

“Júlio de Mesquita Filho”

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO EM DIETAS
PARA A TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis
niloticus*)**

Haluko Massago

Engenheira de Pesca

Jaboticabal – São Paulo
2012

“Júlio de Mesquita Filho”

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO EM DIETAS
PARA A TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis
niloticus*)**

Haluko Massago

Orientador: Dr. João Batista Kochenborger Fernandes

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Aquicultura.

Jaboticabal – São Paulo
2012

Massago, Haluko
M414s Suplementação de selênio em dietas para a tilápia-do-nylo
(*Oreochromis niloticus*) / Haluko Massago. -- Jaboticabal, 2012
vii, 47 f. : il.; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2012

Orientador: João Batista Kochenborger Fernandes

Banca examinadora: Newton Castagnolli, Fábio Ermínio Mingatto,
Leonardo Tachibana, Leonardo Susumu Takahashi.

Bibliografia

1. Selênio orgânico. 2. Selenito de sódio. 3. Crescimento. 4.
Glutathiona peroxidase. 5. Peixes. I. Título. II. Jaboticabal - Centro de
Aquicultura.

CDU 639.3.043

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

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	i
APOIO FINANCEIRO	iii
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS	vi
ABREVIações E SÍMBOLOS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DA LITERATURA	3
1 Tilápia-do-nilo	3
2 Selênio	4
3 Enzima glutathiona peroxidase	8
4 Selênio na nutrição de peixes	10
4.1 Fontes de selênio dietário	11
4.2 Doses de selênio dietário	12
4.3 Interação de selênio com outros produtos	14
OBJETIVOS	16
1 Objetivo geral	16
2 Objetivos específicos	16
MATERIAL E MÉTODOS	17
1 Material biológico e condições experimentais	17
2 Dietas Experimentais	17
3 Delineamento experimental	20
4 Manejo	20

5 Parâmetros analisados	21
5.1 Desempenho zootécnico	21
5.2 Índice organométrico	22
5.3 Composição corporal dos peixes	22
5.4 Atividade da enzima glutathiona peroxidase	23
6 Análise estatística	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	34
CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
APÊNDICE I: Procedimento analítico-bromatológico para selênio	44

AGRADECIMENTOS

A Deus;

À minha família, que me apoiou emocional e financeiramente, desde o início da caminhada, sendo sempre amiga, conselheira e companhia;

Ao Prof. Dr. Newton Castagnolli, orientador de mestrado, mestre e amigo, que inclusive me indicou ao Prof. Dr. João Batista K. Fernandes;

Especialmente ao orientador, Prof. Dr. João Batista Kochenborger Fernandes, que me acolheu no doutorado e possibilitou a conclusão deste trabalho, através de suas orientações, conselhos, apoio e muitos ensinamentos! Agradeço por ter guiado meus passos, possibilitando o aperfeiçoamento profissional e pessoal;

À Veralice, secretária da Pós-Graduação do Caunesp, uma pessoa amiga que sempre me ajudou muito;

Aos professores de Pós-Graduação, como Profa. Irene, Profa. Laura entre outros, que sempre me ajudaram muito! Obrigada!

Aos professores do Caunesp, Prof. Dalton, Profa. Marta, Profa. Teresa Cristina, Profa. Fabiana, Profa. Maria Célia, etc. Enfim, todos os professores que fizeram parte desta caminhada, pelo auxílio e apoio que me ofereceram;

Aos funcionários, Valdecir, Márcio, Mauro, Silvinha, entre outros. Em especial ao Valdecir, que sempre me auxiliou, desde o início do experimento, por ajuda durante o experimento, pelo companheirismo e amizade;

Aos alunos do Laboratório de Pesquisas de Peixes Ornamentais Neotropicais do Caunesp, principalmente ao Luiz Gustavo, pelos auxílios e amizade. Ao Julian, à Helena, entre outros.

Também aos alunos que não são do laboratório, mas sempre me apoiaram, como Róberson, Rosângela, etc.

Aos Profs. Dr. Leonardo Takahashi e Dr. Fábio Ermínio Mingatto (do Laboratório de Química e Bioquímica), alunas Natália, Gabriela, Mariana, outros funcionários e alunos do curso de Zootecnia da UNESP - Câmpus de Dracena, que me auxiliaram na parte de análise enzimática;

À professora Nilva Kazue Sakomura, que possibilitou a realização de análises bromatológicas no Laboratório de Avicultura, e aos alunos e funcionários que me auxiliaram na análise de amostras, em especial ao Juliano;

Ao Prof. Euclides Braga Malheiros e a Vanessa, pelas análises estatísticas;

À dona Ana, funcionária do Caunesp e amiga, que esteve alguns anos me apoiando, *in memoriam*.

... A todas as pessoas que me auxiliaram durante o doutorado, mesmo que não tenha citado o nome, pois é impossível mencionar todos. As suas contribuições foram muito valiosas.

MUITO OBRIGADA POR TER PARTICIPADO DESTA JORNADA!

APOIO FINANCEIRO

Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela disponibilização de bolsa de estudos.

Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda, pelo fornecimento de selênio orgânico e pelo pagamento da análise de selênio.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 01.** Formulação e composição centesimal das dietas experimentais para o crescimento inicial da tilápia-do-nylo (1^o ao 45^o dia), com diferentes fontes e níveis de selênio. 18
- Tabela 02.** Formulação e composição centesimal das dietas experimentais para o crescimento de juvenis de tilápia-do-nylo (45 ao 84^o dia), com diferentes fontes e níveis de selênio. 19
- Tabela 03.** Valores de F, coeficiente de variação (CV) e média com desvio-padrão, para sobrevivência (S), conversão alimentar aparente (CAA), peso, comprimento total (CT), taxa de crescimento específico (TCE) do peso e CT, e uniformidade do lote (U) de tilápias-do-nylo alimentadas durante 28 dias, com dieta contendo diferentes fontes e níveis de selênio. 26
- Tabela 04.** Médias com desvio-padrão para comprimento total de tilápias-do-nylo, alimentadas durante 28 dias com dieta contendo diferentes fontes e níveis de selênio. 27
- Tabela 05.** Médias com desvio-padrão para a taxa de crescimento específico do comprimento total da tilápia-do-nylo, alimentadas durante 28 dias com dieta contendo diferentes fontes e níveis de selênio. 27
- Tabela 06.** Valores de F, coeficiente de variação (CV) e média com desvio-padrão para sobrevivência, conversão alimentar aparente (CAA), peso, comprimento total (CT), taxa de crescimento específico (TCE) de peso e CT, índice hepatossomático (IHS), uniformidade do lote em peso (U) e selênio, no filé da tilápia-do-nylo alimentada por 84 dias, com dieta contendo diferentes fontes e níveis de selênio. 30
- Tabela 07.** Valores de F, coeficiente de variação (CV) e média com desvio-padrão, para a atividade da enzima glutaciona

peroxidase no fígado e músculo da tilápia-do-nilo
alimentada por 84 dias, com dieta contendo diferentes
fontes e níveis de selênio. 31

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01.** Funções da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) e da glutathiona na proteção das células contra derivados de oxigênio muito reativos. 10
- Figura 02.** Comprimento total para a tilápia-do-nilo aos 28 dias de cultivo com selênio orgânico. 27
- Figura 03.** Peso (g) e comprimento total (cm) da tilápia-do-nilo aos 84 dias de cultivo, alimentadas com dietas sem suplementação e com suplementação de selênio ($p < 0,05$). 28
- Figura 04.** Fluxograma dos procedimentos analítico-bromatológicos de selênio. 47

ABREVIações E Símbolos

CAA	Conversão alimentar aparente
DNA	Ácido desoxirribonucleico
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
GSSG	Glutathione oxidada
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
Na ₂ SeO ₃	Selenite de sódio
•O ⁻	Radical superóxido
Se	Selênio

RESUMO

O selênio (Se) é um mineral essencial para o bom desempenho zootécnico dos peixes. É poderoso antioxidante, auxilia a homeostase do hormônio da tireoide e potencializa a imunidade e a fertilidade. A digestibilidade e metabolismo do selênio variam conforme a fonte ingerido. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de fontes e níveis de selênio dietário para alevinos e juvenis da tilápia-do-nylo. Usaram-se 36 aquários com 160 litros de água, distribuindo 90 peixes de $0,135 \pm 0,001$ g por aquário. Após 28 dias, reduziu-se a densidade para 15 peixes por aquário. O delineamento foi o inteiramente casualizado, com tratamentos em esquema fatorial (4 x 2) + 1 (quatro níveis e duas fontes de selênio mais um controle), e quatro repetições. Os tratamentos avaliados foram dieta sem suplementação (controle), com suplementação por Se-levedura (0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mg Se kg⁻¹ da dieta) e com suplementação de selenito de sódio (Na₂SeO₃) (0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mg Se kg⁻¹ da dieta). Analisaram-se a sobrevivência, o peso, o comprimento, a conversão alimentar aparente, o índice hepatossomático, a uniformidade do lote e a atividade da glutathiona peroxidase. Aos 28 dias, o comprimento total foi maior para grupos suplementados com selênio, independentemente do nível. Na suplementação com 0,25 mg Se kg⁻¹ dieta, Se-levedura foi mais bem comparado ao selenito de sódio. Aos 84 dias, o peso e o comprimento total dos grupos que receberam dietas suplementadas com o mineral foram estatisticamente melhores ($15,5 \pm 2,3$ g e $9,0 \pm 0,4$ cm), comparados ao grupo-controle ($12,7 \pm 1,2$ g e $8,3 \pm 0,2$ cm), independentemente do nível avaliado. A atividade da enzima glutathiona peroxidase também foi maior nos grupos suplementados. Portanto, é necessário suplementar com selênio a dieta da tilápia-do-nylo.

Palavras-chave: selênio orgânico, selenito de sódio, crescimento, glutathiona peroxidase, peixes.

ABSTRACT

The selenium (Se) is an essential mineral to the good fish zootechnical development. It is an important antioxidant; helps the thyroid hormone homeostasis and potentiates the immunity and fertility. The selenium digestibility and metabolism vary according to the ingested source. This way this study aim was evaluate the dietary selenium sources and levels to Nile Tilapia fingerling and juveniles. It was used 36 aquariums, 160 liters each, with 90 fishes of 0.135 ± 0.001 g per aquarium. 28 days later the density was reduced to 15 fishes per aquarium. The statistical design was completely randomized, in which the treatments were into a factorial scheme (4x2) + 1 (four levels, two sources of selenium, and one control) with four replications. The evaluated treatments were: diet without supplementation (control); diet with Se-yeast and supplementation (0.25, 0.50, 0.75, and 1.00 mg of Se kg^{-1} into the diet) and diet with sodium selenite (Na_2SeO_3) supplementation (0.25, 0.50, 0.75, and 1.00 mg of Se kg^{-1} into the diet). Surviving, weigh, length, apparent alimentary conversion, hepatosomatic index, lot homogeneity, and the glutathione peroxidase activity were analyzed. At 28 days the total length was higher to the groups supplemented with Se, regardless the Se level. The diet with 0.25 mg of Se kg^{-1} of feed the Se-yeast source was better than the Na_2SeO_3 -Se source. At 84 days the total weigh and length of groups supplemented with Se were statistically better (15.5 ± 2.3 g and 9.0 ± 0.4 cm) when compared to the control (12.7 ± 1.2 g and 8.3 ± 0.2 cm), regardless to the evaluated level. The enzyme peroxidase glutathione activity was also higher in the supplemented treatments. This way the Nile Tilapia diet must be supplemented with selenium.

Keywords: organic selenium, sodium selenite, growth, glutathione peroxidase, fish.

INTRODUÇÃO

A atividade aquícola brasileira, notadamente a piscicultura, tem-se desenvolvido de forma acelerada, caracterizando-se pelo aumento dos índices produtivos, conferindo ao Brasil potencial de grande produtor de pescado. Este cenário depende diretamente do contínuo descobrimento científico e tecnológico nos campos de genética, nutrição, sanidade e manejo.

A tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) é, atualmente, a espécie de peixe mais cultivada no mundo, sendo produzida em mais de cem países. A alta demanda e a melhora das tecnologias produtivas têm aumentado a preferência por sistemas intensivos de produção. Nestas condições, torna-se necessária a utilização de ração capaz de suprir as necessidades nutritivas, tanto em macroelementos, como as proteínas, os lipídeos, e em microminerais como o selênio (KUBITZA, 2011).

Dentre os microminerais, o selênio é essencial para os animais, incluindo os peixes, e a função mais conhecida é a de antioxidante, por ser parte integrante da enzima glutathione peroxidase. Esta enzima protege o tecido celular contra o estresse oxidativo, catalisando as reações que convertem o peróxido de hidrogênio em água, e os hidroperóxidos de lipídeos a ácidos graxos alcoólicos. O nível de atividade desta enzima é indicativo do suprimento de selênio para o organismo, pois sua atividade no eritrócito, no plasma e em outros tecidos apresenta proporção direta com a ingestão deste mineral. Outro papel importante de selênio é atuar contra a toxicidade de metais pesados, como cádmio e mercúrio (HALVER; HARDY, 2002).

Além de antioxidante, o selênio é necessário para a síntese de hormônios tireoidianos, que participam do crescimento e reprodução, sendo que as síndromes de deficiência de iodo são mais graves quando há também deficiência simultânea de selênio (FERREIRA et al., 2002). Em ação conjunta com a vitamina E, este mineral também previne a distrofia muscular (WATANABE et al., 1997).

