

**SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA E NA
ALIMENTAÇÃO DE TAMBACUS (*Colossoma
macropomum x Piaractus mesopotamicus*)**

ANTÔNIO CARLOS SILVEIRA GONÇALVES

2009

ANTÔNIO CARLOS SILVEIRA GONÇALVES

**SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA E NA ALIMENTAÇÃO DE
TAMBACUS (*Colossoma macropomum x Piaractus mesopotamicus*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Luis David Solis Murgas

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Gonçalves, Antônio Carlos Silveira.

Suplementação de vitamina E na alimentação de tambacus
(*Colossoma macropomum x Piaractus mesopotamicus*) / Antônio Carlos
Silveira Gonçalves. – Lavras : UFLA, 2009.

69 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Luis David Solis Murgas.

Bibliografia.

1. Peixe. 2. Suplemento. 3. Desempenho. 4. Atividade enzimática. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 636.08528

- 597

ANTÔNIO CARLOS SILVEIRA GONÇALVES

**SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA E NA ALIMENTAÇÃO DE
TAMBACUS (*Colossoma macropomum x Piaractus mesopotamicus*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 30 de julho de 2009

Prof^ª. Paula Adriane Perez Ribeiro UNIFENAS

Prof. Edgar de Alencar Teixeira UFMG

Prof. Rodrigo Diana Navarro UFLA

Prof. Luis David Solis Murgas
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Dedico,

À minha família, em especial meus pais (Antonio e Raquel),
melhores orientadores e meus exemplos de vida;
às minhas queridas irmãs (Aline e Alessandra),
orgulhos de minha vida; A Deus,
por cada dia vivido.

“Os Amo e Admiro!”

Ofereço,

A Lígia, meu grande Amor, por todo companheirismo,
carinho, atenção, dedicação, apoio incondicional;
minha fonte de inspiração e forças.

“Obrigado por fazer parte de minha vida!”

*“No dom da sabedoria o homem
encontra sua existência”
(Autoria própria)*

AGRADECIMENTOS

A Nossa Senhora de Fátima e São Francisco de Assis por sempre estarem ao meu lado e atenderem minhas preces;

À minha família por toda dedicação e apoio, sempre acreditando em meus sonhos e ideais; A Lígia por toda compreensão, paciência e amor;

Ao Prof. Luis David Solis Murgas, meu orientador, por todo apoio, ensinamentos, oportunidade profissional e confiança em meu trabalho;

Aos meus co-orientadores Prof^a. Priscila Vieira e Rosa e Prof. Edgar de Alencar Teixeira, pela amizade e incentivo;

Aos professores: Paula A. P. Ribeiro (Unifenas), Márcio G. Zangerônimo, Mário C. Guerreiro, Rilke T. F. Freitas, Luciano (Bioquímica), Danilo W. Filho (UFSC), por toda colaboração e apoio;

Aos pesquisadores e companheiros de experimento, Daniella A. J. Paula (Mestranda), Rodrigo D. Navarro (pós-Doutorando), Diego V. Costa (Graduando), e aos Doutorandos Leandra Melo (DMV), Pedro Martins (Fitopatologia), Felipe G. Araújo e Daniel Okamura (DZO), por toda amizade e auxílio em campo e em laboratório;

Aos amigos Wellington F. Silva, Leonardo L. Calado, Adriano C. Costa, Marcel G. Paixão, Galileu Crovato, Marinez Moraes, Maria Auxiliadora, pela ajuda, companhia e carinho;

Aos amigos Leandro Santos, Raquel Melo, José Carlos, Tamira Orlando, Aline Mayra (UFMS), Amanda Trevizan, Thaís Nakane, Gilmara Junqueira pela prontidão e disposição;

Aos funcionários da Estação de Piscicultura da UFLA, Eleci Pereira e José Roberto, pela amizade e auxílio em campo;

Aos funcionários dos Laboratórios da UFLA: William (Fisiologia e Farmacologia), Eliana dos Santos (Nutrição Animal) e aos secretários da Pós-graduação Carlos (Zootecnia) e Berin (Veterinária) pela colaboração e amizade;

À piscicultura Águas Claras pelo fornecimento dos peixes; À empresa Vaccinar pela doação dos premix; À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo suporte financeiro; À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realização do Curso;

A todos que participaram ou participam de minha vida, ajudando-me a tornar-me uma pessoa melhor, contribuindo para meu crescimento pessoal e profissional,

Muito Obrigado!!!

BIOGRAFIA

ANTÔNIO CARLOS SILVEIRA GONÇALVES, filho de Antonio Gonçalves da Silva e Maria Raquel da Silveira Nery Silva, nasceu em Belo Horizonte, estado de Minas Gerais, em 15 de janeiro de 1983.

Em agosto de 2003 iniciou o Curso de Graduação em Zootecnia pela Universidade Federal de Lavras, formando-se em 01 de março de 2008.

Em 03 de março de 2008 iniciou o Curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Lavras, com concentração em Produção de Monogástricos, submetendo-se ao exame final de dissertação no dia 30 de julho de 2009, para obtenção do título de “Mestre”.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 OBJETIVOS.....	03
2.1 Objetivo geral.....	03
2.2 Objetivos específicos.....	03
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	04
3.1 Características da espécie.....	04
3.1.1 Tambacu.....	04
3.2 Radicais livres.....	06
3.2.1 Estresse oxidativo.....	07
3.3 Antioxidantes celulares.....	08
3.4 Vitaminas.....	09
3.4.1 Vitamina E.....	11
3.5 Selênio.....	15
3.6 Enzima glutaciona peroxidase.....	17
3.7 Variáveis hematológicas.....	19
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1 Local e período experimental.....	22
4.2 Material biológico e ambiente.....	22
4.3 Dietas experimentais.....	23
4.4 Coletas experimentais.....	25
4.5 Metodologia analítica.....	26

4.5.1 Preparação do homogenato.....	26
4.5.2 Atividade da glutatona peroxidase (EC 1.11.1.9).....	26
4.5.3 Avaliação hematológica.....	28
4.6 Variáveis analisadas.....	28
4.7 Delineamento experimental.....	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1 Variáveis de qualidade da água de cultivo.....	31
5.2 Desempenho zootécnico.....	32
5.3 Parâmetros hematológicos.....	38
5.4 Parâmetro enzimático.....	40
6 CONCLUSÕES.....	44
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
ANEXOS.....	62

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Principais agentes de defesa antioxidante.....	09
TABELA 2	Valores máximos e mínimos de qualidade da água: temperatura, teor de oxigênio dissolvido (OD), pH e amônia.....	23
TABELA 3	Composições percentuais, químicas e calculadas da dieta basal.....	24
TABELA 4	Médias das variáveis da água de cultivo para tambacus alimentados com dietas suplementadas com vitamina E.....	31
TABELA 5	Médias das variáveis peso final (PF), comprimento total (CT) e comprimento padrão (CP), analisadas para tambacu, em função da suplementação de vitamina E na dieta.....	32
TABELA 6	Médias das variáveis ganho de peso (GP), ganho de peso diário (GPD), taxa de eficiência protéica (TEP) e conversão alimentar aparente (CAA), analisadas para tambacu, em função da suplementação de vitamina E na dieta.....	34
TABELA 7	Porcentagens dos índices viscerossomático (IVS) e hepatossomático (IHS), analisadas para tambacu, em função da suplementação de vitamina E na dieta.....	36
TABELA 8	Características hematológicas de tambacus alimentados com diferentes níveis de suplementação de vitamina E na dieta.....	38

TABELA 9	Análise hepática da atividade da glutathiona peroxidase (GPx) em tambacus alimentados com suplementação de vitamina E na ração.....	41
----------	---	----

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Tambacu.....	05
FIGURA 2	Principais reações precursoras de radicais livres.....	06
FIGURA 3	Formas estruturais da vitamina E.....	12
FIGURA 4	Disposição das caixas durante o experimento.....	22
FIGURA 5	Atividades da glutatona peroxidase e glutatona redutase.....	27
FIGURA 6	Fotomicroscopia dos eritrócitos de tambacus recebendo suplementação de vitamina E na dieta (objetiva de imersão à óleo – 1000x).....	39

RESUMO

GONÇALVES, Antônio Carlos Silveira. **Suplementação de vitamina E na alimentação de tambacus (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*)**. 2009. 69p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

Os peixes necessitam de alimentos ricos em nutrientes essenciais a seu metabolismo para manutenção e produção, como as vitaminas e os minerais. Dessa forma, objetivou-se determinar a exigência de vitamina E para o híbrido tambacu (*C. macropomum* x *P. mesopotamicus*), suplementada na ração, com inclusão de selênio, observando variáveis de desempenho: peso final, comprimento total, comprimento padrão, ganho de peso, ganho de peso médio, taxa de eficiência protéica, conversão alimentar aparente e índices viscerossomático e hepatossomático; variáveis hematológicas: número de eritrócitos, % de hematócrito, taxa de hemoglobina, volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média; e atividade enzimática da glutatona peroxidase. O experimento foi realizado na Estação de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Brasil, com duração de 65 dias. Foram utilizados 250 tambacus com peso e comprimento médios iniciais de 12,12 g e 8,92 cm, respectivamente, divididos em 25 caixas (100 L), abastecidas por sistema fechado de recirculação com filtragem biológica, fluxo contínuo de água, controle de temperatura. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (08:00-16:00 h), sendo a taxa de arraçoamento de 2,5% do peso vivo, reajustada semanalmente. Para dieta basal foi feita ração peletizada com 32% de PB e 3300 kcal de ED kg⁻¹, com inclusão de 0,40 mg de Se kg⁻¹ da ração. As dietas teste (isoprotéicas e isoenergéticas) foram compostas de dieta basal + níveis crescentes de vitamina E (0, 100, 200, 300, 400 mg kg⁻¹ de dieta), em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, com as médias dos tratamentos comparadas pelo teste SNK (P<0,05). Relacionados ao desempenho, os níveis de suplementação de vitamina E na alimentação dos tambacus não influenciaram de forma significativa (P>0,05) o comprimento total e índices viscerossomático e hepatossomático. Houve resposta significativa (P<0,05) para peso final e conversão alimentar aparente, em que os animais, recebendo suplementação da vitamina E (a partir de 100 mg), foram mais eficientes no desenvolvimento e aproveitamento da dieta. Para resposta de comprimento padrão, ganho de peso, ganho de peso diário e taxa de eficiência protéica foi necessário o nível de 400 mg de vitamina E para melhora no crescimento e aproveitamento de proteína da ração. As variáveis sanguíneas não

¹ Comitê Orientador: Luis David Solis Murgas – UFLA (Orientador); Priscila Vieira Rosa – UFLA e Edgar de Alencar Teixeira – UFMG.

apresentaram alterações significativas ($P>0,05$), indicando que os peixes apresentavam-se em equilíbrio fisiológico, livres de doenças. Quanto à atividade enzimática da glutathiona peroxidase, não houve efeito significativo ($P>0,05$) entre os tratamentos, evidenciando que a vitamina E não está diretamente relacionada com a enzima. Para obtenção de resposta positiva na produção de tambacus na fase inicial, foi necessária uma dose mínima de 100 mg de vitamina E kg^{-1} suplementada na dieta.

ABSTRACT

GONÇALVES, Antônio Carlos Silveira. **Supplementation of vitamin E in feed for tambacus (*Colossoma macropomum x Piaractus mesopotamicus*)**. 2009. 69p. Dissertation (Master degree in Animal Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

Fish need foods richer in essential nutrients to metabolism for maintenance and production, such as vitamins and minerals. Thus, the objective of this study was to determine vitamin E requirement for hybrid Tambacu (*C. macropomum x P. mesopotamicus*), supplemented in the diet, with inclusion of selenium, observing the performance variables: final weight, total length, standard length, weight gain, average weight gain, protein efficiency rate, feed conversion and apparent hepatosomatic index; haematological variables: number of erythrocytes, % of hematocrit, hemoglobin level, mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin concentration, and enzyme activity of glutathione peroxidase. The experiment was conducted at the Fish Station of Federal University of Lavras (UFLA), Brazil, with 65 days of duration. 250 tambacus were used with initial average weight and length of 12.12 g and 8.92 cm, respectively, divided by 25 boxes (100 L), supplied with recirculation closed system with biological filtration, continuous water flow, control of temperature. Fish were fed twice daily (08:00-16:00 h), and the rate of food 2.5% of body weight, adjusted weekly. For basal diet, was used pelleted diet with 32% CP and 3300 kcal DE kg⁻¹, with inclusion of 0.40 mg of Se kg⁻¹ of ration. The test diets (isonitrogenous and isoenergetic) were composed of basal diet with increasing levels of vitamin E (0, 100, 200, 300, 400 mg kg⁻¹ of diet), in entirely randomized delimitation with five treatments and five repetitions. Data were submitted to variance analysis, with treatments averages compared by SNK test (P<0.05). Related to performance, levels of vitamin E in feed for tambacus not affected significantly (P>0.05) the total length, viscerosomatic and hepatosomatic index. There was a significant response (P<0.05) for final weight and feed conversion apparent in the animals receiving vitamin E supplementation (from 100 mg) were more efficient in the development and use of the diet. Response to standard length, weight gain, daily weight gain and protein efficiency rate was necessary to the level of 400 mg of vitamin E to improve the growth and use of the protein diet. The blood variables showed no significant changes (P>0.05), indicating that the fish presented with physiological balance, free of diseases. In the case of enzymatic activity of glutathione peroxidase, there was no significant effect (P>0.05) between treatments, showing that vitamin E is not directly related to

¹ Guidance Committee: Luis David Solis Murgas – UFLA (Guiding); Priscila Vieira Rosa – UFLA and Edgar de Alencar Teixeira – UFMG.

the enzyme. To get positive response in tambacus in the initial phase production was required a minimum dose of 100 mg of vitamin E kg⁻¹ supplemented in diet.

1 INTRODUÇÃO

A aqüicultura é uma atividade em crescente expansão, pois a pesca predatória ultrapassou seu limite sustentável. Para atender ao crescimento populacional a pesca levou várias espécies nativas à extinção ou ameaça de extinção. Desse modo, a aqüicultura tornou-se uma importante alternativa para a produção de pescado em todo mundo, tanto em áreas continentais como marinhas, sendo uma alternativa viável para produção de alimento para consumo humano.

O Brasil apresenta condições favoráveis ao desenvolvimento de diversas modalidades da aqüicultura, pois possui grande potencial hídrico proveniente das bacias hidrográficas e da sua ampla região costeira. Apresenta também uma riqueza de espécies, diversos microclimas e áreas adequadas ao desenvolvimento da atividade, além de viver um momento em que há ótimas condições para colocação de seus produtos, tanto no mercado interno como no externo. Entre os países latino-americanos, o Brasil está entre os maiores produtores de pescado cultivado.

