



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**Centro de Aqüicultura da UNESP**



**SUPLEMENTAÇÃO COM SELÊNIO ORGÂNICO NAS DIETAS  
DE TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

**Gabriela Roncada Gomes**  
- Bióloga -

Jaboticabal – SP  
Julho/2008



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**Centro de Aqüicultura da UNESP**



**SUPLEMENTAÇÃO COM SELÊNIO ORGÂNICO NAS DIETAS  
DE TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

Mestranda: Bióloga Gabriela Roncada Gomes

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Yudi Fujimoto

Dissertação de mestrado apresentada  
ao Centro de Aqüicultura da UNESP  
como requisito para a obtenção do  
título de Mestre em Aqüicultura.

Jaboticabal – SP  
Julho/2008

G633s      Gomes, Gabriela Roncada  
Suplementação com Selênio orgânico nas dietas de tilápias do Nilo  
(*Oreochromis niloticus*) / Gabriela Roncada Gomes. - - Jaboticabal,  
2008  
xi, 48 f.: il.; 28 cm

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Centro  
de Aqüicultura, 2008  
Orientador: Rodrigo Yudi Fujimoto  
Banca examinadora: Claudinei da Cruz, Eduardo Makoto Onaka  
Bibliografia

1. Micronutrientes. 2. *Oreochromis niloticus*. 3. selenometionina  
I. Título. II. Jaboticabal – Centro de Aqüicultura.

CDU 639.3.043

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –  
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – UNESP, Campus de Jaboticabal.

*Dedico aos meus pais, Adalberto de Martin Gomes e Márcia Regina Roncada Gomes, por serem meu porto-seguro, alicerce e por toda confiança e amor que em mim depositam.*

*Dedico também ao meu grande amigo Edemilson de Martin Gomes (in memoriam), por todos os momentos inesquecíveis que passei ao seu lado e que ficarão para sempre guardados em minhas melhores lembranças, esteja você onde estiver. Obrigada por tudo Tio Misso!*

*Ofereço aos meus amigos Dr. Claudinei da Cruz e Biol. Natália Sayuri Shiogiri, por tudo que fizeram por mim enquanto estive longe e acima de tudo pela amizade e companheirismo.*

*E ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Rodrigo Yudi Fujimoto, pela persistência e coragem.  
Obrigada!*

## **Agradecimentos**

Antes de mais nada, agradeço a Deus, presente em todos os momentos de minha vida, ao meu lado a cada decisão, a cada vitória, a cada dificuldade, sempre atendendo minhas preces, que sempre foram e sempre serão: coragem e sabedoria.

Agradeço ao meu querido orientador Prof. Dr. Rodrigo Yudi Fujimoto, exemplo de persistência, que mesmo distante esteve sempre presente.

Obrigada ao meu eterno “Chefe”, Prof. Dr. Claudinei da Cruz, companheiro de todas as horas, grande professor e uma das pessoas mais admiráveis que conheci em minha vida. Você é um grande exemplo!

Obrigada de coração Msc. Róberson Sakabe (Kenzinho), Biol. Natália Sayuri Shiogiri (Aike), Msc. Jaqueline Pérola de Souza (Jack), Dr. Nilton Ishikawa (Paraca), Dra. Fabiana Pilarski (Fabi), Dra. Daniela Nomura (Dani), Biol. Lara Wichr Genovez (Larinha) e Msc. Marcelo Pardi de Castro (Bird) por todo apoio e companheirismo durante todo tempo de experimento, avaliações, análises e pela grande amizade que foi construída e fortalecida ao longo destes anos de pós-graduação.

A todos do NEPEAM (Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais em Matologia), ao Prof. Dr. Robinson Antonio Pitelli, por ter me permitido realizar meu experimento no NEPEAM e por tudo que me ensinou. Obrigada a todos os meus amigos Biol. Silvia Patrícia Carraschi (Picoleta), Msc. Matheus Nicolino Peixoto Henares (Picolino), Biol. Paula Ericson Guilherme, Biol. Flávia Regina Lázaro Rezende, Alessandro Antônio Claro de Souza, Sr. Agnaldo de Souza, Bárbara Xavier (Brenda Carla), Patrícia Cubo (Kit), Luis Augusto Visani Luna (Pateta), Antonio Nader Neto (Netão), Agr. Aritana Basile (Vudú) e Agr. Daniel Duarte (Sucolita), que me apoiaram e ajudaram durante o período experimental.

Ao Prof. Dr. Joaquin Gonçalves Machado Neto, por permitir que as análises de qualidade de água fossem realizadas no Laboratório de Ecotoxicologia dos Agrotóxicos e Saúde Ocupacional do Departamento de Fitossanidade da FCAV, e a Msc. Jaqueline Pérola de Souza, por ter realizado as análises.

A Prof. Dra. Márcia Rita Fernandes Machado, por permitir que as análises histopatológicas fossem realizadas no Laboratório de Anatomia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV.

Muito obrigada ao amigo, Dr. Onã da Silva Freddi, pela grande ajuda com a análise estatística.

A Rações FRI-RIBE, nas pessoas de Dr. Flávio Daolio e Dra. Daniela Nomura, pela doação da Selenometionina usada neste experimento e pela análise bromatológica das rações.

Aos funcionários da Fábrica de Ração da FCAV, Sr. Osvaldo, Prof. Sandra e Hélio, pela ajuda na produção das dietas experimentais.

Aos estagiários do LAPOA (Laboratório de Patologia dos Organismos Aquáticos): Alexandre, Clebér e Ricardo, por toda ajuda na captura dos peixes e durante o experimento.

Ao pessoal do Laboratório de Tilapicultura e do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, pelas tilápias doadas para o experimento.

A todos os funcionários do CAUNESP que se tornaram parceiros: Veralice, Michelle, Daniel, Deise, Silvinha, Sr. Mauro, Valdecir, Maurício, Márcio, Júnior, D. Ana e Fátima.

Aos professores das disciplinas cursadas durante minha pós-graduação, por terem contribuído para meu enriquecimento intelectual e profissional.

Ao Prof. Dr. Claudinei da Cruz e Prof. Dr. Eduardo Makoto Onaka, por terem aceitado fazer parte da banca de defesa e por todas as preciosas correções sugeridas. Assim como ao Prof. Dr. Flávio Ruas de Moraes pela participação na banca de qualificação.

Aos meus amigos da Rações VB, nas pessoas de Ricardo Pacheco de Carvalho, Marcelo Pacheco de Carvalho, Marcius Fleury Júnior e Leandro Roncada Gomes, pelo apoio e incentivo.

A minha família, que é simplesmente o que existe de mais bonito na minha vida, minha mãe Márcia, meu pai Adalberto, meu irmão Leandro, minha cunhada Vanessa e minha doce sobrinha Mariáh, obrigada por toda apoio e incentivo. Amo vocês!

Aos meus amigos de sempre: Jaqueline (Jack), Natália (Aike), Camila (CV), Danilo (Iha), Gustavo (Sumo), Maurício (Russo) e Róberson (Kenzinho). Vocês são os melhores presentes que a vida poderia ter me dado. Obrigada por TUDO!

E a todos que de alguma maneira colaboraram para realização deste projeto de pesquisa. Obrigada!

*" Ainda que eu falasse a língua dos homens e dos anjos, e não tivesse amor, seria como o metal que soa ou como o sino que tine.  
E ainda que tivesse o dom da profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda ciência, e ainda que tivesse toda fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse amor, nada seria....  
...Agora, pois, permanecem a fé, a esperança e o amor, estes três, mas o maior destes...é o amor"*

**1 Coríntios 13.**

## Índice

### Efeitos da suplementação com selênio orgânico nas dietas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

<b>Resumo</b> .....	01
<b>Abstract</b> .....	02
<b>1. Introdução</b> .....	03
Objetivos gerais .....	04
Objetivos específicos.....	05
<b>2. Revisão de literatura</b> .....	06
2.1. Aqüicultura .....	06
2.2. Tilápia .....	06
2.3. Selênio .....	08
2.4. Parasitos .....	14
2.5. Hematologia .....	18
<b>3. Material e métodos</b> .....	20
3.1. Material biológico e manejo .....	20
3.2. Delineamento experimental .....	21
3.3. Desempenho produtivo .....	22
3.4. Índice hepatossomático e esplenossomático.....	22
3.5. Análise histopatológica.....	23
3.6. Índice de parasitismo .....	23
3.7. Análises hematológicas .....	24
3.8. Análise da ração .....	25
3.9. Análises da qualidade de água .....	25
3.10. Análise estatística .....	26

<b>4. Resultados e discussão</b> .....	27
4.1. Monitoramento da qualidade de água .....	27
4.2. Análise da ração .....	28
4.3. Desempenho produtivo .....	29
4.4. Consumo de ração .....	30
4.5. Índice hepatossomático e esplenossomático .....	31
4.6. Histopatologia do fígado .....	32
4.7. Índice de parasitismo .....	36
4.8. Análises hematológicas .....	37
<b>5. Conclusão</b> .....	40
<b>6. Referências bibliográficas</b> .....	41

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Fórmula e composição básica das rações .....	21
<b>Tabela 2.</b> Médias e desvio padrão das análises de oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica, amônia total, alcalinidade, clorofila e temperatura da água dos tanques durante o período experimental.....	27
<b>Tabela 3.</b> Quantidade de Se em cada tratamento obtido por espectrofotometria .....	28
<b>Tabela 4.</b> Valores de F; coeficiente de variação (CV) do ganho de peso (GP em g); conversão alimentar aparente (CAA); taxa de crescimento específico (TCE em % dia); e eficiência alimentar de tilápias do Nilo suplementadas com selenometionina (mg Se/kg).....	29
<b>Tabela 5.</b> Valores de F; coeficiente de variação (CV); média geral; e médias para tratamento e período obtidos para variável CR.....	30
<b>Tabela 6.</b> Valores de F; coeficiente de variação (CV); e médias para tempo resultantes da análise de variância das variáveis IHS e IES .....	31
<b>Tabela 7.</b> Valores de F; coeficiente de variação (CV); média geral; e médias para níveis de selênio e tempo resultante da análise de variância da variável IP.....	36
<b>Tabela 8.</b> Valores de F; coeficiente de variação (CV); e médias obtidas na análise da contagem dos eritrócitos (SVE); hematócrito (HCT); taxa de hemoglobina (HGB); volume corpuscular médio (VCM); porcentagem de hemoglobina dentro do total de hematócrito (CHCM) do experimento com suplementação da dieta de tilápias do Nilo com selenometionina.....	39

## Índice de Figuras

- Figura 1.** Fotomicrografia do fígado de tilápia do Nilo suplementada com Selênio orgânico.
- Em A.** Arranjo cordonal dos hepatócitos (traço) e veia central (Ve). 0,0 mg/Kg. H.E. 400x. **Em B.** Desarranjo cordonal dos hepatócitos (estrela). 0,25 mg/kg. H.E. 100x. **Em C.** Estase (seta), desarranjo cordonal dos hepatócitos (estrela). 0,50 mg/kg. H.E. 400x. **Em D.** Aumento do volume dos hepatócitos (V) e veia central (Ve). 1,0 mg/kg. H.E. 400x. **Em E.** Necrose dos hepatócitos (N). 1,5 mg/kg. H.E. 400x. **Em F.** Aumento do glicogênio no interior dos hepatócitos (G) e ducto coletor biliar (DC). 1,5 mg/kg. P.A.S. 400x.....34

**Suplementação com selênio orgânico nas dietas de tilápias do Nilo**  
**(*Oreochromis niloticus*)**

**RESUMO** – O Selênio é um mineral constituinte de uma série de enzimas antioxidantes que atuam protegendo as membranas celulares dos danos causados pelo processo de oxidação. Sua deficiência ou excesso na dieta pode resultar em depressão do crescimento e aumento da taxa de mortalidade. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação da dieta em jovens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com quatro níveis de selenometionina (0,25; 0,50; 1,0; e 1,5 mg Se/kg) e um grupo controle (0,0 mg Se/kg) no desempenho produtivo (ganho de peso, conversão alimentar aparente, taxa de crescimento específico e consumo de ração), nos índices hepatossomático e esplenossomático, na histopatologia do fígado, no índice de parasitismo por monogenea e na hematologia. O consumo de ração aumentou proporcionalmente ao nível de Se nas dietas. Os índices de desempenho produtivo não apresentaram diferenças significativas, no entanto, as concentrações intermediárias (0,25 e 0,50 mg Se/kg) aumentaram o ganho de peso, diminuíram a conversão alimentar e não apresentaram alterações significativas na estrutura morfofuncional do fígado. Não ocorreu diferença significativa para as variáveis hematológicas estudadas e para o índice de parasitismo por monogenea, porém, observou-se que nos níveis de 0,50 e 1,0 mg Se/kg o número de parasitos foi menor em relação às demais concentrações. Assim, pode-se concluir que a melhor suplementação está entre os níveis de 0,25 e 0,50 mg Se/kg de ração.