O peixe pode absorver o selênio tanto da dieta como da água onde a concentração é menor que $0,0001 \text{ mg L}^{-1}$. Já a toxicidade para os organismos aquáticos ocorre em intervalos que variam entre $0,04$ e $0,13 \text{ mg L}^{-1}$ (WATANABE

et al., 1997). De acordo com os mesmos autores, o selênio aquático é eficientemente absorvido pelas brânquias, sendo estocado em vários tecidos na forma inorgânica (selenito). O selênio presente na dieta é estocado na forma orgânica, sendo que as margens entre o nível exigido e o tóxico são próximas. A exigência mínima deste mineral para os peixes varia entre 0,2 e 0,5 mg kg⁻¹ da dieta, tornando-se prejudicial a partir de 3,0 mg kg⁻¹ de ração (WATANABE et al., 1997).

O selênio está disponível em vários componentes, alimentares ou não, nas formas de selenito e selenato, que são compostos inorgânicos, e na forma orgânica representada pela selenometionina, selenocistina e selenocisteína. Em estudos realizados com peixes, a selenometionina foi mais bem assimilada pelo salmão-do-atlântico (*Salmo salar*) (BELL; COWEY, 1989). Em outro estudo avaliando a biodisponibilidade de selênio para o bagre-do-canal (*Ictalurus punctatus*), Wang e Lovell (1997) concluíram que a exigência de selênio para o ganho de peso foi de 0,09 e 0,28 mg kg⁻¹ da dieta, para selenometionina e selenito de sódio, respectivamente. Para o jundiá (*Rhamdia quelen*), alimentado com 0,6 mg de selênio kg⁻¹ da dieta, nas relações 1:1; 1:0 e 0:1 de selênio-levedura: selenito de sódio, o melhor crescimento e uniformidade do lote foi para dieta contendo exclusivamente o selênio-levedura (PIEDRAS et al., 2005).

O suprimento adequado de selênio na dieta de peixes melhora o crescimento (BELL et al., 1987; MONTEIRO et al., 2007; WANG et al., 2007), a sobrevivência e a uniformidade do lote (PIEDRAS et al., 2005). Por outro lado, a deficiência deste mineral pode causar a redução do crescimento, distrofia muscular, anemia e hemorragia, assim como o excesso pode resultar, também, na redução do crescimento, na diminuição da eficiência alimentar e no aumento da mortalidade (WATANABE et al., 1997). Portanto, há necessidade de conhecimento da suplementação adequada deste mineral na dieta de peixes produzidos em cativeiro, como a tilápia-do-nilo, para proporcionar melhor desempenho nas diferentes fases de produção.

REVISÃO DA LITERATURA

A aquicultura continua sendo o setor que mais cresce em produção de alimento de origem animal. O consumo *per capita* de pescado aumentou de 0,7 kg em 1970 para 7,8 kg em 2008, numa taxa média de crescimento anual de 6,6 % (FAO, 2010). De acordo com esta organização, em 2008, o suprimento mundial de pescados advindos de pesca e aquicultura foi cerca de 142 milhões de toneladas, sendo 36,9 % oriundos de aquicultura.

No Brasil, a produção de pescado em 2009 foi 1,24 milhões de toneladas, sendo 416 mil toneladas (33,5 %) supridos pela aquicultura. A produção de tilápias neste ano foi 133 mil toneladas (MPA, 2010).

1 Tilápia-do-nilo

A tilápia é um ciclídeo africano de água doce sendo conhecidas mais de 70 espécies (EL-SAYED, 2006; KUBITZA, 2011). As espécies mais importantes para a aquicultura são do gênero *Oreochromis*, destacando-se a tilápia-do-nilo (*O. niloticus*), a tilápia-de-moçambique (*O. mossambicus*), a tilápia-azul (*O. aureus*), e tilápia hornorum (*O. urolepis hornorum*) (KUBITZA, 2011; NG; HANIM, 2007; WATANABE et al., 2002).

A tilápia apresenta carne branca de textura firme, sabor delicado e fácil filetagem, não possui espinha intramuscular em forma de “Y” (SIMÕES et al., 2007; WATANABE et al., 2002), com tolerância a uma ampla gama de condições ambientais (como temperatura, salinidade, baixo oxigênio dissolvido, etc.), resistência ao estresse e às doenças, capacidade de se reproduzir em cativeiro e tempo de geração curto. Imediatamente após a absorção do saco vitelino, já aceita alimentos artificiais (EL-SAYED, 2006; KUBITZA, 2011). Para o crescimento da tilápia-do-nilo, a temperatura adequada está entre 27 a 30 °C e pH próximo ao neutro (7,0).

Além dos atributos acima citados, o rápido aumento global da produção de tilápia é, em parte, devido à introdução de variedades melhoradas de tilápia-do-

-nilo. Uma das tilápias mais populares e com sucesso é a tilápia geneticamente melhorada (Genetically Improved Farmed Tilapia - GIFT), linhagem desenvolvida pelo WorldFish Center (ASIAN DEVELOPMENT BANK, 2005; FÜLBER et al., 2010; NG; HANIM, 2007).

Com a intensificação do cultivo das tilápias em diversos países, inclusive no Brasil, utilizando tanques-rede, *raceways* (tanques com alto fluxo de água), e viveiros com recirculação de água, onde a disponibilização de alimento natural é limitada, houve aumento na incidência de doenças nutricionais. Estes sistemas mais intensivos demandam o uso de rações nutricionalmente completas, em que todos os nutrientes devem estar presentes de forma equilibrada e em quantidades que supram as exigências dos peixes para o adequado crescimento, saúde e reprodução. O enriquecimento de vitaminas e minerais, nestas rações, é necessário, pois apesar de os peixes poderem absorver minerais como o cálcio diretamente da água, as exigências da maioria destes elementos são satisfeitas através dos alimentos (KUBITZA, 2011).

Segundo Pezzato et al. (2004), as reais exigências nutricionais estão diretamente relacionadas aos seguintes fatores: espécie, fase de desenvolvimento, sexo e estágio de maturação sexual, sistema e regime de produção, temperatura da água, frequência de arraçoamento e qualidade da dieta.

2 Selênio

O selênio é um microelemento mineral indispensável aos animais. Em 1935, foi identificado como um fator tóxico presente nas forragens (NUNES, 1998), e sua essencialidade foi reconhecida desde 1957 (ANDRIGUETO et al., 1981). O selênio pode atuar como fator de crescimento, poderoso antioxidante e tem propriedades anticancerígenas, suporta homeostase do hormônio da tireoide, a imunidade e a fertilidade (PEZZATO et al., 2004; RAYMOND; RALSTON, 2004; UNDERWOOD; SUTTLE, 1999). Atua também na prevenção da degeneração do fígado, da diátese exsudativa e da distrofia muscular nutricional (ANDRIGUETO et al., 1981). De modo geral, sua carência resulta em retardamento do crescimento,

estados patológicos e morte, enquanto sua toxicidade se traduz por perda de apetite, atrofia do coração e morte (ANDRIGUETO et al., 1981).

O selênio está presente em vários componentes alimentares e existem compostos considerados como fontes de suplementação desse mineral. O selenito e o selenato são compostos inorgânicos, enquanto a selenometionina, a selenocistina e a selenocisteína são compostos orgânicos desse mineral. Para animais, normalmente, esse mineral entra na cadeia alimentar através da incorporação de proteínas vegetais, como aminoácidos selenocisteína e selenometionina (MCKENZIE et al., 1998; NRC, 1993). Já produtos de origem marinho, como a farinha de peixe, utilizados em dietas para peixes fornecem adequada concentração de selênio, enquanto a concentração desse mineral em ingredientes vegetais varia (PEZZATO et al., 2004), em função da espécie e da parte da planta amostrada e do nível desse elemento no solo em que crescem (COMBS; COMBS, 1984; LALL, 2002; UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

O selênio solúvel é rapidamente absorvido pela mucosa intestinal. É eliminado pelos rins, intestino e pulmões, sendo neste caso, característico um odor alíáceo (correspondem ao odor de alho) no ar expirado por animais que ingeriram doses relativamente altas do elemento (ANDRIGUETO et al, 1981).

A selenoproteína ou subunidade de proteínas têm sido detectadas em células animais, ocorrendo em tecidos específicos. As atividades de selenoproteínas podem ser especialmente importantes no cérebro, hipófise e tireoide, uma vez que é virtualmente impossível esgotar o selênio presente nesses tecidos. A selenometionina é bioquimicamente equivalente à metionina e é considerada como um compartimento de armazenagem regulamentada para o selênio. Em contraste, selenocisteína é rigidamente regulamentada e incorporada a numerosas proteínas que executam funções biológicas essenciais (RAYMOND; RALSTON, 2004).

Bioquimicamente, as funções conhecidas de selênio são:

- antioxidante não específico que protege as membranas celulares e os tecidos contra a peroxidação, fazendo parte da enzima glutathione peroxidase. Esta enzima atua na desintoxicação do peróxido de hidrogênio e de outros peróxidos orgânicos, catalisando as reações que convertem o

peróxido de hidrogênio à água e os ácidos graxos hidroperóxidos a ácidos graxos alcoólicos, forma esta de proteção das membranas celulares contra danos da oxidação (NRC, 1993; NUNES, 1998; PEZZATO et al., 2004; WATANABE et al., 1997);

- atua na biossíntese da ubiquinona ou coenzima Q (envolvida no transporte de elétrons) (NUNES, 1998);
- participa do transporte de hidrogênio na cadeia respiratória (NUNES, 1998);
- influencia na absorção e na retenção da vitamina E e de triglicerídeos (NUNES, 1998). Juntamente com a vitamina E, o selênio é capaz de prevenir a distrofia muscular nutricional (HALVER; HARDY, 2002; LALL, 2002; PEZZATO et al., 2004; WATANABE et al., 1997). Por sua vez, a enzima glutatona peroxidase e a vitamina E, ambas antioxidantes, interagem protegendo a célula de agentes oxidantes e, por isso, prevenindo o aparecimento de patologias, tais como doença do músculo branco, necrose hepática, e diátese exsudativa, que ocorrem em aves, suínos, bovinos e outros animais (NUNES, 1998). Este mesmo autor destaca que a vitamina E evita a formação de peróxidos, enquanto a glutatona peroxidase destrói os peróxidos formados;
- substitui o enxofre na cisteína, formando o selênio-cisteína e, nesta forma, participa das enzimas deiodases, um grupo de enzimas encontradas em inúmeros tecidos corporais e um dos responsáveis pela degradação dos hormônios tireoidianos (ANDRIGUETO et al., 1981);
- atua também no metabolismo dos hormônios da tireoide, por ser um constituinte de 5'-iodinase, enzima atuante no metabolismo dos hormônios da tireoide (FERREIRA et al., 2002). Segundo Baldisserotto (2002), estes hormônios são essenciais para o desenvolvimento, crescimento e metamorfose em algumas espécies de peixes. Na reprodução, os hormônios tireoidianos (principalmente o T₃) potencializam a ação do hormônio liberador das gonadotrofinas I e II no início do desenvolvimento ovariano;

- compostos de selênio também são capazes de proteger contra a toxicidade de metais pesados, como cádmio e mercúrio (WATANABE et al., 1997);
- atua na manutenção de grupos sulfidrilas, vitais na forma reduzida, na síntese de hormônios derivados de ácido araquidônico e no metabolismo de compostos estranhos ao organismo, como compostos aromáticos derivados de plantas e pesticidas. Esse mineral também age como cofator no metabolismo de certos aldeídos, por exemplo, o formaldeído e o metiogloxal e, supostamente, no transporte de alguns aminoácidos nos rins (HALVER; HARDY, 2002; LALL, 2002; PEZZATO et al., 2004; WATANABE et al., 1997).

Tanto a deficiência quanto o excesso de selênio na dieta podem resultar na redução do crescimento, da fertilidade e da produção de anticorpos (PIEDRAS et al., 2005). A concentração de selênio e a atividade da glutathione peroxidase no fígado e músculo refletem o suprimento de selênio dietário (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999), pois a atividade da glutathione peroxidase no eritrócito, no plasma e em outros tecidos decresce em proporção direta com a redução na ingestão deste mineral (HALVER; HARDY, 2002; LALL, 2002).

Doenças causadas por deficiência de selênio têm sido problema grave em animais de produção, em muitas partes do mundo, como hepatose dietética, diátese exsudativa causada em decorrência de edemas dos tecidos do corpo e distrofia muscular nutricional, o que pode ser prevenido pela suplementação dietária de selênio (TINGGI, 2003). Além disso, o suplemento com selênio previne condições inflamatórias e aumenta a proteção contra a carcinogênese, devido à reação da glutathione em eritrócitos para formar selenodiglutationa, um composto que possui propriedades anticancerígenas e induz a apoptose de células tumorais (MCKENZIE et al., 1998), e é radioprotetor eficaz, possivelmente devido à ação de selênio na forma do antioxidante glutathione peroxidase (TUJI et al., 2005).

O efeito tóxico de selênio é de menor importância prática do que sua deficiência, embora também possa provocar grandes prejuízos. Os sintomas de intoxicação crônica por selênio têm sido observados em animais que receberam alimentos perigosamente ricos em selênio (NUNES, 1998). De acordo com Andrigueto et al. (1981), a toxicidade de selênio é minimizada por um alto teor de

proteína na dieta, bem como de arsênio. A proteína elevada reduz a toxicidade pela formação de seleniotrissulfito, dos grupamentos dissulfito do *pool* metabólico. O arsênio, por sua vez, aumenta a excreção de selênio via bile, formando um complexo arsênio-selênio.