O manejo alimentar deve levar em consideração os hábitos do animal, o sistema de cultivo, a produtividade natural, as condições climáticas, o manuseio do alimento, entre outros aspectos, para seu desenvolvimento eficiente e saudável. Estudos na área de nutrição são ferramentas para embasar a formulação de dietas completas e consolidar a piscicultura intensiva e viável da espécie.

O Tambacu é o híbrido resultante do cruzamento induzido entre a fêmea do Tambaqui e o macho do Pacu. Suas características de formato, porte e cor acinzentada assemelham-se ao tambaqui. Peixe forte e robusto, pode chegar até cerca de 45 kg. Possui alimentação variada, sendo de hábito onívoro. É amplamente difundido nas pisciculturas de todo país, possuindo bom potencial

produtivo e carne de excelente qualidade, sendo também muito requisitado em pesque-pague, por sua esportividade. Contudo, existem poucos estudos de nutrição em relação à espécie.

Nos sistemas de cultivo intensivo, nos quais a única fonte de nutrientes é a ração, deficiências de vitaminas e minerais podem ser observadas. Sob grandes estocagens em tanques de produção, os peixes necessitam de alimentos mais ricos em nutrientes essenciais a seu metabolismo, para manutenção e produção.

As vitaminas são compostos orgânicos distintos de aminoácidos, carboidratos e lipídeos por não serem quimicamente relacionados entre si e pelas pequenas quantidades presentes nos alimentos exigidos pelos animais. Têm baixo peso molecular e não são sintetizadas ou são sintetizadas em quantidades insuficientes no organismo, sendo, portanto, exigidas na dieta. A vitamina E apresenta como função principal ser antioxidante, ligando-se aos radicais livres produzidos pela peroxidação dos ácidos graxos poliinsaturados ou saturados e convertendo estes compostos em substâncias inofensivas ao organismo, impedindo o envelhecimento celular. Também é antioxidante da vitamina A e tem efeito sinérgico na presença de outro antioxidante como a vitamina C e o beta caroteno. Além disso, potencializa a ação do mineral selênio.

Os minerais são os componentes inorgânicos da alimentação, ou seja, aqueles que se encontram na natureza sem fazer parte dos seres vivos. Desempenham um papel importante no organismo, sendo necessários para a elaboração dos tecidos, sínteses de hormônios e na maior parte das reações químicas onde intervêm as enzimas. O mineral selênio atua com a vitamina E protegendo as células do organismo contra danos oxidativos, especialmente retardando a oxidação do LDL – colesterol; catalisa as reações do metabolismo intermediário, bem como apresenta ação inibidora do efeito tóxico de metais pesados, como arsênio, cádmio, mercúrio e estanho.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo determinar a exigência de vitamina E no desenvolvimento produtivo do tambacu (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*), por meio de sua suplementação na ração, com inclusão de selênio.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar se diferentes dosagens de vitamina E em dietas suplementadas, e em como afetam o desempenho inicial dos peixes;
- Avaliar a proteção dada pela vitamina E ao organismo, através de parâmetros sanguíneos;
- Relacionar a ação da vitamina E com a atividade da enzima glutathiona peroxidase.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Características da espécie

Ordem: Characiforme

Família: Characidae

Subfamília: Myleinae

Gêneros: *Colossoma* (tambaqui) e *Piaractus* (pacu)

O pacu, o tambaqui e seus híbridos são os peixes redondos de maior importância para a piscicultura comercial no Brasil, estando também presentes em países vizinhos, como o pacu, cultivado no Paraguai e na Bolívia, e o tambaqui, cultivado no Peru, na Colômbia e na Venezuela. São espécies reofílicas, de crescimento rápido, podendo atingir entre 1,0 e 1,5 kg de peso no primeiro ano de cultivo, e de hábito alimentar onívoro (no habitat natural comem frutas, sementes, moluscos, plantas, pequenos peixes, caranguejos, entre outros alimentos). A rusticidade, sob condições de cultivo, a facilidade de captura (despesca com redes), a esportividade e a carne de boa qualidade contribuíram para a rápida popularização do cultivo desses peixes (Souza, 1998).

3.1.1 Tambacu

O tambacu é um peixe híbrido, proveniente do cruzamento entre o macho de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) e a fêmea de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818).

Tanto o pacu quanto o tambaqui apresentam o mesmo número de cromossomos ($2n = 54$), distribuído por grupos semelhantes, o que permite o pareamento e a formação de embriões híbridos normais (Saracura & Castagnolli, 1990).

Diversos autores relatam que o tambacu (Figura 1), foi obtido inicialmente pelo Centro de Pesquisa e Treinamento em Aquicultura (CEPTA). Este peixe tolera melhor as baixas temperaturas dos meses de inverno nas regiões sul e sudeste, além de apresentar crescimento mais rápido que o pacu (Melo & Pereira, 1994).



FIGURA 1 Tambacu

O tambacu, por ser um híbrido, apresenta as características de ambas as espécies que o originam. O pacu, que possui características como rusticidade, crescimento rápido e facilidade em aceitar ração, bem como potencial para pesca esportiva e carne muito bem aceita pelo mercado consumidor (Castagnolli & Cyrino, 1986). O tambaqui, caracterizado por consumir dieta natural, incluindo zooplâncton, frutos e sementes, sendo considerado um onívoro com tendência a frugívoro (Honda, 1974).

No ano de 2005 a produção nacional desta espécie superou a maioria da produção das espécies cultivadas no Brasil, inclusive a do pacu, atingindo 10.874 toneladas (Brasil, 2005).

3.2 Radicais livres

Fang et al. (2002) definem os radicais livres como moléculas que apresentam elétrons não pareados na órbita externa, sendo instáveis e muito reativas, derivadas, principalmente, do oxigênio e de aminoácidos (Figura 2).

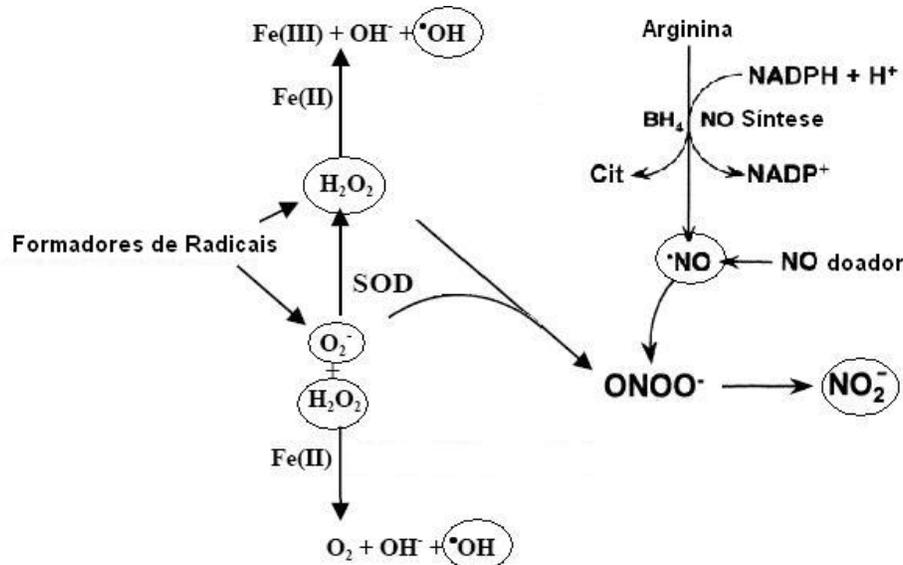


FIGURA 2 Principais reações precursoras de radicais livres (Adaptado de Fang et al., 2002; Hermes-Lima et al., 2001).

A presença dos radicais livres é crítica para a manutenção de muitas funções fisiológicas normais (Pompella, 1997). Podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana e o seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA) está relacionado com o seu sítio de formação (Anderson, 1996; Yu & Anderson, 1997).

As espécies de oxigênio reativo (EROs) são potentes oxidantes, capazes de causar graves lesões às células através da oxidação de componentes importantes das membranas, principalmente lipídeos, proteínas e até mesmo o ácido desoxirribonucléico (DNA), causando, assim, graves disfunções em nível celular (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Entre as principais formas reativas de oxigênio o O_2^- apresenta uma baixa capacidade de oxidação. O OH^- mostra uma pequena capacidade de difusão, sendo o mais reativo na indução de lesões nas moléculas celulares. O H_2O_2 não é considerado um radical livre verdadeiro, mas é capaz de atravessar a membrana nuclear e induzir danos na molécula de DNA por meio de reações enzimáticas (Anderson, 1996). Essas três formas intermediárias são responsáveis pela toxicidade do oxigênio (Fridovich, 1998). Já o óxido nítrico (NO) e o dióxido de nitrogênio (NO_2) são dois radicais livres nitrogenados derivados dos aminoácidos (Fang et al., 2002).

Tanto as espécies de oxigênio reativo (EROs) quanto as de nitrogênio reativo (ERNs) são produzidas constantemente pelo metabolismo animal, exercendo importante papel. São mediadores de diversas respostas celulares, agindo como mensageiros específicos. No sistema imunológico, são gerados pelos macrófagos e neutrófilos e atuam como antibactericidas e antivirais (Lander, 1997). Entretanto, altas concentrações de radicais livres podem ocasionar a oxidação de biomoléculas (Fang et al., 2002), proporcionando um quadro de estresse oxidativo. Esse estresse influencia diretamente a inativação de enzimas e de estruturas moleculares, como DNA, proteínas, aminoácidos e lipídios constituintes da membrana celular (Tocher et al., 2002).

3.2.1 Estresse oxidativo

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição a fatores exógenos. Contudo, na condição de pró-oxidante a concentração desses radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (Cerutti, 1991, 1994).

O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo (Sies, 1993).

A ocorrência de um estresse oxidativo moderado freqüentemente é acompanhada do aumento das defesas antioxidantes enzimáticas, mas a produção de uma grande quantidade de radicais livres pode causar danos e morte celular (Anderson, 1996).

3.3 Antioxidantes celulares

A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos levou ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos (Sies, 1993). Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células.

Uma ampla definição de antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (Sies & Stahl, 1995). Esses agentes que protegem as células contra os efeitos dos radicais livres podem ser classificados em antioxidantes enzimáticos ou não-enzimáticos (Tabela 1).

TABELA 1 Principais agentes de defesa antioxidante.

Não-enzimático	Enzimático
α -tocoferol (vit E)	Superóxido dismutase
β -caroteno	Catalase
L-cisteína	NADPH - quinona oxidoreductase
Ác. ascórbico (vit C)	Glutaciona peroxidase
Flavonóides	Enzimas de reparo
Proteínas do plasma	
Selênio	
Glutaciona	
Clorofilina	
Curcumina	

Adaptado de Sies, 1993.

Dentre os micronutrientes, a vitamina E é o mais importante antioxidante metabólico presente na membrana celular, protegendo-a da oxidação de ácidos graxos e do colesterol, além de diminuir ou inibir a produção e ação dos radicais livres; enquanto o selênio é componente da metaloenzima glutaciona peroxidase (GSH-Px), a qual, no citosol, catalisa as reações de conversão do peróxido de hidrogênio à água, destruindo os peróxidos formados (Noguchi, 1973).

Como o efeito da vitamina E sobre a formação de peróxidos é limitado primariamente à membrana, tanto o selênio quanto a vitamina E parecem ser necessários à eliminação eficiente dos peróxidos. Esses dois nutrientes constituem os principais agentes antioxidantes no organismo (Devlin, 1998).

3.4 Vitaminas

O termo vitamina geralmente é aplicado como descrição genérica para um grupo de substâncias químicas relacionadas e com mesma atividade biológica, pois poucas delas são substâncias únicas. Apresentam derivados, isômeros e análogos com atividade vitamínica qualitativamente semelhante, porém com potencial biológico geralmente diferente (Halver, 1988).

Cerca de 15 vitaminas foram isoladas de tecidos biológicos e classificadas em dois grupos: lipossolúveis – A, D, E e K – e hidrossolúveis (vitaminas do complexo B, colina, inositol e ácido ascórbico). Geralmente as do primeiro grupo não atuam como coenzimas, com exceção das vitaminas A e K. Entre as vitaminas hidrossolúveis, algumas têm funções primárias de coenzimas no metabolismo celular (tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido pantotênico, niacina, biotina, ácido fólico e cianocobalamina) e são exigidas em pequenas quantidades; outras não atuam como co-fatores enzimáticos (colina, inositol e ácido ascórbico) e são exigidas em maiores quantidades. As exigências vitamínicas são afetadas por fatores como espécie, tamanho corporal, taxa de crescimento, composição da dieta e interações entre os nutrientes, capacidade de síntese por microorganismos no trato gastrointestinal, presença de compostos precursores na dieta, condições ambientais (temperatura, presença de metabólitos tóxicos, fatores estressores e patógenos) e sistemas de produção endógena (Lovell, 1991; Nutrient Requirement Council - NRC, 1993; Almeida, 2003).

Essas vitaminas atuam de forma direta no equilíbrio metabólico e osmorregulatório, possibilitando um funcionamento perfeito de órgãos e enzimas (Okamura et al., 2007).

As vitaminas são fornecidas aos peixes em pequenas quantidades para crescimento normal, reprodução, e metabolismo. A inclusão de vitaminas em alimentos para peixes é prática necessária em regimes intensivos de produção em que a disponibilidade de alimento natural é restrita. A dificuldade em suplementar adequadamente esses nutrientes deve-se à alta degradabilidade das moléculas de vitamina durante o processamento e armazenamento das rações, como consequência do aquecimento, da umidade e da oxidação. Em consequência dessas perdas, geralmente são utilizadas quantidades maiores que as exigidas. Portanto, o nível de suplementação, a escolha de fontes mais

estáveis ao processamento e estocagem e a exigência nutricional das espécies devem ser considerados para evitar aumento do custo das rações (NRC, 1993; Almeida, 2003).

Estudos devem ainda ser realizados para a determinação das exigências para várias espécies, com o objetivo de melhorar o crescimento, saúde e mecanismos de defesa (Lovell, 1991; NRC, 1993).

3.4.1 Vitamina E

O termo “vitamina E” é um nome genérico, que descreve as bioatividades de derivados de tocoferóis e tocotrienóis, vitaminas lipossolúveis que possuem alto poder antioxidante. Os quatro isômeros dos tocotrienóis (α -T3, β -T3, γ -T3 e δ -T3) são estruturalmente relacionados aos seus correspondentes homólogos dos tocoferóis (α -T, β -T, γ -T e δ -T), porém diferem nas suas cadeias laterais, nas quais os isômeros contêm três duplas ligações (Almeida et al., 2006). O DL- α -tocoferol acetato é a forma sintética de vitamina E mais comumente utilizada na nutrição animal (NRC, 1993).

Segundo Barreto (1998), os compostos com atividade de vitamina E são de baixa atividade quando ocorrem naturalmente nos alimentos. Porém, entre esses, o D- α -tocoferol é o composto natural com maior atividade biológica da vitamina E presente nos alimentos.

