ômega-6)	0,53	4,47	3,94	3,41	2,88	2,35	1,82	1,29
Ômega-3 (ômega-3)	0,08	0,07	0,60	1,14	1,67	2,20	2,74	3,27
ômega-6/ômega-3	6,61	63,28	6,52	3,00	1,72	1,07	0,66	0,39

B = Basal, sem Adição de Óleo. ¹Percentual de Óleo de girassol. ²Percentual de Óleo de Linhaça. ³Níveis de garantia por kg da dieta: vitamina A, 16060 UI; vitamina D3, 4510 UI; vitamina E, 250 UI; vitamina K, 30 mg; vitamina B1, 32 mg; vitamina B2, 32 mg; pantotenato de cálcio, 80 mg; niacina, 170 mg; biotina, 10 mg; ácido fólico, 10 mg; vitamina B12, 32 µg; vitamina B6, 32 mg. ⁴Níveis de garantia por kg da dieta: Na₂SeO₃, 0,7 mg; MnO, 50 mg; ZnO, 150 mg; FeSO₄, 150 mg; CuSO₄, 20 mg; CoSO₄, 0,5 mg; I₂Ca, 1 mg. ⁵Antioxidante; dihidro-etoxi-trimetilquinolina. D = digestível.

Os aquários foram sifonados sempre que necessário e o sistema de contenção de matéria orgânica do filtro físico-biológico foi lavado diariamente, uma vez ao dia nos primeiros 40 dias e duas ou três vezes ao dia até a conclusão do estudo, procedimentos realizados com objetivo de retirar o excesso de matéria orgânica do sistema, para a manutenção da qualidade da água. Temperatura da água, oxigênio dissolvido e pH, com médias de $25,8 \pm 1,1^\circ\text{C}$; $6,7 \pm 0,9$ mg/L e $7,3 \pm 0,6$, respectivamente, estão de acordo com os padrões estabelecidos como ideais para a espécie (Boyde e Tucker, 1998).

Ao final de 85 dias, seis peixes ($125,34 \pm 9,69\text{g}$) por tratamento, retirados aleatoriamente das cinco repetições, foram anestesiados com benzocaína (1,5g do anestésico em 15L de água) e, após a insensibilização, foi coletado 2 mL de sangue de cada peixe, por meio de punção do vaso caudal, com auxílio de duas seringas de 1 mL banhadas com anticoagulante (EDTA 3%).

Com o sangue coletado em uma das seringas, foi realizada análise do hemograma dos peixes. A contagem do número de eritrócitos e leucócitos foi realizada pelo método do hemocítmetro, em câmara de Neubauer, utilizando o azul de toluidina (Merck®) a 0,01%, diluído em solução fisiológica (0,9%), com pipeta de Thoma, na proporção de 1:200. A taxa de hemoglobina (Hb) foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, utilizando-se o kit comercial Analisa Diagnóstica®, para determinação colorimétrica, segundo Collier (1944). A porcentagem de hematócrito (Htc) foi determinada pelo método do microhematócrito, segundo Goldenfarb et al. (1971). A proteína plasmática total foi mensurada por meio do uso de refratômetro manual de Goldberg, pela quebra do tubo de microhematócrito logo acima da camada de leucócitos, após a leitura do hematócrito (Jain, 1986). Posteriormente a estas análises, foram calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio [$\text{VCM} = (\text{Htc} \times 10) / \text{eritrócitos}$] e concentração de hemoglobina corpuscular média [$\text{CHCM} = (\text{Hb} \times \text{Htc}) \times 100$], segundo Wintrobe (1934).

O sangue coletado em uma segunda seringa foi transferido para tubo *ependorff* previamente identificado e, em seguida, centrifugado a 5000 RPM por 15 minutos à temperatura de zero grau *Celsius*. Após a centrifugação, o plasma foi armazenado em freezer (-20°C) até a determinação dos lipídeos totais (LT), do colesterol total (COLT), do colesterol-HDL (C-HDL) e dos triglicerídeos (TRG) séricos. Os LT foram determinados

por ensaio colorimétrico, pela ação da sulfosfosvanilina, conforme Frings et al. (1972). O COLT e os TRG foram determinados por ensaio enzimático-colorimétrico em espectrofotômetro semi-automático, assim como o C-HDL, após a precipitação de partículas não HDL-colesterol, todas utilizando kits comerciais (Katal®).