Em peixes do Lago Belews, Lemly (2002) verificou sintomas de intoxicação crônica por selênio como: 1) telangiectasia (inchaço) das lamelas branquiais; 2) linfócitos elevados; 3) redução do hematócrito e hemoglobina (anemia); 4) catarata da córnea; 5) exoftalmia; 6) alterações patológicas no fígado, rins, coração e ovário (por exemplo, vacuolização dos hepatócitos do parênquima pulmonar, necrose e ruptura de folículos do óvulo maduro); 7) falha reprodutiva (diminuição da produção de ovos viáveis devido à patologia ovariana e mortalidade pós-eclosão devido à bioacumulação de selênio em ovos); 8) deformidades teratogênicas da coluna, cabeça, boca e nadadeiras.

Ao investigar o sucesso reprodutivo em truta (*Oncorhynchus clarki lewisi*), usando peixes de ambientes normais e de áreas com exposição a altas doses de selênio, Rudolph et al. (2008) observaram uma relação positiva significativa entre concentração de selênio no ovo e mortalidade de alevinos.

3 Enzima glutathiona peroxidase

Atualmente, existe grande interesse no estudo dos antioxidantes devido, principalmente, às descobertas sobre os efeitos dos radicais livres no organismo. Os radicais livres em excesso apresentam efeitos prejudiciais, como peroxidação dos lipídeos e agressão às proteínas dos tecidos, assim como das membranas, enzimas, carboidratos e ácido desoxirribonucleico (DNA). O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes, entre os quais a glutathiona peroxidase (BARREIROS et al., 2006). Conforme Ferreira e Matsubara (1997), as células protegem-se dos agentes causadores de lesão por meio de sistemas desintoxicadores, constituídos por glutathiona redutase, superóxido dismutase, catalase, glutathiona peroxidase e vitamina E. Já os sistemas reparadores da lesão são constituídos pelo ácido ascórbico, glutathiona redutase e glutathiona peroxidase, entre outros.

Várias circunstâncias promovem a resposta de defesa antioxidante em peixes. Fatores intrínsecos ao próprio peixe, tais como idade, posição filogenética e comportamento alimentar, bem como os fatores ambientais, tais como o tipo de dieta fornecida, mudanças diárias ou sazonais na temperatura, oxigênio dissolvido, as toxinas presentes na água, patologias ou parasitas (TRENZADO et al., 2006).

A glutathiona peroxidase protege o tecido celular contra os danos provocados por substâncias oxidativas, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), hidroperóxido de ácidos graxos e os radicais livres superóxidos. Essa enzima catalisa as reações que convertem o peróxido de hidrogênio à água e os ácidos graxos hidroperóxidos a ácidos graxos alcoólicos, forma esta da proteção das membranas celulares contra danos da oxidação (NRC, 1993; COMBS; COMBS, 1984; FERREIRA et al., 2002; FERREIRA; MATSUBARA, 1997; NELSON; COX, 2006).

Na respiração das mitocôndrias, de 0,1 % até 4 % do oxigênio são direcionados para formar o radical superóxido ($\bullet O^-$), substância muito reativa (NELSON & COX, 2006). Para prevenir essas reações, as células têm várias formas de proteção, como superóxido dismutase que catalisa a reação de conversão deste composto em H_2O_2 , posteriormente tornado inócuo pela ação da glutathiona peroxidase (Figura 01). Durante os processos normais de detoxicação, H_2O_2 é convertida em H_2O pela glutathiona reduzida (GSH) sob a ação da glutathiona peroxidase; a glutathiona oxidada resultante é reciclada na forma reduzida pela glutathiona redutase e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH). A regeneração da GSH de sua forma oxidada (GSSG) requer o NADPH produzido na reação da glicose 6-fosfato desidrogenase (NELSON; COX, 2006).

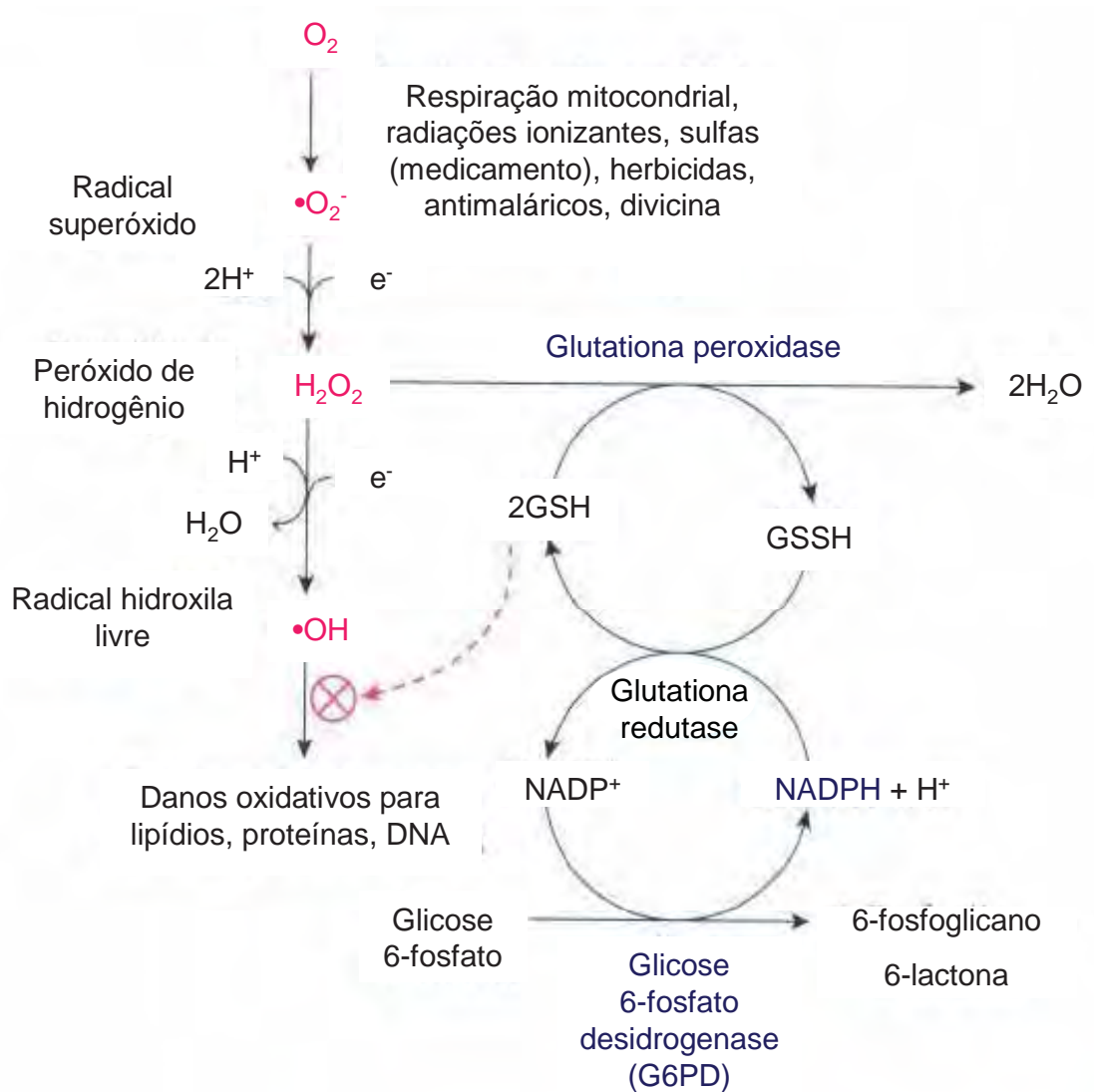


Figura 01. Funções da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) e da glutatona na proteção das células contra derivados de oxigênio muito reativos. Fonte: Nelson e Cox (2006)

O selênio apresenta versatilidade na capacidade de oxirredução no centro ativo da enzima glutaciona peroxidase, uma característica fundamental para sua ação na eliminação de peróxidos (FERREIRA et al., 2002). A H_2O_2 também pode ser reduzida a H_2O e O_2 pela ação da enzima catalase (NELSON; COX, 2006).

4 Selênio na nutrição de peixes

O selênio é essencial para os peixes, e a função mais conhecida é a de antioxidante. A exigência nutricional desse mineral varia com a fonte de

suplementação utilizada, disponibilidade na dieta, concentração de ácidos graxos poli-insaturados e vitamina E no alimento, como também com o nível de selênio existente na água (LALL, 2002; PEZZATO et al., 2004).

O selênio da água absorvido pelas brânquias é estocado diretamente em vários tecidos, exceto no fígado, que o recebe via sangue, por meio da alimentação (HODSON; HILTON, 1983; WATANABE et al., 1997). A absorção gástrica de selênio pela truta-arco-íris (*Salmo gairdneri*) é eficiente, e o plasma é o principal meio de transporte de selênio (HILTON et al., 1982). O selenito e a selenometionina adicionados às dietas são metabolizados de forma diferente por salmão-do-atlântico, no qual a concentração de selênio no fígado foi maior nos grupos alimentados com selenito, enquanto as concentrações musculares e corpóreas deste mineral foram maiores nos grupos que receberam selenometionina (LORENTZEN et al., 1994). No processo de excreção de selênio em trutas, o fígado e os rins desempenham papéis importantes, em que as principais vias de excreção parecem ser as brânquias e a urina (LALL, 2002).

4.1 Fontes de selênio dietário

Conforme a fonte de selênio ingerido, o peixe apresenta variação na digestibilidade e no metabolismo. Segundo Bell e Cowey (1989), a digestibilidade de diferentes fontes desse mineral para o salmão-do-atlântico, com peso inicial de 68 g, alimentado durante 4 semanas com dieta contendo 1 mg Se kg⁻¹ de ração, foi de 91,6 % (DL-selenometionina), 63,9 % (selenito de sódio), 52,6 % (DL-selenocisteína) e 46,6 % (farinha de peixe). O metabolismo do selenito de sódio e selenometionina dietária foi diferente para o salmão-do-atlântico, no qual a concentração de selênio no fígado foi maior no grupo alimentado com selenito de sódio, enquanto a concentração muscular e corpórea de selênio foi maior no grupo que recebeu selenometionina (LORENTZEN et al., 1994). O medaka (*Oryzias latipes*), que recebeu a dieta suplementada com “nanopartícula de selênio”, apresentou maior concentração de selênio hepático comparado ao selenito de sódio (LI et al., 2008). O maior valor de selênio muscular ocorreu no músculo do peixe-dourado (*Carassius auratus gibelio*), que recebeu dieta suplementada com “nanopartícula de selênio”, comparada à selenometionina (ZHOU et al., 2009). Em relação a biodisponibilidade de selênio em bagre-do-

canal, o melhor resultado foi observado em selenometionina e selênio-levedura quando comparada ao selenito de sódio (WANG; LOVELL, 1997).

O crescimento dos peixes também foi maior para o grupo alimentado com selênio orgânico em relação ao selenito de sódio, como observado por Piedras et al. (2005), que usaram selênio-levedura e selenito de sódio para o jundiá, e Wang et al. (2007) e Küçükbay et al. (2009), que usaram selenometionina e selenito de sódio para peixe-dourado e para truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), respectivamente. Em truta-arco-íris, encontrou também a maior biodisponibilidade de selênio-levedura em relação ao selenito de sódio (RIDER et al., 2009a), além do aumento na atividade da enzima glutathiona peroxidase após os peixes serem submetidos à situação de estresse (RIDER et al., 2009b).

4.2 Doses de selênio dietário

Vários estudos com peixes foram realizados na tentativa de encontrar a exigência quanto a selênio dietário para a espécie. Em truta-arco-íris, Hilton et al. (1980) usaram selenito de sódio dietário entre 0,00 e 15 mg de selênio kg⁻¹ da dieta e determinaram a exigência de 0,15 a 0,38 mg kg⁻¹ com base em máxima atividade plasmática da glutathiona peroxidase. Com alevinos do bagre-do-canal alimentados durante 15 semanas com suplementação dietária de selênio na forma do selenito de sódio, Gatlin III e Wilson (1984) encontraram a exigência de 0,25 mg kg⁻¹ da dieta, para ganho de peso e atividade da glutathiona peroxidase. Em outro trabalho, também com alevinos do bagre-do-canal, Wang e Lovell (1997) determinaram a exigência deste mineral para ganho de peso de 0,09; 0,11 e 0,28 mg kg⁻¹ da dieta para selenometionina, selênio-levedura e selenito de sódio, respectivamente. Porém, Sampaio (2003) não conseguiu determinar a exigência para alevinos de tilápia-do-nilo de 3,48±0,10 g, criados durante 100 dias com dietas contendo selênio entre 0,0 e 1,0 mg kg⁻¹ da dieta.

De acordo com Abdel-Tawwab et al. (2007), a exigência de selênio, considerando o ganho de peso, foi de 0,3 mg kg⁻¹ da dieta para o bagre-africano (*Clarias gariepinus*). Para a garoupa (*Epinephelus malabaricus*), Lin e Shiau (2005) determinaram a exigência de 0,7 mg kg⁻¹ da dieta, usando selenometionina como fonte de selênio. Por outro lado, Gomes (2008) não verificou diferença no ganho de peso para juvenis da tilápia-do-nilo, ao suplementar dieta com

selenometionina, nas doses de selênio entre 0,0 e 1,5 mg kg⁻¹ da dieta. Porém, Pereira et al. (2009) alimentaram os reprodutores da tilápia-do-nilo usando dieta suplementada com selênio-levedura, verificaram melhora no desenvolvimento inicial e o desempenho da progênie quando suplementou entre 0,5 e 1,0 mg kg⁻¹ da dieta.