O α -tocoferol é o representante mais importante do grupo de substâncias com atividade de vitamina E (Figura 3). Apresenta maior atividade biológica quando comparado aos demais compostos, devido ao maior índice de absorção intestinal, maior deposição nos tecidos, menor excreção fecal, além de ser oxidado mais lentamente (Barreto, 1998).

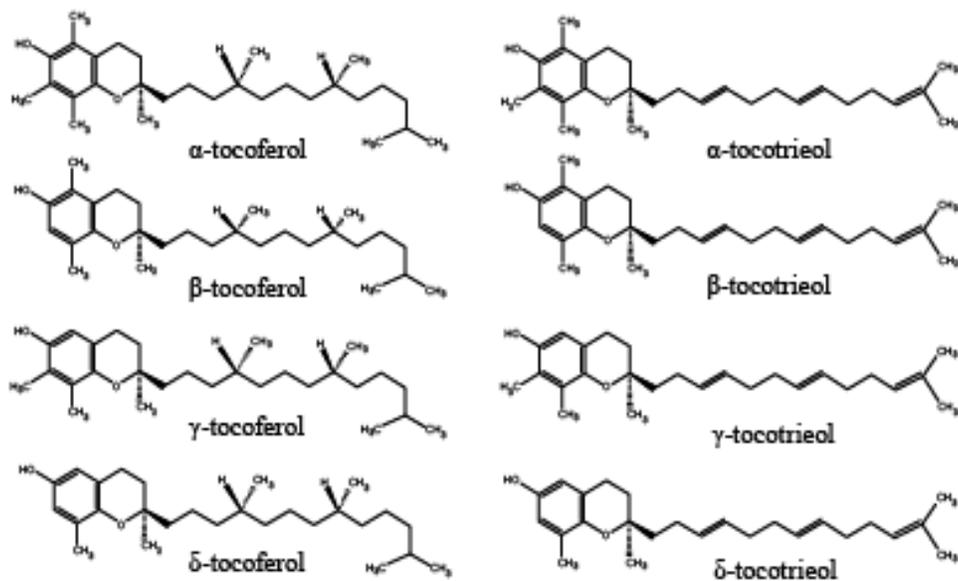


FIGURA 3 Formas estruturais da vitamina E.

Fonte: Meydani et al., 2005.

Sabe-se que a vitamina E atua nos ácidos graxos insaturados presentes nas membranas celulares e nas partículas sub-celulares, evitando suas oxidações. Assim, evita a formação de lipoperóxidos tóxicos, impedindo a formação de lesão nos vasos sanguíneos e alteração na permeabilidade capilar (Barreto, 1998).

A exigência por esta vitamina varia conforme a espécie e o hábitat do peixe. Entretanto, pesquisas mostram que a exigência é maior quando a dieta apresenta alto teor de óleo, devido à necessidade de proteção dos ácidos graxos poliinsaturados, durante sua absorção e metabolismo (Huang et al., 2004).

As exigências vitamínicas dos peixes não são conhecidas com precisão e os níveis recomendados são médios. Quando a ingestão é inferior ao recomendado durante muito tempo pode induzir ao estado de subnutrição. Níveis superiores ao aporte recomendado apresentam risco de aparecimento de estado tóxico. Em relação ao consumo excessivo, existem poucas informações quanto às doses responsáveis por esses efeitos (Sampaio, 2003).

Alguns estudos sugerem que o α -tocoferol, em particular, pode agir como pró-oxidante quando presente em altas concentrações nas dietas. Tokuda & Takeuchi (1995) têm sugerido que doses excessivas de α -tocoferol nas dietas podem induzir a peroxidação lipídica em trutas. Kaewsrithong et al. (2001) observaram acúmulo de hidroperóxidos no sangue de peixes alimentados com 1000 mg de vitamina E kg^{-1} de dieta. Entretanto, Kamaleldin & Appelqvist (1996) verificaram que os tocoferóis por si só não são pró-oxidantes, mas podem agir em sinergismo quando presentes em altas concentrações juntamente com outros pró-oxidantes, como metais de transição e peróxidos.

Apesar da vitamina E ser reconhecida como nutriente essencial a todas as espécies animais, pesquisadores e produtores de rações têm opiniões diferentes sobre seus níveis de suplementação, pois esses são muito difíceis de serem determinados, devido às inter-relações dessa vitamina com outros fatores, como a quantidade de ácidos graxos poliinsaturados (Lopez Bote, 2003), as características dos nutrientes e a presença de outras substâncias antioxidantes nas dietas (Guo et al., 2001).

A concentração de α -tocoferol nos tecidos também pode ser afetada significativamente pela sua quantidade na ração. Existe correlação linear entre o aumento da deposição de vitamina E nos tecidos e o aumento do nível de sua suplementação na dieta, até posterior saturação (Galvin et al., 1998).

De acordo com Lee & Dabrowski (2004), em situações de deficiência, o fígado é responsável por disponibilizar a vitamina E armazenada nos tecidos. Dessa forma, diminui a concentração desta vitamina no tecido, no qual exerce importante função na membrana celular, mantendo a integridade estrutural dos lipídios que a compõem e apresentando um efeito imuno-regulatório, além de evitar o rompimento celular, o qual é caracterizado pelo escurecimento do tecido (Ruff et al., 2003; Meydani et al., 2005). Sendo assim, o fígado apresenta uma

alta concentração de vitamina E, devido ao metabolismo dos lipídios e as próprias funções metabólicas que este órgão desempenha.

O teor de α -tocoferol em peixes é determinado por vários fatores e varia de acordo com o teor lipídico, espécie, tamanho, idade, bem como as condições de cultivo (Ruff et al., 2003).

Segundo o NRC (1993), a exigência de vitamina E para a tilápia azul (*Oreochromis aureus*) é de 25 mg kg⁻¹; para o salmão do atlântico (*Salmo salar*) é 35 mg kg⁻¹; para o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) de 25 a 50 mg kg⁻¹.

A interação da vitamina E da dieta com o sistema antioxidante dos peixes foi observada por Tocher et al. (2002), onde a menor quantidade de vitamina E nas dietas levou à diminuição de seus níveis nos músculos e ao aumento da atividade oxidante do organismo, produzindo altos níveis de peróxidos lipídicos.

Os efeitos das dietas com vitamina E em trutas foram avaliados por Frigg et al. (1990). Os peixes alimentados com os maiores níveis de vitamina E (100 a 200 mg kg⁻¹ de ração) apresentaram melhor desempenho do que o grupo controle, pois obtiveram níveis elevados de tocoferol nos tecidos.

Ham & Liebler (1997), estudando a peroxidação de lipídios no fígado de ratos, adicionaram *in-vitro* 2mM de tri-butilhidroperóxido (t-BuOOH), por 10 minutos. Constatou-se que, nos tratamentos contendo vitamina E, as mudanças metabólicas ocasionadas pela adição do t-BuOOH foram minimizadas. Observaram também a oxidação do α -tocoferol, formando α -tocoferolquinona, α -tocoferolhidroquinona, 2,3-epoxi- α -tocoferolquinona e 5,6-epoxi- α -tocoferolquinona, relatando uma concentração decrescente do α -tocoferol, conforme a concentração dos produtos de sua oxidação aumentava. Conseqüentemente, reduziu a peroxidação dos lipídios e manteve-se um controle respiratório constante em âmbito mitocondrial. Estes resultados sugerem que o

α -tocoferol exerce importante papel na regulação das funções metabólicas no fígado, em situações de estresse oxidativo.

Segundo Jain et al. (2000), alta concentração de tocoferol é eficiente em reduzir as concentrações de radicais livres no meio intracelular. Essa redução é capaz de preservar algumas enzimas antioxidantes, como a glutatona e a catalase, na sua forma reduzida, em eritrócitos humanos, mantendo alta atividade de ambas as enzimas no meio intracelular.

Os sinais de deficiência desta vitamina estão relacionados com a degeneração da membrana, decorrente da peroxidação dos lipídios e derivados, com queda no ganho de peso, degeneração muscular, hemorragia cutânea, escurecimento da pele, ineficiência reprodutiva, degeneração lipídica do fígado e, conseqüentemente, maior susceptibilidade ao estresse oxidativo e infecções (Barros, 2002; Izquierdo et al., 2001; Chen et al., 2004).

3.5 Selênio

Os minerais são necessários para a manutenção da vida, pois estão envolvidos em uma série de processos metabólicos e fisiológicos fundamentais à manutenção da saúde em humanos e animais (Hess et al., 2003).

O selênio (Se) é um micronutriente essencial na nutrição humana e animal, incluindo os peixes (Watanabe et al., 1997). É um antioxidante mineral constituinte de várias selenoproteínas, que contêm um ou mais resíduos de selenocisteína em seus sítios ativos (Berry et al., 1991; Leung, 1998). Possui três níveis de atividade biológica: 1) concentrações-traço são requeridas para o crescimento e desenvolvimento normais; 2) concentrações moderadas que podem ser estocadas para manutenção das funções homeostáticas; e 3) concentrações elevadas que podem resultar em efeitos tóxicos (Hamilton, 2004). Assim, o selênio pode ser tanto um elemento essencial quanto tóxico,

dependendo da concentração. De acordo com Steffens (1989), o nível mínimo requerido de selênio para dieta dos peixes encontra-se entre 0,2 e 0,5 mg kg⁻¹.

Segundo Watanabe et al. (1997), o selênio também apresenta função de proteção contra a toxicidade de metais pesados, como mercúrio e cádmio. Ainda está envolvido nas funções do hormônio tireoideano e insulina, manutenção da fertilidade, bem como na regulação do crescimento celular (NRC, 1993; Lall, 2002; Kohlmeier, 2003).

É co-fator e parte integrante da enzima glutathiona peroxidase (GPx) (Rotruck et al., 1973) e, por essa razão, protege o tecido celular contra o estresse oxidativo, atuando na desintoxicação do peróxido de hidrogênio e de hidroperóxidos de lipídios, oriundos do ataque das espécies reativas de oxigênio (ERO) (Sies, 1986; Storey, 1996; Nordberg & Arner, 2001). O selênio apresenta versatilidade na capacidade de oxi-redução no centro ativo da enzima GPx, uma característica fundamental para sua ação na eliminação de peróxidos (Arteel & Sies, 2001). O nível de atividade desta enzima pode ser indicativo do suprimento de selênio no organismo (Watanabe et al., 1997).

O selênio está presente em vários ingredientes e diversos compostos são considerados fontes de suplementação desse mineral. O selenito e o selenato são fontes inorgânicas de selênio, enquanto que o selenometionina, o selenocistina e o selenocisteína são compostos orgânicos. As farinhas de peixe e os produtos marinhos utilizados como ingredientes em rações para peixes são fontes de selênio, mas somente as dietas contendo acima de 15% de farinha de peixe apresentam concentrações adequadas de Se, não necessitando de suplementação. No entanto, rações formuladas predominantemente com produtos de origem vegetal necessitam de suplementação com selênio (Wang & Lovell, 1997).

Embora as duas formas de selênio, inorgânica e orgânica, possam ser utilizadas como suplemento dietético, elas diferem bastante em suas propriedades químicas, sendo absorvidas e metabolizadas de forma diferente.

Durante a absorção, a selenometionina é ativamente transportada através das membranas intestinais e acumulada no fígado e músculo. Já o selênio inorgânico, sendo absorvido como um mineral é muito pouco retido nos tecidos, sendo a maior parte excretada (Upton Júnior, 2003).

Após a absorção intestinal, selenometionina (SeMet) e selenocisteína (SeCis) podem ser metabolizadas pelos animais como aminoácidos (Ekholm et al., 1991). Isso ocorre especialmente com a SeMet, que, de forma similar à metionina, pode ser incorporada às proteínas pelo mesmo códon AUG, pois o tRNA não diferencia a metionina da SeMet. Em consequência, 40 a 50% do Se corporal podem ser SeMet inserida em proteínas do tecido muscular, denominadas selenoproteínas não funcionais (Daniels, 1996).

Os órgãos geralmente acumulam maiores quantidades de selênio; o fígado da maioria das espécies contém em média quatro vezes mais selênio do que o músculo esquelético (Combs Júnior, 2001).

Para que o Se seja incorporado especificamente em selenoproteínas funcionais, como a glutatona peroxidase, é necessário que as formas orgânicas e inorgânicas sejam reduzidas a seleneto, e este, por sua vez, metabolizado a SeCis (Suzuki, 2005). Desta forma, pode-se dizer que a atividade da enzima glutatona peroxidase é regulada predominantemente pelos níveis de selenocisteína e/ou espécies inorgânicas de selênio oriundas da dieta (Borawska et al., 2004).

3.6 Enzima glutatona peroxidase

A glutatona peroxidase (GSH-Px ou GPx) foi descoberta por Mills em 1957 em eritrócitos de mamíferos. Sua presença não é observada em plantas ou bactérias, embora possa ser encontrada em algumas algas e fungos (Halliwell & Gutteridge, 1984). É uma metaloenzima com peso molecular de aproximadamente 80kDa (Oh et al., 1974; Zachara, 1992) e contém Se em sua

estrutura (4g de Se/mol de proteína). Tem como função controlar os níveis de peróxido de hidrogênio e dos hidroperóxidos formados durante os processos de dismutação do íon superóxido (O_2^-) e da peroxidação lipídica, através da sua transformação em H_2O e O_2 respectivamente, neutralizando as ações deletérias causadas por eles (Yu & Chung, 2006).

A GPx é uma enzima antioxidante dependente de selênio com grande afinidade pelo peróxido de hidrogênio, e mesmo em baixas concentrações deste, é a maior responsável pelo controle destes níveis. Ela é capaz de detoxificar o H_2O_2 , catalisando sua oxidação e a de outros peróxidos orgânicos, à custa da conversão da Glutathiona Reduzida (GSH) a Glutathiona Oxidada (GSSG) para formar H_2O e peróxidos orgânicos a álcool. Assim, a GPx desempenha um papel importante na inibição da peroxidação lipídica e na prevenção de danos no DNA e no RNA (Ferreira & Matsubara, 1997; Mulholland et al., 1999; Adams & Thomas, 2002).

Apesar das diferentes localizações e especificidade em relação aos substratos, as formas de GPx citosólica, fosfolipídio hidroperóxido e gastrintestinal são comumente agrupadas e denominadas genericamente como glutathiona peroxidase celular, devido ao fato de apresentarem características cinéticas semelhantes (Maddipati & Marnett, 1987; Lindmark-Mansson & Akesson, 2001).

A atividade da GPx pode ser determinada medindo-se o consumo de NADPH na reação de redução acoplada à reação da GPx, podendo variar dentro e entre os sistemas de análise (Flohé & Gunzler, 1984).