Após as avaliações hematológicas antes do estímulo pelo frio os peixes utilizados foram descartados, sendo que os restantes permaneceram na mesma estrutura e o sistema de aquecimento foi desligado até que houvesse o abaixamento gradativo da temperatura da água, para que esta se igualasse à da sala de estímulo pelo frio, o que ocorreu, aproximadamente, em 24 horas. No momento em que a temperatura da água dos aquários de ambas as estruturas experimentais estavam similares, por volta de 22,5°C, os peixes foram transferidos para a sala de estímulo pelo frio. Neste momento a temperatura da água dos aquários passou a ser controlada por meio do resfriamento do ar, com utilização de condicionador de ar, promovendo conseqüente abaixamento da temperatura da água para 17°C, que ocorreu, aproximadamente, após 18 horas da transferência dos peixes.

Para o estímulo pelo frio, foram transferidos seis peixes (125,34±9,69g) de cada tratamento, retirados aleatoriamente das cinco repetições, sendo utilizado, ao menos, um peixe de cada uma das repetições. Os peixes foram alojados dois por aquário, totalizando 48 peixes em 24 aquários, que possuíam capacidade de 40 litros e eram dotados de filtro e aeração individuais. Cada aquário foi dividido em dois, por meio de uma tela disposta na diagonal, com o objetivo de evitar confrontos entre os peixes. O período de estímulo pelo frio foi de três dias, entretanto, sob a temperatura de 17°C, os peixes ficaram expostos por, aproximadamente, 54 horas. Ao final deste período, foram avaliadas as mesmas variáveis sanguíneas estudadas ao final dos 85 dias de criação. O delineamento experimental utilizado durante os primeiros 85 dias de criação foi mantido durante o estímulo pelo frio.

Durante o período de estímulo pelo frio, o arraçoamento dos peixes foi efetuado duas vezes ao dia (08h:00min e 17h:00min), também até a aparente saciedade e de modo a evitar sobras, assim como no período anterior.

Para efeito do estudo de todos os parâmetros hematológicos e de lipídeos sanguíneos cada peixe foi considerado uma repetição, sendo que cada média apresentada, antes ou após estímulo pelo frio, representa a média de seis repetições, ou seja, de seis

peixes, por tratamento. As médias das variáveis estudadas foram submetidas à análise multivariada de variância (ANOVA) em modelo de medidas repetidas em grupos independentes (Johnson e Wichern, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito ($P>0,05$) do consumo das rações isenta de óleo, com óleo de girassol, de linhaça e suas misturas sobre as variáveis hematológicas no período anterior ao estímulo pelo frio. Para peixes submetidos ao estímulo pelo frio, a dieta exerceu influência ($P<0,05$) apenas sobre o número de leucócitos. Comparando os períodos, foi observado que o estímulo pelo frio afetou ($P<0,05$) as variáveis hematológicas das tilápias, com redução dos valores médios da contagem de eritrócitos, da taxa de hemoglobina, da contagem de leucócitos e da concentração de proteína plasmática total nos peixes, conforme pode ser visto na Tabela 2.

Yildirim-Aksoy et al. (2007) estudaram os efeitos do consumo de rações com 7% de óleos de milho, peixe (menhaden), linhaça ou sebo bovino e suas misturas equivalentes sobre parâmetros hematológicos e resposta imune de tilápias do Nilo. O número de eritrócitos e de leucócitos foi maior nos peixes que consumiram as dietas que continham apenas o óleo de peixe, mas não diferiram entre nenhum dos outros tratamentos. Para a taxa de hemoglobina e percentual de hematócrito os autores não observaram efeito do tipo de lipídeo consumido pelos peixes. Pode-se considerar os resultados apresentados pelos autores acima próximos aos do presente estudo, principalmente comparando a utilização de óleo de milho ao de girassol, como fontes de ômega-6, e a utilização do óleo de linhaça, onde não houve variação de nenhum dos parâmetros hematológicos das tilápias que consumiram dietas com estes óleos.

O número de eritrócitos foi reduzido após o desafio pelo frio apenas nos peixes que consumiram a dieta 4G:2L. Estas células constituem a série vermelha sanguínea e contêm hemoglobina, que tem por função o transporte de O_2 e de parte do CO_2 , sendo que qualquer deficiência em número ou forma destas células pode comprometer a oxigenação nos tecidos (Ranzini-Paiva e Silva-Souza, 2004).