**Palavras-chave:** micronutrientes, *Oreochromis niloticus*, selenometionina

**Title – Selenium organic diet supplementation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)**

**Abstract** – Selenium is an important micronutrient for animals, essential for the normal life processes. This mineral is a constituent of the enzyme antioxidant glutathione peroxidase, of deiodinase and of thioredoxin reductase. The deficiency or toxic levels in feed can be result in growth depression and mortality. The objective of this study was to evaluate the selenomethionine effects for juveniles Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on the growth performance (weight gain, index of alimentary conversion, specific growth rate, diet consumption and index of alimentary efficiency), hepatossomatic and esplenossomatic index, liver histopathology, parasitism and haematology, submitted to four levels of selenium in feed (0.25, 0.50, 1.0, and 1.5 mg Se/kg diet) and control group (0.0 mg Se/kg). The results did not show difference, however, the levels of 0.25 and 0.50 mg Se/kg improve the growth performances evaluated and did not show liver histopathology damage. No differences were observed in haematological parameters. The total count of monogeneans reduced in the levels of 0.50 and 1.0 mg Se/kg of diet but without differences due the elevated coefficient of variation. In conclusion the ideal supplementation level was between 0.25 and 0.50 mg Se/kg.

**Key Words:** micronutrients, *Oreochromis niloticus*, selenomethionine

## 1. Introdução

A busca por nutrientes que permitam melhorar o aproveitamento de carboidratos, aumentar o efeito poupador de proteína, reduzindo o teor protéico das dietas, diminuir o estresse e aumentar a resistência a doenças é relevante no sentido em que poderia diminuir o custo da produção, sem afetar o desempenho e minimizar o impacto ambiental. No entanto, nem todos os elementos essenciais para nutrição têm sido descritos em peixes, as informações nutricionais encontram-se fragmentadas.

O Selênio (Se) é um mineral com propriedades antioxidantes naturais, constituinte de uma série de enzimas que têm papel fundamental no sistema imunológico e sua deficiência pode causar patologias bioquímicas, estruturais e funcionais.

O Se aumenta a estabilidade oxidativa participando de várias funções fisiológicas como parte integrante das selenoproteínas. As glutathiona-peroxidases (GSH-Px) são as selenoproteínas mais conhecidas, capazes de proteger as membranas celulares dos danos causados pela oxidação, destruindo os peróxidos de hidrogênio e os hidroperóxidos convertendo-os em formas menos reativas.

Outra selenoproteína de grande importância fisiológica é a deiodinase, que converte o hormônio tiroxina (T4) em triiodotironina (T3), forma mais ativa deste hormônio. O Se também é componente da tioredoxina redutase, enzima envolvida na síntese de DNA, na defesa contra o estresse oxidativo e no reparo de proteínas.

As enzimas GSH-Px estão envolvidas em eventos fisiológicos, tais como: diferenciação; transdução de sinal e regulação da produção de citocinas pró-inflamatórias; e regulação da síntese de leucotrienos, tromboxanos e prostaglandinas responsáveis pela produção de reações inflamatórias.

O estresse oxidativo possui importante papel no desenvolvimento de muitas doenças degenerativas e a formação de radicais livres é considerada um mecanismo patológico-bioquímico envolvido na iniciação ou progressão de inúmeras doenças.

O Se auxilia também na proteção contra a toxicidade de metais pesados como o cádmio e o mercúrio. Atuando em conjunto com a vitamina E o Se provoca um efeito aditivo na prevenção da peroxidação dos lipídeos da membrana e torna-se essencial para evitar a distrofia muscular, a diátese exsudativa e auxiliar no controle do “burst respiratório”.

O organismo só é capaz de produzir enzimas antioxidantes quando há um aporte necessário de nutrientes na dieta, o que torna de extrema importância conhecer a concentração necessária destes micronutrientes na dieta dos organismos de criação.

### **Objetivo Geral**

Este estudo teve por objetivo geral avaliar os efeitos da suplementação do selênio orgânico (selenometionina) na dieta de tilápias do Nilo jovens (*Oreochromis niloticus*)

### **Objetivos específicos**

Avaliar o desempenho produtivo e a histopatologia do fígado de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dieta suplementada com quatro tratamentos de selênio orgânico (selenometionina) (0,25; 0,5; 1,0; e 1,5 mg Se/ kg de ração) mais o grupo controle, alimentado com dieta não suplementada.

Avaliar o Índice de Parasitismo (IP) por helmintos monogenéticos branquiais tilápias do Nilo (*O. niloticus*) alimentadas com dieta suplementada com quatro níveis de selênio orgânico (selenometionina) e um grupo controle.

Avaliar o efeito de diferentes concentrações de selenometionina sobre as variáveis hematológicas (hematócrito, contagem total de eritrócitos, taxa de hemoglobina, volume corpuscular médio, porcentagem de hemoglobina dentro do total de hematócrito) de tilápias do Nilo jovens (*O. niloticus*).

## **2. Revisão de Literatura**

### **2.1. Aqüicultura**

A aqüicultura brasileira pode ser considerada como uma atividade econômica importante que gera ganhos significativos para a economia regional e nacional sendo dependente dos ecossistemas onde está inserida, os quais devem permanecer em equilíbrio para possibilitar a manutenção desta atividade (VALENTI et al. 2000).

Segundo o departamento de pesca da FAO, a produção aqüícola mundial no ano de 2005 foi de 48 milhões de toneladas, devendo alcançar 50 milhões de toneladas em 2010. Em 2005 no Brasil, a produção aqüícola foi de 257,8 mil toneladas (FAO, 2005). O Brasil se insere no contexto internacional como um dos países com grande potencial para a piscicultura, por possuir um vasto território e ótimas condições climáticas.

Dentro da aqüicultura, a piscicultura vem se tornando cada vez mais importante como fonte de proteínas para o consumo humano. Tanto na piscicultura extensiva quanto na intensiva verificam-se modificações no ecossistema, que são de pouca expressão, no primeiro caso, e extremamente pronunciadas no segundo. A piscicultura intensiva implica em densidades populacionais muito elevadas e em grande aumento de produtividade quando comparadas com as populações naturais, sendo usada basicamente alimentação artificial (PAVANELLI et al. 2002).

### **2.2. Tilápia**

As tilápias pertencem à família Cichlidae, são nativas da África, Israel e Jordânia e tiveram sua distribuição expandida nos últimos 50 anos. Atualmente se encontram criações comerciais em mais de 100 países. Pelo fato de ser uma espécie apropriada para a piscicultura de subsistência e devido a essa importância na

aqüicultura muitos aspectos da nutrição destas espécies devem ser estudados (LOVSHIN, 1997).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1758) é procedente da Costa do Marfim e foi introduzida no Brasil pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) em Pentecostes (CE), em 1971. É a espécie mais importante de tilápia cultivada no mundo (EL-SAYED et al. 2005). Em 2002 sua produção representou aproximadamente 81% do total de produção de tilápia do mundo (FAO, 2004).

É um peixe de hábitos lentos, se reproduz naturalmente em tanques e viveiros, é rústica e resistente a enfermidades (CASTAGNOLLI, 1992). Possui hábito alimentar onívoro, podendo utilizar tanto o alimento natural (fitoplâncton) como rações comerciais com baixas quantidades de proteínas. Seu melhor desempenho zootécnico é obtido com a temperatura da água entre 26,0 a 28,0°C (CASTAGNOLLI, 1992).

Devido a sua fácil adaptação, a alta qualidade de sua carne e ampla distribuição geográfica, a tilápia tornou-se um produto de interesse industrial com excelente aceitação pelo mercado consumidor, sendo intensamente cultivada na piscicultura mundial e uma das espécies mais indicadas nas regiões tropicais (CASTAGNOLLI, 1992).

A tilápia do Nilo (*O. nilo*) é uma espécie versátil para a piscicultura, pois, adapta-se tanto ao cultivo extensivo, sem qualquer tecnologia empregada, quanto ao sistema de criação de tanques-rede, com rações completas e alta tecnologia de produção. Este último sistema vem crescendo consideravelmente no Brasil e em diversos países onde existem grandes reservatórios de água (KUBTIZA, 2000). Além disso, é apreciada em “pesques-pagues” e pela indústria de filetagem, graças às

qualidades organolépticas e à inexistência de espinhos em “Y” no seu filé (MEURER et al, 2002).

### **2.3. Selênio**

As pesquisas nos países onde a aqüicultura está se desenvolvendo têm incluído também o efeito de determinados nutrientes, como minerais e vitaminas, na resistência a doenças (WATANABE, 1997). BLAZER (1992) observou que as concentrações de nutrientes que promovem resistência e fortalecimento do sistema imunológico em peixes, podem não ser as mesmas que atendem as exigências nutricionais para um rápido crescimento.

Por isso a busca por nutrientes que permitam melhorar o aproveitamento de carboidratos, aumentar o efeito poupador de proteína, reduzindo o teor protéico das dietas, diminuir o estresse e aumentar a resistência a doenças é relevante no sentido em que poderia diminuir o custo da produção, sem afetar o desempenho e minimizar o impacto ambiental (FUJIMOTO, 2004).

A necessidade de muitos nutrientes pode ser mais elevada se considerarmos a imunocompetência e não apenas o ganho de peso e o desenvolvimento e entre esses nutrientes os antioxidantes são especialmente importantes, tendo papel fundamental em questões relacionadas à sanidade (KARADAS e SURAI, 2004). Portanto, é evidente que através da formulação de uma dieta adequada pode-se contribuir para melhorar os mecanismos de defesa dos peixes, aumentando a resistência à doenças, sejam infecciosas ou não.

A escolha dos ingredientes que farão parte desta ração é de vital importância (WATANABE, 1997). Assim, vitaminas e minerais tornam-se importantes nesse

aspecto por atuarem como co-fatores de diversos processos fisiológicos, podendo minimizar os efeitos nocivos do agente estressante (FUJIMOTO, 2004).

Os minerais são constituintes de metaloenzimas que têm papel vital no funcionamento do sistema imunológico e sua deficiência pode causar patologias bioquímicas, estruturais e funcionais que dependem de vários fatores, como a duração e o grau da privação mineral. Ainda assim, pouca atenção tem sido dada a este aspecto relevante da suplementação da dieta de peixes. Muitos minerais além de serem absorvidos na dieta podem também ser absorvidos do ambiente aquático, através das brânquias, dificultando o estudo da suplementação de minerais na dieta (BLAZER, 1992; WATANABE, 1997).

Para compreender as atividades metabólicas destes minerais nas células e nos tecidos é necessário conhecer suas características, funções e concentração necessária, pois são responsáveis pela formação do esqueleto, manutenção do sistema coloidal, regulação do equilíbrio ácido-base e componentes na formação de hormônios e enzimas. Nem todos os elementos essenciais para nutrição têm sido descritos em peixes, as informações nutricionais encontram-se fragmentadas (WATANABE, 1997).