Diferentemente do que ocorre com a determinação da atividade da enzima glutathiona peroxidase no plasma, a determinação em tecidos animais requer uma extração prévia, pois a enzima encontra-se nas mitocôndrias e no citosol das células musculares (Chan & Decker, 1994). Além disso, outros fatores devem ser levados em consideração nesta fase pré-análise, com o

objetivo de preservar a atividade enzimática, e entre eles pode-se citar o pH, a temperatura, a concentração de eletrólitos e a diluição empregada (Fennema, 1993).

Para a glutathione peroxidase, o pH ótimo de ação é próximo de 8,0 (Paglia & Valentine, 1967), mas esta enzima continua ativa com valores de até 9,0 (Brenda, 2007); sua atividade é mínima em pH abaixo de 6,0 (Mills, 1959). Assim, a maioria dos procedimentos de análise da GSH-Px é conduzida na faixa de pH de 7,0 a 7,6 (Punchard et al., 1996).

A maior parte das enzimas apresenta sua máxima atividade na faixa de 30 a 40°C, e em temperaturas acima de 45°C começam a sofrer desnaturação, diminuindo gradativamente sua atividade (Fennema, 1993).

Concentrações elevadas de eletrólitos afetam em geral a solubilidade das proteínas (Fennema, 1993). De acordo com Chen et al. (2000), soluções tampão em baixas concentrações favorecem a atividade da GSH-Px.

3.7 Variáveis hematológicas

O estudo dos componentes do sangue e de suas funções é importante para o conhecimento das condições de equilíbrio e patológicas. A avaliação desses componentes auxilia na determinação da influência de condições fisiopatológicas que possam afetar a homeostase, colaborando, assim, para o diagnóstico de condições adversas (Tavares-Dias et al., 1999) e compreensão da relação entre as características sanguíneas e a saúde dos peixes, bem como sua associação com o meio ambiente (Tavares-Dias & Moraes, 2004).

Embora existam inúmeras pesquisas sobre parâmetros hematológicos em peixes, a literatura apresenta muitas informações inconsistentes com relação a nomenclaturas, diferenciação celular, maturação e função das células sanguíneas dos peixes (Hrubec & Smith, 1998; Tavares-Dias & Moraes, 2004).

Ranzani-Paiva & Silva-Souza (2004) relatam que, assim como as aves, os peixes possuem eritrócitos nucleados, sendo esta particularidade em alguns casos a responsável pela dificuldade na identificação e diferenciação precisa das células.

Eritrócitos são constantemente expostos a ERO's devido ao seu papel no transporte de oxigênio do sangue através da sua união reversível à hemoglobina (Saltman, 1989). Em geral, cerca de 3% da oxi-hemoglobina sofre auto-oxidação, gerando, assim, o radical superóxido (O_2^-) (Nagababu & Rifkin, 2000).

A degradação de glóbulos vermelhos do sangue é promovida pela menor estabilidade célula-membrana, resultante de processos oxidativos (Ito et al., 1999; Nagasaka et al., 2004).

Graças a relação direta entre vitamina E e níveis dietéticos de ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) em truta arco-íris, foi relatado que a deficiência de vitamina E associada ao aumento dos níveis de HUFA na dieta pode afetar a estabilidade de células vermelhas do sangue (Puangkaew et al., 2005).

Chen et al. (2004) relataram o efeito modulatório de vitaminas E e C impedindo estresse relacionado a uma resposta hematológica e de imunossupressão em peixes. A resposta hematológica à condição de estresse em peixes tem sido previamente relatada como uma estratégia da capacidade do sangue para aumentar o oxigênio transportador enfrentando a elevada demanda energética (Montero et al., 2001; Barcellos et al., 2004; Trenzado et al., 2006).

A maioria dos estudos realizados até agora em peixes concordam que um dos principais sinais de deficiência da vitamina E em parâmetros sanguíneos é uma anemia grave, caracterizada pela redução do número eritrocitário, menor % de hematócrito, concentrações de hemoglobina, uma diminuição do VCM (volume corpuscular médio) e aumento da proporção de eritrócitos imaturos

(Hamre et al., 1994; Bai & Lee, 1998; Chen et al., 2004; Puangkaew et al., 2005).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local e período experimental

O experimento foi conduzido na Estação de Piscicultura do Departamento de Zootecnia (DZO) pertencente à Universidade Federal de Lavras (UFLA), localizada na cidade de Lavras - MG, a 21° 14' S de latitude, 45° 00' W de longitude, 918 m de altitude e 20,5°C de temperatura média anual.

Para o experimento foram utilizadas 25 caixas de fibra de vidro com 0,61 x 0,44 x 0,40 m de diâmetro superior, diâmetro da base e altura, respectivamente e capacidade total de 100 litros (Figura 4), divididas em duas baterias (sistemas) de caixas.



FIGURA 4 Disposição das caixas durante o experimento.

O experimento foi realizado no período de março a maio de 2009, totalizando 65 dias.

4.2 Material biológico e ambiente

Foram adquiridos 350 tambacus provenientes da piscicultura Águas Claras, situada em Mococa – SP, passando por um período de 15 dias de adaptação à alimentação e ao ambiente. Realizou-se uma triagem de 250 peixes

apresentando peso e comprimento médio inicial de 12,12g e 8,92cm, respectivamente, distribuídos em 25 caixas, sendo 10 animais em cada.

Foi utilizado um sistema de recirculação de água com bomba de 0,5 cv e biofiltro, tendo uma renovação diária de 10%, através da limpeza das caixas (sifonagem). A temperatura, controlada com uso de termostato, e o teor de oxigênio dissolvido foram medidos diariamente, através de oxímetro digital do modelo YSI; o pH e amônia foram medidos semanalmente através de kit colorimétrico comercial, para um maior controle sobre as variáveis de qualidade da água (Tabela 2).

TABELA 2 Valores máximos e mínimos de qualidade da água: temperatura, teor de oxigênio dissolvido (OD), pH e amônia.

Parâmetros	Mínimo	Máximo
Temperatura (°C)	26,7	28,1
OD (mg/L)	7,1	8,6
pH	6,8	7,2
Amônia (mg/L)	0,1	0,2

O arraçoamento foi realizado duas vezes ao dia, às 08:00 h e 16:00 h. Inicialmente foram fornecidos 2,5% do peso vivo, sendo a dieta reajustada semanalmente, de acordo com o desenvolvimento dos animais. O consumo total durante o período experimental foi de 760 g de ração por caixa. A iluminação foi controlada no regime de 12:12 horas (claro:escuro).

4.3 Dietas experimentais

Para dieta basal do tambacu foi feita ração peletizada com 32% de PB e 3300 kcal de ED kg⁻¹, de acordo com NRC (1993), com inclusão de 0,40 mg de

Se kg⁻¹ da dieta (Tabela 3). Utilizou-se a Selenometionina (0,5% ativa) como fonte orgânica de selênio.

TABELA 3 Composições percentuais, químicas e calculadas da dieta basal.

Ingredientes (%)	Quantidade
Farelo de soja (%)	60,00
Farelo de trigo (%)	21,16
Milho (%)	9,80
Óleo de soja (%)	6,75
Fosfato bicálcico (%)	0,10
Calcário (%)	0,62
Sal (%)	0,40
Premix vitamínico e mineral (%) ²	0,60
Metionina (%)	0,55
BHT (%)	0,02
Selênio (mg/kg)	0,40
Níveis Nutricionais	
Proteína bruta (%) ¹	31,98
Energia Digestível (kcal/kg) ¹	3299,02
Extrato Etéreo (%) ¹	8,01
Fibra bruta (%) ¹	5,71
Cálcio (%) ³	0,48
Fósforo (%) ³	0,59

¹ Com base nas análises de laboratório de Nutrição/DZO.

² Premix vitamínico comercial (5 kg/ton), com níveis de garantia por quilograma de produto: Vit. A, 1.200.000 UI; Vit. D₃, 200.000 UI; Vit k₃, 2.400 mg; Vit B₃, 4.800 mg; Vit B₂, 4.800 mg, Vit B₆, 4.000 mg, Vit B₁₂, 4.800 mg, ác. Fólico, 1.200 mg; pantotenato Ca 12.000 mg; Vit. C, 48.000 mg; biotina, 48 mg; cloreto de colina, 108.000 mg; niacina, 24.000 mg; e premix mineral comercial (1 kg/ton), com níveis de garantia por quilograma do produto: Fe, 50.000 mg; Cu, 3.000 mg; 20.000 mg; Mn, 20.000 mg; Zn, 3.000 mg; I, 100 mg; Co, 10 mg; Se, 100 mg.

³ Com base em valores calculados para a dieta.

As dietas teste (isoprotéica e isoenergética) foram compostas de dieta basal com níveis crescentes de vitamina E (0 a 400 mg kg⁻¹ de ração), sendo o

tocoferol acetato (50% ativo) a fonte da vitamina. Os tratamentos estão dispostos a seguir:

- T₁** - Dieta basal sem suplementação de vitamina E (controle);
- T₂** - Dieta basal com suplementação de 100 mg vitamina E/kg de ração;
- T₃** - Dieta basal com suplementação de 200 mg vitamina E/kg de ração;
- T₄** - Dieta basal com suplementação de 300 mg vitamina E/kg de ração;
- T₅** - Dieta basal com suplementação de 400 mg vitamina E/kg de ração.

As rações foram elaboradas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia, na Universidade Federal de Lavras. Os ingredientes foram pesados em balança analítica e homogeneizados com 35% de água. A mistura final foi processada em moedor de carne sem hélice, assumindo a forma de “macarrão”. Após esses processos, as rações foram secas em estufa ventilada a 55°C e quebradas na forma de peletes.

4.4 Coletas experimentais

Ao final do período experimental, os tambacus passaram por 24 horas de jejum. Todos os peixes foram utilizados para coleta de dados, sendo analisadas todas as repetições dos cinco tratamentos. Os 10 tambacus de cada caixa foram pesados e medidos para obtenção dos dados de desempenho. Em seguida, os peixes foram anestesiados com solução de benzocaína (1 g/ 15 L) e, por punção cardíaca, com auxílio de seringa previamente heparinizada, colheu-se 1,5 mL de sangue de cada animal. Dessa alíquota, 1,0 mL contido em Eppendorff, destinou-se à determinação da contagem de eritrócitos e hemoglobina. Para % de hematócrito utilizou-se tubos capilares, sendo a coleta em duplicata. Após a coleta de sangue, retirou-se fígados e vísceras para pesagem, sendo os fígados colocados em tubos criogênicos e armazenados em botijão de vapor de nitrogênio a -196°C. Posteriormente esses materiais foram transferidos do botijão de nitrogênio para um freezer a -80°C. Nas amostras de fígado procedeu-

se a análise enzimática (GPx). Para amostragem sanguínea e enzimática foram utilizados dois peixes por unidade experimental (caixa), totalizando 50 animais.

4.5 Metodologia analítica

As análises enzimáticas e hematológicas realizadas nos peixes foram conduzidas na UFLA. A preparação das soluções tampão foi realizada no Laboratório do Departamento de Química. Os homogenatos e análises sanguíneas foram realizados no Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Departamento de Medicina Veterinária. A atividade da enzima Glutathione Peroxidase foi determinada no Laboratório do Departamento de Fitopatologia.

4.5.1 Preparação do homogenato

Para análise enzimática no fígado foi necessário o processamento do material para obtenção do sobrenadante. Os fígados dos peixes foram retirados do freezer a -80°C , sendo lavados em solução salina 0,9% para remover o excesso de sangue. O material foi seco em papel-filtro e pesado 0,5g de cada amostra. Cada amostra de fígado foi colocada em um Eppendorff; posteriormente foi diluído (10x) em solução tampão fosfato 20 mM pH 7,4, contendo 0,1% de triton e 150mM de NaCl. A homogeneização foi realizada em Vórtex, modelo QL-901, por 10 impactos, mantido em gelo picado, seguidos de centrifugação (refrigerada) a 12.000 rpm por 3 minutos. Os sobrenadantes foram transferidos para novos Eppendorff's e mantidos a -20°C até sua análise.

4.5.2 Atividade da glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9)

De acordo com Flohé & Gunzler (1984), a GPx dismuta o t-BuO OH do ensaio, gerando para isso uma ponte dissulfeto entre duas GSH (GS-GS), que por sua vez volta ao estado reduzido (2 GSH), pela ação da Glutathione Redutase (GR). A GR age mediante a oxidação de NADPH (Figura 5). Este ensaio baseia-

se na medida do decréscimo de absorvância (340 nm) promovido durante a redução da GSSG, catalisada pela GR, em presença de NADPH. A velocidade de oxidação do NADPH é proporcional à velocidade de produção de GSSG a partir da GSH em presença de t-BuOOH, catalisada pela GPx. Os valores da atividade desta enzima são expressos em $\mu\text{mol min}^{-1}\text{g}^{-1}$ para tecidos e $\mu\text{mol min}^{-1}\text{ml}^{-1}$ para lisados ou extratos.

GPx



GR



FIGURA 5 Atividades da glutatona peroxidase e glutatona redutase (Flohé & Gunzler, 1984).

A concentração da glutatona peroxidase foi determinada pelo método ELISA, utilizando-se um Kit de atividade de GPx Assay Designs STRESSGEN (catálogo # 900-158). A leitura foi realizada por leitor automático de microplacas com 96 poços (Biotek, modelo Power Wave XS) através do programa GEN 5. O tempo de leitura foi de 2,5 minutos, sendo analisados a cada 30 segundos. Durante cada intervalo das leituras, as placas foram agitadas por 10 segundos. As análises de GPx foram realizadas no material em triplicata. A atividade da enzima foi dada pela equação:

$$\textit{Atividade} = (\Delta A_{340} \text{ min}/0,00379\mu\text{M}^{-1}) \times (0,2\text{mL}/\text{YmL}) \times \text{Diluição}$$

$$= \textit{nmole}/\textit{min}/\textit{mL} \quad \text{onde Y} = \text{Alíquota de amostra}$$

A atividade é expressa por g de proteína. Para converter a $\mu\text{mole}/\textit{min}/\textit{g}$, utilizou-se a fórmula:

$$\textit{Atividade} = (\text{Valor em nmole/min/mL} \times 9)/1000$$

4.5.3 Avaliação hematológica

A análise de hemoglobina foi feita por absorvância em espectrofotômetro (EL 9811-3724) a 540 nm, utilizando-se 0,2 mL de sangue em 5 mL de KCN (reagente) de acordo com metodologia descrita por Evelyn & Malloy (1938).

Para determinação do percentual de hematócrito, feito em capilares, utilizou-se a metodologia do microhematócrito, segundo Goldenfarb et al. (1971).

A contagem total de eritrócitos foi realizada em câmara de Neubauer, após diluição de 20 μL de sangue em 4mL de solução cloreto de sódio (0,65%), de acordo com a metodologia de Natt & Herrick (1952). Os valores de eritrócitos são calculados através da contagem de cinco quadrados médios (Neubauer), multiplicados por 10050.