Tabela 2. Parâmetros hematológicos (n = 6; médias±desvios padrão) de tilápias alimentadas com rações contendo óleos de girassol, linhaça e suas misturas antes e após estímulo pelo frio

Tratamento	Eritrócito (10 ⁶ /µL)		Hematócrito (%)		Hemoglobina (g/dL)		Leucócitos (10 ⁵ /µL)		PPT ⁴ (g/dL)	
	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após
Basal¹	1,99±0,25	1,94±0,20	30,67±3,54	29,25±2,40	7,27±0,96	7,34±0,46	1,37±0,35	1,01±0,24A	3,37±0,28	2,93±0,48
6G²	2,09±0,19	1,88±0,27	30,00±2,61	26,25±3,31	7,78±0,71	6,65±0,91	1,27±0,27a	0,57±0,11bB	3,90±0,64	3,13±0,52
5G:1L	1,95±0,26	1,90±0,26	27,17±2,34	25,50±3,78	6,85±0,77	6,49±0,88	1,48±0,33	1,21±0,33A	3,57±0,52	3,13±0,45
4G:2L	2,02±0,19a	1,76±0,23b	28,17±2,14	28,25±2,40	7,28±0,66	7,16±1,15	1,07±0,21a	0,60±0,14bB	3,57±0,60	3,10±0,62
3G:3L	2,27±0,27	1,96±0,23	30,42±1,96	29,42±2,42	7,40±0,88	7,01±0,96	1,37±0,46	0,73±0,25B	3,82±0,54a	3,05±0,30b
2G:4L	1,98±0,14	1,93±0,28	27,67±4,45	28,00±4,21	6,75±1,28	7,08±0,83	0,95±0,17a	0,53±0,10bB	3,74±1,05	3,02±0,49
1G:5L	2,24±0,20	1,97±0,33	32,00±3,35	27,92±4,15	7,96±1,08	7,13±0,96	1,43±0,38	1,14±0,16A	3,50±0,44a	2,84±0,16b
6L³	1,95±0,24	2,08±0,17	30,83±2,70	28,90±2,08	7,19±1,39a	6,24±3,06b	1,15±0,50a	0,58±0,15bB	3,67±0,46a	2,37±1,18b
Óleo	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	P<0,01	ns	ns
Período	P<0,05		ns		P<0,05		P<0,05		P<0,05	
CV, %	10,73	12,89	10,09	11,53	13,66	12,28	27,69	20,57	16,54	14,23

¹Sem Adição de Óleo. ²Percentual de Óleo de girassol. ³Percentual de Óleo de Linhaça. ⁴PPT = Proteína Plasmática total.

Médias seguidas de letras maiúsculas (distintas nas colunas) ou minúsculas (distintas nas linhas) são diferentes (P<0,05) pelo teste de Tukey. ns = não significativo.

Ferreira (2008) estudou os efeitos do consumo de rações com diferentes óleos sobre parâmetros sanguíneos de tilápias do Nilo e observou os maiores percentuais de hematócrito em peixes alimentados com dieta contendo óleo de soja, 39,33%; seguidos pelos alimentados com o óleo milho, 28,66%; sendo que os dois foram superiores aos encontrados para os peixes alimentados com óleos de linhaça e peixe, 23,33 e 22,83%, respectivamente. No presente estudo não foi observada redução dos valores de hematócrito em peixes consumindo dietas com óleo de linhaça (dieta 6L), submetidos ou não ao frio, 30,83 e 28,90%, respectivamente, ambos superiores ao apresentado pela autora acima. Os demais valores de hematócrito observados no presente estudo apresentaram médias de 27,17 a 32,00% e de 25,50 a 29,25% para os peixes antes e após desafio pelo frio e, com exceção do mínimo após estímulo pelo frio, estão dentre os considerados normais (27 a 37%) para tilápias saudáveis por Hrubec e Stephen (2006).

A taxa de hemoglobina foi reduzida de 7,19 para 6,24g/dl nos peixes que consumiram a ração 6L após o desafio pelo frio. A taxa de hemoglobina pode ser alterada em função do número de eritrócitos, por estar contida no interior destas células, o que não ocorreu no presente estudo. A hemoglobina está diretamente relacionada ao transporte de O₂ no sangue, sendo que sua redução pode significar menor capacidade de transporte de gases no interior do corpo. Entretanto, conforme Arana (2004), de forma geral, quanto menor a temperatura, maior a concentração de oxigênio dissolvido na água. Além disto, quando em situação de temperatura inferior à ótima para peixes tropicais, principalmente em amplitudes relativamente grandes, como no presente estudo, em que houve diminuição de cerca de 9°C, os peixes reduzem seu metabolismo. A combinação destas duas situações pode explicar a redução da taxa de hemoglobina circulante no sangue periférico, devido a possível aclimatação dos peixes, por haver menor demanda metabólica por oxigênio e ainda mais oxigênio disponível para a respiração em água mais fria. Também deve ser ressaltado que a redução é mínima e que os valores absolutos antes e após o estímulo pelo frio está muito próximo à média considerada para tilápias sadias, segundo Feldman et al. (2000). Além disto, o valor é superior aos observados por Falcon et al. (2007) e similar aos encontrados por Barros et al. (2002; 2004) para tilápias hípidas, sendo os últimos três

ensaios realizados no mesmo laboratório e em condições experimentais semelhantes às do presente estudo.

