

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 01/03/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Suplementação dietética com vitamina E:
respostas de estresse, da imunidade inata e
do sistema antioxidante de juvenis de pacu
(*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887)**

Aurea Veras Barbosa de Souza

Engenheira de Pesca

Jaboticabal, São Paulo

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Suplementação dietética com vitamina E:
respostas de estresse, da imunidade inata e
do sistema antioxidante de juvenis de pacu
(*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887)**

Aurea Veras Barbosa de Souza

Orientadora: Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Jaboticabal, São Paulo

2019

Souza, Aurea Veras Barbosa de
S729s Suplementação dietética com vitamina E: respostas de estresse, da
imunidade inata e do sistema antioxidante de juvenis de pacu
(*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) / Aurea Veras Barbosa
de Souza. – – Jaboticabal, 2019
vi, 65 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2019

Orientadora: Elisabeth Criscuolo Urbinati

Banca examinadora: Luis Henrique Montrezor, Jaqueline Dalbello

Biller

Bibliografia

1. Estresse em peixes. 2. Imunonutriente. 3. Piscicultura. 4.
Sistema antioxidante. 5. Sistema imune. 6. Tocoferol. I. Título. II.
Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.05



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Unidade Complementar - Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Suplementação dietética com vitamina E: respostas de estresse, da imunidade inata e do sistema antioxidante de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887)

AUTORA: AUREA VERAS BARBOSA DE SOUZA

ORIENTADORA: ELISABETH CRISCUOLO URBINATI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ELISABETH CRISCUOLO URBINATI
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. JAQUELINE DALBELLO BILLER
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena

Prof. Dr. LUIS HENRIQUE MONTREZOR
Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde / Universidade de Araraquara, UNIARA, Araraquara-SP

Jaboticabal, 01 de março de 2019

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”. (Madre Teresa de Calcutá).

AGRADECIMENTOS

Essa é a parte onde tentarei agradecer pessoas tão importantes com palavras escritas em uma folha de papel, onde elas não serão suficientes para demonstrar o meu agradecimento por cada contribuição que fizeram este momento se tornar realidade.

Agradeço a Deus, meu mestre maior, aquele que me guia e escuta em todos os momentos e que não me deixa desistir.

A minha mãe e família, que acompanharam cada etapa deste trabalho, minhas angústias, desesperos e alegrias. Obrigada por estarem sempre comigo, por todo amor e alegria pelas etapas que venço na vida. Amo vocês!

À prof^a. Dr^a. Elisabeth Criscuolo Urbinati pela orientação, confiança, ensinamentos, incentivos e pela oportunidade de realizar este trabalho.

À Damares Perecim pela ajuda nas coletas e fora delas. Adoro sua alegria, agradeço também os conselhos.

À Raíssa Ribeiro, Adriane Federici, Allana Feitoza e Mariana Mello, pela ajuda em todas as etapas do experimento e pela amizade construída. Este trabalho não seria tão bom sem vocês ao meu lado! Obrigada pelas conversas, ajuda, piadas e momentos de alegria que amenizavam o *estresse* diário. O companheirismo de vocês, a disposição em sempre ajudar foi fundamental nesses dois anos, desde os pequenos até os grandes problemas. Amo vocês!

A todos amigos do laboratório de Fisiologia de Peixes: Mônica Serra, Ana Paula Montedor, Larissa Frazão, Rudney Weiber, Thais Lucato, Gabriela Leandro, Renan Bin, Camila Faria, pela ajuda nas longas horas de análises, pelo apoio e amizade. Pois o segredo de um grande sucesso está no trabalho de uma grande equipe.

Aos funcionários do Centro de Aquicultura da Unesp, principalmente ao Valdecir e Márcio pela ajuda em várias etapas deste experimento.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa de mestrado para realização deste projeto.

A todos que estiveram, participaram de alguma forma, e permaneceram em minha vida, todo meu agradecimento.

APOIO FINANCEIRO

CNPq, Bolsa de Mestrado, Processo nº 131568/2017-5

SUMÁRIO

RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
CAPÍTULO I	13
1. Aquicultura - cenário atual	14
2. Estresse em peixes	14
3. Sistema imune em peixes	17
4. Sistema antioxidante/Estresse oxidativo	19
5. Vitamina E	22
6. Modelo biológico	23
REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO II	35
Suplementação dietética com vitamina E: variáveis fisiológicas e avaliação do sistema antioxidante de juvenis de pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>)	35
RESUMO	36
ABSTRACT	37
1. INTRODUÇÃO	38
2. MATERIAL E MÉTODOS	40
2.1 Rações experimentais	40
2.2 Animais e protocolo experimental	40
2.3 Coletas e análises laboratoriais	41
2.3.1 Análise de indicadores de estresse	42
2.3.1.1 Concentração plasmática de cortisol e glicose	42
2.3.2 Análise de indicadores imunológicos	42
2.3.2.1 Atividade respiratória de leucócitos	42
2.3.2.2 Atividade do sistema complemento	43
2.3.2.3 Determinação da atividade de lisozima	43
2.3.3 Análise de indicadores do sistema antioxidante	44
2.3.3.1 Concentrações de proteínas hepáticas	44
2.3.3.2 Atividade da glutathione S-transferase (GST)	44
2.3.3.3 Atividade da glutathione reduzida (GSH)	44
2.3.3.4 Atividade da catalase (CAT)	45
2.4 Estatística	45
3. RESULTADOS	46
3.1 Indicadores de estresse	46
3.1.1. Concentrações plasmáticas de cortisol	46