Entre os minerais importantes na dieta estão o Cromo, Cobalto, Manganês, Selênio, Zinco, Iodo, Arsênio e Níquel, dentre estes alguns são minerais quelatados, como o Cromo e o Selênio, essenciais para todos os animais.

O selênio (Se) está associado a proteínas no tecido animal (BURK e HILL, 1993). A deteriorização oxidativa traz perdas nos valores nutricionais e na qualidade da carne. Para aumentar a estabilidade oxidativa da carne antioxidantes, como o Se, são adicionados à dieta dos animais de cultivo, melhorando a qualidade da carne,

tornando-a menos susceptível aos danos causados pela oxidação (DOWNS et al, 2000).

O selênio (Se) é um elemento essencial que participa de várias funções fisiológicas como parte integrante de uma série de selenoproteínas (KARADAS e SURAI, 2004; KOHRLE et al. 2005). As selenoproteínas compreendem pelo menos 20 proteínas eucarióticas e a expressão destas proteínas individuais é caracterizada por sua alta especificidade pelos tecidos. A família da glutathiona peroxidase (GSH-Px) corresponde as selenoproteínas mais bem caracterizadas e o nível de atividade desta enzima no fígado ou no plasma é indicado pela oferta de selênio no organismo. (KARADAS e SURAI, 2004).

A glutathiona peroxidase protege as membranas celulares dos danos causados pela oxidação, destruindo o peróxido de hidrogênio e os hidroperóxidos (WATANABE, 1997), convertendo-os em água e formas alcoólicas de ácidos graxos, prevenindo dessa forma as membranas das células dos danos causados pelo estresse oxidativo (LIN e SHIAU, 2005).

Este mineral também é um constituinte da enzima deiodinase, requerida para a conversão do hormônio tiroxina (T4) em triiodotironina (T3), forma mais ativa deste hormônio (KOHRLE et al. 2005); e um componente da tioredoxina redutase, que está envolvida na síntese de DNA, na defesa contra o estresse oxidativo e no reparo de proteínas (ARNÉR e HOLMGREN, 2000).

O organismo animal só é capaz de sintetizar enzimas antioxidantes quando há um aporte adequado destes nutrientes através da dieta, e a deficiência destes elementos causa estresse oxidativo e dano às moléculas e membranas biológicas. O estresse oxidativo possui um importante papel em muitas doenças degenerativas e a formação de radicais livres é considerada um mecanismo patológico-bioquímico

envolvido na iniciação ou progressão de inúmeras doenças (KARADAS e SURAI, 2004).

Enzimas GSH-Px dependem basicamente da captação de Se e estão envolvidas em eventos fisiológicos como diferenciação; transdução de sinal e regulação da produção de citocinas pró-inflamatórias (URSINI, 2000); e na regulação da síntese de leucotrienos, tromboxanos e prostaglandinas, responsáveis pela modulação de reações inflamatórias (KOHRLER et al. 2000).

A deficiência de Se está associada ao comprometimento tanto da imunidade natural quanto adaptativa (KARADAS e SURAI, 2004). A função fagocitária, proliferação de linfócitos e produção de anticorpos podem ser comprometidas na falta de Se (SURAI, 2002b).

Além disso, o Se compõe o sistema de proteção contra a toxicidade de metais pesados como cádmio e mercúrio e atuando em conjunto com vitamina E provoca um efeito aditivo na prevenção da peroxidação dos lipídeos das membranas, e tornando-se essencial para evitar a distrofia muscular (WATANABE, 1997). A maneira como a presença ou a ausência de Se altera a toxicocinética do mercúrio até agora não é totalmente conhecida (LIN e SHIAU, 2007).

A utilização de Se em combinação com a vitamina E na dieta de salmão do atlântico (*Salmo salar*) preveniu a distrofia muscular (POSTON et al. 1976) e em truta arco-íris (*Salmo gairdneri*) a diátese exsudativa (BELL et al. 1985), que é caracterizada por grave edema devido ao aumento da permeabilidade de capilares em combinação com níveis reduzidos de proteínas séricas (KRISTIANSEN, 1973).

Segundo WATANABE (1997) a deficiência de Se geralmente resulta em depressão do crescimento. Em alevinos de salmão do atlântico (*S. salar*),

alimentados com dieta deficiente em selênio, ocorreu mortalidade que poderia ser prevenida pela administração de uma dieta contendo 0,1 mg Se/kg e 500 UI de vitamina E/kg (POSTON et al. 1976). Na mesma espécie (*S. salar*) alimentada com uma dieta deficiente em Se por 26 semanas, os sinais da deficiência foram letargia, perda do apetite, redução do tônus muscular e mortalidade, sendo que o melhor crescimento foi com um nível de Se de 0,15 mg/kg (POSTON e COMBS, 1979). Em truta arco-íris (*S. gairdneri*) a deficiência de Se causou natação anormal (BELL et al. 1986), degeneração hepática e muscular (HILTON et al. 1980) e nefrocalcinose, degeneração e inflamação dos túbulos renais (HICKS et al. 1984). O nível mínimo exigido de Se para a dieta dos peixes difere de acordo com a espécie estudada, e se encontra entre 0,25 e 0,80 mg/kg (LIN e SHIAU, 2005).

A exigência de Se na dieta foi quantificado para a truta arco-íris (*S. gairdneri*) (0,38 mg de selenito de sódio/kg) (HILTON et al. 1980); para o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) (0,25 mg de selenito de sódio/kg) (GATLIN e WILSON, 1984); para salmão do atlântico (*S. salar*) (0,15 mg de selenito de sódio/kg) (POSTON e COMBS, 1979); e jovens de garoupa (*Epinephelus malabaricus*) (0,8 mg de selenometionina/kg) (LIN e SHIAU, 2005). Em *Pogonichthys macrolepidotus* o ganho de peso foi maior com dietas contendo 26,0 e 57,6 mg Se/kg e menor com 0,4 e 12,6 mg Se/kg (DENG et al. 2007).

O Se orgânico (selenometionina) tem sido estudado por ter maior bioviabilidade do que o Se inorgânico (selenito de sódio), isto foi observado para o salmão do atlântico (*S. salar*) (LORENTZEN et al. 1994) e bagre do canal (*I. punctatus*) (WANG e LOVELL, 1997). O Se inorgânico mais utilizado para suplementação da dieta é o selenito de sódio que pode promover a produção de radicais peróxidos e

causar estresse oxidativo através da reação de redução com glutathiona reduzida (SURAI, 2002a; 2002b).

Os peixes recebem Se pela água e pela dieta, portanto altos níveis de Se (40-130 µg/L) na água são tóxicos para os peixes, usualmente a concentração na água é menor do que 0,1 µg/L. A entrada através das brânquias é muito efetiva e o mineral é armazenado em vários tecidos (WATANABE, 1997). De acordo com BOWIE et al. (1996) este mineral bioacumula e torna-se tóxico em concentrações levemente acima da exigência homeostática.

A toxicidade do Se decorre de que quando em excesso, substitui erroneamente o enxofre, resultando na formação de compostos que impedem a formação de ligações químicas importantes, provocando a formação de enzimas e moléculas protéicas distorcidas e disfuncionais. Assim altera a estrutura tridimensional, prejudicando as funções enzimáticas e os processos bioquímicos normais da célula (ALAIMO et al. 1994; SPALLHOLZ et al. 2004). Em excesso provoca danos às membranas e proteínas devido à formação de formas reativas de oxigênio (SPALLHOLZ et al. 2004). Assim, o Se pode tanto causar estresse oxidativo quanto defender o organismo deste estresse, dependendo da concentração (MILLER et al. 2007).

A dieta é a principal rota de exposição ao Se, causando toxicidade em vertebrados aquáticos (LEMLY, 2002; HAMILTON, 2004). Em fêmeas de *Xyrauchen texanus* a exposição crônica ao Se causou transferência maternal para ovos e embriões, levando ao aumento da lamela branquial, catarata córnea, exoftalmia, alterações patológicas do fígado, rim, coração e ovários e deformidades teratogênicas na coluna, cabeça, boca e nadadeiras (LEMLY, 2002; HAMILTON, 2004). Tashjian et al. (2006) observaram menor atividade natatória e retenção de lipídeos em jovens de

esturjão branco (*Acipenser transmontanus*) expostos a níveis tóxicos de Se na dieta, isto ocorre por que o alto acúmulo de Se em peixes causa estresse e prejudica a retenção de energia.

A depuração é outro aspecto que deve ser levado em conta quanto à toxicidade do Se. A meia-vida de depuração do Se em peixes jovens varia de 19-30 dias (HILTON et al. 1982; BESSER BESSE et al, 1993) e de 30- 60 dias ou mais para outras espécies adultas de peixe (HAMILTON et al, 2005).

Peixes que têm alta acumulação de Se nos tecidos também tem alto IHS (índice hepatossomático) (PYLE et al.2005). Quando em concentração muito elevada, torna-se muito tóxico, tendo efeitos carcinogênicos e teratogênicos (HAMILTON, 2004). A diferença entre a exigência nutricional e os níveis tóxicos é muito pequena para o Se. Para a maioria dos peixes a exigência está entre 0,25-0,70 mg Se/kg da dieta (LIN e SHIAU, 2005).

#### **2.4. Parasitos**

No Brasil com a expansão da piscicultura observa-se um crescente interesse por parte dos criadores no que diz respeito aos prejuízos econômicos causados pela mortalidade dos peixes (MARTINS, 1998a).

A partir do momento em que se retira um animal do seu ambiente natural para confiná-lo a grandes concentrações começam a surgir problemas de ordem nutricional e de doenças infecciosas ou parasitárias, e os peixes não constituem uma exceção (MARTINS, 1998a).

A alta densidade torna-se um fator extremamente importante nas pisciculturas intensivas atingindo níveis extremamente elevados, chegando a cerca de 60 kg/m<sup>3</sup>, constituindo um ambiente favorável a surtos epizooticos, devido à presença de

diferentes organismos patogênicos que em ambientes naturais teriam expressão mínima (PAVANELLI et al. 2002). O uso de substâncias imunostimulantes na dieta representa uma promissora perspectiva como procedimento profilático, pois podem favorecer de alguma forma os mecanismos de defesa (SAKAI, 1999).

A alta densidade aliada a outros fatores como a manipulação inerente ao cultivo, a baixa qualidade da água, as mudanças bruscas de temperatura e uma nutrição desbalanceada, submetem os peixes a um estresse crônico, que se reflete em sua homeostasia. Este conjunto de fatores atuando sobre os sistemas biológicos provoca reações por parte do organismo, tendo como consequência animais enfraquecidos, implicando em uma maior sensibilidade e menor resistência às invasões patogênicas. A resistência do organismo varia de animal para animal dentro de uma população e o aumento dessa resposta tem início a partir da redução do estresse, melhoras na nutrição e manipulação genética do animal (MONTERO et al. 1999; MARTINS, 1998a).

Os parasitos são as maiores causas de infestações severas em peixes cultivados, tendo maior relevância nos trópicos, pelas características climáticas pertinentes à região, que propiciam sua rápida e constante propagação (THATCHER e BRITES-NETO, 1994).

Considera-se que os prejuízos causados pelos parasitos monogenéticos sejam os mais relevantes para a piscicultura brasileira, estando entre as mais importantes para a piscicultura mundial, pois grandes mortalidades já foram verificadas, principalmente em criações intensivas (PAVANELLI et al. 2002). Na região nordeste do Estado de São Paulo, estes parasitos apresentam-se como os mais comuns, com ocorrência de 36,6% em peixes de engorda, no período de 1993 a 1998, causando perdas graves (MARTINS et al. 2002).