Há uma ampla variação dos parâmetros hematológicos dos peixes em função de fatores inerentes aos animais ou de fatores abióticos, como a temperatura da água (Ranzini-Paiva e Silva-Souza, 2004). No presente estudo as variações inerentes aos animais são representadas pelo desvio padrão em cada tratamento e o fator abiótico é representado quando se compara os efeitos sobre as variáveis antes e após o estímulo pelo frio. As variações descritas por Ranzini-Paiva e Silva-Souza (2004) foram observadas quando, dentre outras variáveis, da quantificação dos leucócitos no presente estudo, com grandes variações dentro do mesmo tratamento, antes e após o estímulo pelo frio. Talvez por isto não tenha sido determinada redução estatisticamente significativa dos valores médios, embora tenha sido em valores absolutos, desta variável em todos os tratamentos quando comparados os períodos.

Os peixes que consumiram as dietas 6G; 4G:2L; 2G:4L e 6L, comparando-se os períodos, ou dos que consumiram as dietas 6G; 4G:2L; 3G:3L; 2G:4L e 6L, somente considerando os que foram submetidos ao frio, apresentaram número de leucócitos reduzido. Ranzini-Paiva e Silva-Souza (2004) afirmaram que as células da série branca ou leucocitária são: linfócitos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, granulocíticas especiais e um grupo de “outras células” (de difícil caracterização, pela aparência imatura), apontando os linfócitos como as mais frequentes em sangue periférico de inúmeras espécies de peixe. Então, embora possa ter ocorrido a redução do número de qualquer destas células, que somente poderia ter sido caracterizada por meio de diferenciação celular, o que não foi objeto do presente estudo, a redução do número de linfócitos seria mais facilmente percebida. Leucopenia determinada por linfopenia foi demonstrada em estudos com nutrição de peixes por Falcon (2008), Fernandes Junior (2008) e Signor (2007).

Conforme Pompéia e Curi (2002) os ácidos graxos poliinsaturados da família ômega-3 têm efeito supressor e os ômega-6 supressor ou estimulador do sistema imunológico, conseqüentemente da proliferação de linfócitos. Com isto, pode-se reforçar a inferência de que a possível linfopenia determinou a redução do total de leucócitos, leucopenia, dos peixes que consumiram a dieta com 6% de óleo de linhaça. Como não

houve um padrão de resposta, não há como inferir sobre a redução ocorrida nos peixes que consumiram 6% de óleo de girassol (rico em PUFA's ômega-6). Os autores acima citados afirmaram que a resposta imune requer inicialmente uma resposta inflamatória, com recrutamento de leucócitos e que a eficiência desta resposta depende do reconhecimento e da amplificação da resposta, com indução rápida e eficiente da proliferação de linfócitos. Com menor número de leucócitos, a capacidade de resposta imune dos peixes poderia estar reduzida. Ferreira (2008) demonstrou que dietas com 5% de óleo de linhaça são imunossupressoras para tilápias do Nilo, o que ratifica a inferência acima.

Noga (2006) associa estresse por temperatura e modificação da concentração de leucócitos, principalmente por afetar a osmorregulação dos peixes e resultar em hemoconcentração ou hemodiluição. Quadro de leucopenia em tilápias do Nilo, em decorrência de situações de estresse por baixas temperaturas também foi anteriormente descrito por Atwood et al. (2003); Signor (2007); Falcon et al. (2008) e Fernandes Junior (2008); resultados corroborados pelos obtidos no presente estudo, que ratificam que a temperatura pode exercer efeito determinante sobre parâmetros sanguíneos dos peixes, mesmo em adequado estado de nutrição.

Atwood et al. (2003), entretanto, constataram que não há influência de fontes de óleo (óleo de menhaden ou coco) sobre a aclimação dos peixes à baixa temperatura mas que há alterações fisiológicas como o aumento da glicose e a redução da concentração de sódio séricos. No presente estudo os peixes que consumiram as dietas contendo apenas óleo de linhaça aparentam estar menos preparados para suportar a redução da temperatura, o que contraria a afirmação do autor acima citado. Neste contexto, Martins e Carpinelli (2002) afirmaram que a secreção de insulina é estimulada primordialmente por substratos energéticos metabolizáveis e que, além da glicose que é o principal agente estimulador, os ácidos graxos podem mediar a sua secreção, que exerce efeito inibitório e cíclico sobre a glicose circulante. Então, nutrientes que interfiram de alguma forma no metabolismo da glicose ou de minerais como o sódio, podem exercer influência sobre a aclimação dos peixes à redução da temperatura.