Ao alimentar salmão-do-atlântico com deficiência dietária de selênio, Poston et al. (1976) observaram menor sobrevivência, redução da atividade da enzima glutathione peroxidase no plasma e distrofia muscular. No mesmo regime de alimentação, a truta-arco-íris apresentou diátese exsudativa (BELL et al., 1985) e o bagre-do-canal reduziu a atividade da glutathione peroxidase hepática (GATLIN III et al., 1986). Em salmão-do-atlântico, a deficiência de selênio dietário reduziu o ganho de peso, assim como a concentração hepática, sanguínea e cerebral deste mineral. Também ocorreu a redução da atividade da glutathione peroxidase, além de causar a perda de integridade do retículo endoplasmático, aumento da vacuolização no tecido pancreático e maior fragilidade eritrocitária (BELL et al., 1987).

Segundo Thorarinson et al. (1994), a deficiência de selênio ocasionou a redução da sobrevivência em salmão (*Oncorhynchus tshawytscha*). Em truta-arco-íris, baixo nível deste micromineral provocou ataxia (natação errática) em cerca de 10% das trutas-arco-íris, sendo evidentes os danos à bainha do axônio na medula nervosa, perda de integridade no retículo endoplasmático e mitocôndria hepática, além da redução da concentração de selênio plasmático e hepático, assim como da atividade da glutathione peroxidase (BELL et al., 2003). Com a deficiência de selênio, o crescimento e a proteção celular contra o estresse oxidativo foram prejudicados no matrinxã (*Brycon cephalus*) (MONTEIRO et al., 2007), peixe-dourado (WANG et al., 2007), na carpa comum (*Cyprinus carpio*) (ELIA et al., 2011) e na truta-arco-íris (KÜÇÜKBAY et al., 2009).

A toxicidade de selênio foi observada em truta- arco-íris acima de 3 mg kg⁻¹ da dieta com aumento no nível de selênio hepático (HILTON et al., 1980). Estes autores verificaram a toxicidade crônica deste mineral acima 13 mg kg⁻¹ da dieta. Em carpa comum, 1,0 mg de selênio kg⁻¹ da dieta causou acúmulo deste mineral no rim e no fígado, porém houve pouco acúmulo desse mineral no músculo, indicando baixo risco de contaminação para a saúde humana (ELIA et al., 2011).

O selênio dietário ingerido em excesso acumulou-se no fígado, causando estresse oxidativo (HILTON et al., 1980; HILTON; HODSON, 1983; LI et al., 2008) e calcinose renal (HILTON; HODSON, 1983). Quando fornecido em excesso para bagre-do-canal, ocorreu redução no crescimento (GATLIN III; WILSON, 1984), e em tilápia-do-nilo apareceram alterações significativas na estrutura morfofuncional do fígado (GOMES, 2008).

Em condição de estresse, o selênio estocado é usado, provocando aumento de níveis de atividade da glutathiona peroxidase, portanto a concentração exigida para o crescimento em condição normal pode não ser suficiente (RIDER et al., 2009b). Uma das causas do estresse é a baixa temperatura, que aumenta a toxicidade de selênio, resultando na maior mortalidade, como observado por Lemly (1993), em perca-sol-de-guelras-azuis (*Lepomis macrochirus*).

4.3 Interação de selênio com outros produtos

O selênio atua eficientemente como antioxidante, e sua ação pode variar na presença de outros nutrientes, vitaminas ou minerais. Em salmão-do-atlântico, a suplementação com vitamina E, juntamente com o selênio, evitou a distrofia muscular (POSTON et al., 1976). Segundo Hilton e Hodson (1983), o nível elevado de carboidrato na dieta aumenta a toxicidade deste mineral, com maior acúmulo de cálcio renal e redução do crescimento. Em outro trabalho com suplementação dietária da vitamina E e selênio, Bell et al. (1985) observaram que a truta-arco-íris alimentada com dietas deficientes em ambos os nutrientes apresentou menor ganho de peso e diátese exsudativa. Gatlin III et al. (1986) também observaram que as deficiências simultâneas de selênio e vitamina E causam redução do crescimento, anemia, miopatia grave, diátese exsudativa e morte. Porém, as deficiências isoladas de selênio ou vitamina E não produziram qualquer um desses sinais, indicando a existência de uma interação significativa entre os dois elementos na nutrição do bagre-do-canal. Por outro lado, a deficiência simultânea de selênio e vitamina E proporciona redução na sobrevivência em salmão (THORARINSSON et al., 1994). Em 2009, Lin e Shiau verificaram a existência do efeito poupador dos nutrientes selênio e vitamina E para a garoupa, pois quando há baixa ingestão de um dos dois nutrientes, é

necessária maior ingestão do outro, como efeito compensatório para atender às exigências metabólicas.

O selênio pode apresentar interação com metais pesados, reduzindo a toxicidade dos mesmos. Para a truta-arco-íris, a suplementação com 10 mg de selênio kg^{-1} da dieta aumentou a eliminação do mercúrio orgânico dos músculos, fígado e rim (BJERREGAARD et al., 1999), e para o bagre-africano, 0,3 mg de selênio kg^{-1} da dieta ocasionou maior resistência à intoxicação por cobre (ABDEL-TAWWAB et al., 2007). Segundo um estudo realizado por Lin e Shiau (2007) e Abdel-Tawwab e Wafeek (2008), o selênio reduziu o efeito prejudicial do cobre para a garoupa e para os juvenis de tilápia-do-nilo. Além do cobre, o selênio pode proteger contra a toxicidade do cádmio (Cd^{2+}) e do cromo (Cr^{3+}). Isto foi constatado em um estudo conduzido por Orun et al. (2008) com truta-arco-íris, concluindo que os metais pesados são desintoxicados por este importante mineral.

Além de atuar como protetor contra metais pesados, o selênio apresenta efeito contra as cianotoxinas do *Microcystis* em juvenis de tilápia-do-nilo, o que foi comprovado em estudo realizado por Atencio et al. (2009).

OBJETIVOS

1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a necessidade da suplementação, com selênio, de dietas para o crescimento de alevinos e juvenis da tilápia-do-nilo.

2 Objetivos específicos

- Definir o melhor nível e a melhor fonte de selênio (selênio-levedura ou selenito de sódio), visando à maior sobrevivência, crescimento e uniformidade do lote.
- Avaliar a influência da suplementação de selênio dietário sobre a atividade da enzima glutathione peroxidase.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisas de Peixes Ornamentais Neotropicais do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP), em Jaboticabal-SP, no período de novembro de 2009 a fevereiro de 2010, durante 84 dias.

1 Material biológico e condições experimentais

Foram usados 36 aquários com 160 litros de água, num sistema fechado, acoplado ao sistema de aeração por compressor radial. Em cada aquário, foi instalado um aquecedor com termostato e com o filtro. Foram coletadas 3.240 pós-larvas da tilápia-do-nilo da linhagem GIFT com peso médio de 0,135 g e comprimento total de 1,03 cm, obtidas junto ao Laboratório de Tilapicultura do Caunesp Jaboticabal-SP.

Durante o período experimental, a água dos aquários apresentou pH de $6,8 \pm 0,2$. A temperatura foi mantida em $28,3 \pm 0,7$ °C, e o oxigênio dissolvido, em $5,6 \pm 0,4$ mg L⁻¹. O nível médio de selênio da água de entrada foi de 0,094 µg L⁻¹. As medições foram realizadas com oxímetro digital (YSI-55), pH com peagâmetro digital (ES300). A temperatura foi medida diariamente com termômetro de mercúrio, além de termômetros de máxima e de mínima.

2 Dietas Experimentais

Foram formuladas duas dietas experimentais, sendo uma inicial (1-45 dias) e outra de crescimento (46-84 dias), conforme apresentadas nas Tabelas 01 e 02. As rações foram elaboradas com base em análises prévias da composição bromatológica dos ingredientes e processadas na Fábrica de Ração da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP – Câmpus de Jaboticabal. O teor de selênio no selênio-levedura (Selplex®) foi de 0,1 %, e no selenito de sódio, foi de 45,7 %. O suplemento mineral foi isento de selênio, e a farinha de peixe não foi usada nas rações devido à elevada concentração de selênio.

Tabela 01. Formulação e composição centesimal das dietas experimentais para o crescimento inicial de tilápia-do-nilo (1^o ao 45^o dia), com diferentes fontes e níveis de selênio.

Ingredientes (%)	Tratamento								
	Controle	Selênio-levedura				Selenito de sódio			
		0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	0,25	0,50	0,75
Farelo de soja	62,50	62,50	62,50	62,50	62,50	62,50	62,50	62,50	62,50
Farinha de vísceras de ave	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50
Farelo de trigo	4,70	4,70	4,70	4,70	4,70	4,70	4,70	4,70	4,70
Fubá de milho	13,70	13,70	13,70	13,70	13,70	13,70	13,70	13,70	13,70
DL - metionina	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
Treonina	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26
Triptofano	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
Óleo de soja	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Fosfato bicálcico	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento ¹	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Selênio + caulim ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Selênio (mg kg ⁻¹) ³	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	0,25	0,50	0,75	1,00
Composição calculada e determinada									
Proteína digestível (%) ⁴	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7
Proteína bruta (%) ⁵	42,7	42,4	42,5	42,6	42,4	42,1	42,6	42,6	42,6
Energia digestível (kcal) ⁴	3.302	3.302	3.302	3.302	3.302	3.302	3.302	3.302	3.302
Energia bruta (kcal) ⁵	4.078	4.067	4.073	4.088	4.105	4.094	4.081	4.094	4.089
Fibra bruta (%) ⁴	4,97	4,97	4,97	4,97	4,97	4,97	4,97	4,97	4,97
Extrato etéreo (%) ⁴	3,75	3,75	3,75	3,75	3,75	3,75	3,75	3,75	3,75
Cálcio (%) ⁴	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55
Fósforo disponível (%) ⁴	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Selênio (mg) ⁵	0,26	0,49	0,64	0,91	1,01	0,47	0,67	0,75	0,96

¹ Suplemento vitamínico e mineral (quantidade por quilograma do produto): Ácido fólico 2 mg; ácido pantotênico 40 mg; antioxidante B.H.T. 167 mg; colina 300 mg; cobre 20 mg; iodo 10 mg; ferro 200 mg; manganês 140 mg; vitamina A 6.000 U.I.; vitamina B1 12 mg; vitamina B12 40 mcg; vitamina B2 16 mg; vitamina B6 6 mg; vitamina C 467 mg; vitamina D3 6000 U.I.; vitamina E 267 mg; vitamina K 12 mg; zinco 300 mg; niacina 200 mg; biotina 0,2 mg.

² O selênio está incluído à ração na forma de selênio-levedura ou selenito de sódio. Como enchimento, foi usado o caulim para completar os 100 % da dieta.

³ concentração de selênio presente no selênio-levedura ou selenito de sódio.

⁴ valor calculado.

⁵ valor determinado.

Exigência de proteína e energia digestíveis, conforme Hayashi et al. (2002) e Boscolo et al. (2005).

Tabela 02. Formulação e composição centesimal das dietas experimentais para o crescimento de juvenis de tilápia-do-nilo (45 ao 84^o dia), com diferentes fontes e níveis de selênio.

Ingredientes (%)	Tratamento								
	Controle	Selênio-levedura				Selenito de sódio			
		0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	0,25	0,50	0,75
Farelo de soja	45,00	45,00	45,00	45,00	45,00	45,00	45,00	45,00	45,00
Farinha de vísceras de ave	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Farelo de trigo	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Fubá de milho	15,40	15,40	15,40	15,40	15,40	15,40	15,40	15,40	15,40
Quirera de arroz	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00
DL - metionina	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Treonina	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Triptofano	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Fosfato bicálcico	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento ¹	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Selênio + caulim ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Selênio (mg kg ⁻¹) ³	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	0,25	0,50	0,75	1,00

Composição calculada e analisada

Proteína digestível (%) ⁴	30,5	30,5	30,5	30,5	30,5	30,5	30,5	30,5	30,5
Proteína bruta (%) ⁵	34,9	35,1	35,0	35,0	34,7	34,6	34,5	34,9	34,7
Energia bruta (kcal) ⁵	4.016	4.007	4.015	4.018	4.024	4.019	4.008	4.018	4.025
Energia digestível (kcal) ⁴	3.066	3.066	3.066	3.066	3.066	3.066	3.066	3.066	3.066
Fibra bruta (%) ⁴	4,48	4,48	4,48	4,48	4,48	4,48	4,48	4,48	4,48
Extrato etéreo (%) ⁴	4,06	4,06	4,06	4,06	4,06	4,06	4,06	4,06	4,06
Cálcio (%) ⁴	1,51	1,51	1,51	1,51	1,51	1,51	1,51	1,51	1,51
Fósforo disponível (%) ⁴	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
Selênio (mg) ⁵	0,27	0,47	0,61	0,72	0,91	0,44	0,64	0,76	0,82

¹ Suplemento vitamínico e mineral (quantidade por quilograma do produto): Ácido fólico 2 mg; ácido pantotênico 40 mg; antioxidante B.H.T. 167 mg; colina 300 mg; cobre 20 mg; iodo 10 mg; ferro 200 mg; manganês 140 mg; vitamina A 6.000 U.I.; vitamina B1 12 mg; vitamina B12 40 mcg; vitamina B2 16 mg; vitamina B6 6 mg; vitamina C 467 mg; vitamina D3 6000 U.I.; vitamina E 267 mg; vitamina K 12 mg; zinco 300 mg; niacina 200 mg; biotina 0,2 mg.