Os monogenéticos são ectoparasitas do grupo dos platelmintos e caracterizam-se pela presença de um aparelho de fixação localizado geralmente na parte posterior do corpo, o haptor, formado por uma série de ganchos que são introduzidos no corpo do peixe para a fixação do parasito. Quando adultos os monogenéticos podem medir de 1 milímetro a 3 centímetros, são hermafroditas, normalmente encontram-se parasitando as brânquias dos peixes, no entanto, podem ser encontrados no tegumento, nas nadadeiras e nas cavidades nasais do hospedeiro, possuem alta especificidade e ciclo biológico direto, o que facilita a proliferação e propagação do parasitismo (PAVANELLI et al. 2002; NOGA, 1996).

Os monogenéticos parasitos de peixes de água doce pertencem principalmente a duas grandes famílias: a dos girodactilídeos e a dos dactilogirídeos. Os girodactilídeos são vivíparos e na sua maioria são parasitos de brânquias e da superfície corpórea dos peixes. Os dactilogirídeos são ovíparos, quase sempre encontrados nas brânquias, podendo se alojar nas cavidades nasais, e mais raramente, em outras partes do corpo (PAVANELLI et al. 2002).

O principal sinal clínico observado é a intensa produção de muco e quando as infestações são severas, os indivíduos se esfregam na lateral do tanque e aquários na tentativa de se livrarem do parasito (PAVANELLI et al. 2002).

O prejuízo causado ao hospedeiro está relacionado com a espécie, local de infestação, número de parasitos e com o tipo de alimentação, que na maioria das espécies de monogéticos, é de muco e células epiteliais, mas algumas espécies podem se alimentar de sangue. Os que se encontram nas brânquias provocam freqüentemente hiperplasia celular e hipersecreção de muco, que serão tanto mais graves quanto mais abundantes forem os parasitos (EIRAS, 1994). Nos casos de

secreção excessiva de muco pode ocorrer impermeabilização das brânquias, dificultando a respiração e levando os indivíduos à morte (PAVANELLI et al. 2002).

As lesões branquiais são particularmente as mais importantes, pois as brânquias reagem fortemente à presença de parasitos. Essa reação manifesta-se, frequentemente, por fenômenos de proliferação celular na base das lamelas secundárias. Conseqüentemente, o espaço entre as duas lamelas vai sendo preenchido por células, até que as mesmas deixam eventualmente de estar separadas resultando na síndrome respiratória (THATCHER e BRITES –NETO, 1994).

Quando fixos no tegumento, há lesões de gravidade geralmente pouco acentuadas, podendo verificar-se necrose das células, destruição das escamas e secreção abundante de muco. As lesões provocadas são secundariamente invadidas por fungos e bactérias, o que pode ocasionar conseqüências mais graves para o hospedeiro do que as devido à parasitose propriamente dita (EIRAS, 1994). MARTINS (1998a) relata que pode ocorrer também anorexia, hemorragias cutâneas, emagrecimento e conseqüente morte do animal.

A adição de 200 mg de vitamina C/kg de ração (MARTINS, 1998b), 12 mg de cromo trivalente/kg de ração (FUJIMOTO, 2004) e 100 e 450 mg de DL- $\alpha$  acetato de tocoferila/kg de ração (BELO et al. 2005) para pacu (*Piaractus mesopotamicus*), e a suplementação acima de 500 mg de vitamina C/kg na dieta de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) (FUJIMOTO e CARNEIRO, 2001) promoveram diminuição do número de monogênicos branquiais. Portanto, a escolha dos ingredientes que farão parte desta ração é de vital importância para a manutenção da sanidade destes organismos em cativeiro (WATANABE, 1997).

Assim, fica claro a importância de analisar o resultado da adição de vitaminas e minerais à dieta de espécies de cultivo referente principalmente à diminuição do índice de parasitismo, diminuindo os prejuízos da produção e o impacto ambiental que ocorre devido ao uso de substâncias não legalizadas para a aquicultura e que, portanto, não tem seu efeito tóxico suficientemente conhecido, tanto para os animais de cultivo quanto os animais que fazem parte do ecossistema,

## **2.5. Hematologia**

A análise dos constituintes sanguíneos pode fornecer relevantes informações para o auxílio diagnóstico e prognóstico de condições mórbidas em populações de peixes (TAVARES-DIAS, 2003). A aplicação da hematologia em pesquisa animal é bem aceita e considerada como procedimento de rotina em métodos de diagnósticos (RANZANI-PAIVA e SILVA-SOUZA, 2004).

Nos peixes a composição sanguínea é dependente de fatores fisiológicos e ecológicos tais como o sexo, o estágio de desenvolvimento gonadal, o estresse e as infecções (VIANNA, 2003). Muitas espécies de peixes regulam suas características sanguíneas de acordo com as condições ambientais (VIANNA, 2003), como é o caso dos teleósteos (TAVARES-DIAS, 2003). Consequentemente, o impacto de fatores abióticos como a sazonalidade, a temperatura, o oxigênio dissolvido, o potencial hidrogeniônico, os xenobióticos e a dieta alimentar podem alterar esses parâmetros (MARTINS et al. 2002).

Para assegurar um bom desempenho dos peixes em criações, são necessários conhecimentos sobre as condições morfofisiológicas dos mesmos, tanto para a detecção de doenças como para averiguar o efeito de uma dieta ou de alterações de fatores ambientais (RANZANI-PAIVA e SILVA-SOUZA, 2004).

MARTINS et al. (1995) avaliaram a ação da vitamina C sobre o sistema imunológico de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e não verificaram nenhuma mudança do quadro sanguíneo, porém, a carência desta vitamina compromete o crescimento e aumenta a susceptibilidade à doenças.

FUJIMOTO (2004) suplementou a dieta de pacus (*P. mesopotamicus*) com cromo trivalente e os resultados dos peixes suplementados sempre diferiam do grupo controle.

HILTON e HODSON (1983) adicionaram 0,5 e 1,0 mg de Se/kg de ração em dietas com diferentes níveis de carboidrato para truta arco-íris (*Salmo gairdneri*) e não observaram diferença significativa nos níveis de hemoglobina e hematócrito.

Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostas a concentrações sub-letais de selenito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) (0,4; 0,04; e 0,02 mg  $\text{Se}^{+4}$ /L de água) apresentaram diminuição da taxa de hemoglobina, hematócrito e volume corpuscular médio conforme o aumento da concentração de Se na água (GONÇALVES, 2004).

Em um estudo realizado por LEMLY (2002) o robalo verde (*Lepomis cyanellus*) exposto a concentrações entre 5-10  $\mu\text{g}/\text{L}$  de água teve significativa redução no hematócrito e CHCM.

### **3. Material e Métodos**

Os peixes utilizados neste trabalho foram provenientes do setor de Tilapicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP, Câmpus de Jaboticabal e os experimentos foram realizados no Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais em Matologia da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal e no Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos do Centro de Aqüicultura da Unesp, Câmpus de Jaboticabal. O período experimental foi de setembro a dezembro de 2006.

#### **3.1. Material biológico e manejo**

Neste experimento foram utilizadas 340 tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) jovens, sexualmente revertidas, pesando em média  $70 \pm 22,33$  g. Os peixes foram aclimatados por dez dias em tanques de cimento, com capacidade para 300 litros e foram alimentados com ração comercial isenta de Se, até a saciedade, duas vezes ao dia. Após a aclimação os peixes foram distribuídos casualmente em vinte tanques de cimento com capacidade para 300 litros, sendo 17 animais por caixa, na densidade inicial de  $0,4 \text{ kg/m}^3$ . As caixas foram abastecidas com água de poço artesiano da rede local com vazão de 13,5 L/h e tempo de residência da água nos tanques de aproximadamente 22 horas. A retirada de resíduos foi por meio de sifonamento do fundo dos tanques a cada 48 horas.

### 3.2. Delineamento experimental

Os quatro tratamentos e o grupo controle com quatro repetições foram casualmente distribuídos pelas 20 caixas. Os peixes de cada tratamento e do grupo controle foram alimentados com uma dieta básica (TABELA 1) sendo oferecida três vezes ao dia, até a saciedade, por noventa dias. À dieta dos quatro grupos de peixes suplementados foi adicionado níveis de selênio orgânico (selenometionina) (0,25; 0,50; 1,0; 1,5 mg/kg). O premix mineral utilizado na formulação da ração não continha Se em sua composição. As rações foram armazenadas em freezer com temperatura de 20°C negativos durante os 90 dias de experimento

**Tabela 1.** Fórmula e composição básica das rações

<b>Ingredientes</b>	<b>%</b>
Farelo de Soja	33
Milho moído	18
Farelo de Trigo	15
Farelo de Arroz	9
Farinha de Peixe	16,5
Óleo de Soja	6
Fosfato Bicálcico	1
Premix Mineral (sem Selênio)*	0,5
BHT	0,02
Calcário	0,98
<b>Composição Calculada**</b>	<b>%</b>
Proteína Bruta	27,62
Extrato Etéreo	10,65
Fibra Bruta	7,12
Umidade	11,46
Matéria Mineral	9,2
Cálcio	1,88
Fósforo	1,15

\*Composição do suplemento mineral e vitamínico (nutriente/Kg de premix): Ferro 15000mg, Cobre 5000 mg, Iodo 500 mg, Manganês 17000 mg, Zinco 12000 mg, veículo 1000g, Vitamina A 12000 UI, Vitamina D<sub>3</sub> 1500 UI, Vitamina E 50 mg, Vitamina K 4 mg, Vitamina B<sub>12</sub> 7 mg, Vitamina B<sub>2</sub> 7 mg, ácido Pantotênico 60 mg, ác. Nicotínico 120 mg, cloreto de colina 600 mg, metionina 700 mg, vitamina C 300mg, antioxidante 500 mg, veículo 1000g. Premix isento de selênio. \*\*Composição calculada com base nas análises dos ingredientes segundo A.O.A.C. (1984).

### 3.3 Desempenho produtivo

As avaliações do desempenho produtivo foram realizadas no primeiro e no 90º dias após o início do experimento. Para avaliação de peso os animais foram retirados de cada tanque e anestesiados por banho em solução aquosa de benzocaína (1 g/15 L de água).

O desempenho produtivo foi avaliado pelo ganho de peso ( $GP = \text{peso final} - \text{peso inicial}$ ); conversão alimentar aparente ( $CAA = \text{consumo de ração} / \text{ganho de peso}$ ); taxa de crescimento específico ( $TCE = 100 \times (\ln \text{ peso final} / \text{dias de experimento})$ ) e eficiência alimentar aparente ( $EAA = 1 / CAA$ ).

O consumo de ração foi estimado a cada 30 dias durante os 90 dias de experimento ( $CR = \text{total de ração consumido por 30 dias (g)} / \text{número de peixes no tanque}$ ).

### 3.4. Índice hepatossomático e esplenossomático

O índice hepatossomático (IHS) e o índice esplenossomático (IES) foram avaliados retirando-se três animais de cada tanque no primeiro dia e após 30, 60 e 90 dias. Os animais foram pesados e mortos por aprofundamento no plano anestésico (1,5 g de benzocaína/10 L de água). Em seguida o fígado e baço foram retirados, pesados e então calculados os IHS e IES seguindo as fórmulas: IHS ( $\text{peso fígado/peso do animal} \times 100$ ) e IES ( $\text{peso do baço/peso do animal} \times 100$ ).

### **3.5. Análise histopatológica**

A avaliação histopatológica do fígado foi realizada após 90 de experimento. Para tanto, foram retirados casualmente três animais de cada tratamento e foram mortos por aprofundamento do plano anestésico (1,5 g de benzocaína/10 L de água).