A concentração de proteína plasmática total, que não foi afetada pelo consumo das dietas, variou entre 2,37 a 3,93 g/dL, sendo reduzida pelo frio nos peixes que consumiram

as dietas 3G:3L; 1G:5L e 6L. Valores médios de referência para tilápias saudáveis foram obtidos por Hrubec et al. (2000) para tilápias híbridas (*Oreochromis nilotica* x híbrido entre *O. mossambicus* x *O. aureus*); por Chen et al. (2003) para tilápias do Nilo e por Mauel et al. (2007) para tilápias híbridas (*Oreochromis aureus* x *Oreochromis nilotica*), com médias variando entre 3,0 a 7,7 g/dL.

Os índices hematimétricos (volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média) não foram alterados pelos tratamentos, antes ou após o estímulo pelo frio, e não foi observado efeito do estímulo pelo frio sobre estas variáveis, como apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Índices hematimétricos absolutos (n = 6; médias±desvios padrão) de tilápias alimentadas com rações contendo óleos de girassol, linhaça e suas misturas antes e após estímulo pelo frio

Tratamentos	VCM ⁴ (fL)		CHCM ⁵ (%)	
	Antes	Após	Antes	Após
Basal ¹	155,31±18,85	151,36±10,85	36,73±4,23	38,04±3,21
6G ²	144,05±10,93	141,58±23,03	37,33±2,46	35,56±3,13
5G:1L	140,32±9,91	134,16±7,51	35,28±1,80	34,28±2,96
4G:2L	139,93±12,58	163,20±25,60	36,16±3,64	40,94±6,50
3G:3L	135,21±12,15	151,94±25,08	32,80±3,62	36,34±4,50
2G:4L	139,68±18,12	145,59±10,26	34,05±5,29	36,98±2,80
1G:5L	142,99±13,60	143,13±22,96	35,53±4,11	36,50±4,78
6L ³	159,11±13,11	140,09±14,87	37,15±7,41	36,25±2,64
Óleo	ns	ns	ns	ns
Período	ns		ns	
CV, %	9,67	12,87	8,83	10,56

B = Basal, sem óleo. ¹Sem Adição de Óleo. ²Percentual de Óleo de girassol. ³Percentual de Óleo de Linhaça. ⁴Volume corpuscular médio = (Hematócrito x 10) / Eritrócitos]. ⁵Concentração de hemoglobina corpuscular média = (Hemoglobina x Hematócrito) x 100]. ns = não significativo.

Os lipídeos totais, triglicerídeos, colesterol total e colesterol-HDL plasmáticos das tilápias não foram afetados (P>0,05) pelo consumo das rações com diferentes relações entre ácidos graxos poliinsaturados ômega-6 e ômega-3 antes ou após o estímulo pelo frio.

Comparando-se as variáveis entre os períodos, os triglicerídeos foram reduzidos apenas nos peixes que consumiram a dieta 1G:5L e o colesterol total diminuiu apenas nos peixes que consumiram a dieta 6L após o estímulo pelo frio (Tabela 4).

A determinação de valores médios de colesterol sanguíneo de tilápias saudáveis tem sido objeto de diversos estudos. Hrubec et al. (2000) encontraram valores variando entre 110 a 318 mg/dl para tilápias híbridas (*Oreochromis nilotica* x *O. mossambicus* x *O. aureus*); Chen et al. (2003) observaram valores médios superiores, quando avaliaram os mesmos ao longo do ano, variando entre 231,5 a 307,1 mg/dl para tilápias do Nilo; Mauel et al. (2007) relataram valores médios de colesterol sanguíneo variando entre 88 e 228 mg/dl para tilápias híbridas (*Oreochromis aureus* x *Oreochromis nilotica*). Os valores médios obtidos no presente estudo foram de 134,5 a 151,8 mg/dl antes do estímulo e de 95,0 a 144,3 mg/dl após o estímulo pelo frio, estando dentre os valores indicados como normais para tilápias saudáveis, com exceção do mínimo observado após estímulo pelo frio, observado nos peixes que consumiram a ração 6L.