² O selênio está incluído à ração na forma de selênio-levedura ou selenito de sódio. Como enchimento, foi utzado o caulim para completar os 100 % da dieta.

³ concentração de selênio presente no selênio-levedura ou selenito de sódio.

⁴ valor calculado.

⁵ valor determinado.

Exigência segundo NRC (1983), Pezzato et al. (2004).

Durante os primeiros 45 dias, a ração oferecida aos peixes foi em pó, sendo que, nas quatro primeiras semanas, o hormônio 17 alfa-metiltestosterona foi incorporado nas dietas para a masculinização dos peixes. A ração oferecida a partir do 46º dia foi extrusada. Em ambos os casos, os ingredientes foram moídos, pesados e misturados, usando-se bacias e misturadores. Para a inclusão de selênio nas dietas experimentais, inicialmente, foi realizada uma pré-mistura composta por *premix*, aminoácidos, caulim e o mineral em estudo. Esta pré-mistura foi diluída, primeiramente, em 100 g, depois em 1 kg e, finalmente, no total da dieta.

O caulim, minério composto de silicatos hidratados de alumínio, como a caulinita e a haloisita, foi usado como enchimento para completar o volume de selênio nos tratamentos cuja concentração de selênio-levedura ou de selenito de sódio foi inferior a 0,1 %.

3 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (4 x 2) + 1 (quatro níveis e duas fontes de selênio mais um controle), e quatro repetições. Os tratamentos foram: controle= dieta sem suplementação de selênio; com suplementação por selênio-levedura, sendo 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mg de selênio kg⁻¹ da dieta, ou na forma do selenito de sódio, sendo 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mg de selênio kg⁻¹ da dieta.

4 Manejo

Os aquários foram sifonados diariamente, para evitar acúmulo de resíduos. A água foi trocada parcialmente em dias alternados. No decorrer do estudo, os peixes foram alimentados até à saciedade aparente, sendo cinco vezes ao dia, durante os primeiros 45 dias, e quatro vezes ao dia, a partir do 46º dia até o final do experimento.

As biometrias dos peixes (peso, comprimento total) foram realizadas no início, aos 28 e 84 dias. Inicialmente, foram distribuídas 90 larvas por aquário, em 36 aquários. Depois deste procedimento, mais 40 larvas foram utilizadas para

aferir o peso médio, por meio de balança analítica, e comprimento total, usando-se paquímetro digital. Após 28 dias (final do período de masculinização), aferiram-se o peso e o comprimento de 15 peixes por aquário, que continuaram recebendo ração até o final do experimento. Os demais peixes foram usados para análise de composições químicas.

Ao final do período experimental (84 dias), os peixes passaram por um período de jejum de 24 horas, sendo contados e insensibilizados em gelo e, realizada a biometria de todas as tilápias. Em seguida, retiraram-se o fígado e o filé (2 g) para análise da atividade da enzima glutatona peroxidase. O restante do filé foi usado para análise de composições químicas, sendo armazenadas em congelador três amostras por tratamento, para determinar a proteína bruta, lipídeos, cinzas, matéria seca e a concentração de selênio.

5 Parâmetros analisados

5.1 Desempenho zootécnico

Foram analisadas a sobrevivência (%), a conversão alimentar aparente (CAA), o peso P(g), o comprimento (cm), a taxa de crescimento específico (TCE) e a uniformidade do lote em peso (U), aos 28 e 84 dias do experimento.

A conversão alimentar aparente (CAA) e a taxa de crescimento específico (TCE) foram calculadas usando as seguintes equações:

$$CAA = \frac{\text{consumo da ração (g)}}{\text{ganho de peso final (g)}}$$

$$TCE (\text{Peso}) = \left(\frac{\ln \text{ do peso final} - \ln \text{ do peso inicial}}{\text{tempo de criação (dias)}} \right) \times 100$$

Em que, ln= logaritmo neperiano (natural)

$$TCE (CT) = \left(\frac{\ln \text{ do CT final} - \ln \text{ do CT inicial}}{\text{tempo de criação (dias)}} \right) \times 100$$

Em que, CT= comprimento total (cm), e ln= logaritmo neperiano (natural)

A uniformidade do lote em peso (U) foi calculada pela equação:

$$U = \left(\frac{n_{20}}{N} \right) \times 100$$

Em que, n_{20} = número de peixes com peso na faixa de $\pm 20\%$ da média da população, N = número total de peixes do lote (PIEDRAS et al., 2005).

5.2 Índice organométrico

O índice hepatossomático (IHS) foi calculado aos 84 dias, através da seguinte equação:

$$IHS = \left(\frac{\text{peso do fígado}}{\text{peso do peixe}} \right) \times 100$$

5.3 Composição corporal dos peixes

Peixe inteiro aos 28 dias e filé aos 84 dias de cultivo foram empregados para a análise da composição química. Para este estudo, foram utilizados aproximadamente 20 g de amostra por análise. As análises da composição corporal da tilápia-do-nilo (proteína bruta, extrato etéreo, matéria seca e cinzas) foram realizadas no Laboratório de Nutrição do Setor de Avicultura, e as de energia bruta, no Laboratório de Nutrição Animal (LANA), ambos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP – Câmpus de Jaboticabal. Todas estas análises foram realizadas segundo o AOAC (HELRICH, 1990).

A concentração de selênio na água, na ração e no filé dos peixes foram analisados pelo laboratório de análises “CBO Análises Laboratoriais”, baseando-se na extração, por digestão ácida, de selênio contido na amostra, e a determinação de sua concentração, por meio da técnica de absorção atômica com forno de grafite, segundo metodologia de AOAC (1984) e Instituto Adolfo Lutz (2005) (Apêndice I).

5.4 Atividade da enzima glutathiona peroxidase

Para a análise enzimática, filés e fígados foram extraídos dos peixes sobre placa de vidro colocada em bandeja com gelo, para evitar o aquecimento de amostras, o que resultaria em redução de atividade das enzimas. Foram coletados 8 filés de peixes diferentes, os quais foram armazenados em tubos separados. Para o fígado, coletou-se um conjunto de alguns fígados por tubo (suficiente para completar os 2 g), num total de 6 amostras por tratamento. As amostras foram armazenadas em nitrogênio líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A análise da atividade da glutathiona peroxidase selênio-dependente foi realizada no Laboratório de Química e Bioquímica da UNESP – Câmpus de Dracena, de acordo com procedimento descrito por Haffeman et al. (1974).

Para a análise enzimática, as amostras de fígado ou de filé previamente congeladas no nitrogênio foram descongeladas, e 0,8 g da amostra foi pesada em um béquer. Acrescentaram-se aproximadamente 5 mL do tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0 e, com tesoura, picotou-se a amostra. A amostra foi lavada com água destilada e, em seguida, acrescentada à solução tampão (tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0), sendo o volume obtido da multiplicação do peso da amostra por 2 mL do tampão e dividido por 0,2 g. Transferiu-se a solução resultante para o *Potter* e homogeneizou-se por três vezes, seguido de 1 min de descanso (no gelo) e homogeneização por três vezes. Em *ependorf* previamente enumerado, pipetou-se 1,5 mL do homogenato em triplicata. Estes foram centrifugados a 10.000 rpm, durante 30 min, a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Em novo *ependorf*, pipetaram-se 137 μL de água Milli-Q, 100 μL de glutathiona redutase 2 mM, 100 μL de tampão fosfato de sódio 0,4 mM, 50 μL de azida sódica 0,01 M e 20 μL da amostra (mais ou menos na parte central do homogenato). Agitou-se o *ependorf* no *vórtex* e incubou-se em banho-maria a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 min. Em seguida, adicionaram-se 100 μL de H_2O_2 1,25 mM, agitou-se novamente no *vórtex* e incubou-se em banho-maria a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 3 min. Em novo *ependorf*, pipetaram-se 200 μL da amostra + 800 μL do reagente de precipitação (600 μL de PCA 70 %; 200 μL de EDTA 100 mM). Agitou-se no *vórtex* e centrifugou-se a 3.000 rpm por 10 min. Enquanto centrifugava, fez-se a solução de ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) 10 mM (0,004 g do DTNB em 1 mL do tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 8,0 + EDTA 5 mM).

No tubo de ensaio, foram postos 200 μL do sobrenadante centrifugado, 1.780 μL do tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 8,0 + EDTA 5 mM e 20 μL do DTNB 10 mM. Além das amostras, fez-se também o branco em triplicata, com 1.780 μL do tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 8,0 + EDTA 5 mM e 20 μL do DTNB 10 mM. Estes tubos foram agitados no *vórtex* e, em seguida, ficaram incubados no escuro durante 10 min. Após a incubação, leu-se no espectrofotômetro a 412nm. Posteriormente, fez-se o cálculo.

6. Análise estatística

A análise dos dados foi realizada, utilizando-se do programa estatístico SAS v.9.1 (SAS INSTITUTE, 2002-2003). Foram conduzidos testes de normalidade, homocedasticidade e análise de variância dos resultados. Quando identificadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos, a comparação entre níveis foi efetuada por contrastes polinomiais, e regressão para montar a equação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os primeiros 28 dias de experimento (fase de masculinização), as tilápias alimentadas com dietas suplementadas com selênio apresentaram maior comprimento total e TCE em comprimento total (Tabela 03), indicando a necessidade deste mineral para melhor desempenho dos peixes. Porém, não houve diferença entre os tratamentos, com média geral da sobrevivência de $93,48 \pm 5,78$ %, da conversão alimentar aparente de $1,99 \pm 0,42$, do peso de $0,37 \pm 0,04$ g e da uniformidade do lote em peso de $83,55 \pm 10,43$ %.

Na comparação entre fontes de selênio, os peixes que receberam dietas contendo a suplementação com selênio-levedura ($0,25$ mg de selênio kg^{-1} da dieta) apresentaram comprimento total maior quando comparados aos peixes que receberam a mesma dose de selenito de sódio (Tabela 04), indicando que a fonte de selênio influencia no crescimento inicial das tilápias. Piedras et al. (2005) trabalharam com alevinos de jundiá e observaram melhor crescimento e maior uniformidade do lote em grupos alimentados com dieta suplementada com selênio-levedura, em relação à dieta mista ou selenito de sódio. O melhor desempenho de selênio orgânico em relação ao inorgânico também foi verificado pelos autores Lin e Shiau (2005) e Wang et al. (2007), que encontraram melhor resultado para selenometionina, comparado ao selenito de sódio, em dietas para juvenis de garoupa e peixe-dourado.

Tabela 03. Valores de F, coeficiente de variação (CV) e média com desvio-padrão, para sobrevivência (S), conversão alimentar aparente (CAA), peso, comprimento total (CT), taxa de crescimento específico (TCE) do peso e CT, e uniformidade do lote (U) de tilápias-do-nilo alimentadas durante 28 dias, com dieta contendo diferentes fontes e níveis de selênio.

Estatística	Variável							
	S (%)	CAA	Peso (g)	CT (cm)	TCE-P (%)	TCE-CT (%)	U (%)	
F para controle do fatorial	0,34 ^{NS}	1,07 ^{NS}	2,23 ^{NS}	6,12 [*]	2,82 ^{NS}	7,04 [*]	0,91 ^{NS}	
Fatores ração	0,32 ^{NS}	0,04 ^{NS}	1,61 ^{NS}	0,06 ^{NS}	1,47 ^{NS}	0,06 ^{NS}	0,39 ^{NS}	
nível	0,81 ^{NS}	0,70 ^{NS}	0,66 ^{NS}	0,81 ^{NS}	0,61 ^{NS}	0,87 ^{NS}	0,30 ^{NS}	
Ração x nível	1,39 ^{NS}	2,34 ^{NS}	2,24 ^{NS}	3,41 [*]	2,02 ^{NS}	3,16 [*]	0,84 ^{NS}	
CV (%)	6,23	20,3	10,95	3,63	11,82	3,82	10,96	
Médias								
Sem suplementação de Se	92,0±15,4	2,20±0,44	0,32±0,06	2,50±0,06 ^B	3,03±0,62	3,22±0,17 ^B	88,4±14,7	
Com suplementação de Se	93,7±15,6	1,98±0,42	0,35±0,07	2,67±0,07 ^A	3,37±0,38	3,40±0,13 ^A	82,9±9,9	
Se orgânico	95,3±4,0	1,68±0,46	0,39±0,05	2,79±0,10	3,78±0,47	3,56±0,2	84,6±16,6	
0,50mg.Se	92,7±11,7	2,47±0,59	0,33±0,02	2,60±0,06	3,21±0,24	3,30±0,09	84,6±14,0	
0,75mg.Se	94,0±17,5	1,87±0,48	0,35±0,04	2,64±0,10	3,39±0,41	3,36±0,14	82,7±9,7	
1,00mg.Se	97,0±22,4	1,94±0,68	0,36±0,04	2,68±0,11	3,44±0,43	3,42±0,15	75,0±9,7	
Média	94,5±15,6	1,99±0,57	0,36±0,04	2,68±0,11	3,46±0,15	3,41±0,15	81,7±12,2	
Na ₂ SeO ₃	97,7±1,5	1,91±0,28	0,33±0,03	2,63±0,09	3,18±0,34	3,35±0,12	86,5±7,4	
0,25mg.Se	97,0±2,9	1,75±0,26	0,37±0,05	2,74±0,15	3,54±0,47	3,49±0,20	78,8±3,8	
0,50mg.Se	89,2±5,3	2,20±0,19	0,32±0,01	2,62±0,04	3,07±0,14	3,34±0,05	84,6±10,9	
0,75mg.Se	89,7±8,0	1,98±0,16	0,35±0,01	2,68±0,01	3,37±0,09	3,42±0,02	86,5±3,8	
1,00mg.Se	93,1±6,1	1,96±0,26	0,34±0,03	2,67±0,09	3,29±0,33	3,40±0,12	84,1±7,2	
Média								

^{NS} Não significativos; ^{*} significativo (p<0,05).