Com os resultados da taxa de hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht) e número de eritrócitos (Er) foram calculados os índices hematimétricos absolutos: volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM).

$$\textit{VCM} \text{ (fL)} = (\text{Ht} \times 10)/\text{Er}$$

$$\textit{CHCM} \text{ (g dL}^{-1}\text{)} = (\text{Hb} \times 100)/\text{Ht}$$

4.6 Variáveis analisadas

Nos peixes amostrados foram obtidas as seguintes avaliações:

- Peso final (PF), obtido por pesagem dos peixes, com uso de balança digital, ao final do experimento;

- Comprimento total (CT), abordando toda extensão do peixe, da face frontal ao final da nadadeira caudal, medido através de um paquímetro;
- Comprimento padrão (CP), compreendido entre a parte frontal da cabeça e a base da nadadeira caudal, medido através de paquímetro;
- Ganho de peso (GP), sendo o peso final (g) – peso inicial (g);
- Ganho de peso diário (GPD), sendo o ganho de peso (g)/nº de dias de experimento (65);
- Taxa de eficiência protéica (TEP), obtida por ganho de peso (g)/proteína bruta ingerida (g);
- Conversão alimentar aparente (CAA), obtida por consumo (g)/ganho de peso médio (g);
- Índice Hepatosomático (IHS), sendo o peso do fígado/peso corporal x 100;
- Índice Viscerosomático (IVS), sendo o peso da víscera/peso corporal x 100;
- Análise hematológica, através da contagem de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito com VCM (volume corpuscular médio) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM);
- Atividade da enzima Glutathione Peroxidase (GPx).

4.7 Delineamento experimental

Foi adotado um delineamento experimental inteiramente ao acaso (DIC), sendo utilizado cinco tratamentos com diferentes níveis de suplementação da vitamina E (0, 100, 200, 300 e 400 mg kg⁻¹ de ração) e cinco repetições, totalizando 25 parcelas experimentais. Cada caixa de fibra de vidro constituiu uma parcela, num total de 25 caixas com 10 peixes em cada uma.

Modelo estatístico:

$$y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}, \text{ em que:}$$

y_{ij} = amostragem da parcela referente à dieta i na repetição j ($i = 1, 2, \dots, 5$) e $j = (1, 2, \dots, 5)$;

μ = média geral do experimento;

t_i = efeito da dieta i ($i = 1, 2, \dots, 5$);

e_{ij} = desvio associado a cada observação que, por hipótese, tem distribuição normal, com média zero e variância δ^2 .

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o pacote computacional Sistema para Análise de Variância (Sisvar), descrito por Ferreira (2000). As médias calculadas foram submetidas ao teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Variáveis de qualidade da água de cultivo

Os resultados das avaliações físico-químicas da água encontram-se na Tabela 4. Os valores estão de acordo com os descritos na literatura para espécies tropicais.

TABELA 4 Médias das variáveis da água de cultivo para tambacus alimentados com dietas suplementadas com vitamina E.

Parâmetros	Média
Temperatura (°C)	27,40±0,99
OD (mg/L)	7,85±1,06
pH	7,00±0,28
Amônia (mg/L)	0,15±0,07

Médias ± desvio padrão

O metabolismo dos peixes é mais acelerado à medida que aumenta a temperatura, sendo que peixes de águas tropicais geralmente encontram o conforto térmico em temperaturas entre 20 e 28°C, e o apetite máximo ocorre na faixa entre 24 e 28°C (Silva et al., 2008). Assim, os valores encontrados neste trabalho são adequados, satisfazendo a faixa de conforto térmico.

O pH da água doce de cultivo recomendado deve ser mantido entre 6,0 e 8,0, em sistema tradicional (Baldisserotto, 2002), faixa em que se situaram os valores obtidos com o experimento.

Em relação às concentrações de oxigênio dissolvido (OD), a baixa disponibilidade de oxigênio torna os peixes susceptíveis a doenças e diminuem seu desempenho (Kubitza, 2000). O consumo de oxigênio é maior em peixes bem alimentados, e níveis abaixo de 4,2 mg L⁻¹ de OD podem diminuir o

consumo (Baldisserotto, 2002), sendo assim, os valores de OD apresentados neste trabalho são considerados favoráveis.

Para viveiros de água doce com pH situado no intervalo entre 7,5 e 8,0, o valor desejável para amônia total deve ser inferior a 2,0 mg L⁻¹ (Queiroz & Silveira, 2006). Os resultados apresentados no trabalho não oferecem toxicidade para os tambacus.

5.2 Desempenho zootécnico

Os resultados de desempenho zootécnico para os índices de peso final, comprimento total e comprimento padrão estão apresentados na Tabela 5.

TABELA 5 Médias das variáveis peso final (PF), comprimento total (CT) e comprimento padrão (CP), analisadas para tambacu, em função da suplementação de vitamina E na dieta.

Variável	Vitamina E mg/kg					CV (%)
	0	100	200	300	400	
PF (g)	68,80 ^b	79,80 ^a	79,20 ^a	77,40 ^a	82,40 ^a	7,94
CT (cm)	15,68	16,20	16,02	16,00	16,50	3,41
CP (cm)	11,98 ^b	12,84 ^{ab}	12,90 ^{ab}	12,80 ^{ab}	13,20 ^a	4,24

Letras distintas na mesma linha indicam diferença significativa (P<0,05), pelo teste SNK.

CV – coeficiente de variação

No presente estudo não foi observado efeito significativo (P>0,05) da suplementação de vitamina E para comprimento total (CT). No entanto, peso final (PF) e comprimento padrão (CP) apresentaram diferenças significativas (P<0,05). Para o PF, os tratamentos com suplementação da vitamina E proporcionaram melhores resultados que o tratamento sem suplementação, mostrando a eficiência do acréscimo de no mínimo 100 mg kg⁻¹ de vitamina no aproveitamento da dieta. Para resposta do CP, foi necessária a dosagem de 400 mg de vitamina E kg⁻¹ de ração para ganho em crescimento.

Paul et al. (2004) observaram, em carpa mrigal (*Cirrhinus mrigala*) que houve melhora no desempenho, utilizando 120 mg kg⁻¹ de vitamina E para peso final. Tocher et al. (2002) observaram que o crescimento da dourada (*Sparus aurata* L.) foi melhor com a suplementação, enquanto para “turbot” (*Scophthalmus maximus* L.) e “alabote” (*Hippoglossus hippoglossus*) não foram observadas essas diferenças de desempenho.

Bai & Lee (1998) trabalhando com juvenis de Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*) observaram que peixes recebendo dietas contendo altos níveis (500 mg kg⁻¹) de vitamina E também demonstraram respostas em termos de crescimento.

Navarro (2008), utilizando suplementação de vitamina E de até 200 mg kg⁻¹ na dieta de pós-larvas de tilápia, não observou efeito da suplementação para peso final. No entanto, em relação ao comprimento total, observou diferenças estatisticamente significativas para os tratamentos com 150 mg e 200 mg de vitamina E kg⁻¹ e em relação ao comprimento padrão observou que os tratamentos sem suplementação, 150 mg e 200 mg de vitamina E kg⁻¹ foram estatisticamente diferentes de outros tratamentos.

Contraopondo-se ao relatado no experimento, Ruff (2002) não observou diferença de crescimento entre os tratamentos contendo 189 e 613 mg de vitamina E kg⁻¹ de dieta para alabote do atlântico (*Hippoglossus hippoglossus*). Huang et al. (2004) em estudos realizados com salmões (*Oncorhynchus kisutsh*), obtiveram taxas de crescimento semelhantes entre os peixes alimentados com 100 mg de vitamina E kg⁻¹ de ração e o grupo controle. Assim como Scaife et al. (2000) que não encontraram diferenças de desempenho para salmões alimentados com dietas contendo 184; 573 e 865 mg de vitamina E kg⁻¹.

Os resultados de ganho de peso, ganho de peso diário, taxa de eficiência protéica e conversão alimentar aparente estão apresentados na Tabela 6.

TABELA 6 Médias das variáveis ganho de peso (GP), ganho de peso diário (GPD), taxa de eficiência protéica (TEP) e conversão alimentar aparente (CAA), analisadas para tambacu, em função da suplementação de vitamina E na dieta.

Variável	Vitamina E mg/kg					CV (%)
	0	100	200	300	400	
GP (g)	56,80 ^b	67,67 ^{ab}	67,10 ^{ab}	65,34 ^{ab}	70,27 ^a	9,53
GPD (g)	0,87 ^b	1,04 ^{ab}	1,03 ^{ab}	1,01 ^{ab}	1,08 ^a	9,54
TEP (g)	1,78 ^b	2,11 ^{ab}	2,10 ^{ab}	2,04 ^{ab}	2,20 ^a	9,54
CAA (g)	1,34 ^b	1,13 ^a	1,15 ^a	1,17 ^a	1,09 ^a	9,57

Letras distintas na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$), pelo teste SNK.

CV – coeficiente de variação

Para as análises de ganho de peso (GP), ganho de peso diário (GPD), taxa de eficiência protéica (TEP) e conversão alimentar aparente (CAA) obteve-se resultados significativos ($P < 0,05$). As variáveis GP, GPD e TEP apresentaram melhores respostas ao nível de 400 mg de vitamina E kg^{-1} de suplementação da dieta dos peixes, em relação ao tratamento não suplementado, mostrando uma eficiência no crescimento e maior aproveitamento da proteína ingerida. Já CAA demonstrou que foi necessária a dose mínima de 100 mg kg^{-1} de vitamina E para obtenção de melhor desempenho alimentar, através do maior aproveitamento da dieta. Estes dados demonstram o efeito positivo da proteção dada pela vitamina E à membrana celular, mantendo o equilíbrio com os radicais livres.

Kocabas & Gatlin (1999) encontraram maior ganho de peso utilizando 20 mg por kg de vitamina E para a espécie sunshine bass (*Morone chrysops female* \times *M. saxatilis male*). Já Paul et al. (2004) observaram, em carpa mrigal que houve melhora no ganho de peso utilizando 120 mg kg^{-1} de vitamina E.

Lin & Shiau (2005) avaliaram o desempenho de garoupas (*Epinephelus malabaricus*) alimentadas durante oito semanas com dietas suplementadas com vitamina E (0, 100 e 200 mg kg^{-1} de dieta) e observaram que o ganho de peso foi

maior conforme o aumento da vitamina E na dieta. Outros trabalhos também revelaram relação positiva entre o melhor ganho de peso e o aumento no nível de vitamina E nas dietas de trutas (*Oncorhynchus mykiss*) (Puangkaw et al., 2005) e perca amarela (*Perca flavescens*) (Lee & Dabrowski, 2004).

Bai & Lee (1998), trabalhando com juvenis de Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*) alimentados com uma dieta sem vitamina E, observaram menor ganho de peso e pior conversão alimentar do que aqueles alimentados com dietas contendo 20–120 mg vitamina E kg⁻¹. Shiao & Hzu (2002) também observaram menor ganho de peso em híbridos de tilápias alimentados com rações sem vitamina E.

Outros autores, trabalhando com diversas espécies, verificaram a tendência de aumento na TEP com o aumento da suplementação de vitamina E (Kocabas & Gatlin, 1999; Paul et al., 2004).

Resultados contrários foram observados por Navarro (2008) que trabalhando com suplementação de até 200 mg de vitamina E para pós-larvas de tilápias, não verificou efeito significativo na taxa de eficiência protéica, ganho de peso total e para ganho de peso médio diário dos animais. Wilson et al. (1984) observaram que, ao suplementarem vitamina E para catfish não obtiveram diferença significativa para ganho de peso.

Huang et al. (2004), em estudos realizados com salmões (*Oncorhynchus kisutch*), obtiveram ganhos de peso semelhantes entre os peixes alimentados com 100 mg de vitamina E kg⁻¹ de ração e o grupo controle. Lygren et al. (2000) não encontraram diferenças de consumo de ração entre salmões do Atlântico (*Salmo salar*), alimentados com três níveis de vitamina E nas dietas. Kiron et al. (2004) também não observaram diferenças no GP e CAA para trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas com rações contendo 100 mg e 1000 mg de vitamina E kg⁻¹.

Os percentuais dos índices viscerossomático e hepatossomático estão apresentados na Tabela 7.

TABELA 7 Porcentagens dos índices viscerossomático (IVS) e hepatossomático (IHS), analisadas para tambacu, em função da suplementação de vitamina E na dieta.

Variável	Vitamina E mg/kg					CV (%)
	0	100	200	300	400	
IVS (%)	5,96	6,76	6,40	6,12	6,93	9,73
IHS (%)	1,21	1,36	1,31	1,25	1,39	18,94

Letras distintas na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$), pelo teste SNK.

CV – coeficiente de variação

Os níveis de suplementação de vitamina E na alimentação dos tambacus não influenciaram de forma significativa ($P > 0,05$) as porcentagens dos índices viscerossomático (IVS) e hepatossomático (IHS). A suplementação da vitamina E está relacionada com a capacidade metabólica dos órgãos, principalmente do fígado, onde possui grande atividade, não demonstrando diferenças com relação ao peso dos mesmos.

Kim et al. (2003) não encontraram diferenças significativas para IHS ao fornecer altas doses de vitamina E na alimentação de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*). Diferentes níveis dietéticos da vitamina E não afetaram o IHS de salmão do Atlântico (Lygren et al., 2000). Assim como a inclusão de α -tocoferol acetato na dieta de bagre africano (Baker & Davies, 1996), não influenciou esse índice.

Navarro (2008) não encontrou diferenças significativas para o índice hepatossomático em tilápias nilóticas. Entretanto, o índice viscerossomático apresentou diferenças significativas para o tratamento sem suplementação de vitamina E e com 100 mg e 150 mg desta vitamina.

No resultado obtido por Tocher et al. (2002), o IHS não foi afetado pela dieta contendo vitamina E em turbot, mas foi aumentado em alabotes alimentados com menor teor da vitamina E na dieta. Já em douradas, o IHS foi mais baixo, quando alimentadas com altos níveis de vitamina E.

Pearce et al. (2003) observaram em *Oncorhynchus mykiss* maior IHS no tratamento sem suplementação da vitamina E. Em estudos anteriores, dietas deficientes em vitamina E resultaram em aumento dos valores de índice hepatossomático em salmão do Atlântico, *S. salar* (Poston et al., 1976; Thorarinsson et al., 1994), mas não em truta arco-íris (Cowey et al., 1981).

Segundo Shearer (1994), em peixes juvenis, o crescimento da carcaça é maior que o crescimento das outras partes do corpo, nas quais os órgãos internos, com exceção do lipídio visceral, tendem a aumentar de peso em proporções pequenas. Esse autor cita que o tamanho relativo dos tecidos e órgãos, sob condições nutricionais adequadas, é dependente apenas do tamanho do peixe e do ciclo de vida.

