

A INTERFERÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS NA ALIMENTAÇÃO DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) SOBRE O PERFIL HEMATOLÓGICO E LIPÍDEOS SANGUÍNEOS APÓS SUBMISSÃO À NATAÇÃO FORÇADA

Harisson Nunes FREITAS¹; Luiz Carlos de NORONHA NETO²; Alzira Miranda de OLIVEIRA³; Katherine López VÁSQUEZ⁴; Adalberto Luis VAL⁵; Maria de Nazaré Paula da SILVA⁶
¹Bolsista PIBIC/CNPq/INPA; ² Bolsista PCI/CNPq/INPA; ³Doutoranda BADPI/CNPq/INPA; ⁴Colaboradora INCT/ADAPTA; ⁵ Coorientador INPA/LEEM; ⁶Orientadora INPA/LEEM

1. Introdução

Os lipídeos, gorduras e óleos, são componentes essenciais e indispensáveis ao metabolismo dos animais. Os ácidos graxos, por exemplo, podem desempenhar inúmeras funções no organismo, tais como portadores de elétrons, transportadores nas reações enzimáticas e composição das membranas biológicas (Horton, 2002; Murray *et al.*, 2002). Os peixes, embora sejam considerados como principais fontes de ácidos graxos, perderam, durante o processo evolutivo, a capacidade de alongar e dessaturar os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), pois provinham diretamente da dieta, reduzindo as atividades enzimáticas que realizavam este trabalho (Sargent *et al.*, 2002). Segundo Justi *et al.* (2003), a qualidade da dieta, bem como as variações nos teores protéicos e lipídicos, influenciam na composição dos filés dos peixes; logo, a utilização de óleos como fonte de lipídios possibilita diminuir a quantidade de proteína, bem como fornecer um aporte de ácidos graxos essenciais necessários para o bom desenvolvimento dos peixes (Martino *et al.*, 2002). Além disso, existe a necessidade de reduzir o uso de óleo de peixe nas rações, utilizando substitutos de origem vegetal. Entretanto, estes ingredientes devem fornecer quantidade adequada de ácidos graxos poliinsaturados (ômega-3) no produto final para a alimentação humana (Kaushik *et al.*, 2004). Dessa forma, a importância desse trabalho está associada à obtenção de conhecimentos sobre os efeitos fisiológicos e metabólicos da suplementação de óleos vegetais na ração de peixes em cativeiro. O objetivo desse trabalho foi avaliar a interferência da suplementação de óleos vegetais na alimentação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) sobre o perfil hematológico e lipídeos sanguíneos após submissão à natação forçada.

2. Material e Métodos

As rações experimentais foram formuladas e elaboradas com os mesmos ingredientes, usuais para a confecção de ração (Tabela 1), sendo diferenciadas apenas pela fonte de óleos vegetais: linhaça (*Linum usitatissimum*), milho (*Zea sp.*), canola (*Brassica rapa* L) e soja (*Glycine max*), sendo este último considerado ração controle.

Tabela 1 - Formulação das rações experimentais.

%Ingrediente	Soja (controle)	Canola	Milho	Linhaça
Farinha de Peixe	15,00	15,00	15,00	15,00
Farelo de Soja	40,00	40,00	40,00	40,00
Farelo de milho	10,00	10,00	10,00	10,00
Farelo de trigo	32,00	32,00	32,00	32,00
Premix	1,00	1,00	1,00	1,00
Óleos	2,00	2,00	2,00	2,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
PB ração	34,20	34,20	34,20	34,20
EB ração	404,77	404,77	404,77	404,77
EB:PB	11,84	11,84	11,84	11,84
Fibra	3,90	4,41	6,86	6,86
EE	7,48	7,48	7,48	7,48

Para o experimento foram montados 24 tanques de 60 litros, sendo um conjunto de seis tanques utilizado para cada tratamento e controle (N=6). Cada aquário estava provido de aeração constante e filtro biológico. Cada tanque recebeu dez juvenis de tambaqui que foram alimentados com rações teste *ad libitum*, duas vezes por dia, durante 30 dias. Ao final do experimento, dois animais foram coletados aleatoriamente, sendo um dos animais submetido primeiramente a estresse natatório (túnel de natação), enquanto o outro foi anestesiado com MS222 (5mg/l) e levado diretamente à coleta de sangue. Após o teste natatório, o outro animal também foi anestesiado e também teve a amostra de sangue coletada.