As amostras do fígado dos animais de cada tratamento foram imersas em solução de formaldeído tamponado por 24h e depois transferidas para solução de álcool 70%. Após a fixação, as amostras foram desidratadas em série crescente de etanol/água (v/v), diafanizadas em Xilol e incluídas em Histosec<sup>®</sup> (Merck). A seguir, foi realizada a microtomia em micrótomo automático (Leica, RM-2155), obtendo-se cortes, em seqüência semi-seriada (1 corte/100 µm desprezados), de três a cinco µm de espessura. Os cortes foram corados com Hematoxilina-Eosina e reagidos em PAS/H (ácido periódico de Schiff), segundo as metodologias propostas por BEHMER et al. (1976). As análises histopatológicas foram realizadas em microscópio de luz (Leica – GWIN<sup>®</sup>) no Laboratório de Anatomia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

### **3.6. Índice de parasitismo**

As avaliações de ocorrência de parasitos foram realizadas aos um, 30, 60 e 90 dias de experimento. A cada avaliação foram retirados casualmente três animais de cada tanque e após morte dos animais por aprofundamento do plano anestésico (1,5 g de benzocaína/10L de água) as brânquias foram coletadas, colocadas em frascos contendo solução de formol à 1:4000 e agitados vigorosamente para o desprendimento do parasito. Deixando-se descansar por duas horas e completando-se o volume do recipiente com solução de formol 10%. Posteriormente, as brânquias foram raspadas com auxílio de bisturi para retirada

completa dos parasitos e armazenadas em álcool 70%, segundo recomendações de AMATO et. al. (1991).

Para determinação do índice de parasitismo (IP) foi realizada a contagem do número total de parasitos da família Dactylogyrus, *in totum*, em estereomicroscópio (Coleman), em aumento de quatro vezes. Esta família é reconhecida pela presença de quatro manchas oculares e por ser ovíparo, ou seja, pela presença de ovos (KUBITZA, 2000).

### **3.7. Análises hematológicas**

As avaliações foram realizadas aos um, 30, 60 e 90 dias de experimento. A cada avaliação eram retirados três animais de cada tanque e anestesiados por banho em solução aquosa de benzocaína (1 g/15 L de água).

Para determinação do eritrograma 1,5 mL de sangue foi colhido por punção dos vasos caudais dos peixes com seringas e agulhas limpas, esterilizadas e com anti-coagulante EDTA (10%).

O método do microhematócrito (GOLDENFARB et al. 1971) foi utilizado para determinação do percentual de hematócrito e os valores expressos em percentual médio do volume total de sangue. Com o auxílio do contador automático de células sanguíneas (Modelo CC510, da Celm) foram verificados o SVE (série vermelha – eritrócitos), HCT (hematócrito), HGB (hemoglobina) e o índice hematimétrico volume corpuscular médio (VCM). Posteriormente foi calculada a porcentagem de hemoglobina dentro do total do hematócrito ( $CHCM = Hb \times 100 / HCT$ ).

### **3.8. Análise da ração**

Para quantificação do nível de Se contido em cada tratamento foram realizadas análises de cada dieta experimental, com três repetições de cada dieta, por meio de digestão em água régia a 100°C e determinação em absorção atômica com gerador de hidretos. As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica do Solo e Bioquímica Aplicada do Departamento de Tecnologia da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

### **3.9. Análises de qualidade de água**

Os níveis de oxigênio dissolvido (mg/L), pH, condutividade elétrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) e temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) foram avaliados a cada cinco dias e análise de amônia total ( $\mu\text{g}/\text{L}$ ), alcalinidade e clorofila a cada 15 dias, antes do primeiro arraçoamento ( $\pm 8:00\text{h}$ ).

As análises das variáveis oxigênio dissolvido, pH e condutividade foram realizadas no Laboratório de Ecotoxicologia dos Agrotóxicos e Saúde Ocupacional do Departamento de Fitossanidade da FCAV, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP. Amostras de 150 ml de água de cada tanque foram coletadas e o pH foi mensurado em pHômetro Analion<sup>®</sup>, Mod. PM 602 e a condutividade elétrica e o oxigênio dissolvido em oxímetro WTW<sup>®</sup>, Mod. 315i. A temperatura foi mensurada com termômetro comum de mercúrio.

As análises de alcalinidade, amônia total e clorofila foram realizadas no Laboratório Central do Centro de Aqüicultura da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP.

Para a análise de amônia total amostras de água (50 ml) de cada tanque eram coletadas. As análises foram realizadas segundo o método de KOROLEF (1976). As amostras foram lidas em espectrofotômetro (ODYSSEY –HACH- DR/2500).

Para a análise de alcalinidade foram coletados 100 ml da água dos tanques, transferidos para erlenmeyer e adicionadas quatro gotas de fenolftaleína. Em seguida realizou-se titulação com uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,02N, até desaparecimento da coloração rosa. Foram então adicionadas quatro gotas de alaranjado de metila e continuou-se a titulação até transformação da cor laranja em salmão. O volume gasto da solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,02N foi anotado e a alcalinidade foi calculada segundo a fórmula abaixo:

$$AT(\text{mg/L}) = \frac{\text{ml do titulante} \times \text{normalidade} \times 1000 \times 100}{\text{ml da amostra}}$$

100 = peso atômico do CaCO<sub>3</sub>

Para realização da análise de clorofila foi seguida a metodologia de MARKER, NUSCH, RAI e RIEMAN (1980) e SARTORY e GROBBELLAR (1984).

As amostras foram lidas em cubetas de 1 cm nos comprimentos de onda de 665 e 750 nm em espectrofotômetro (ODYSSEY –HACH- DR/2500).

### **3.10. Análise Estatística**

A análise estatística dos resultados obtidos nesse experimento foi realizada utilizando-se o programa estatístico Sisvar. Os dados foram submetidos a teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e a análise de variância (ANOVA), sendo F significativo foi realizado o teste de Tukey (5% de probabilidade) para comparação das médias.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Monitoramento da qualidade de água

Durante o período experimental o oxigênio dissolvido variou de 2,9 a 4,6 mg/L; o pH de 7,4 a 7,8; a condutividade elétrica de 183,4 a 201,8  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ; a amônia total de 28,5 a 71,9  $\mu\text{g}/\text{L}$ ; a alcalinidade de 187,40 a 197,55 mg/L; a clorofila de 2,34 a 7,67  $\mu\text{g}/\text{L}$ ; e a temperatura de 26,5 a 28,3  $^{\circ}\text{C}$ . Estes valores estão dentro da faixa de conforto desta espécie (CASTAGNOLLI e CYRINO, 1986) e para piscicultura (ESTEVES, 1998) (TABELA 2).

**Tabela 2.** Médias e desvio padrão das análises de oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica, amônia total, alcalinidade, clorofila e temperatura da água dos tanques durante o período experimental.

	1 dia	30 dias	60 dias	90 dias
<b>Oxigênio dissolvido (mg/L)</b>	4,3 $\pm$ 0,29	4,6 $\pm$ 1,40	3,3 $\pm$ 0,50	2,9 $\pm$ 0,40
<b>pH</b>	7,78 $\pm$ 0,19	7,74 $\pm$ 0,31	7,49 $\pm$ 0,12	7,40 $\pm$ 0,12
<b>Condutividade (<math>\mu\text{S}/\text{cm}</math>)</b>	201,80 $\pm$ 2,64	183,4 $\pm$ 2,90	189,50 $\pm$ 8,70	189,20 $\pm$ 2,10
<b>Amônia (<math>\mu\text{g}/\text{L}</math>)</b>	71,89 $\pm$ 25,72	53,29 $\pm$ 123,12	28,50 $\pm$ 1,30	62,49 $\pm$ 4,65
<b>Alcalinidade (mg/L)</b>	187,40 $\pm$ 4,26	190,38 $\pm$ 3,78	197,55 $\pm$ 1,20	193,30 $\pm$ 1,41
<b>Clorofila (<math>\mu\text{g}/\text{L}</math>)</b>	2,34 $\pm$ 2,29	7,32 $\pm$ 1,40	7,67 $\pm$ 3,47	6,54 $\pm$ 0,22
<b>Temperatura (<math>^{\circ}\text{C}</math>)</b>	27,20 $\pm$ 0,70	27,10 $\pm$ 0,60	27,20 $\pm$ 0,40	27,70 $\pm$ 0,60

De acordo com EL-SAYED e KAWANNA (2004), as tilápias toleram amplas variações de temperatura, oxigênio dissolvido e pH. Entretanto, a manutenção das condições ambientais dentro da faixa de conforto para esta espécie é de fundamental importância para o sucesso da tilapicultura (MUIR et al. 2000).

A diminuição da concentração do oxigênio dissolvido provavelmente decorre do aumento do ganho de peso dos animais e conseqüente aumento da taxa de respiração. O aumento da quantidade de clorofila ao longo dos 90 dias também pode ter influenciado a diminuição do oxigênio dissolvido, por que as coletas foram

realizadas pela manhã quando a concentração de oxigênio dissolvido é menor no ambiente aquático por causa da respiração noturna do fitoplâncton.

#### 4.2. Análise da ração

Os resultados da análise da ração dos cinco tratamentos contendo diferentes níveis de selenometionina (0,25; 0,50; 1,0; 1,5 mg Se/kg de ração) e do grupo controle (0,0 mg Se/kg de ração) estão expressos na Tabela 3.

**Tabela 3.** Quantidade de Se em cada tratamento obtido por espectrofotometria.

Nível de Se*	0,0	0,25	0,50	1,0	1,50
Quantidade encontrada*	0,11±0,003**	0,23±0,001**	0,59±0,008**	1,07±0,02**	1,59±0,03**

\* Resultados expressos em mg/kg de dieta; \*\* Média das três repetições de cada dieta experimental ± Desvio Padrão

Os resultados das análises das cinco dietas experimentais condizem com a quantidade de selenometionina adicionada à dieta experimental. A presença de Se na dieta do grupo controle se deve ao fato dos vegetais serem fonte de Se, sendo este proveniente da matéria-prima vegetal que constituía a dieta.

### 4.3. Desempenho produtivo

Para as variáveis de desempenho produtivo analisados não ocorreu diferença significativa para GP, CAA, TCE e EAA (TABELA 04).

**Tabela 4.** Valores de F, coeficiente de variação (CV) do ganho de peso (GP em g); conversão alimentar aparente (CAA); taxa de crescimento específico (TCE em %/dia) e eficiência alimentar de tilápias do Nilo suplementadas com selenometionina (mg Se/kg).

Valores de F	GP	CAA	TCE	EA
Níveis de selênio (Se)	0,796	0,714	0,299	0,446
Pr>Fc	0,5461ns	0,5955ns	0,8739ns	0,7739ns
Média Geral	180,231	1,724	1,401	74,50
CV (%)	26,11	33,23	20,89	25,29
<b>Valores médios</b>				
Níveis de Se (mg/kg)				
0,00	157,99	2,0675	1,2825	85,3350
0,25	197,105	1,5425	1,4600	72,0650
0,50	186,1325	1,5700	1,4250	72,3025
1,00	158,1850	1,8925	1,3600	73,7350
1,50	201,7425	1,5475	1,4775	69,0725

Fc = valor de F calculado; Pr = probabilidade de se obter um valor de  $F \geq F_c$ . ns: não significativo.

Esses resultados diferem dos encontrados por HILTON et al. (1980) em truta arco-íris (*Salmo gairdneri*); GATLIN e WILSON (1984) em bagre do canal (*Ictalurus punctatus*); LIN e SHIAU (2005) em garoupas jovens (*Epinephelus malabaricus*); e POSTON e COMBS (1979) em salmão do atlântico (*Salmo salar*). Porém, no tratamento 1,5 mg Se/kg de ração o GP foi maior e a CAA foi menor, o que pode demonstrar melhora no aproveitamento da dieta. E no grupo controle ocorreu menor GP e o maior CAA, sugerindo que a ausência de Se na dieta pode vir a comprometer o desempenho produtivo em tilápias do Nilo (*O. niloticus*).