Médias seguidas de letra diferente na vertical diferem estatisticamente (p<0,05).

Tabela 04. Médias com desvios-padrão para comprimento total de tilápias-do-nilo, alimentadas durante 28 dias com dieta contendo diferentes fontes e níveis de selênio.

	Nível de Se suplementado (mg kg ⁻¹)				Sem suplementação de selênio
	0,25	0,50	0,75	1,00	
Se-levedura *	2,79±0,10 ^A	2,60±0,06	2,64±0,10	2,68±0,11	2,50±0,12
Selenito de sódio	2,63±0,09 ^B	2,74±0,15	2,62±0,04	2,68±0,01	2,50±0,12

Médias seguidas de letra diferente na vertical diferem estatisticamente (p<0,05);

* efeito quadrático.

Tabela 05. Médias com desvio-padrão para a taxa de crescimento específico do comprimento total da tilápia-do-nilo, alimentadas durante 28 dias com dieta contendo diferentes fontes e níveis de selênio.

	Nível de Se suplementado (mg kg ⁻¹)				Sem suplementação de selênio
	0,25	0,50	0,75	1,00	
Se-levedura	3,56±0,2 ^A	3,30±0,09	3,36±0,14	3,42±0,15	3,22±0,17
Selenito de sódio	3,35±0,12 ^B	3,49±0,20	3,34±0,05	3,42±0,02	3,22±0,17

Médias seguidas de letra diferente na vertical diferem estatisticamente (p<0,05);

Houve efeito quadrático dos níveis suplementados de selênio orgânico para comprimento total (Figura 02), com menor valor encontrado para suplementação com 0,69 mg kg⁻¹ da dieta. Na suplementação com selênio, acima de 0,25 mg kg⁻¹ da dieta, a tendência é reduzir o comprimento total.

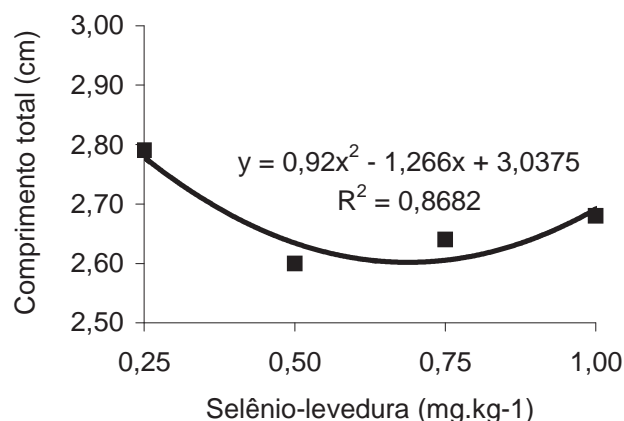


Figura 02. Comprimento total para a tilápia-do-nilo, aos 28 dias de cultivo com selênio orgânico.

Na suplementação com selênio-levedura, de $0,25 \text{ mg Se kg}^{-1}$ da dieta, os peixes apresentaram maior comprimento total, aparentando ser suficiente o selênio suplementado aos peixes.

Não foi verificada diferença quanto à composição química da tilápia-do-nylo, apresentando média geral de 82,4 % (umidade), 13,1 % (proteína bruta), 1,5 % (extrato etéreo) e 2,7 % (matéria mineral).

Aos 84 dias de cultivo, o peso e o comprimento total das tilápias-do-nylo alimentadas com dieta suplementada apresentaram diferenças em relação àquelas que não foram suplementadas com selênio (Figura 03 e Tabela 06). O mesmo comportamento ocorreu para a taxa de crescimento específico de peso e comprimento total ($p < 0,05$) (Tabela 06). Por outro lado, não ocorreram diferenças entre os níveis de selênio-levedura e selenito de sódio para os demais parâmetros avaliados.

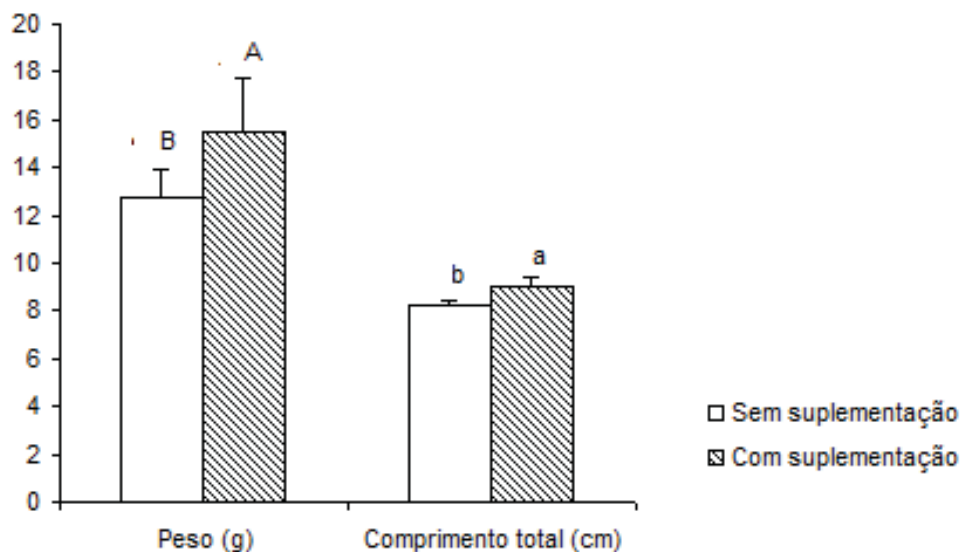


Figura 03. Peso (g) e comprimento total (cm) da tilápia-do-nylo aos 84 dias de cultivo, alimentadas com dietas sem suplementação e com suplementação de selênio ($p < 0,05$).

O maior peso e comprimento final nos peixes que receberam dietas suplementadas indicam a importância desse mineral na alimentação de tilápias. Os peixes suplementados com selênio apresentaram maior taxa de crescimento

específico para o peso e o comprimento, indicando a necessidade deste microelemento para o bom desempenho da tilápia-do-nilo. Vários autores também verificaram a necessidade da suplementação alimentar com selênio para o melhor crescimento em peso para peixes, sendo a exigência de $0,25 \text{ mg kg}^{-1}$ da dieta para bagre-do-canal (GATLIN III; WILSON, 1984) e $0,7 \text{ mg kg}^{-1}$ dieta para juvenis de bagre-africano (LIN; SHIAU, 2005). O melhor crescimento também foi observado por Bell et al. (1987), quando suplementaram com $0,94 \text{ mg kg}^{-1}$ da dieta para salmão-do-atlântico, por Monteiro et al. (2007), suplementando $1,5 \text{ mg kg}^{-1}$ da dieta para matrinxã e Wang et al. (2007) e Zhou et al. (2009) com $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ da dieta para peixe-dourado, comparada à dieta sem suplementação.

No presente estudo, não ocorreram diferenças entre os peixes quanto à sobrevivência, CAA, IHS e uniformidade do lote (Tabela 06), com a seguinte média geral: sobrevivência ($73,42 \pm 17,98 \%$), CAA ($1,69 \pm 0,34$), IHS ($1,55 \pm 0,21 \%$) e uniformidade do lote ($52,4 \pm 17,8 \%$). Os peixes apresentaram muita heterogeneidade dentro do mesmo grupo. Isso pode ter sido devido à fase de crescimento, quando é evidenciada muita dominância entre os peixes.

Os valores da composição química do filé da tilápia-do-nilo não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos ($p > 0,05$). As médias obtidas ao final do estudo foram: umidade ($78,0 \pm 0,6 \%$), proteína bruta ($19,0 \pm 0,3 \%$), extrato etéreo ($1,3 \pm 0,2 \%$), matéria mineral ($1,25 \pm 0,1 \%$) e selênio ($0,29 \pm 0,06 \text{ mg}$). Em relação ao selênio, Elia et al. (2011) alimentaram carpa comum com $0,25$ e $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ e verificaram concentração abaixo de $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ de selênio no filé.

Tabela 06. Valores de F, coeficiente de variação (CV) e média com desvio-padrão para sobrevivência, conversão alimentar aparente (CAA), peso, comprimento total (CT), taxa de crescimento específico (TCE) de peso e CT, índice hepatossomático (IHS), uniformidade do lote em peso (U) e selênio, no filé da tilápia-do-nilo alimentada por 84 dias, com dieta contendo diferentes fontes e níveis de selênio.

Estatística	Variável									
	Sobrevivência (%)	CAA	Peso (g)	CT (cm)	TCEP (%)	TCECT (%)	IHS	U (%)	Selênio no filé (mg.kg ⁻¹)	
F para controle do fatorial	0,31 ^{NS}	0,15 ^{NS}	5,18 [*]	9,03 [*]	5,35 [*]	9,89 [*]	0,31 ^{NS}	0,74 ^{NS}	0,69 ^{NS}	
Fatores ração	0,02 ^{NS}	0,45 ^{NS}	0,11 ^{NS}	0,24 ^{NS}	0,15 ^{NS}	0,28 ^{NS}	0,02 ^{NS}	0,21 ^{NS}	0,09 ^{NS}	
nível	0,04 ^{NS}	0,39 ^{NS}	0,66 ^{NS}	0,58 ^{NS}	0,67 ^{NS}	0,69 ^{NS}	0,04 ^{NS}	0,55 ^{NS}	0,01 ^{NS}	
ração x nível	0,04 ^{NS}	0,64 ^{NS}	0,67 ^{NS}	0,80 ^{NS}	0,45 ^{NS}	0,72 ^{NS}	0,04 ^{NS}	0,13 ^{NS}	0,09 ^{NS}	
CV (%)	28,35	22,14	15,09	5,09	3,31	2,35	27,14	36,79	25,71	
Médias										
Sem suplementação de Se	68,0±15,3	1,76±0,31	12,71±1,25 ^B	8,27±0,19 ^B	5,40±0,12 ^B	2,48±0,03 ^B	1,47±0,25	44,57±19,60	0,26±0,02	
Com suplementação de Se	74,0±16,9	1,67±0,36	15,47±2,26 ^A	8,99±0,45 ^A	5,63±0,18 ^A	2,58±0,06 ^A	1,57±0,21	53,40±17,68	0,29±0,07	
Se-levedura	0,25mg.Se	76,3±13,7	1,70±0,35	14,93±1,46	8,92±0,31	5,59±0,12	2,57±0,04	1,67±0,21	61,68±8,82	0,28±0,06
	0,50mg.Se	76,5±17,4	1,48±0,22	15,35±1,38	8,90±0,28	5,63±0,11	2,57±0,04	1,50±0,29	53,52±9,61	0,29±0,07
	0,75mg.Se	75,0±31,6	1,85±0,19	15,05±2,59	8,98±0,46	5,59±0,22	2,58±0,06	1,50±0,16	58,33±21,52	0,29±0,10
	1,00mg.Se	71,3±20,0	1,53±0,33	17,07±2,85	9,32±0,26	5,74±0,21	2,62±0,03	1,60±0,08	46,33±7,80	0,30±0,05
Média		74,9±19,4	1,64±0,29	15,6±2,14	9,03±0,35	5,64±0,17	2,58±0,04	1,57±0,04	54,96±13,20	0,29±0,06
Na ₂ SeO ₃	0,25mg.Se	76,7±34,4	1,77±0,16	15,03±1,88	8,84±0,78	5,59±0,23	2,55±0,10	1,50±0,34	52,23±32,36	0,31±0,07
	0,50mg.Se	72,0±17,7	1,66±0,52	16,58±2,59	9,21±0,40	5,71±0,20	2,61±0,05	1,62±0,13	48,40±35,45	0,29±0,10
	0,75mg.Se	71,7±22,4	1,66±0,56	14,61±3,12	8,82±0,62	5,55±0,26	2,56±0,09	1,60±0,14	58,12±5,54	0,30±0,06
	1,00mg.Se	74,3±27,3	1,83±0,51	15,13±1,46	8,94±0,46	5,61±0,12	2,57±0,06	1,55±0,31	48,33±12,50	0,29±0,10
Média		73,5±23,5	1,73±0,042	15,34±2,44	8,95±0,55	5,71±0,20	2,57±0,07	1,57±0,23	51,74±21,84	0,30±0,07

^{NS} Não significativo; ^{*} significativo a p<0,05.

Médias seguidas de letra diferente na vertical diferem estatisticamente.

A atividade da enzima glutaciona peroxidase, responsável pelo combate a radicais livres, foi maior nas dietas suplementadas com selênio comparada à dieta sem suplementação, tanto no fígado quanto no músculo da tilápia-do-nylo, aos 84 dias de cultivo (Tabela 07). Em dietas suplementadas com selênio orgânico, a atividade da enzima aumentou linearmente com o aumento dos níveis de suplementação tanto no fígado como no músculo dos peixes estudados.