A vitamina E nas dietas é essencial para melhorar o crescimento dos peixes, sendo que maiores ganhos de peso e melhor conversão alimentar são obtidos com a utilização de dietas contendo valores de suplementação próximos ao recomendado para a espécie (Paul et al., 2004). Baseados nessa afirmação, Halver (2002), Huang & Huang (2004), Sau et al. (2004), e Paul et al. (2004), sugeriram níveis ideais entre 80 a 100 mg de vitamina E kg⁻¹ de dieta para carpas (*Cyprinus carpio*), 80 mg de vitamina E kg⁻¹ de dieta para híbridos de tilápias (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*), 131,91 mg kg⁻¹ para alevinos de “rohu” (*Labeo rohita*) e 99 mg de vitamina E kg⁻¹ de dieta para juvenis de “mrigal” (*Cinhinus mrigala*), respectivamente.

5.3 Parâmetros hematológicos

A composição sanguínea de eritrócitos (Er), hematócrito (Ht), hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em tambacus estão apresentados na Tabela 8.

TABELA 8 Características hematológicas de tambacus alimentados com diferentes níveis de suplementação de vitamina E na dieta.

Variável	Vitamina E mg/kg					CV (%)
	0	100	200	300	400	
Nº Eritrócitos($10^6/\mu\text{L}$)	3,68	3,72	3,42	3,96	3,58	27,69
Hematócrito (%)	39,20	44,40	38,80	43,00	41,10	7,42
Hemoglobina (g/dL)	9,48	10,10	8,70	10,22	8,36	14,60
VCM (fL)	131,16	156,50	123,38	123,54	139,00	35,07
CHCM (g/dL)	24,26	22,90	22,42	24,08	20,54	15,35

Letras distintas na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$), pelo teste SNK.

CV – coeficiente de variação

Não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) para as variáveis sanguíneas. Sugere-se para este fato que os animais apresentavam um equilíbrio fisiológico, já que o ambiente apresentava temperatura ideal, alto nível de oxigênio, densidade populacional adequada, assimilação de nutrientes, e por isso não apresentaram alterações nos padrões sanguíneos, como já observado por Tavares-Dias & Moraes (2004), em diversas espécies de teleósteos. Número de eritrócitos (Figura 6) e volume corpuscular médio apresentaram altas percentagens de coeficiente de variação, pois possuem valores mais precisos que as demais análises sanguíneas.

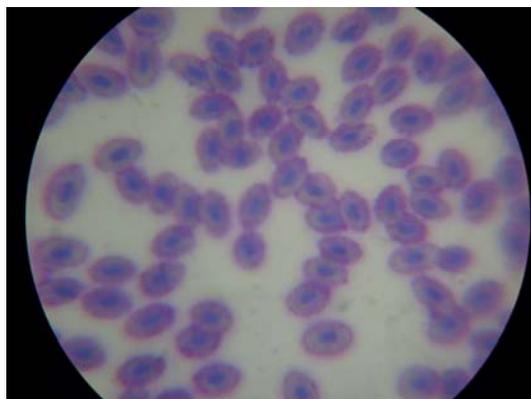


FIGURA 6 Fotomicroscopia dos eritrócitos de tambacus recebendo suplementação de vitamina E na dieta (objetiva de imersão à óleo – 1000x).

Trenzado et al. (2009), trabalhando com dois níveis de vitamina E (25,6 e 275,6 mg kg⁻¹) e dois níveis de HUFA (12,5 e 30,5 g kg⁻¹) para truta arco-íris, não observaram efeito significativo da suplementação da vitamina E para hemoglobina e também em relação a % de hematócitos. Peixes com dietas deficientes em vitamina E apresentaram maiores valores de CHCM e menores valores de VCM. Também foi observado que a ausência da vitamina E na presença de altos níveis de HUFA leva os peixes ao estágio de anemia.

Montero et al. (2001), encontraram efeitos da deficiência de vitamina E sobre parâmetros sanguíneos em peixes recebendo dietas livres de vitamina E.

Garcia et al. (2007), trabalhando com suplementação de vitamina E na dieta de pacus (*Piaractus mesopotamicus*), não observaram efeito sobre o total de eritrócitos, contagem total de proteína e globulinas no sangue dos peixes. A ausência da vitamina causou um aumento no hematócrito e também na hemoglobina, quando comparados aos tratamentos suplementados. A suplementação não levou diferenças significativas para volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média.

Estudos realizados por Tavares-Dias et al. (2000), demonstraram correlação positiva entre percentuais de hemoglobina e hematócrito.

Hugh et al. (2009) mostraram que o salmão do Atlântico (*Salmo salar*), recebendo dietas deficientes em vitamina E, apresentaram-se extremamente anêmicos. A deficiência da vitamina também mostra um aumento no número de eritrócitos imaturos, além da desintegração dos núcleos de eritrócitos, devido à fragilidade da membrana.

Wise et al. (1993), trabalhando com níveis de selênio e vitamina E em dietas para bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), observaram que os glóbulos vermelhos da membrana foram mais suscetíveis à peroxidação quando recebiam dietas deficientes em vitamina E, do que os dos peixes alimentados com dietas que atingiram ou excederam recomendações de inclusão da vitamina E.

Kim et al. (2003) demonstraram que altas doses de vitamina E na alimentação de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) não ocasionaram diferenças significativas para hematócritos e hemoglobina.

Pearce et al. (2003) avaliando o efeito da inclusão de vitamina E na alimentação de trutas arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*) obtiveram um aumento na % de hematócritos referentes às dietas suplementadas. A dieta sem suplementação com vitamina E apresentou % de fragilidade de eritrócitos muito maior que as dietas suplementadas. Em trabalhos anteriores foram observados menores valores de hematócrito relacionados à deficiência da vitamina E em trutas (Poston, 1965; Cowey et al., 1984; Bell et al., 1985).

5.4 Parâmetro enzimático

Os valores médios da atividade da enzima glutathiona peroxidase em tambacus estão apresentados na Tabela 9.

TABELA 9 Análise hepática da atividade da glutatona peroxidase (GPx) em tambacus alimentados com suplementação de vitamina E na ração.

Variável	
Vitamina E mg/kg	Glutaciona Peroxidase ($\mu\text{mole}/\text{min}/\text{g}$)
0	18,74
100	18,21
200	20,52
300	19,88
400	23,53
CV (%)	33,69

Letras distintas na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$), pelo teste SNK.

CV – coeficiente de variação

Nas comparações de atividade da GPx em diferentes níveis de suplementação de vitamina E na dieta de peixes, não foi encontrado efeito significativo ($P > 0,05$). Este fato pode ser evidenciado pela relação indireta da glutatona peroxidase com o tocoferol. Apesar do mesmo papel antioxidante, age em locais diferentes na célula; a GPx age no citosol, necessitando de selênio em sua composição, enquanto tocoferol age nas membranas celulares. Todos os tratamentos apresentaram mesmo nível de selênio.

Tocher et al. (2002) trabalhando com níveis 0, 100 e 1000 mg de vitamina E suplementada, relataram que alabotes (*Hippoglossus hippoglossus*) alimentados com alta dosagem de vitamina E na dieta, apresentaram menor atividade da GPx ($25 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína). Para dourada (*Sparus aurata*), a atividade da enzima glutatona peroxidase não foi alterada, com ou sem a suplementação da vitamina E na dieta (média de $168 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína). Para turbot (*Scophthalmus maximus*) a atividade da GPx foi significativamente maior nos peixes alimentados com dieta sem suplementação

(615 nmol min⁻¹ mg⁻¹ de proteína), quando comparado aos peixes alimentados com dietas suplementadas (média de 207 nmol min⁻¹ mg⁻¹ de proteína).

Trenzado et al. (2009), trabalhando com dois níveis de vitamina E (25,6 e 275,6 mg kg⁻¹) e dois níveis de HUFA (12,5 e 30,5 g kg⁻¹), não observaram efeito significativo da suplementação da vitamina E para a ação da enzima glutathione peroxidase (GPx).

Hugh et al. (2009), avaliando selênio e vitamina E na alimentação de salmão do Atlântico (*Salmo salar*) observaram que o grupo suplementado apenas com selênio teve atividade enzimática duas vezes maior que do grupo sem nenhuma suplementação na alimentação. Quando suplementados apenas com vitamina E, a atividade da GPx não apresentou alteração significativa. Apesar disso, a suplementação simultânea de vitamina E e selênio resultou, aparentemente, em um aumento muito maior em atividade da enzima específica do que suplementando apenas com selênio.

Wise et al. (1993) trabalharam com níveis de selênio e vitamina E na dieta de bagre do canal (*Ictalurus punctatus*); observaram que a glutathione peroxidase foi suprimida em peixes alimentados com dietas deficientes em selênio quando comparado com a atividade da enzima presente nos peixes alimentados com dietas contendo níveis recomendados ou mais elevados de selênio.

Jaramillo Júnior et al. (2009) demonstram que a falta de suplementação dietética da vitamina E pode aumentar a expressão de glutathione peroxidase de todo organismo e aumentar a digestão, absorção e deposição de selênio no organismo do híbrido striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*).

Chang et al. (2007) mostram que o sistema enzimático antioxidante, contendo selênio e GPx é altamente regulado para manter o equilíbrio, quando a dieta é deficiente em antioxidantes.

Peters & Livingstone (1996) investigaram a atividade embriológica de enzima antioxidante em larvas de turbot. Verificaram que a atividade da GPx aumentou progressivamente com a idade. A crescente atividade da GPx pode indicar uma necessidade progressiva de eliminar peróxidos de hidrogênio e peróxidos lipídicos a partir dos tecidos.

6 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o experimento conclui-se que a suplementação com vitamina E na alimentação de tambacus influencia as variáveis de desempenho estudadas.

Não foi encontrada relação entre a suplementação da vitamina E na dieta e variáveis sanguíneas, já que os animais apresentavam-se em equilíbrio fisiológico, livres de doenças.

Não houve uma relação direta entre a GPx e vitamina E. Nenhum dos resultados indicou que a enzima e vitamina E foram complementando umas às outras ou que foi um antioxidante para compensar uma deficiência do outro. A GPx está diretamente relacionada com a presença de selênio no organismo.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A proteção dada pela vitamina E às membranas celulares contra o desequilíbrio causado por radicais livres, prova a importância da vitamina para organismos animais.

Não foram encontradas relações entre a suplementação da vitamina E e variáveis hematológicas devido às condições ideais, em laboratório, em que os peixes se encontravam; em pisciculturas comerciais, onde os peixes passam por desequilíbrios ambientais (alimentação desbalanceada, competição, ação predatória, parasitismo, diferentes climas, entre outros), possivelmente, maiores níveis de vitamina E seriam necessários.

Para obtenção de resultados mais expressivos, seria necessário o aumento no período experimental ou trabalhar com maiores níveis de vitamina E suplementada na ração.

Através do estudo obteve-se maior conhecimento sobre espécies nativas do Brasil, em especial o tambacu e os peixes que o originaram, além de ampliar o entendimento sobre as necessidades nutricionais para o bom funcionamento do organismo, e por consequência, sua melhor produção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, A. K.; THOMAS, B.M. The role of antioxidants in exercise and disease prevention. **The Physician and Sports Medicine**, Minneapolis, v. 30, n. 5, p. 37-44, May. 2002.

ALMEIDA, G. S. C. **Suplementação dietética de vitamina C, desenvolvimento e sanidade do pacu (*Piaractus mesopotamicus Holmberg, 1887*)**. 2003. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Universidade Estadual Paulista, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

ALMEIDA, N. M.; MOURA, J. M. L. N.; FRANCO, R. C. N.; BUENO M. M. R. Tocoferóis do músculo dorsal e cavidade ocular do matrinxã (*Brycon cephalus*) da Bacia Amazônica em diferentes épocas sazonais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 636-640, mar./abr. 2006.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 350, n. 1, p. 103-108, Jan./Dec. 1996.

ARTEEL, G.E.; SIES, H. The biochemistry of selenium and glutathione system. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v. 10, n. 4, p. 153-158, Sept. 2001.

BAI, S. C.; LEE, K. J. Different levels of dietary DL- α -tocopheryl acetate affect the vitamin E status of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 161, n. 1/4, p. 405-418, Feb. 1998.

BAKER, R. T. M.; DAVIES, S. J. Changes in tissue α -tocopherol status and degree of lipid peroxidation with varying α -tocopheryl acetate inclusion in diets for African catfish. **Aquaculture Nutrition**, Amsterdam, v. 2, n. 1, p. 71-79, Mar. 1996.

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

BARCELLOS, L. J. G.; KREUTZ, L. C.; DE SOUZA, C.; RODRIGUES, L. B.; FIOREZE, I.; QUEVEDO, R. M.; CERICATO, L.; SOSO, A. B.; FAGUNDES, M.; CONRAD, J.; LACERDA, L. A.; TERRA, S. Hematological changes in jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy and *Gaimard Pimelodidae*) after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 237, n. 1/4, p. 229-236, Aug. 2004.

BARRETO, S. L. T. **Níveis de proteína e vitamina E para matrizes de frangos de corte na fase de produção**. 1998. 171p. Tese (Doutorado em Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

BARROS, M.M. Nutrição e saúde dos peixes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 12., 2002, Goiânia . **Anais...** Botucatu: FMVZ-UNESP, 2002. 16p. Apostila de Minicurso.

BELL, J.G.; COWEY, C.B.; ADRON, J.W.; SHANKS, A.H. Some effects of vitamin E on tissues enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 53, n. 1, p. 149-157, Jan. 1985.

BERRY, M. J.; BANU, L.; CHEN, Y.; MANDEL, S. J.; KIEFFER, J. D.; HARNEY, J. W.; LARSEN, P. R. Recognition of UGA as a selenocysteine codon in Type I deiodinase requires sequences in the 3' untranslated region. **Nature**, London, v. 353, p. 273-276, Sept. 1991.

BORAWSKA, M. H.; WITKOWSKA, A. M.; HUKALOWICZ, K.; MARKIEWICZ, R. Influence of dietary habits on serum selenium concentration. **Annals of Nutrition and Metabolism**, Basel, v. 48, n. 3, p. 134-140, May. 2004

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca. **Produção brasileira de aquicultura continental, por estado e espécie**. Brasília: IBAMA, 2005. Disponível em: <www.seap.gov.br>. Acesso em: 7 maio 2009.

BRENDA. **The comprehensive enzyme information system**. Disponível em: <<http://www.brenda.uni-koeln.de>>. Acesso em: 14 maio 2009.

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

CERUTTI, P. A. Oxidant stress and carcinogenesis. **European Journal of Clinical Investigation**, Oxford, v. 21, n. 1, p. 1-5, Feb. 1991.

CERUTTI, P.A. Oxy-radicals and cancer. **Lancet**, London, v. 344, n. 8926, p.862-863, Sept. 1994.

CHAN, K. M.; DECKER, E. A. Endogenous skeletal muscle antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 34, n. 4, p. 403-426, 1994.