Os valores médios dos níveis intermediários de suplementação (0,25 e 0,50 mg Se/kg de ração) apresentaram valores muito próximos ao maior nível de suplementação (1,5 mg Se/kg).

#### 4.4. Consumo de ração

O CR apresentou diferença significativa entre os tratamentos e no decorrer dos 90 dias de experimento, sendo maior nos primeiros 30 dias e na última avaliação (90 dias) e menor aos 60 dias. Esta variável também diferiu entre os tratamentos, o aumento no CR foi proporcional ao aumento do nível de Se na ração (TABELA 5).

**Tabela 5.** Valores de F; coeficiente de variação (CV); média geral; e médias para tratamento e período obtidos para variável CR.

	Níveis de Se (Se)	Períodos (Pr)	Se x Pr
<b>Fc</b>	4,26	90,69	3,497
<b>Pr &gt; Fc</b>	0,038*	0,000**	0,004**
<b>CV (%)</b>	8,2		
<b>Média Geral (g/peixe)</b>	96,06		
<b>Médias:</b>			
Níveis de Se (mg/kg)	Períodos (dias)		
<b>0,0</b>	94,01	<b>30</b>	99,64
<b>0,25</b>	91,25	<b>60</b>	85,85
<b>0,5</b>	94,80	<b>90</b>	102,70
<b>1,0</b>	96,51		
<b>1,5</b>	103,74		

Fc = valor de F calculado; Pr = probabilidade de se obter um valor de  $F \geq Fc$ . \* significativo a 5% de probabilidade; \*\* significativo a 1% de probabilidade..

Na segunda avaliação (60 dias) o CR pode ter diminuído devido à queda da concentração de oxigênio dissolvido da água dos tanques que ocorreu neste período.

Na terceira avaliação (90 dias) o CR aumentou devido ao aumento no peso dos animais e conseqüente aumento na necessidade de alimento para garantir o equilíbrio e o aporte necessário de energia e proteína para manutenção e crescimento, tendo os organismos se adaptado à menor concentração de oxigênio dissolvido devido à capacidade que esta espécie tem de tolerar amplas variações na concentração de oxigênio dissolvido (EL-SAYED e KAWANNA, 2004)

#### 4.5. Índices Hepatosomático e Esplenossomático

O índice hepatossomático (IHS) não diferiu entre os tratamentos, porém diferiu entre os períodos de avaliação. O mesmo ocorreu com o índice esplenossomático (IES) (TABELA 6).

**Tabela 6.** Valores de F; coeficiente de variação (CV); e médias para tempo resultantes da análise de variância das variáveis IHS e IES.

	IHS		IES	
	Fc	Pr>Fc	Fc	Pr>Fc
Níveis de Se (Se)	0,89	0,499ns	1,41	0,289ns
Períodos (Pr)	4,517	0,0072**	70,95	0,0000**
Se x Pr	0,73	0,7151ns	1,52	0,1501ns
CV (%)	20,68		30,39	
Médias para tempo (dias)	1	0,015896 ab	1	0,001074 c
	30	0,018167 a	30	0,002747 a
	60	0,015092 b	60	0,002109 b
	90	0,01623 ab	90	0,001314 c

Fc = valor de F calculado; Pr = probabilidade de se obter um valor de  $F \geq Fc$ . (ns): não significativo; \*\* significativo a 1% de probabilidade. Médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de TUKEY a 5% de probabilidade.

Após 30 dias de experimento o IHS e o IES aumentaram em relação à avaliação realizada no primeiro dia de experimento. Este aumento deve ter ocorrido como resposta ao CR elevado, possibilitando o aumento no metabolismo dos nutrientes.

Na terceira avaliação (60 dias) o IHS diminuiu, voltando a igualar-se à primeira avaliação até o final dos 90 dias de experimento. Segundo PYLE et al (2005) peixes com alta acumulação de Se nos tecidos também tem alto IHS. Portanto, pode-se inferir esse aumento do IHS logo na segunda avaliação (30 dias) tanto ao aumento do CR e conseqüente ganho de peso quanto ao acúmulo de Se nos tecidos.

O IES foi maior na segunda e terceira avaliações, igualando-se à primeira ao final do experimento, essa diminuição pode ser decorrente do ganho de peso nos últimos 30 dias de experimentos (90 dias). Este menor valor do IES na primeira

avaliação pode ser decorrente da condição de estresse a que os peixes foram submetidos na transferência dos tanques de aclimatação para os tanques experimentais, como consequência do estresse o animal contrai o baço, resultando em menor IES.

Portanto, esse aumento do peso do fígado e baço em relação ao peso corpóreo nos primeiros 30 dias de experimento pode ser decorrente do aumento do metabolismo devido ao aumento do CR, já a diminuição do IHS e IES pode ser decorrente do aumento do ganho de peso ao longo do experimento, mesmo sem diferença significativa.

#### **4.6. Histopatologia do fígado**

Histologicamente, a tilápia do Nilo (*O. niloticus*) alimentada com 0,0 mg de selênio/kg apresentou os hepatócitos organizados em arranjo cordonal (Figura 1A). Estas células apresentaram núcleos deslocados para a periferia da célula e citoplasma claro, com a presença de vacúolos, principalmente, nas células localizadas mais próximas às veias centrais (FIGURA 1A). Na reação para a detecção de glicogênio estes vacúolos não exibiram reação (PAS negativo), ou seja, não estavam preenchidos por grânulos de glicogênio. No interior do sinusóides havia estase sangüínea. Entre os capilares sinusóides havia hepatopâncreas.

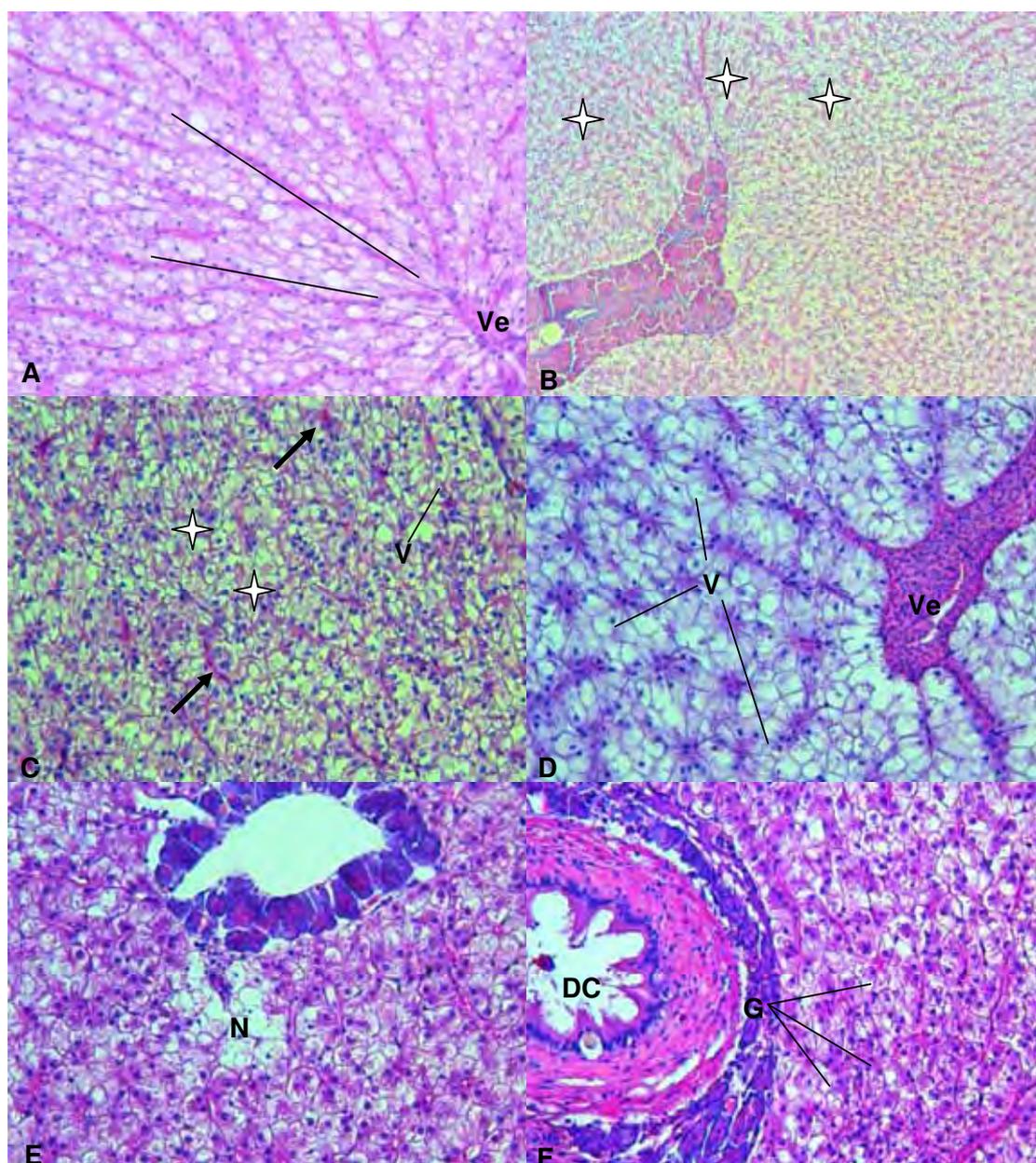
No tratamento com 0,25 mg Se/kg de ração ocorreu desarranjo da organização cordonal dos hepatócitos (FIGURA 1B) e ausência de vacúolos, em algumas regiões. Nesse tratamento não ocorreu alteração no hepatopâncreas. As demais características foram similares ao descrito no tratamento com 0,0 mg/kg.

No tratamento com 0,5 mg Se/kg de ração ocorreu desarranjo da organização cordonal em algumas regiões, aumento da vacuolização nos hepatócitos e aumento

da estase (FIGURA 1C). Neste tratamento também não ocorreu deposição de grânulos de glicogênio, fato semelhante aos anteriores. Para o robalo verde (*Lepomis cyanellus*) exposto a Se (10 µg Se/L) na água também ocorreu aumento da vacuolização dos hepatócitos ao redor das veias centrais e aumento do volume dos vasos (LEMLY, 2002). O aumento da vacuolização pode estar relacionado com o depósito ou metabolismo de selênio no fígado.

No tratamento com 1,0 e 1,5 mg Se/kg de ração ocorreu aumento do volume dos hepatócitos (hipertrofia) (FIGURA 1D) e os núcleos com diminuição de tamanho estavam deslocado para a periferia da célula. No tratamento com 1,5 mg Se/kg de ração havia focos de necrose nos hepatócitos (FIGURA 1E) e presença de grânulos de glicogênio (FIGURA 1F) quando comparado aos tratamentos anteriores. Em truta arco-íris (*S. gairdneri*) o excesso de glicogênio no fígado, afeta a função de detoxificação, diminuindo a taxa de eliminação de Se (HILTON e HODSON, 1983). Se fato semelhante tiver acontecido no fígado das tilápias do Nilo (*O. niloticus*) o acúmulo de glicogênio pode ter prejudicado a eliminação de Se pelo fígado, levando ao aparecimento de focos de necrose.

Nos estudos realizados por TEH et al. (2004) e por TASHJIAN et al. (2006) com o aumento do nível de Se na dieta o acúmulo de glicogênio no fígado diminuía, ao contrário do que ocorreu no presente estudo, onde o nível de glicogênio aumentou na maior concentração de Se (1,5 mg/kg). Espécies diferentes reagem de diferentes maneiras no que diz respeito à toxicidade, apresentando níveis de tolerância, repostas e adaptações que lhe são intrínsecas. Além disso, a idade, tamanho e estado sanitário dos indivíduos também afetam a toxicidade do componente empregado (YOUNG, 2000).