Ferreira (2008) estudou os efeitos do consumo de diferentes óleos sobre o colesterol total e triglicerídeos séricos de tilápias do Nilo. O colesterol total sérico dos peixes alimentados com dietas contendo os óleos de soja, milho e linhaça foi semelhante, mas diferiram dos valores médios observados para os peixes alimentados com óleo de peixe (108,30; 110,70; 104,76 e 132,48mg/dL; respectivamente). Este mesmo comportamento ocorreu com os triglicerídeos (60,84; 53,24; 50,72 e 36,20mg/dL; respectivamente). Tanto os valores de colesterol sérico total dos peixes alimentados com fontes de PUFA's ômega-6 (óleos de soja e milho) quanto dos alimentados com o óleo de linhaça (fonte de PUFA ômega-3), obtidos pela autora foram inferiores aos observados em peixes não desafiados por temperatura no presente estudo. Isto talvez se deva aos maiores níveis de óleo utilizados no presente estudo, ao tempo de administração das dietas e ao tamanho dos peixes quando da coleta de sangue para análises.

De forma geral, os peixes que consumiram as rações contendo 6% de óleo de linhaça, rica em ácido linolênico e com a menor relação entre PUFA's ômega-6 e ômega-3, responderam pior ao estímulo pelo frio, já que foi neste tratamento em que houve piora de um maior número de variáveis, como a taxa de hemoglobina, o número de leucócitos, a

concentração de proteína plasmática e o colesterol total, quando comparados os valores médios anteriores e posteriores ao estímulo. Como não foi verificada influência das dietas para peixes não expostos ao frio, não há influência da relação destes ácidos graxos, nos níveis avaliados, sobre os parâmetros hematológicos e lipídeos plasmáticos para a criação em situações de temperatura adequada.

Tabela 4. Parâmetros sanguíneos (n = 6; médias±desvios padrão) de tilápias alimentadas com rações contendo óleos de girassol, linhaça e suas misturas antes e após estímulo pelo frio

Tratamentos	Lípidos Totais (mg/dL)		Triglicérides (mg/dL)		Colesterol Total (mg/dL)		Colesterol-HDL (mg/dL)	
	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após
Basal ¹	531,13±168,19	691,10±205,76	233,67±124,17	178,50±65,30	134,50±29,79	124,00±32,30	47,67±12,14	43,17±10,19
6G ²	830,74±330,16	746,67±195,79	321,67±164,42	212,67±15,91	151,83±57,58	110,00±21,36	54,67±20,25	41,17±13,93
5G:1L	628,25±143,39	897,78±244,08	332,00±188,74	359,83±245,98	112,00±28,16	144,33±59,75	44,17±13,23	40,00±16,80
4G:2L	682,97±201,10	800,00±280,57	287,16±167,30	208,00±151,47	137,17±37,31	118,67±27,85	40,83±19,88	50,17±7,14
3G:3L	756,78±434,82	757,77±147,14	350,00±286,73	238,66±109,36	151,00±56,20	126,17±17,79	43,83±20,14	44,67±4,23
2G:4L	693,87±407,92	666,67±111,55	344,17±292,80	174,67±45,99	138,17±42,98	105,67±27,98	44,67±11,20	38,50±9,95
1G:5L	687,58±208,66	662,22±109,54	290,67±148,51a	160,50±36,82b	136,50±39,32	103,00±15,13	39,67±12,37	39,67±10,27
6L ³	642,88±203,82	657,77±100,04	256,20±73,25	171,67±32,23	139,40±30,16a	95,00±18,83b	57,00±16,80	47,50±7,45
Óleo	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Período	ns	ns	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	ns	ns
CV, %	42,97	25,43	65,14	59,74	30,86	26,48	35,96	24,71

¹Sem Adição de Óleo. ²Percentual de Óleo de girassol. ³Percentual de Óleo de Linhaça.

Médias seguidas de letras minúsculas (distintas nas linhas) são diferentes (P<0,05) pelo teste de Tukey. ns = não significativo.

CONCLUSÕES

Para tilápias do Nilo criadas sob condições ótimas de temperatura todas as dietas estudadas são adequadas para a manutenção do padrão hematológico e de lipídeos séricos indicados como de peixes saudáveis. Rações contendo óleos de girassol e linhaça em que as relações entre ácidos graxos poliinsaturados ômega-6 e ômega-3 sejam muito baixas não são adequadas para tilápias que serão submetidos a baixas temperaturas.