Tabela 07. Valores de F, coeficiente de variação (CV) e média com desvio-padrão, para a atividade da enzima glutaciona peroxidase no fígado e músculo da tilápia-do-nylo alimentada por 84 dias, com dieta contendo diferentes fontes e níveis de selênio.

Estatística	Variável		
	Atividade da enzima GPx no fígado ($\mu\text{mol}/\text{min}$)	Atividade da enzima GPx no músculo ($\mu\text{mol}/\text{min}$)	
F para controle do fatorial	5,55 *	5,41 *	
Fatores ração	2,70 ^{NS}	3,48 ^{NS}	
nível	3,97 *	3,32 *	
ração x nível	1,33 ^{NS}	0,69 ^{NS}	
CV (%)	0,15	0,11	
Médias			
Sem suplementação de selênio	0,06632 \pm 0,00008 ^B	0,06627 \pm 0,00005 ^B	
Com suplementação de selênio	0,06643 \pm 0,00011 ^A	0,06634 \pm 0,00008 ^A	
Selênio orgânico *	0,25mg	0,06632 \pm 0,00013	0,06634 \pm 0,00008
	0,50mg	0,06644 \pm 0,00005	0,06633 \pm 0,00008
	0,75mg	0,06638 \pm 0,00013	0,06635 \pm 0,00009
	1,00mg	0,06648 \pm 0,00004	0,06644 \pm 0,00005
Selenito de sódio	0,25mg	0,06635 \pm 0,00017	0,06634 \pm 0,00009
	0,50mg	0,06646 \pm 0,00011	0,06629 \pm 0,00009
	0,75mg	0,06654 \pm 0,00005	0,06630 \pm 0,00009
	1,00mg	0,06648 \pm 0,00004	0,06636 \pm 0,00004

^{NS} Não significativo a $p < 0,05$; * = significativo a $p < 0,05$.

Médias seguidas de letra diferente na vertical diferem estatisticamente.

* efeito linear. $y = 0,0002x + 0,0663$ ($r^2 = 0,60$) no fígado e $y = 0,0001x + 0,0663$ ($r^2 = 0,66$) no filé.

O aumento dos valores da atividade da glutaciona peroxidase nos peixes suplementados com selênio, comparados aos que não foram suplementados, é um resultado esperado, pois esta enzima é selênio-dependente. Em outros trabalhos, a suplementação de selênio na dieta proporcionou maior atividade da glutaciona peroxidase no plasma da truta-arco-íris (HILTON et al., 1980), de

matrinxã (MONTEIRO et al., 2007) e de salmão-do-atlântico (POSTON et al., 1976), no plasma e fígado de peixe-dourado (WANG et al., 2007) e do bagre-do-canal (GATLIN III; WILSON; 1984). Conforme Monteiro et al. (2007), é importante a suplementação da dieta com selênio, especialmente para melhor crescimento e proteção celular contra o estresse oxidativo, com o aumento das defesas dos organismos contra ação oxidante. O peixe mais bem protegido pode apresentar melhor desempenho, como indicam os resultados de crescimento no presente estudo.

CONCLUSÃO

A suplementação dietária do selênio melhora o desempenho da tilápia-do-nylo na fase de masculinização e no crescimento de alevinos.

As fontes de selênio interferem no desempenho das tilápias-do-nylo na fase de masculinização, sendo que, na suplementação com 0,25 mg de selênio kg⁻¹ da dieta, o selênio-levedura foi melhor que o selenito de sódio. A suplementação com 0,25 mg de selênio kg⁻¹ da dieta é suficiente para o bom desempenho da tilápia-do-nylo na fase inicial de cultivo.

Mais estudos devem ser realizados para a determinação do nível adequado de selênio dietário.

10. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABDEL-TAWWAB, M.; MOUSA, M. A. A.; ABBASS, F. E. Growth performance and physiological response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.) fed organic selenium prior to the exposure to environmental copper toxicity. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 272, p. 335-345, 2007.

ABDEL-TAWWAB, M.; WAFEEK, M. Response of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) to environmental cadmium toxicity during organic selenium supplementation. **8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture**, Cairo, p.415-430, 2008. Disponível em <<http://ag.arizona.edu/azaqua/ista/ISTA8/ProceedingsISTA8.htm>>. Acesso em: 30 jan. 2012.

ANDRIGUETO, J.M.; PERLI, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J.S.; SOUZA, G.A.; BONA FILHO, A. **Nutrição animal**. v. 1. 5. ed. São Paulo: Nobel, 1981. 395 p.

ASIAN DEVELOPMENT BANK. **An impact evaluation of the development of Genetically Improved Farmed Tilapia**: and their dissemination in selected countries. Mandaluyong, Asian Development Bank, 2005. 77p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists**. 14. ed., 1984. p 164.

ATENCIO, L.; MORENO, I.; JOS, A.; PRIETO, A. I.; MOYANO, R.; BLANCO, A.; CAMEÁN, A. M. Effects of dietary selenium on the oxidative stress and pathological changes in tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to a microcystin-producing cyanobacterial water bloom. **Toxicon**, Oxford, v. 53, p. 269-282, 2009.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2002. 212p.

BARREIROS, A. L. B.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BELL, J. G.; COWEY, C. B. Digestibility and bioavailability of dietary selenium from fishmeal, selenite, selenomethionine and selenocystine in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 81, p. 61-68, 1989.

BELL, J. G.; COWEY, C. B.; ADRON, J. W. Some effects of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 53, p. 149-157, 1985.

BELL, J. G.; COWEY, C. B.; ADRON, J. W.; PIRIE, B. J. S. Some effects of selenium deficiency on enzyme activities and indices of tissue peroxidation in Atlantic salmon Parr (*Salmo salar*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 65, p. 43-54, 1987.

BELL, J. G.; PIRIE, B. J. S.; ADRON, J. W.; COWEY, C. B. Some effects of selenium deficiency on glutathione peroxidase (EC I. 11.1.9) activity and tissue pathology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 55, p. 305-311, 2003.

BJERREGAARD, P.; ANDERSEN, B. W.; RANKIN, J. C. Retention of methyl mercury and inorganic mercury in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (W): effect of dietary selenium. **Aquatic toxicology**, Amsterdam, v. 45, p. 171-180, 1999.

BOSCOLO, W. R.; SIGNOR, A.; FEIDEN, A.; BOMBARDELLI, R. A.; SIGNOR, A. A.; REIDEL, A. Energia digestível para larvas de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) na Fase de Reversão Sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 1.813-1.818, 2005.

COMBS JR., G. F.; COMBS, S. B. The nutritional biochemistry of selenium. **Annual Review of Nutrition**, Polo Alto, v. 4, p. 257-280, 1984.

CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSO, D. M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva**. Editado por José Eurico P. Cyrino...(et al.) -- São Paulo: TecArt, 2004. 533p.

ELIA, A. C.; PREARO, M.; PACINI, N.; DÖRR, A. J. M.; ABETE, M. C. Effects of selenium diets on growth, accumulation and antioxidant response in juvenile carp. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Duluth, v. 74, p. 166-173, 2011.

EL-SAYED, A.-F. M. **Tilapia culture**. USA: CABI publishing, 2006. 277p.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA)**. Rome: FAO, 2010. 197 p.

FERREIRA, K. S.; GOMES, J. C.; BELLATO, C. R.; JORDÃO, C. P. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health**, Washington, v. 11, n. 3, p. 172-177, 2002.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FÜLBER, V. M.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L. D.; BRACCINI, G. L.; MARENGONI, N. G.; GODOY, L. C. Desempenho produtivo de três linhagens de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dois níveis de proteína. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 77-83, 2010.

GATLIN III, D. M.; WILSON, R. P. Dietary selenium requirement of fingerling channel catfish. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 114, n. 3, p. 627-33, 1984.

GATLIN III, D. M.; POE, W. E.; WILSON, R. P. Effects of singular and combined dietary deficiencies of selenium and vitamin e on fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 116, p. 1.061-1.067, 1986.

GOMES, G. R. **Suplementação de selênio orgânico nas dietas de tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2008. 48 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

HAFEMAN, D. G.; SUNDE, R. A.; HOEKSTRA, W. G. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 104, p. 580-587, 1974.

HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Ed.) **Fish Nutrition**. 3. ed. Halver J. E.; Hardy, R. W. (Ed.), 2002. 824 p.

HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R.; SOARES, C. M.; MEURER, F. Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*), durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 823-828 (suplemento), 2002.

HELRICH, K. ed. **Official Methods of Analysis**. 2 v. AOAC, 1990. 1.422 p.

HILTON, J. W.; HODSON, P. V. Effect of increased dietary carbohydrate on selenium metabolism and toxicity in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 113, p. 1.241-1.248, 1983.

HILTON, J. W.; HUDSON, P. V.; SLINGER, S. J. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo Gairdneri*). **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 110, p. 2.527-2.535, 1980.

HILTON, J. W.; HUDSON, P. V.; SLINGER, S. J. Possible routes of elimination of dietary selenium in juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v. 79C, p. 49-55, 1982.

HODSON, P. V.; HILTON, J. W. The nutritional requirements and toxicity to fish of dietary and waterborne selenium. **Environmental Biogeochemistry Ecol.**, Stockholm, v. 35, p. 335-340, 1983.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v.1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 4. ed. Brasília, 2005. p. 740.

KIM, K.-W.; WANG, X.; CHOI, S.-M.; PARK, G.-J.; KOO, J.-W.; BAI, S. C. No synergistic effects by the dietary supplementation of ascorbic acid, a-tocopheryl acetate and selenium on the growth performance and challenge test of *Edwardsiella tarda* in fingerling Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 34, p. 1.053-1.058, 2003.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. 2. ed. Jundiaí: F. Kubitza, 2011. 316 p.

KÜÇÜKBAY, F. Z.; YAZULAK, H.; KARACA, I.; SAHIN, N.; TUZCU, M.; KAKMAK, M. N.; SAHIN, K. The effect of dietary organic or inorganic selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under crowding condition. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 15, n. 6, p. 569-576, 2009.

LALL, S. P. The mineral nutrition. In: Halver J. E.; Hardy, R. W. (Ed.). **Fish Nutrition**. 3. ed. Halver J. E. & Hardy, R. W. (Ed.), 2002. p.259-308.

LEMLY, A. D. Metabolic stress during winter increases the toxicity of selenium to fish. **Aquatic toxicology**, Amsterdam, v. 27, p. 133-158, 1993.

LEMLY, A. D. Symptoms and implications of selenium toxicity in fish: the Belews Lake case example. **Aquatic toxicology**, Amsterdam, v. 57, p. 37-49, 2002.

LI, H.; ZHANG, J.; WANG, T.; LUO, W.; ZHOU, Q.; JIANG, G. Elemental selenium particles at nano-size (Nano-Se) are more toxic to Medaka (*Oryzias latipes*) as a consequence of hyper-accumulation of selenium: A comparison with sodium selenite. **Aquatic toxicology**, Amsterdam, v. 89, p. 251-256, 2008.

LIN, Y.-H.; SHIAU, S.-Y. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 250, p. 356-363, 2005.

LIN, Y.-H.; SHIAU, S.-Y. Mutual sparing of dietary requirements for alpha-tocopherol and selenium in grouper, *Epinephelus malabaricus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 294, p. 242-245, 2009.

LIN, Y.-H.; SHIAU, S.-Y. The effects of dietary selenium on the oxidative stress of grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed high copper. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 267, p. 38-46, 2007.

LORENTZEN, M.; MAAGE, A.; JULSHAMN, K. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 121, p. 359-367, 1994.

MCKENZIE, R. C.; RAFFERTY, T. S.; BECKETT, G. J. Selenium: an essential element for immune function. **Immunology Today**, Cambridge, v. 19, n. 8, 342-345, 1998.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. 2010. Produção pesqueira e aquícola: Estatística 2008 e 2009. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/dados/2010/Docs/Caderno%20Consolida%C3%A7%C3%A3o%20dos%20dados%20estatiscos%20final%20curvas%20-%20completo.pdf>. Acesso em: 28 out. 2011.

MONTEIRO, D. A.; RANTIN, F. T.; KALININ, A. L. Uso do selênio na dieta de matrinxã, *Brycon cephalus*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 8, n.1, p. 32-47, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirement of Fish**. United States of America: National Academy of Sciences, 1993. 124p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirement of Fish and shrimp**. United States of America: National Academy of Sciences, 2011. 376p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Selenium in nutrition**, revised edition. United States of America: National Academy of Sciences, 1983. 174p.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: SARVIER, 2006. 1202p.

NG, W.-K.; HANIM, R. Performance of genetically improved Nile tilapia compared with red hybrid tilapia fed diets containing two protein levels. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 38, n. 9, p. 965-972, 2007.

NUNES, I. J. **Nutrição animal básica**. 2. ed. Belo Horizonte: FEP-MVZ Editora, 1998. 387p.

ORUN, I.; TALAS, Z. S.; OZDEMIR, I.; ALKAN, A.; ERDOGAN, K. Antioxidative role of selenium on some tissues of (Cd²⁺, Cr³⁺)-induced rainbow trout. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Duluth, v. 71, p. 71-75, 2008.

PEREIRA, T. S.; FABREGAT, T. E.-H. P.; FERNANDES, J. B. K.; BOSCOLO, C. N.; CASTILLO, J. D. A.; KOBERSTEIN, T. C. R. D. Selênio orgânico na

alimentação de matrizes de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v.31, n. 4, p. 433-437, 2009.

PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSO, D. M.; CASTAGNOLLI, N. (ED.). 2004. **Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva**. Editado por José Eurico P. Cyrino...(et al.) -- São Paulo: TecArt. p. 75-170.