**Figura 1.** Fotomicrografia do fígado de tilápia do Nilo suplementada com Selênio orgânico. **Em A.** Arranjo cordonal dos hepatócitos (traço) e veia central (Ve). 0,0 mg/Kg. H.E. 400x. **Em B.** Desarranjo cordonal dos hepatócitos (estrela). 0,25 mg/kg. H.E. 100x. **Em C.** Estase (seta), desarranjo cordonal dos hepatócitos (estrela). 0,50 mg/kg. H.E. 400x. **Em D.** Aumento do volume dos hepatócitos (V) e veia central (Ve). 1,0 mg/kg. H.E. 400x. **Em E.** Necrose dos hepatócitos (N). 1,5 mg/kg. H.E. 400x. **Em F.** Aumento do glicogênio no interior dos hepatócitos (G) e ducto coletor biliar (DC). 1,5 mg/kg. P.A.S. 400x.

Para o esturjão branco (*Acipenser transmontanus*) com 41,7 mg de Se/kg de dieta ocorreu aumento do volume celular e surgiram focos de necrose (TASHJIAN et al. 2006).

As concentrações de Se utilizadas neste estudo (0,0; 0,25; 0,5; 1,0; e 1,5 mg de selenometionina/kg de dieta) foram similares as menores concentrações utilizadas por TEH et al. (2004) (0,4; 0,7; 1,4; 2,7; 6,6; 12,6; 26,0; e 57,6 mg de selenometionina/kg de dieta) para jovens de *Pogonichthys macrolepidotus* sem nenhum efeito histopatológico. Os efeitos surgiram apenas quando a concentração foi superior ou igual a 6,6 mg Se/kg de dieta.

#### 4.7. Índice de parasitismo

O resultado da análise estatística do Índice de Parasitismo (IP) não apresentou diferença significativa entre os diferentes níveis de Se ( $P > 0,005$ ). Porém, ocorreu diferença significativa entre os períodos (TABELA 7).

**Tabela 7.** Valores de F; coeficiente de variação (CV); média geral; e médias para níveis de selênio e tempo resultante da análise de variância da variável IP.

Valores de F	Níveis de Se (Se)	Períodos (Pr)	Se x Pr
<b>Fc</b>	0,711	5,67	0,533
<b>Pr&gt;Fc</b>	0,6 ns	0,0021**	0,8826 ns
<b>CV (%)</b>	120		
<b>Média Geral</b>	93,74		
<b>Médias para:</b>			
<b>Níveis de Se: 0,0 mg/kg</b>	115,31	<b>Período: 1 dia</b>	24,8 b
<b>0,25 mg/kg</b>	110,88	<b>30 dias</b>	84,4 a
<b>0,50 mg/kg</b>	67,56	<b>60 dias</b>	73,5 a
<b>1,00 mg/kg</b>	68,38	<b>90 dias</b>	192,3 a
<b>1,50 mg/kg</b>	106,56		

Fc = valor de F calculado; Pr = probabilidade de se obter um valor de  $F \geq Fc$ . (ns): não significativo; \*\* significativo a 1% de probabilidade. Médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de TUKEY a 5% de probabilidade.

Nos tratamentos 0,5 e 1,0 mg Se/kg o IP foi menor em relação às demais concentrações, o IP manteve-se controlado, porém, sem diferença significativa ( $p > 0,05$ ) (TABELA 7), o fato da diferença não ter sido significativa provavelmente decorre do alto coeficiente de variação.

Os níveis de 0,5 e 1,0 mg Se/kg de ração podem ter favorecido o controle deste monogênico em tilápias do Nilo (*O. niloticus*). A concentração de oxigênio dissolvido diminuiu ao longo dos 90 dias de experimento e ocorreu aumento na concentração de amônia na última avaliação, diminuindo a qualidade da água dos tanques (TABELA 2) e mesmo assim, na última avaliação (90 dias) o número de parasitos destas concentrações não aumentou como nas demais.

Outros minerais e vitaminas também controlaram o IP em peixes, como a adição de 100 e 450 mg de DL- $\alpha$  acetato de tocoferila /kg (BELO et al. 2005), de 12 mg de cromo/kg (FUJIMOTO, 2004) e 200 mg de vitamina C /kg (MARTINS, 1998b) para pacus (*P. mesopotamicus*), e adição de 500 mg de vitamina C/kg para pintados (*P. coruscans*) (FUJIMOTO e CARNEIRO, 2001).

#### **4.8 Análises hematológicas**

Os valores de F, coeficiente de variação, e médias obtidas na análise de variância da contagem de eritrócitos (SVE), hematócrito (HCT), hemoglobina (HGB), volume corpuscular médio (VCM), porcentagem de hemoglobina (CHCM), de jovens de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) dos diferentes grupos estão expressos na Tabela 8.

Para SVE não houve diferença significativa entre os tratamentos. O número de células vermelhas no sangue variou ao longo dos 90 dias de experimento, sendo diferente para cada o nível de selenometionina, parecendo não ocorrer correlação com a concentração do mineral na dieta. O HCT e o VCM também não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, como em trutas arco-íris (*S. gairdneri*) suplementadas com Se (HILTON e HODSON, 1983), em pacus (*P. mesopotamicus*) suplementados com cromo trivalente (FUJIMOTO, 2004) e vitamina C (MARTINS et al. 1995).

Para tilápias do Nilo (*O. niloticus*) expostas a concentrações sub-letais de selenito de sódio ocorreu diminuição ( $p < 0,05$ ) do HCT e do VCM conforme o aumento da concentração de Se na água (GONÇALVES, 2004). Neste estudo o HCT diminuiu ao longo do tempo ( $p < 0,05$ ), porém entre as diferentes concentrações não ocorreu diferença significativa ( $p > 0,05$ ).

A taxa de HGB não apresentou diferença significativa para tratamento ou para período ( $p > 0,05$ ), não foram verificadas respostas padronizadas ou relacionadas ao aumento do nível de selenometionina, o mesmo aconteceu para truta arco-íris (*S. gairdineri*) ( $p > 0,05$ ) (HILTON e HODSON, 1983). GONÇALVES (2004) observou diminuição na taxa de HGB em tilápias do Nilo (*O. niloticus*) conforme o aumento da concentração de selenito de sódio na água.

O índice CHCM apresentou diferença significativa para período, aumentando nos primeiros 30 dias e mantendo-se mais elevado que na avaliação basal até o final dos 90 dias de experimento, este aumento está relacionado ao aumento da taxa de HGB e à diminuição do HCT ( $p < 0,05$ ). Num estudo realizado por LEMLY (2002) houve diminuição do CHCM conforme o aumento da concentração de Se no organismo do robalo verde (*L. cyanellus*) diferentemente do encontrado no presente trabalho.

**Tabela 8.** Valores de F; coeficiente de variação (CV); e médias obtidas na análise da contagem dos eritrócitos (SVE); hematócrito (HCT); taxa de hemoglobina (HGB); volume corpuscular médio (VCM); porcentagem de hemoglobina dentro do total de hematócrito (CHCM) do experimento com suplementação da dieta de tilápias do Nilo com selenometionina.

Estatística		Variáveis				
Valores de F	SVE 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	HCT %	HGB g/dL	VCM fL	CHCM g/dL	
<b>Níveis de Se (Se)</b>	0,960ns	0,891ns	0,462ns	0,660ns	0,925ns	
<b>Período (Pe)</b>	0,014*	0,000**	0,540ns	0,000**	0,000**	
<b>Se x Pe</b>	0,055ns	0,461ns	0,684ns	0,741ns	0,311ns	
<b>CV (%)</b>	10,02	20,3	9,12	13,24	16,61	
<b>Médias Se: 0,0mg/kg</b>		2,4854	45,2750	13,0416	183,275	30,2160
	<b>0,25 mg/kg</b>	2,5128	43,9155	13,0083	176,472	30,2661
	<b>0,50 mg/kg</b>	2,5126	43,9156	12,8343	176,503	30,6978
	<b>1,0 mg/kg</b>	2,5535	44,6041	13,6041	178,110	31,8539
	<b>1,5 mg/kg</b>	2,5190	46,7541	13,2417	187,002	30,9911
<b>Médias Pe: 1 dia</b>		2,3890 b	54,001 a	12,7483	229,353 a	24,4233 c
	<b>30 dias</b>	2,5427 ab	37,141 b	13,2000	146,663 d	36,7478 a
	<b>60 dias</b>	2,4779 ab	40,852 b	13,1525	165,160 c	33,4536 a
	<b>90 dias</b>	2,6571 a	47,575 ab	13,4833	179,913 b	29,1554 b

\*significativa a 5% de probabilidade; \*\* significativa a 1% de probabilidade.

Médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de TUKEY a 5% de probabilidade.

## 5. Conclusão

Deste estudo com tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) suplementadas com diferentes níveis de selênio orgânico (selenometionina) podemos concluir que:

Não ocorreu diferença significativa quanto ao desempenho produtivo, porém na maior concentração (1,5 mg de Se/kg) a selenometionina aparentou aumentar o GP e diminuir a CAA nesta espécie;

Histologicamente, o fígado apresenta focos de necrose no nível de 1,5 mg de Se/kg, com conseqüente prejuízo das funções hepáticas. A inclusão de 0,25 e 0,50 mg de Se/kg não provocou alterações significativas na estrutura morfo-funcional do fígado

Não ocorreu diferença significativa na observação dos resultados do índice de parasitismo em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), porém nas concentrações de 0,50 e 1,0 mg Se/kg de ração, os valores permanecem mais baixo no final dos 90 dias de experimento quando comparado a 0,0; 0,25; e 1,5 mg Se/kg de ração.

A análise das variáveis hematológicas de jovens de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com alimentação suplementada com diferentes níveis de selenometionina apresenta oscilações nos resultados, não se verificando respostas padronizadas conforme o aumento da suplementação da dieta.

Com base nestes resultados, o melhor nível de suplementação da dieta de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com selenometionina está entre 0,25 e 0,50 mg/kg de dieta.

## 6. Referências bibliográficas

- ALAIMO, J.; OGLE, R.S.; KNIGHT, A.W.; Selenium uptake by larval *Chironomus decorus* from a *Ruppia maritima* – based benthic detrital substrate. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v.27, p.441-448, 1994.
- AMATO, J.R.F.; BOEGER, W.A. AMATO, S.B. Protocolos para laboratórios – *Coleta e processamento de parasitas e pescados* 1<sup>a</sup> Ed. Imprensa Universitária, UFRJ, Rio de Janeiro, 81p, 1991.
- ARNÉR, E.S.J.; HOLMGREN, A.; Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. **Eur. J. Biochem.**, v. 267, p. 6102–6109, 2000.
- BELL, J.G.; PIRIE, B.J.S.; ADRON, J.W.; COWEY, C.B. Some effects of selenium deficiency on glutathione peroxidase (*EC 1.11.1.9*) activity and tissue pathology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Br. J. Nutr.** v.55, p. 305–311, 1986.
- BELL, J.G., COWEY, C.B., ADRON, J.W. SHANKS, A.M., Some effects of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Br. J. Nutr.**, v. 53, p. 149-157, 1985.
- BELO, M.A.A.; FENERICK-JUNIOR, J.; SOARES, V.E.; MORAES, F.R. Suplementação com DL- $\alpha$  acetato de tocoferila e parasitismo por *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) em *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae). **Acta Scientiarum**, v.27, n.1, p.73-79, 2005.
- BESSER BESSE, J.M.; CANFIELD, T.J.; LA POINT, T.W. Bioaccumulation of organic and inorganic selenium in a laboratory food chain. **Environ. Toxicol. Chem.**, v.12, p.57-72, 1993.
- BLAZER, V.S., Nutrition and disease resistance in fish. **Annual Review of Fish Diseases**, p.309-323, 1992.

BOWIE, G.L.; SANDERS, J.G.; RIEDEL, G.F.; GILMOUR, C.C.; BREITBURG, D.L.; CUTTER, G.A.; PORCELLA, D.B.; Assessing selenium cycling and accumulation in aquatic ecosystems. **Water Air Soil Poll.**, v.90, p. 93–104, 1996.