Os parâmetros hematológicos foram determinados, como segue: hematócrito(%); concentração de hemoglobina (g/dl) e a contagem das células vermelhas circulantes (RBC) ($\times 10^6$ / mm³ de sangue) foram determinados em função das metodologias estabelecidas no laboratório, por meio da leitura do percentual de sedimentação dos eritrócitos, em uma escala padronizada; método da cianometahemoglobina, descrito por Kampen e Zijlstra (1964) e contagem em câmara de Neubauer, respectivamente. As constantes corpusculares, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram determinadas, respectivamente, de acordo com as seguintes fórmulas, descritas por Brow (1976): $VCM (\mu m^3) = Ht \times 10 / RBC$; $HCM (pg) = [Hb] \times 10 / RBC$; $CHCM (\%) = [Hb] / Ht \times 100$. A concentração de glicose sanguínea foi determinada por análise eletroquímica, com auxílio de medidor eletrônico de glicose sanguínea (Accu-Check Advantage II) e expressa em g/dL. O perfil lipídico, teores de colesterol - fração HDL e a concentração de triglicerídeos, foram determinados com Kit Human, por meio de método enzimático, com ambas as amostras lidas em espectrofotômetro com absorvância de 510nm e os resultados foram expressos em mg /dL.

Ao final das análises, todos os dados foram expressos como média e erro padrão (SEM). A significância das diferenças foi analisada estatisticamente por meio de análise de variância (ANOVA, two-way), seguido de teste à *posteriori* de Tukey. Foram considerados como fatores a alimentação e o túnel de natação e como variáveis resposta a hematologia e o perfil lipídico. Foi mantido o nível de significância de 5% para todas as análises (Zar, 1984).

3. Resultados e Discussão

A avaliação dos parâmetros hematológicos tem sido considerada como uma importante ferramenta para avaliar o estado de saúde dos animais, inclusive em função da dieta utilizada pelo animal (Chagas e Val, 2003). Isto é proposto por que o sangue é o tecido que sofre alterações quando a saúde do animal se modifica (Blaxhall, 1972). Neste trabalho, a hematologia não apresentou diferenças significativas entre as dietas experimentais testadas, o que sugere que nenhum dos óleos testados influencia a fisiologia do animal (Tabela 2).

Tabela 2 - Perfil hematológico de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentado com rações elaboradas com diferentes óleos vegetais: soja, linhaça, canola e milho e, posteriormente, submetido à natação forçada. * representam diferenças estatísticas significativas, $p < 0,05$, no mesmo tratamento, entre os animais expostos ou não ao túnel de natação.