CHANG, C. K.; HUANG, H. Y.; TSENG, H. F.; HSUUW, Y. D.; TSO, T. K. Interaction of dietary vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in rat skeletal muscles. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stonehan, v. 18, n. 1, p.39-45, Jan. 2007.

CHEN, J.; LINDMARK-MANSSON, H.; AKESSON, B. Optimisation of a coupled enzymatic assay of glutathione peroxidase activity in bovine milk and whey. **International Dairy Journal**, Barking, v. 10, n. 5/6, p. 347-351, May./June 2000.

CHEN, R.; LOCHMANN, R.; GOODWIN, A.; PRAVEEN, K.; DABROWSKI, K.; LEE, K. J. Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 242, n. 1/4, p. 553-569, Jan. 2004.

COMBS JÚNIOR, G. F. Selenium in global food systems. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 85, n. 5, p. 517-547, May 2001.

COWEY, C. B.; ADRON, J. W.; WALTON, M. J.; MURRAY, J.; YOUNGSON, A.; KNOX, D. Tissue distribution, uptake, and requirement study for α -tocopherol of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed diets with a minimal content of unsaturated fatty acids. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 111, n. 7, p. 1156-1567, July 1981.

COWEY, C. B.; DEGENER, E.; TACON, A. G. J.; YOUNGSON, A.; BELL, J. G. The effect of vitamin E and oxidised fish oil on the nutrition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) grown at natural, varying water temperatures. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 51, n. 3, p. 443-451, May 1984.

DANIELS, L. A. Selenium metabolism and bioavailability. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v.54, n. 1/2, p.185-199, Oct. 1996.

DEVLIN, T. M. **Manual de bioquímica com correlações clínicas**. 4. ed. São Paulo: E. Blucher, 1998.

EKHOLM, P.; VARO, P.; ASPILA, P.; KOIVISTOINEN, P.; SYRJALA-QVIST, L. Transport of feed selenium to different tissues of bulls. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.66, n. 1, p.49-55, July 1991.

EVELYN K.A.; MALLOY H.T. Microdetermination of oxyhemoglobin, methemoglobin and sulfhemoglobin in a single sample of blood. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 126, n. 2, p. 655-57, Dec. 1938.

FANG, Y.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, London, v.18, n.10, p. 872-879, Oct. 2002.

FENNEMA, O. R. Enzimas. In: BALTES, W. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1993. cap. 6, p. 416-536.

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, jan./mar. 1997.

FERREIRA, D.F. **Sistema SISVAR para análises estatísticas**: manual de orientação. Lavras: UFLA, 2000. 37p.

FLOHÉ, L.; GUNZLER, W. A. Assay of glutathione peroxidase. **Methods in Enzymology**, New York, n.105, p. 114-121, Jan./Dec. 1984.

FRIDOVICH, I. Oxygen toxicity: a radical explanation. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 201, n. 8, p. 1203-1209, Apr. 1998.

FRIGG, M.; PRABUCKI, A. L.; RUHDEL, E. U. Effect of dietary vitamin E levels on oxidative stability of trout fillets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 84, n. 1/2, p. 145-158, Dec. 1990.

GALVIN, K.; MORRISSEY, P. A.; BUCKLEY, D. J. Effect of dietary α -tocopherol supplementation and gamma irradiation on α -tocopherol retention and lipid oxidation in cooked minced chicken. **Food Chemistry**, London, v. 62, n. 2, p. 185-190, June 1998.

GARCIA, F.; PILARSKI, F.; ONAKA, E. M.; MORAES, F.R.; MARTINS, M.L. Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 271, n. 1/4, p.39-46, Oct. 2007.

GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL, E.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, New York, v. 56, n. 1, p.35-39, July 1971.

GUO, Y.; TANG, Q.; YUAN, J.; JIANG, Z. Effects of supplementation with vitamin E on the performance and the tissue peroxidation of broiler chicks and the stability of thigh meat against oxidative deterioration. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 89, n. 3/4, p. 165-173, Feb. 2001.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3. ed. Oxford: Oxford University, 1999.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. **Biochemical Journal**, New Delhi, v. 219, p. 1-14, Jan. 1984.

HALVER, J. E. **Fish nutrition**. San Diego: Academic, 1988. 798p.

HALVER, J. E. The vitamins. In: HALVER, J. E.; HARDLY, R. W. **Fish nutrition**. 3. ed. New York: Academic, 2002. p. 62-132.

HAM, A. J. L.; LIEBLER, D. C. Antioxidant reactions of vitamin E in the perfused rat liver: product distribution and effect of dietary vitamin E supplementation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 339, n. 1, p. 157-164, Mar. 1997.

HAMILTON, S. J. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 326, n. 1/3, p. 1-31, Jan. 2004.

HAMRE, K.; HJELTNESL, B.; KRYVI, H.; SANDBERG, S.; LORENTZEN, M.; LIE, O. Decreased concentration of hemoglobin, accumulation of lipid oxidation products and unchanged skeletal muscle in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed low dietary vitamin E. **Fish Physiology and Bio-Chemistry**, Amsterdam, v. 12, n. 5, p. 421-429, Jan. 1994.

HERMES-LIMA, M.; STOREY, J. M.; STOREY, K. B. **Antioxidant defenses and animal adaptation to oxygen availability during environmental stress.** Brasília: Universidade de Brasília, 2001.

HESS, J. B.; DOWNS, K. M.; BILGILI, S. F. Selenium nutrition and poultry meat quality. In: LYONS, P.; JACQUES, K.A. (Ed.). **Nutritional biotechnology in the feed and food industries, proceedings of Altech's 19th International Symposium.** Nottingham: Nottingham University, 2003. p. 107- 112.

HONDA, E. M. S. Contribuição ao conhecimento da biologia de peixes do Amazonas II: alimentação de tambaqui, *Colossoma bidens* (Spix). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 4, n. 1, p. 47-53, jan. 1974.

HRUBEC, T. C.; SMITH, S. A. Hematology of fish. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C **Schalm's veterinary hematology.** 5. ed. Sydney: W.W. Lippincott, 1998. p. 1120-1125.

HUANG, C. H.; HIGGS, D. A.; BALFRYC, S. K.; DEVLIN, R. H. Effect of dietary vitamin E level on growth, tissue lipid peroxidation, and erythrocyte fragility of transgenic coho salmon, *oncorhynchus kisutch*. **Comparative Biochemistry and Physiology:** part A, molecular and integrative physiology, New York, v.139, n. 2, p.199-204, Feb. 2004.

HUANG, C. H.; HUANG, S. L. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *O. niloticus* X *O. aureus*, fed oxidized oil. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 237, n. 1/4, p. 381-389, June 2004.

HUGH, A.; POSTON, G. F.; COMBS, J. R.; LEIBOVITZ, L. Vitamin E and selenium interrelations in the diet of atlantic salmon (*Salmo salar*): gross, histological and biochemical deficiency signs. **The Journal of Nutrition**, London, v. 139, n. 5, p. 892-904, May 2009.

ITO, T.; MURATA, H.; TSUDA, T.; YAMADA, T.; YANAUCHI, K.; UKAWA, M.; YAMAGUCHI, T.; YOSHIDA, T.; SAKAI, T. Effects of α -tocopherol levels in extrusion pellets on in vivo lipid peroxidation levels and antioxidant activities in cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata* injected with the causative bacteria of fish jaundice. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 65, n.5, p. 679-683, Oct. 1999.

IZQUIERDO, M. S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A. G. J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 197, n. 1/4, p. 25-42, June 2001.

JAIN, S. K.; MCVIE, R.; SMITH, T. Vitamin E supplementation restores glutathione and malondialdehyde to normal concentrations in erythrocytes of Type 1 Diabetic Children. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 23, n. 9, p. 1389-1394, Sept. 2000.

JARAMILLO JÚNIOR, F.; PENG, L.; GATLIN III, D. M. Selenium nutrition of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) bioavailability, toxicity and interaction with vitamin E. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.15, n. 2, p.160-165, Apr. 2009.

KAESRITHONG, J.; OHSHIMA, T.; USHIO, H.; NAGASAKA, R.; MAITA, M.; SAWADA, M. Effects of an excess dose of dietary alphatocopherol on hydroperoxide accumulation and erythrocyte osmotic fragility of sweet plecoglossus altivelis (Temminck et Schlegel). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 191-198, Dec. 2001.

KAMALELDIN, A.; APPELQVIST, L. A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, Champaign, v. 31, n. 7, p. 671701, July 1996.

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, α -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, n. 12, p. 1053-1058, Dec. 2003.

KIRON, V.; PUANGKAEW, J.; ISHIZAKA, K.; SATOH, S. ; WATANABE, T. Antioxidant status and nonspecific immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed two levels of vitamin E along with three lipid sources. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 234, n. 1/4, p. 361-379, May 2004

KOCABAS, A. M.; GATLIN, D. M. Dietary vitamin E requirement of hybrid striped bass (*Morone chrysops female* x *M. saxatilis male*), **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 5, n.1, p. 3-7, Mar. 1999.

KOHLMEIER, M. **Nutrient metabolism**. San Diego: Academic, 2003.

KUBTIZA, F. **Tilápia**: tecnologia e planejamento na produção comercial. Jundiaí: F. Kubtiza, 2000. 289 p.

LALL, S. P. The minerals. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. (Ed.). **Fish nutrition**. San Diego: Academic, 2002. p. 259-307.

LANDER, H. M. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 11, n. 2, p. 118-124, Feb. 1997.

LEE, K. J.; DABROWSKI, K. Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *perca flavescens*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 230, n. 1/4, p.377-389, Feb. 2004.

LEUNG, F. Y. Trace elements that act as antioxidants in parenteral micronutrition. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 9, n. 6, p. 304-307, June 1998.

LIN, Y. H.; SHIAU, S. Y. Dietary vitamin E requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, at two lipid levels, and their effects on immune responses. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NUTRITION AND FEEDING IN FISH, 11., 2004, Pukhet Island. **Anais...** Amsterdam: Elsevier, 2005. Disponível em: <www.elsevier.com/loca/aquaonline>. Acesso em: 12 jun. 2009.

LINDMARK-MANSSON, H.; AKESSON, B. Purification and immunochemical assay of bovine extracellular glutathione peroxidase. **International Dairy Journal**, Barking, v. 11, n. 8, p. 649- 655, 2001.

LÓPEZ BOTE, O. J. Effect of vitamin e supplementation and partial substitution of poly with monounsaturated fatty acids in pigs diets on muscle, and microsome extract alphotocopherol concentration and lipid oxidation. **Animal Science**, Penicuik, v. 57, n. 1, p. 11-25, Feb. 2003.

LOVELL, R. T. Nutrition of aquaculture species. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 10, p. 4193-4200, Oct. 1991.

LYGREN, B.; HAMRE, K.; WAAGBO, R. Effect of induced hyperoxia on the antioxidant status of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) fed three different levels of dietary vitamin E. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 31, n. 4, p. 401-407, Apr. 2000.

MADDIPATI, K. R.; MARNETT, L. J. Characterization of the major hydroperoxidoreducing activity of human plasma. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 262, n. 36, p. 17398- 17403, Dec. 1987.

MELO, J. S. C.; PEREIRA, J. A. Crescimento do híbrido tambacu (fêmea de *Colossoma macropomum* x macho de *Piaractus mesopotamicus*) em criação intensiva. **Boletim técnico do CEPTA**, Pirassununga, v.7, n. 1, p. 56-61, jan./ dez. 1994.

MEYDANI, S. N.; HAN, S. N.; WU, D. Vitamin E and immune response in the aged: molecular mechanisms and clinical implications. **Immunological Reviews**, Copenhagen, v. 205, n. 1, p. 269-284, June 2005.

MILLS, G. C. The purification and properties of glutathione peroxidase of erythrocytes. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 234, n. 3, p. 502-506, Mar. 1959.

MONTERO, D.; TORT, L.; ROBAINA, L.; VERGARA, J. M.; IZQUIERDO, M. S. Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. **Fish & Shellfish Immunology**, San Diego, v. 11, n. 6, p. 473-490, Aug. 2001.

MORAES, F. R. Hematological characteristics of Brazilian Teleosts III: parameters of the hybrid tambacu (*Piaractus mesopotamicus*×*Colossoma macropomum* Cuvier) (Osteichthyes, Characidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 17, n. 4, p. 899-90, Dec. 2000.

MULHOLLAND, C. W.; ELWOOD, P. C.; DAVIS, A.; THURNHAM, D. I.; KENNEDY, O.; COULTER, J.; FEHILY, A.; STRAIN, J. J. Antioxidant enzymes, inflammatory indices and lifestyle factors in older men: a cohort analysis. **QJM**, Oxford, v. 92, n. 10, p. 579-585, Apr. 1999.

NAGABABU, E.; RIFKIN, J. M. Heme degradation during autoxidation of oxyhemoglobin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 273, n. 3, p. 839-845, July 2000.

NAGASAKA, R.; OKAMOTO, N.; USHIO, H. Partial oxidative-stress perturbs membrane permeability and fluidity of fish nucleated red blood cells. **Comparative Biochemistry and Physiology: part C, toxicology & pharmacology**, New York, v. 139, n. 4, p. 259-266, 2004.

NAKAGUI, L. S. O.; GONÇALVES, R. P.; SANTOS, H. S. L.; CASTAGNOLLI, N. Morphology of the gonads of the hybrid fish Tambacu (Male Pacu *Piaractus mesopotamicus* X Female *Colossoma macropomum*). In: THE ANNUAL INTER CONF. & EXPOSITION OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY, 1997, Seattle. **Abstracts...** Seattle: WAS, 1997. v.1, p. 354.

NATT, M. P.; HERRICK, C. A. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science**, Champaign, v. 31, n. 5, p. 735-738, May 1952.

NAVARRO, R. D. **Suplementação de vitaminas E e C para tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2008. 50 p. Tese (Doutorado em Nutrição Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

NAVARRO, R. D.; LANNA, E. A. T.; DONZELE, J. L.; MATTA, S. L. P.; SOUZA, M. A. Níveis de energia digestível da dieta sobre o desempenho de piauçu (*Leporinus macrocephalus*) em fase pós-larval. **Acta Scientiarum: animal sciences**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 109-114, jan./mar. 2007.

NOGUCHI, T.; CANTOR, A. H.; SCOTT, M. L. Mode of action of selenium and vitamin E in prevention of exudative diathesis in chicks. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 103, n. 10, p.1502-1511, Oct. 1973.

NORDBERG, J.; ARNÉR, E. S. J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 31, n. 11, p. 1287-1312, Dec. 2001.

NUTRIENT REQUIREMENT COUNCIL. Washington: National Academy, 1993. 114 p.

OH, S. H.; GANTHER, H. E.; HOEKSTRA, W. G. Selenium as a component of glutathione peroxidase isolated from ovine erythrocytes. **Biochemistry**, Washington, v. 13, n. 9, p.1825-1829, Apr. 1974.