BURK, R.F.; HILL, K.E. Regulation of selenoproteins. **Annu. Rev. Nutr.** v. 13, p. 65–81, 1993.

CASTAGNOLLI, N. *Piscicultura de água doce*. Jaboticabal: FUNEP, 189pp, 1992.

CASTAGNOLLI, N.; CYRINO, J.E. *Piscicultura nos trópicos*. São Paulo: Manole, 1986, 152p.

DENG, D.F.; HUNG, S.S.O.; TEH, S.J. Selenium depuration: Residual effects of dietary selenium on Sacramento splittail (*Pogonichthys macrolepidotus*). **Sci. Total Environ.**, v.377, p.224-232, 2007.

DOWNS, K.M.; HESS, J.B.; BILGILI, S.F. Selenium source effect on broiler carcass characteristics, meat quality and drip loss. **J. Appl. Anim. Res.** v.18, p.61–72, 2000.

EIRAS, J.C. *Elementos de ictiologia*. Ed Fundação Eng. Antonio de Almeida. Porto, Portugal. 339pp, 1994.

EL-SAYED, A.F.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A.; Effects of dietary lipid source on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v. 248, p. 187-196, 2005.

EL-SAYED, A.M. & KAWANNA, M. Effects of photoperiod on the performance of farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: L. Growth, feed utilization efficiency and survival of fry and fingerlings. **Aquaculture**, v. 231, p. 393-402, 2004.

ESTEVEZ, F.A. *Fundamentos de limnologia aplicada*. 2.ed. Interciência. Rio de Janeiro, 602pp., 1998.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2005. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-production/en>, <acesso em: 20/03/08>.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), FAO FishStat plus. **Aquaculture Production** 1970–2002. Rome, Italy, 2004.

FUJIMOTO, R.Y. *Suplementação alimentar com cromo para pacus, Piaractus mesopotamicus (Holmberg, 1887), mantidos em duas densidades de estocagem*. (Tese-Doutorado). Centro de Aqüicultura da UNESP/Jaboticabal, 132p., 2004.

FUJIMOTO, R.Y.; CARNEIRO, D.J. Adição de ascorbil polifosfato, como fonte de vitamina C, em dietas para alevinos de pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829). **Acta Scientiarum**, v.23, n.4, p.855-861, Maringá, 2001.

GATLIN, III.D.M., WILSON. R.P., Dietary selenium requirement of fingerling channel catfish. **J. Nutr.** v.114, p. 627-633, 1984.

GOLDENFARB, P.B., BOWYER, F.P., HALL, E., BROSIUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinic Pathology**, v. 56, p. 35-9, 1971.

GONÇALVES, A. *Concentração letal e efeitos sub-letais do selenito de sódio ( $Na_2SeO_3$ ) em tilápia de Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1757): alterações hematológicas e histopatológicas*. (Mestrado em Aqüicultura). Centro de Aqüicultura da Unesp. Jaboticabal, 67p., 2004.

HAMILTON, S.J.; HOLLEY, K.M.; BUHL, K.L.; BULLARD, F.A.; WESTON, L.K.; MACDONALD, S.F. Selenium impacts on razorback sucker, Colorado river, Colorado-I Adults. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v.61, p. 7-31, 2005.

HAMLTON, S.J.; Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. **Sci Total Environ**, v. 326, p. 1-31, 2004.

HICKS, D.B.; HILTON, J.W.; FERGUSON, H.W.; Influence of dietary selenium on the occurrenc of nephrocalcinosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Richardson. **J. Fish Dis.**, v. 7, p. 379-389, 1984.

HILTON, J.W.; HODSON, P.V. Effect of increased Dietary Carbohydrate on Selenium Metabolism and Toxicity in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *J. Nutrition*, v.113, n. 6, p. 1241-1248, 1983.

HILTON, J.W.; HODSON, P.V.; SLINGER, S.J. Absorption, distribution, half-life and possible routes of elimination of dietary selenium in juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 71, p. 49-55, 1982.

HILTON, J.W.; HODSON, P.V.; SLINGER, S.J. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **J. Nutr.**, v. 110, p. 2527–2535, 1980.

KARADAS, F.; SURAI, P.S.; *Interações entre selênio e vitamina E: será que 1 + 1 é igual a 2? Biotecnologia Nutricional na Indústria de Alimentação Animal. Anais do Simpósio Brasileiro Alltech*, p. 57-73, 2004.

KOHRLE, J.; JAKOB, F.; CONTEMPR'E, B.; DUMONT, J. Selenium, the thyroid, and the endocrine system. **Endocr. Rev.**, v. 26, p. 944–984, 2005.

KOHRLE, J.; BRIGELIUS-FLOHE, R.; BOCK, A.; GARTNER, R.; MEYER, O.; FLOHE, L. Selenium in biology: facts and medical perspectives. **Biol. Chem.** v.381, p. 849-864, 2000.

KOROLEFF, F. *Determination of Nutrients. In K. GRASSHOF (Ed.), Methods of Seawater Analysis. Verlag Chemie Weinheim, German*, p. 117-81, 1976.

KRISTIANSEN, F. Condition in poultry associated with deficiencies of vitamin E in Norway. **Acta Agric. Scand. Suppl.** v. 19, p. 51-57, 1973.

KUBTIZA, F. *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial. Jundiaí:285p.: il*, 2000.

LEMLY, A.D. Symptoms and implications of selenium toxicity in fish: the Belews Lake case example. **Aquat Toxicol**, v.57, p. 39-49, 2002.

- LIN, Y.H.; SHIAU, S.Y. The effects of dietary selenium on the oxidative stress of grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed high copper. **Aquaculture**, v. 267, p. 38-43, 2007.
- LIN, Y.H.; SHIAU, S.Y. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. **Aquaculture**, v.250, p.356-363, 2005.
- LORENTZEN, M., MAAGE, A., JULSHAMN, K. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 123, p. 359-367, 1994.
- LOVSHIN, L.L.; Tilápia farming: a growing worldwide aquaculture industry. In: Simpósio sobre manejo e nutrição de peixes. Piracicaba. Anais...Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luis de Queiroz", 1997. p.137-164, 1997.
- MARTINS, M.L.; ONAKA, E.M.; MORAES, F.R.; BOZZO, F.R.; PAIVA, A.M.F.C; ADRIANO, G. Recent studies on parasitic infection of freshwater cultivated fish in the state of São Paulo, Brazil. **Acta Scientiarum**, v.24(4), p. 981-985, 2002.
- MARTINS, M.L. *Doenças infecciosas e parasitárias de peixes com chave para identificação*. 2.Ed. FUNEP. Jaboticabal, 66pp, 1998a.
- MARTINS, M.L. Evaluation of the addition of ascorbic acid to the ratio of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) on the infestation of *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea). **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v.31, p.655-658, 1998b.
- MARTINS, M.L.; CASTAGNOLLI, N.; ZUIM, S.M.F.; URBINATI, E.C. Influência de diferentes níveis de vitamina C na ração sobre parâmetros hematológicos de alevinos de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes, Characidae). **Rev. Bras. Zool.**, v.12, p. 609-618, 1995.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M. Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Rev. Bras. Zootec.** v.31, n.2, p.566-573, 2002.

MILLER, L.L.; WANG, F.; PALACE, V.P.; HONTELA, A. Effects of acute and subchronic exposures to waterborne selenite on the physiological stress response and oxidative stress indications in juvenile rainbow trout. **Aquatic Toxicology**, v. 83, n. 4, p. 263-271, 2007.

MONTERO, D., MARRERO, M., IZQUIERDO, M.S.; ROBAINA, L.; VERGARA, J.M.; TORT, L. Effects of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Spaurus aurata*) juveniles subjects to crowding stress. **Aquaculture**, v.171, p. 269-78, 1999.

MUIR, J. *et al.* **Production in intensive and recycle systems**. In: Beveridge, M. C. M., Mc Andrews, B. J., Tilapias: Biology and Exploitation. Kluwer Academic Publishing, Great Britain, p. 405-445, 2000.

NOGA, E.J. *Fish Disease: Diagnostic and Treatment*. St Louis: Morby-Year Book, Inc. 367pp, 1996.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratameto*. Ed EDUEM, Maringá, 2 ed, 305pp, 2002.

POSTON, H.A. AND COMBS, G.F., Interrelationships between requirements for dietary selenium, vitamin E, and L-ascorbic acid by Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed a semipurified diet. **Fish Health News**, 8(4): VI-VII, 1979.

POSTON, H.A., COMBS, G.F. AND LEIBOVITZ, L., Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*): gross, histological and biochemical signs. **J. Nutr.**, v. 106, p. 892-904, 1976.

PYLE, G.G.; RAJOTTE, J.W.; COUTURE, P.; 2005. Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. **Ecotox. Environ. Safety**, v. 61, p. 287-312, 2005.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; SILVA-SOUZA, A.T. *Hematologia de Peixes Teleósteos*. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.A.P. Sanidade de Organismos Aquáticos. São Paulo. Livraria Varela, 426p. 2004.

SAKAI, M. Current research status of fish Immunostimulants. **Aquaculture, Amsterdam**, v.172, p. 63-92, 1999.

SPALLHOLZ, J.E.; PALACE,V.P.; REID, T.W. Methioninase and selenomethionine but not Se-methylselenocysteine generate methylselenol and superoxide in an *in vitro* chemiluminescent assay: Implications for the nutritional carcinostatic activity of selenoamino acids. **Biochem. Pharmacol.**, v. 67, p. 547–554, 2004.

SURAI, P.F. Selenium in poultry nutrition: a new look at an old element. 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. **Word`s Poultry Sci. J.**, v.58, p. 333- 347, 2002a.

SURAI, P.F., **Natural Antioxidants in Avian Nutrition and Reproduction**. Nottingham University Press, Nottingham, 2002b.

TASHJIAN, D.H.; TEH, S.J.; SOGOMONYAN, A.; HUNG, S.S.O. Bioaccumulation and chronic toxicity of dietary L-selenomethionine in juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). **Aquat. Toxicol.**, v.79, p.401-409, 2006.

TAVARES-DIAS, M. Variáveis hematológicas de teleósteos brasileiros de importância zootécnica. Dissertação - Doutorado, Centro de Aqüicultura da Unesp, Jaboticabal-SP, 209pp, 2003.

TEH, S.J.; DENG, X.; DENG, D.F.; TEH, F.C.; HUNG, S.S.O.; FAN, T.W.M.; LIU, J.; HIGASHI, R.M. Chronic effects of dietary selenium on juvenile Sacramento Splittail (*Pogonichthys macrolepidotus*). **Environ. Sci. Technol.**, v.38, p.6085-6093, 2004.

THATCHER, V.E.; BRITES-NETO, J. Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água- doce. **Rev. Bras. Méd. Vet**, 16(3): 111-128, 1994.

URSINI, F., The world of glutathione peroxidases. **J. Trace Elem. Med. Biol.**, 14:116, 2000.

VALENTI, W.C.; POLLI, C.R.; PEREIRA, J.A. e BORGUETTI, J.R. *Aqüicultura no Brasil bases para um desenvolvimento sustentável*. CNPQ / Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasília. 399p., 2000.

VIANNA, A.C.C. *Estudo anatomopatológico e hematológico de tucunarés selvagens (Cichla monoculus, Spix, 1831) infestados por helmintos: aspectos da interação "peixe-endohelmintos"*. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 153pp., 2003.

WANG, C., LOVELL, R.T., Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v.152, p.223-234, 1997.

WATANABE, T.; KIRON, V.; SATOH, S. Trace minerals in fish nutrition. **Aquaculture**, v. 151, p. 185-207, 1997.

YOUNG, R. A. Health and Safety Research Division, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, Tennessee, 2000. Disponível em: [www.24d.org](http://www.24d.org), <acesso em 20/02/2007>.