PIEDRAS, S. R. N.; MORAE; P. R. R.; ISOLDI, L. A.; POUHEY, J. L. O. F.; RUTZ, F. Comparação entre o selênio orgânico e o inorgânico empregados na dieta de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 171 - 174, 2005.

POSTON, H. A.; COMBS, JR., G. F.; VITZ, L. L. Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*): gross, histological and biochemical deficiency signs. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 106, p. 892-904, 1976.

RAYMOND, L. J.; RALSTON, N. V. C. Mercury: selenium interactions and health implications. **Seychelles Medical and Dental Journal**, Special Issue, v. 7, n. 1, 72-77, 2004.

RIDER, S. A.; DAVIES, S. J.; JHA, A. N.; CLOUGH, R.; SWEETMAN, J. W. Bioavailability of co-supplemented organic and inorganic zinc and selenium sources in a white fishmeal-based rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, p. 1-12, 2009.a.

RIDER, S. A.; DAVIES, S. J.; JHA, A. N.; FISHER, A. A.; KNIGHT, J.; SWEETMAN, J. W. Supra-nutritional dietary intake of selenite and selenium yeast in normal and stressed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Implications on selenium status and health responses. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 295, p. 282-291, 2009.b.

RUDOLPH, B.-L.; ANDRELLER, I.; KENNEDY, C. J. Reproductive success, early life stage development, and survival of westslopecutthroat trout (*Oncorhynchus clarki lewisi*) exposed to elevated selenium in an area of active coal mining. **Environmental Science & Technology**, Iowa City, v, 42, p. 3.109-3.114. 2008.

SAMPAIO, F. G. **Selênio e vitamina E em dietas para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2003. 86f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

SAS INSTITUTE. **SAS System for Microsoft Windows**, version 9.1. Cary, 2002-2003.

SIMÕES, M. R.; RIBEIRO, C. F. A.; RIBEIRO, S. C. A.; PARK, K. J.; MURR, F. E. X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia-tailandesa (*Oreochromis niloticus*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p 608-613, 2007.

THORARINSSON, R.; LANDOH, M. L.; ELLIOTTB, D. G.; PASCHOB, R. J.; HARDY, R. W. Effect of dietary vitamin E and selenium on growth, survival and the prevalence of *Renibacterium salmoninarum* infection in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 121, p. 343-358, 1994.

TINGGI, U. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 137, p. 103-110, 2003.

TRENZADO, C.; HIDALGO, M. C.; GARCÍA-GALLEGO, M.; MORALES, A. E.; FURNÉ, M.; DOMEZAIN, A.; DOMEZAIN, J.; SANZ, A. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in sturgeon *Acipenser naccarii* and trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 254, p. 758-767, 2006.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. Selenium. In: _____ **The mineral nutrition of livestock**. 3. ed. Midlothian-UK: CABI Publishing, 1999. p. 421-475.

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

WANG, Y.; HAN, J.; LI, W.; XU, Z. Effect of different selenium source on growth performances, glutathione peroxidase activities, muscle composition and selenium concentration of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 134, n. 243–251, 2007.

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

WATANABE, W. O.; LOSORDO, T. M.; FITZSIMMONS, K.; HANLEY, F. Tilapia production systems in the Americas: technological advances, trends, and challenges. **Reviews in Fisheries Science**, Philadelphia, v. 10, n. 3-4, p. 465-498, 2002.

ZHOU, X.; WANG, Y.; GU, Q.; LI, W. Effects of different dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 291, n. 1-2, p. 78-81, 2009.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como os peixes apresentam grande heterogeneidade no crescimento, principalmente em criação em cativeiro devido à dominância, fato natural em produção das tilápias, a não obtenção de diferenças estatísticas pode ser atribuída a este fator. Isto pode ser verificado pela elevada variação da uniformidade do lote, obtida neste estudo.

Aos 28 dias de cultivo, apesar de não apresentarem diferenças estatísticas, a conversão alimentar aparente e o peso dos alevinos que receberam dietas suplementados com o selênio foram aproximadamente 10 % melhores em relação aos peixes que não foram suplementados. As tilápias que receberam suplementação com selênio-levedura de 0,25 mg de selênio kg^{-1} da dieta também apresentou melhor conversão alimentar e peso (em torno de 20 %) em relação ao grupo-controle, indicando o selênio-levedura como boa fonte suplementar.

Aos 84 dias, a uniformidade do lote que recebeu a suplementação de 0,25 mg de selênio kg^{-1} da dieta na forma de selênio-levedura aumentou em 27,7 %, quando comparada à dieta-controle. Isto é positivo para a produção, pois quanto mais homogêneo for o lote, melhor serão os benefícios para a indústria de processamento de peixes.

A sobrevivência também não diferiu estatisticamente entre os tratamentos, porém os peixes suplementados com 0,25 mg de selênio. kg^{-1} da dieta (selênio-levedura e selenito de sódio) e com 0,50 mg de selênio kg^{-1} da dieta, na forma de selênio-levedura, apresentaram aproximadamente 10 % a menos de mortalidade em relação ao grupo sem suplementação, o que é economicamente importante em termos produtivos.

APÊNDICE I

PROCEDIMENTO ANALÍTICO-BROMATOLÓGICO PARA SELÊNIO

Procedimento analítico-bromatológico usado por “CBO Análises Laboratoriais”.

Princípios

Baseia-se na extração, por digestão ácida, de selênio contido na amostra e a determinação de sua concentração por meio da técnica de absorção atômica com forno de grafite. É o método de análise usado para determinar qualitativa e quantitativamente a presença de selênio. O método consiste em determinar a presença e a quantidade de um determinado metal em uma solução qualquer, usando como princípio a absorção de radiação ultravioleta por parte dos elétrons que, ao sofrerem um salto quântico depois de devidamente excitados. Uma alíquota é depositada em um forno de grafite e passa pelas etapas de secagem, pirólise e atomização, que devolvem a energia recebida para o meio, voltando assim para a sua camada orbital de origem. A energia devolvida na forma de um fóton de luz, por sua vez, absorve a radiação ultravioleta emitida pela fonte específica do elemento químico em questão. Dessa forma, elétrons que estão contidos na solução, sofrem também um salto quântico. Esses não pertencem ao mesmo elemento que constitui o cátodo oco que está sendo usado no momento e não serão capazes de causar uma interferência, isso porque eles absorverão apenas radiação com comprimento de onda referente ao elemento químico do qual fazem parte.

Equipamentos e acessórios

Balança analítica (exatidão 0,0001g), forno mufla/ forno mufla micro-ondas, estufa para secagem, espectrofotômetro de absorção atômica Analytikjena contAA700, placa aquecedora, digestor de micro-ondas, espátula, cadinho de porcelana A3, pipeta volumétrica, Erlenmeyer, dessecador, pipetador automático com volume ajustável, pinça tenaz, pisseta, béquer, balões volumétricos.

Reagentes e soluções

- Ácido clorídrico p.a (HCl)
- Ácido Nnítrico p.a (HNO₃)
- Peróxido de hidrogênio 50V
- **Solução-Padrão Estoque, de 1.000 mg/L**
- **Solução de Ácido Clorídrico 1:3 v/v** – Diluir uma (1) parte de HCl em três (3) partes de água deionizada e homogeneizar. Proceder exatamente na ordem descrita.
- **Solução de Ácido Clorídrico 1:1 v/v** – Diluir uma (1) parte de HCl em uma (1) parte de água deionizada e homogeneizar. Proceder exatamente na ordem descrita.
- **Solução Padrão de Selênio 10mg L⁻¹** – Partindo da Solução-Padrão Estoque de 1.000mg L⁻¹, realizar a diluição de 1 mL da solução em balão volumétrico de 100 mL, completar com água deionizada e homogeneizar. Armazenar em frasco de polietileno.
- Solução Branco – Pipetar 1ml de ácido clorídrico em balão volumétrico de 100mL, completar o volume com água deionizada e homogeneizar.
- **Soluções-Padrão de Trabalho 50µg L⁻¹** - Partindo da Solução-Padrão de Selênio de 100mg L⁻¹, realizar a diluição de 1 mL da solução em balão volumétrico de 100 mL, adicionar 1 mL de ácido clorídrico, completar com água deionizada e homogeneizar. Armazenar em frasco de polietileno.

Procedimentos

Por digestão em micro-ondas - Aplicação: Todas as amostras.

- a Pesar de 0,1 a 1,1 g da amostra em frasco de TFM do digestor de micro-ondas. Desenvolver paralelamente uma prova em branco e a amostra-controle.
- b Adicionar aproximadamente 5 mL de ácido nítrico P.A. Fechar a cápsula e submeter à digestão (programa 2).

Programa 2	
TEMPO (min)	POTÊNCIA (W)
4	400
4	600
2	0

c Esfriar e adicionar 1 mL de peróxido de hidrogênio. Fechar a cápsula e submeter à digestão (programa 5)

Programa 5	
TEMPO (min)	POTÊNCIA (W)
4	500
1	0
3	790

d Esfriar, fazer as diluições necessárias e filtrar se necessário.

e Ajustar o espectrofotômetro de absorção atômica para a leitura.

f Calibrar o aparelho de espectrofotômetro de absorção atômica. Conferir a calibração, mediante a leitura da amostra-controle.

g Fazer a leitura da concentração da amostra.

Cálculos

Através da curva de calibração (absorbância x concentração), calcular a concentração de selênio.

Equação da Reta: $y = ax + b$

Em que,

y = absorbância;

x = concentração de selênio;

a = coeficiente angular da reta;

b = coeficiente linear da reta.

Fluxograma da análise bromatológico de selênio

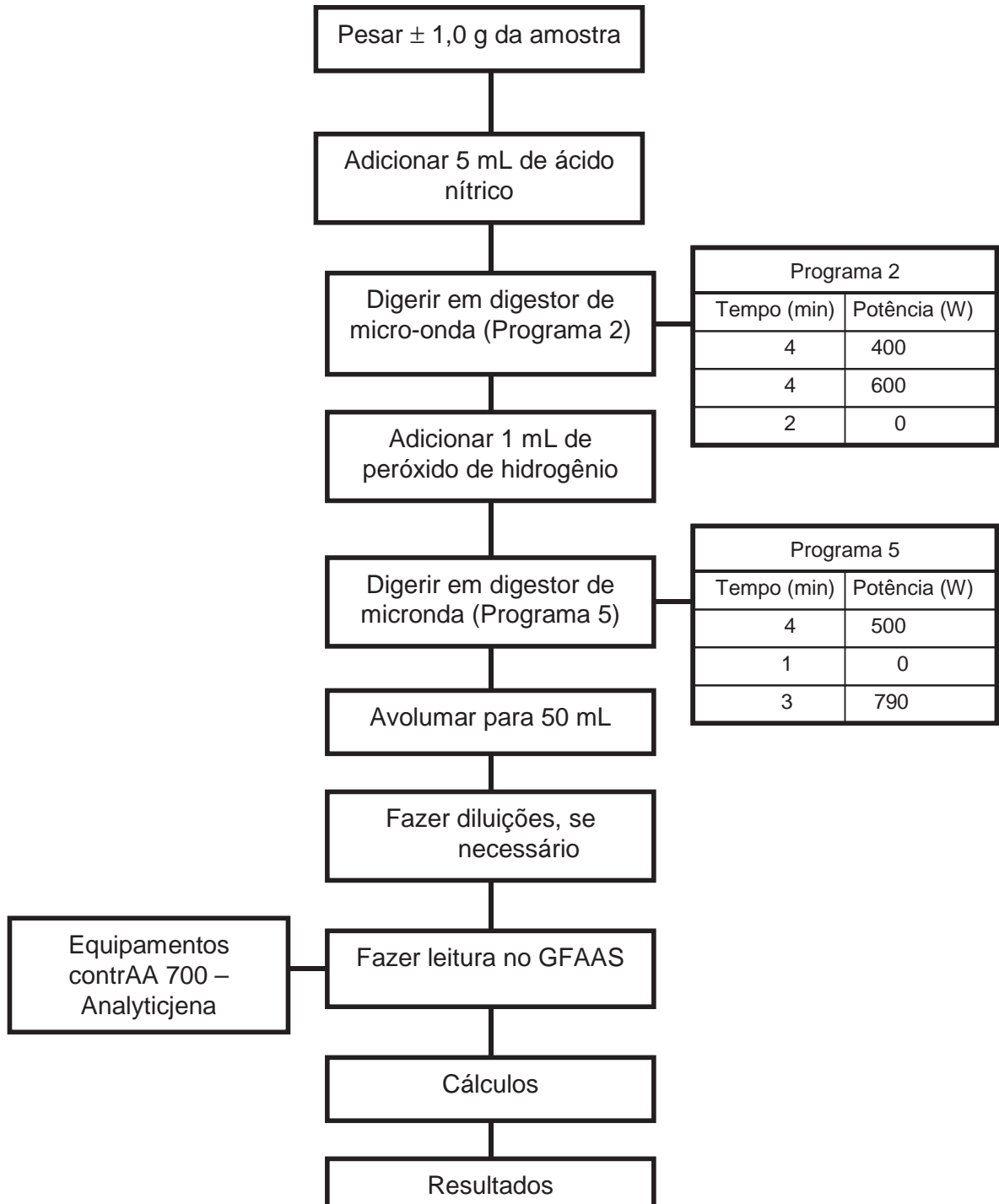


Figura 04. Fluxograma dos procedimentos analítico-bromatológicos de selênio.