3.1.2. Concentrações plasmáticas de glicose	47
3.2 Indicadores de imunidade inata	49
3.2.1 Atividade respiratória de leucócitos (ARL)	49
3.2.2 Atividade hemolítica do sistema complemento (AHC50)	50
3.2.3 Concentração sérica da lisozima.....	51
3.3 Indicadores do sistema antioxidante	52
3.3.1 Atividade da glutathiona reduzida (GSH)	52
3.3.2 Atividade da glutathiona S-transferase (GST)	53
3.3.3 Atividade da catalase (CAT).....	54
4 DISCUSSÃO	55
REFERÊNCIAS	59

RESUMO

Manejos inerentes da piscicultura intensiva afetam a condição fisiológica e o sistema imune, desencadeando respostas de estresse nos animais, podendo aumentar a susceptibilidade a infecções, causando queda da produtividade. Para contornar este problema, o uso de nutrientes moduladores do sistema imunológico na dieta vem sendo utilizado como medida profilática para assegurar uma maior sobrevivência e conseqüentemente a produtividade. A vitamina E é um importante antioxidante e tem sido muito utilizado na aquicultura pelo seu efeito imunoestimulante. Porém, é pouco investigado o seu efeito direto sobre a resposta clássica de estresse. Neste contexto, o presente estudo avaliou, em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), o uso oral de vitamina E na dieta com 0,150 e 500 mg kg⁻¹ administrados por 30 dias, onde em cada condição alimentar metade dos peixes foram manipulados (submetidos a estresse por perseguição (estresse crônico)). Após o período experimental, foram amostrados para respostas de estresse, do sistema imune e sistema antioxidante de peixes submetidos a estressores crônico e agudo. Avaliamos como indicadores da resposta de estresse, a concentração de cortisol e glicose plasmáticos; como indicadores do sistema imune inato, a atividade respiratória de leucócitos, a atividade hemolítica do sistema complemento e a atividade de lisozima; como indicadores do sistema antioxidante/estresse oxidativo, as atividades das enzimas hepáticas da glutathione-S-transferase (GST), da glutathione reduzida (GSH) e da catalase (CAT). A vitamina E influenciou na glicose ao longo das amostragens, e em peixes não manipulados a elevação foi maior nos que receberam alimentação com 150mg de vitamina. A atividade respiratória de leucócitos teve elevação reduzida nos peixes que receberam a ração suplementada. A concentração sérica da lisozima não diferiu em ambas as condições, tanto nos peixes com estresse crônico quanto os que sofreram estresse agudo e a atividade hemolítica do sistema complemento aumentou 24h depois do estressor agudo em todos os grupos, nas duas condições. Nossos resultados mostram que a vitamina E estimula o sistema imunológico, e também o sistema antioxidante de ambas as condições de estresse.

PALAVRAS- CHAVE:

Estresse em peixes, Imunonutriente, Piscicultura, Sistema antioxidante, Sistema imune e Tocoferol

ABSTRACT

Inherent management of intensive fish farming affects the physiological condition and immune system, triggering stress responses in animals, which may increase susceptibility to infections, causing a drop of the productivity. To solve/reduce this problem, the use of nutritional modulators of the immune system in the diet has been considered as a prophylactic measure to ensure better survival and consequently productivity. Vitamin E is an important antioxidant that has been widely used in aquaculture also as an immunostimulant. However, its direct effect on the classic stress response is little investigated. In this context, the present study evaluated the oral use of vitamin E in the diet with 0.150 and 500 mg kg⁻¹ administered for 30 days, in which half of the fish were handled during the whole period (Chronic Stress) and the other half was not disturbed and only handled acutely after the 30-day period (Acute stress). After the experimental period, both fish groups were sampled for the assessment of indicators of stress, innate immune system and the antioxidant system. We evaluated the concentration of cortisol and glucose, the respiratory activity of leukocytes, the hemolytic activity of the complement system and the activity of lysozyme, and the activity of hepatic enzymes glutathione-S-transferase (GST) and catalase (CAT), and the reduced glutathione (GSH). Vitamin E influenced glucose throughout the samplings, and non-fish manipulated the elevation was higher in those fed with 150mg vitamin. The leukocyte respiratory activity had a reduced elevation in the fish that received the supplemented feed. The serum concentration of lysozyme did not differ in both conditions, both in fish with chronic stress and those who suffered acute stress and the hemolytic activity of the complement system increased 24 hours after the acute stressor in all groups, under both conditions. Our results show that vitamin E stimulates the immune system, and also the antioxidant system of both stress conditions.

KEYWORDS:

Stress in fish, Immunonutrient, Pisciculture, antioxidant system, immune system and Tocopherol

CAPÍTULO I
INTRODUÇÃO GERAL