LITERATURA CITADA

- ATWOOD, H.L.; TOMASSO, J.R.; WEEB, K.; GATLIN III, D.M. Low-temperature tolerance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: effects of environmental and dietary factors. **Aquaculture Research**, v.34, p.241-251, 2003.
- ARANA, L.V. **Fundamentos de Aqüicultura**. Editora da UFSC, Florianópolis, SC, 349p., 2004.
- BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; KLEEMANN, K.; HISANO, H.; ROSA, G.J.M. Níveis de Vitamina C e Ferro para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2149-2156, 2002.
- BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; HISANO, H.; FALCON, D.R.; SÁ, M.V.C. Farinha de sangue tostada em dietas práticas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v.26, n.1, p.5-13, 2004.
- BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. **Pond aquaculture quality management**. Kluwer Academic Publishers. Norwell, Massachusetts. 685p., 1998.
- BRETT, M.T.; NAVARRA-MÜLLER, D.C. The Role of Highly Unsaturated Fatty Acids in Aquatic Foodweb Processes. **Freshwater Biology**, v.38, p.483-499, 1997.
- BELL, M.V., HENDERSON, R.J., SARGENT, J.R. The role of polyunsaturated fatty acid in fish. **Comparative Biochemistry Physiology B**, v.83, p.711-719, 1986.
- COLLIER, H.B. 1944. The standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Assist. Journal**, Toronto, v. 50, p. 550-552.
- CHEN, C.-Y.; WOOSTER, G.A.; GETCHELL, R.G.; BOWSER, P.R.; TIMMONS, M.B. Blood chemistry of healthy, nephrocalcinosis-affected and ozone-treated tilapia in a recirculation system, with application of discriminant analysis. **Aquaculture**, v.218, P.89–102, 2003.
- FALCON, D.R.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; VALLE, J.B. Lipídeo e vitamina C em dietas preparatórias de inverno para tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, p.1462-1472, 2007 (supl.).
- FALCON, D.R.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; SOLARTE, W.V.N.; GUIMARÃES, I.G. Leucograma da tilápia do Nilo arraçoada com dietas suplementadas com níveis de vitamina C e lipídeo submetidas a estresse por baixa temperatura. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.3, p.543-551, 2008.

- FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344p.
- FERNANDES JUNIOR, A.C. Colina em rações para a tilápia do Nilo: desempenho produtivo e respostas hematológicas antes e após o estímulo a frio. **Dissertação (Mestrado)**. Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista – UNESP. 45p., 2008.
- FERRARI, J.E.C.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; GONÇALVES, G.S.; HISANO, H.; KLEEMANN, G.K. Níveis de cobre em dietas para a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v.26, n.4, p.429-436, 2004.
- FERREIRA, M.W. Fontes de óleo da dieta na composição do músculo, lipoproteínas plasmáticas, imunidade inata e resistência de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L. 1757). **Tese (DOUTORADO)**. Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Federal de Lavras. 57p., 2008.
- FLETCHER, T.C. Dietary effects on stress and health. p.223-246. in: IWAMA, G.K.; PICKERING, A.D.; SUMPTER, J.P.; SCHRECK, C.B. **Fish stress and health in aquaculture**. Cambridge University Press, 278p. 1997.
- FRINGS C.S.; FENDLEY, T.W.; DUNN, R.T.; QUEEN, C.A. Improved determination of total serum lipids by the sulfo-phosph-vanilin reaction. **Clinical Chemistry**. v.18, p. 673, 1972.
- GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F .P.; HALL, E.; BROSIUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, v.56, n.1, p.35-39.
- HRUBEC, T.C.; CARDINALE, J.L.; SMITH, S.A. Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis* Hybrid). **Veterinary Clinical Pathology**, v.29, n.1, p.7–12, 2000.
- HRUBEC, T.C.; SMITH, S.A. Hematology of Fish. Chapter 174, p.1120-1125. in: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, C.N. **Schalm's Veterinary Hematology**. Blackwell Publishing, Fifth Edition. 1344p., 2006.
- JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 4.ed., Philadelphia: Lea e Febiger, 1986. 1221p.
- JOHNSON, R.A.; WICHERN, D.W. **APPLIED MULTIVARIATE STATISTICAL ANALYSES**, 5 th edition. Prentice-Hall, New Jersey, 767p, 2002.
- LIM, C.E.; WEBSTER, C.D. **Tilapia Biology, Culture, and Nutrition**. Food Products Press. 678p. 2006.