OKAMURA, D.; ARAÚJO, F. G.; LOGATO, P. V. R.; MURGAS, L. D. S.; FREITAS, R. T. F.; ARAÚJO, R. V. Efeito da vitamina C sobre o hematócrito e glicemia de alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) em transporte simulado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 4, p. 883-888, ago. 2007.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Saint Louis, v. 70, n. 1, p. 158-169, Jan. 1967.

PAUL, B. N.; SARKAR, S. N.; MOHANTY, S. Dietary vitamin E requirement of mrigal, *Cirrhinus mrigala* fry. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 242, n. 1/4, p. 529-536, Dec. 2004

PEARCE, J.; HARRIS, J. E.; DAVIES, S. J. The effect of vitamin E on the serum complement activity of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 9, n. 5, p. 337-340, Oct. 2003.

PETERS, L. D.; LIVINGSTONE, D. R. Antioxidant enzyme activities in embryologic and early larval stages of turbot. **Journal of Fish Biology**, Lodon, v. 49, n. 3, p. 986-997, Mar. 1996.

POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, Bern, v.67, n.5, p.289-297, Mar. 1997.

POSTON, H. A. Effect of dietary vitamin E on microhematocrit, mortality and growth of immature brown trout. **Fisheries Research Bulletin**, Wellington, v. 28, p. 6-9, Jan. 1965.

POSTON, H. A.; COMBS JÚNIOR, G. F.; LEIBOVITZ, L. Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*): gross, histological and biochemical deficiency signs. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 106, n. 7, p. 892-904, July 1976.

PUANGKAEW, J.; KIRON, V.; SATOH, S.; WATANABE, T. Antioxidant defense of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to dietary n3 highly unsaturated fatty acids and vitamin E contents. **Comparative Biochemistry and Physiology**: part C, toxicology & pharmacology, New York, v. 140, n. 2, p. 187-196, Mar. 2005.

PUNCHARD, N. A.; KELLY, F. J. Glutathione peroxidase: activity and steady-state level of mRNA. In: PUNCHARD, K. **Free radicals**: a practical approach. Oxford: Oxford University, 1996. cap. 16, p. 227- 240.

QUEIROZ, J. F.; SILVEIRA, M. P. **Recomendações práticas para melhorar a qualidade da água e dos efluentes dos viveiros de aquicultura**. Jaguariúna: Embrapa, 2006. (Circular Técnica, 12). Disponível em: <http://www.cnpma.embrapa.br/downlond/circular_12pdj>. Acesso em: 21 maio 2009.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; SILVA-SOUZA, A. T. Hematologia de peixes brasileiros. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Livraria Varela, 2004.

ROTRUCK, J. T.; POPE, A. L.; GANTHER, H. E.; SWANSON, A. B.; HAFEMAN, D. G.; HOEKSTRA, W. G. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. **Science**, Washington, v. 179, n. 4073, p. 588-90, Feb. 1973.

RUFF, N.; FITZGERALD, R. D.; CROSS, T. F.; HAMRE, K.; KERRY, J. P. The effect of dietary vitamin E and C level on market-size turbot (*Scophthalmus maximus*) fillet quality. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 9, n. 2, p.91-103, Apr. 2003.

RUFF, N.; GERALD, R. D.; CROSS, T. F.; KERRY, J. P. Fillet shelflife of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L. fed elevated levels of all-trans-retinoyl acetate. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 33, n. 13, p. 1059-1071, Oct. 2002.

SALTMAN, P. Oxidative stress: a radical view. **Seminars in Hematology**, Orlando, v. 26, n. 4, p. 249-256, Oct. 1989.

SAMPAIO, F. G. **Selênio e vitamina E em dietas para a tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus***. 2003. 99 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu.

SARACURA, V. F.; CASTAGNOLLI, N. Comparação do desempenho entre alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e híbridos de pacu e tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Ciência Zootécnica**, Jaboticabal, v. 5, n. 1, p. 17-19, jan./jun. 1990

SAU, S. K.; PAUL, B. N.; MOHANTA, K. N.; MOHANTY, S. N. Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeo rohita*) fry. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 240, n. 1/4, p. 359-368, Oct. 2004.

SCAIFE, J. R.; ONIBI, G. E.; MURRAY, I.; FLETCHER, T. C.; HOULIHAN, D. F. Influence of α -tocopherol acetate on the short and long term storage properties of fillets from Atlantic salmon *Salmo salar* fed a high lipid diet. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 6, n. 1, p. 65-71, Mar. 2000.

SHEARER, K. D. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 119, n. 1, p. 63-88, Jan. 1994.

SHIAU, S. K.; HZU, C. Y. Vitamin E sparing effect by dietary vitamin C in juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 210, n. 1/4, p. 335-342, July 2002.

SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angewandte Chemie**, Weinheim, v. 25, p. 1058-1071, 1986. Supplement.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v.215, n.2, p.213-219, July 1993.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.62, n.6, p.1315-1321, Nov. 1995.

SILVA, V. K.; FERREIRA, M. W.; LOGATO, P. V. R. **Qualidade da água na piscicultura**. 2008. Disponível em:
<http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol_94.pdf> Acesso em: 17 abr. 2009.

SOUZA, V. L. **Efeitos da restrição alimentar e da realimentação no crescimento e metabolismo energético de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887)**. 1998. 118p. Tese (Doutorado em Aqüicultura) – Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura Estadual, Jaboticabal.

STEFFENS, W. **Principles of fish nutrition**. New York: E. Horwood, 384 p., 1989.

STOREY, K. B. Oxidative stress: animal adaptation in nature. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 29, n. 12, p. 1715-1733, dez. 1996.

SUZUKI, K. T. Metabolomics of selenium: SE metabolites based on speciation studies. **Journal of Health Science**, Tokyo, v. 51, n. 2, p. 107-114, 2005.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto: Villim, 2004. 144 p.

TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S. H. C.; MARTINS, M. L.; ONAKA, E. M.; MORAES, F. R. Hematological characteristics of Brazilian Teleosts III: parameters of the hybrid tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum* Cuvier) (Osteichthyes, Characidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 17, n. 4, p. 899-90, dez. 2000.

TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S. H. C.; MARTINS, M. L.; SILVA, E. D.; MORAES, F. R.; PERECIN, D. Hematologia de teleósteos brasileiros com infecção parasitária I: variáveis do *Leporinus macrocephalus* Garavelo e Britski, 1988 (Anostomidae) e *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Characidae). **Acta Scientiarum: biological sciences**, Maringá, v. 21, n. 2, p. 337-342, abr./jun. 1999.

THORARINSSON, R.; LANDOLT, M. L.; ELLIOT, D. G.; PASCHO, R. J.; HARDY, R. W. Effect of dietary vitamin E and selenium on growth, survival and the prevalence *Rennibacterium salmonarium* infection in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 121, n. 4, p. 343-358, Apr. 1994.

TOCHER, D. R.; MOURENTE, G.; EECKEN, A. V. D.; EVJEMO, J. O.; DIAZ, E.; BELL, J. G.; GEURDEN, I.; LAVENS, P.; OLSEN, Y. Effects of dietary vitamin E on antioxidant defense mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 195-207, Sept. 2002.

TOKUDA, M.; TAKEUCHI, M. Effects of excess doses alphotocopherol on the lipids and function of rainbow trout liver. **Journal of Nutrition and Science Vitaminology**, Tokyo, v. 41, n. 1, p. 25-32, Feb. 1995.

TRENZADO, C. E.; MORALES, A. E.; HIGUERA, M. Physiological effects of crowding in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, selected for low and high stress responsiveness. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 258, n. 1/4, p. 583-593, Aug. 2006.

TRENZADO, C. E.; MORALES, A. E.; PALMA, J. M.; HIGUERA, M. Blood antioxidant defenses and hematological adjustments in crowded/uncrowded rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed on diets with different levels of antioxidant vitamins and HUFA. **Comparative Biochemistry and Physiology: part C, toxicology & pharmacology**, New York, v. 149, n. 3, p. 440-447, Apr. 2009.

UPTON JÚNIOR., J. R. **The effects of selenium supplementation on performance and antioxidant enzyme activity in broiler chickens**. 2003. 81p. Dissertation (Master) – North Carolina State University, Department Nutrition and Poultry Science, Raleigh.

VIDAL JÚNIOR, M. V.; DONZELE, J.; ANDRADE, D. R.; SANTOS, L. C.; CAMARGO, A. C. C. Níveis de proteína para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818), na fase de 30 a 250g. **Revista Brasileira de Zootecnia**, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 421-426, maio/jun. 1998.

WANG, C.; LOVELL, R. T. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 152, n. 1/4, p. 223-234, June 1997.

WATANABE, T.; KIRON, V.; DATOH, S. Trace minerals in fish nutrition. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 151, n. 1/4, p. 185-207, May 1997.

WILSON, R. P.; BOWSER, P. R.; POE, W. E. Dietary vitamin E requirement of fingerling channel catfish. **The Journal of Nutrition**, Oxford, v. 114, n. 11, p. 2053- 2058, Nov. 1984.

WISE, D. J.; TOMASSO, J. R.; GATLIN III, D. M.; BAI, S. C.; BLAZER, V. S. Effects of dietary selenium and vitamin E on red blood cell peroxidation, glutathione peroxidase activity, and macrophage superoxide anion production in channel catfish. **Journal of Aquatic Animal Health**, Bethesda, v. 5, n. 3, p. 177-182, Sept. 1993.

YU, B. P.; CHUNG, H. Y. Adaptative mechanisms to oxidative stress during aging. **Mechanisms of Aging and Development**, London, v. 127, n. 5, p. 436-443, May 2006.

YU, T. W.; ANDERSON, D. Reactive oxygen species: induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 379, n. 2, p. 201-210, Sept. 1997.

ZACHARA, B. A. Mammalian selenoproteins. **Journal of Trace Elements and Electrolytes Health Disease**, New York, v. 6, n. 3, p. 137-151, Sept. 1992.

ANEXOS

ANEXO A

TABELA 1A	Análise de variância para peso final em tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	64
TABELA 2A	Análise de variância para comprimento total em tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	64
TABELA 3A	Análise de variância para comprimento padrão em tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	64
TABELA 4A	Análise de variância para ganho de peso em tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	65
TABELA 5A	Análise de variância para ganho de peso diário em tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	65
TABELA 6A	Análise de variância para taxa de eficiência protéica em tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	65
TABELA 7A	Análise de variância para conversão alimentar aparente em tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	66
TABELA 8A	Análise de variância para percentual de índice viscerossomático em tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	66
TABELA 9A	Análise de variância para percentual de índice hepatossomático em tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	66

ANEXO B

TABELA 1B	Análise de variância para número de eritrócitos no sangue de tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	67
TABELA 2B	Análise de variância para percentual de hematócrito no sangue de tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	67
TABELA 3B	Análise de variância para taxa de hemoglobina no sangue de tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	67
TABELA 4B	Análise de variância para volume corpuscular médio no sangue de tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	68
TABELA 5B	Análise de variância para concentração de hemoglobina corpuscular média no sangue de tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	68

ANEXO C

TABELA 1C	Análise de variância para atividade da enzima glutathiona peroxidase no fígado de tambacus recebendo vitamina E na dieta.....	69
-----------	---	----

ANEXO A

TABELA 1A Análise de variância para peso final em tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Peso Final	4	539,4400	134,8600	3,564	0,0238
Resíduo	20	756,8000	37,8400		
Total	24	1296,2400			

CV = 7,94%

TABELA 2A Análise de variância para comprimento total em tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Comprimento Total	4	1,8040	0,4510	1,499	0,2401
Resíduo	20	6,0160	0,3008		
Total	24	7,8200			

CV = 3,41%

TABELA 3A Análise de variância para comprimento padrão em tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Comprimento Padrão	4	4,1416	1,0354	3,546	0,0242
Resíduo	20	5,8400	0,2920		
Total	24	9,9816			

CV = 4,24%

TABELA 4A Análise de variância para ganho de peso em tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Ganho de Peso	4	528,6836	132,1709	3,398	0,0283
Resíduo	20	778,0318	38,9016		
Total	24	1306,7154			

CV = 9,53%

TABELA 5A Análise de variância para ganho de peso diário em tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Ganho de Peso Diário	4	0,1250	0,0312	3,391	0,0285
Resíduo	20	0,1842	0,0092		
Total	24	0,3092			

CV = 9,54%

TABELA 6A Análise de variância para taxa de eficiência protéica em tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Taxa de Eficiência Protéica	4	0,5155	0,1289	3,386	0,0286
Resíduo	20	0,7612	0,0381		
Total	24	1,2767			

CV = 9,54%

TABELA 7A Análise de variância para conversão alimentar aparente em tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Conversão Alimentar Aparente	4	0,1944	0,0486	3,835	0,018
Resíduo	20	0,2535	0,0127		
Total	24	0,4479			

CV = 9,57%

TABELA 8A Análise de variância para percentual de índice viscerossomático em tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Índice Viscerosomático	4	3,3897	0,8474	2,161	0,1106
Resíduo	20	7,8422	0,3921		
Total	24	11,2319			

CV = 9,73%

TABELA 9A Análise de variância para percentual de índice hepatossomático em tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Índice Hepatossomático	4	0,1091	0,0273	0,445	0,7745
Resíduo	20	1,2251	0,0612		
Total	24	1,3342			

CV = 18,94%

ANEXO B

TABELA 1B Análise de variância para número de eritrócitos no sangue de tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Eritrócitos	4	0,7864	0,1966	0,190	0,9408
Resíduo	20	20,6840	1,0342		
Total	24	21,4704			

CV = 27,69%

TABELA 2B Análise de variância para percentual de hematócrito no sangue de tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Hematócrito	4	116,0000	29,0000	3,085	0,0394
Resíduo	20	188,0000	9,4000		
Total	24	304,0000			

CV = 7,42%

TABELA 3B Análise de variância para taxa de hemoglobina no sangue de tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Hemoglobina	4	13,6824	3,4206	1,826	0,1634
Resíduo	20	37,4680	1,8734		
Total	24	51,1504			

CV = 14,60%

TABELA 4B Análise de variância para volume corpuscular médio no sangue de tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Volume Corpuscular					
Médio	4	3794,7416	948,6854	0,425	0,7887
Resíduo	20	44638,0120	2231,9001		
Total	24	48432,7536			

CV = 35,07%

TABELA 5B Análise de variância para concentração de hemoglobina corpuscular média no sangue de tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Concentração de Hemoglobina					
Corpuscular Média	4	45,1200	11,2800	0,918	0,4728
Resíduo	20	245,7200	12,2860		
Total	24	290,8400			

CV = 15,35%

ANEXO C

TABELA 1C Análise de variância para atividade da enzima glutathiona peroxidase no fígado de tambacus recebendo vitamina E na dieta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Glutathiona Peroxidase	4	86,8697	21,7174	0,470	0,7572
Resíduo	20	924,2757	46,2138		
Total	24	1011,1454			

CV = 33,69%