- MARTINS, E.F.; CARPINELLI, A.R. Ácidos Graxos e Secreção de Insulina. Cap.21, p.271-285. *In*: CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYASAKA, C.K.; ARAÚJO FILHO, J.P. **Entendendo a Gordura. Os Ácidos Graxos**. Editora Manole, São Paulo, 1.ed., 580p., 2001.
- MARTINS, M.L.; MIYAZAKI, D.M.Y.; MORAES, F.R.; GHIRALDELLI, L.; ADAMANTE, W.B.; MOURIÑO, J.L.P. Ração suplementada com vitaminas C e E influencia a resposta inflamatória aguda em tilápia do Nilo. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.38, n.1, p.213-218, 2008.
- MAUEL, M.J.; MILLER, D.L.; MERRILL, A.L. Hematologic and Plasma Biochemical Values of Health Hybrid Tilapia (*Oreochromis aureus* x *Oreochromis nilotica*) Mainted in a Recirculating System. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.38, n.3, p.420–424, 2007.
- NOGA, E.J. Fish Leukocyte Responses. Chapter 61, p.433-439. *In*: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, C.N. **Shalm's Veterinary Hematology**. Blackwell Publishing, Fifth Edition. 1344p., 2006.
- KOOLMAN, J.; ROEHM, K.H. **Color Atlas of Biochemistry**. Thieme, Second edition, revised and enlarged. Stuttgart, 467p., 2005.
- POMPÉIA, C. Essencialidade dos Ácidos Graxos. Cap.3., p.25-32. *In*: CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYASAKA, C.K.; ARAÚJO FILHO, J.P. **Entendendo a Gordura. Os Ácidos Graxos**. Editora Manole, São Paulo, 1.ed., 580p., 2001.
- POMPÉIA, C.; CURI, R. Ácidos Graxos e Função dos Leucócitos. Cap.23., p.299-320. *In*: CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYASAKA, C.K.; ARAÚJO FILHO, J.P. **Entendendo a Gordura. Os Ácidos Graxos**. Editora Manole, São Paulo, 1.ed., 580p., 2001.
- QUINTERO PINTO, L.G. Exigências dietárias e disponibilidade de fontes de fósforo para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Tese (Doutorado)**. Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista – UNESP. 82p., 2008.
- RANZINI-PAIVA, M.J.T.; SILVA-SOUZA, A.T. Hematologia de peixes brasileiros. Cap.4, p.89-120. *In*: RANZINI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M. **Sanidade de Organismos Aquáticos**. Ed. Varela, São Paulo, 426p., 2004.
- SÁ, M.V.C.; PEZZATO, L.E.; LIMA, M.M.B.F.; PADILHA, P.M. Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles diets. **Aquaculture**, v.238, p.385–401, 2004.
- SIGNOR, A. Desempenho produtivo e resistência ao estresse pelo frio da tilápia do Nilo alimentada com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco. **Dissertação**

(**Mestrado**). Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP. Universidade Estadual Paulista – UNESP. 103p., 2007.

SIKORSKI, Z.E.; KOLAKOWSKA, A. **Chemical and Functional Properties of Food Lipids**. CRC Press, Boca Raton, Flórida. p.388., 2003.

WINTROBE, M.M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematologica**, Leipzig, v. 51, p.32-49, 1934.

YILDIRIM-AKSOY, M.; LIM, C.; DAVIS, A.D.; SHELBY, R.; KLESIUS, P.H. Influence of dietary lipid sources on the growth performance, immune response and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, to *Streptococcus iniae* Challenge. **Journal of Applied Aquaculture**, v.19, n.2, p.29-49, 2007.

CAPÍTULO IV

IMPLICAÇÕES

IMPLICAÇÕES

Embora o tipo de óleo (fontes de ácidos graxos) da dieta possa exercer influência sobre o desempenho zootécnico dos peixes, o consumo de rações práticas com diferentes relações entre ácidos graxos poliinsaturados ômega-6 e ômega-3, a partir dos óleos de girassol, linhaça e suas misturas, não modificam o desempenho zootécnico das tilápias do Nilo criadas sob condições ótimas.

As relações entre ácidos graxos poliinsaturados ômega-6 e ômega-3 das dietas podem influenciar a saúde dos peixes submetidos a baixas temperaturas, sendo que as tilápias do Nilo que consomem dietas com baixas relações, devido ao aumento dos níveis de ômega-3 e redução dos níveis de ômega-6, são mais susceptíveis ao frio.

As exigências dietéticas em ácidos graxos essenciais, assim como a adequada relação entre os ácidos graxos poliinsaturados das famílias ômega-6 e ômega-3 são de difícil determinação. Isto porque há influência de fatores ambientais, como a temperatura, ou dietéticos, como o percentual de óleo utilizado na dieta, assim como das relações entre os ácidos graxos saturados e insaturados; saturados/insaturados e poliinsaturados; saturados/insaturados e altamente insaturados; poliinsaturados e altamente insaturados.

A indicação de uma adequada relação dietética entre os ácidos graxos poliinsaturados das famílias ômega-6 e ômega-3 é dependente da finalidade desejada, sendo que qualquer das relações utilizadas no presente estudo foi adequada para o máximo desempenho zootécnico, enquanto que as mais baixas resultaram em menor resistência ao frio pela piora do estado geral de saúde dos peixes.