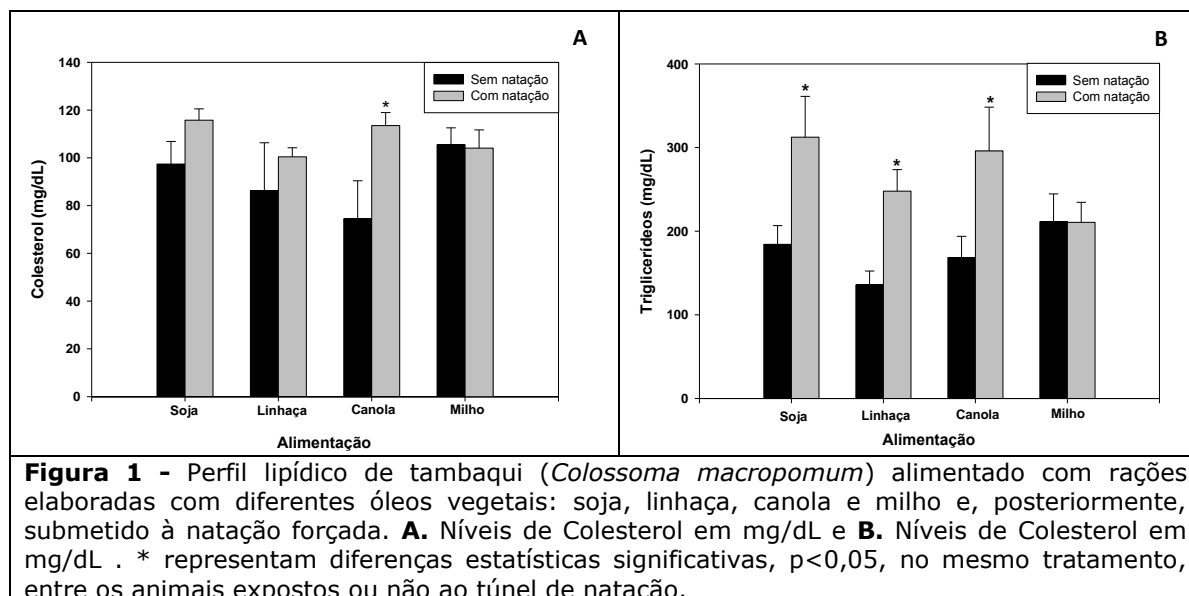
PARÂMETROS		SOJA	LINHAÇA	CANOLA	MILHO
Hb	SN	5,35±0,90	6,25±0,52	5,14±0,95	4,99±0,34
(mg/dL)	CN	8,64±0,90*	8,46±1,18*	4,12±0,89*	6,74±0,72
Ht	SN	24,50±1,94	25,83±1,78	24,00±1,39	32,17±1,14
(%)	CN	27,83±1,33	30,33±1,48*	31,67±1,61*	27,68±1,77*
RBC	SN	1,91±0,22	1,57±0,10	1,75±0,23	1,56±0,07
(mm ³)	CN	2,04±0,22	1,83±0,09	1,55±0,11	1,59±0,07
VCM	SN	137,90±19,33	166,58±12,46	153,36±27,59	207,50±11,52*
(µm ³)	CN	143,45±14,76*	166,58±5,02	207,90±15,49*	173,41±4,94*
HCM	SN	32,81±10,18	40,12±3,32	32,46±6,46	31,94±1,84
(pg)	CN	43,82±5,00	47,43±7,25	25,82±3,74	42,07±3,66
CHCM	SN	23,51±5,52	24,33±1,90	22,20±5,19	15,57±1,07
(%)	CN	31,20±2,81	28,27±4,14	12,78±2,31	24,28±2,13
Glicose	SN	82,33±3,11	97,20±8,65	87,00±2,49	94,67±8,24
(g/dL)	CN	327,67±21,53*	333,50±41,69*	347,17±33,66*	318,33±29,71*

(SN): Sem natação; (CN): Com natação forçada. (*): Diferença significativa entre os tratamentos.

Por outro lado, após a submissão ao túnel de natação todos os animais analisados apresentaram diferença significativa nos parâmetros hematológicos, embora nenhum padrão tenha sido notado. A concentração de hemoglobina apresentou aumento significativo para as dietas que continham soja e linhaça e diminuição para a dieta com canola. Já o hematócrito apresentou aumento significativo para as dietas com linhaça e canola e diminuição para dieta com milho. O VCM, volume corpuscular médio, apresentou aumento significativo para soja e canola e diminuição para o milho. Embora os resultados sejam inconclusivos, podem indicar que a dieta com o óleo de milho foi a que apresentou melhor resposta ao estresse natatório (Tabela 2).

Teleósteos marinhos apresentam uma relação inversa entre o tamanho dos eritrócitos e sua habilidade natatória, com reflexo na concentração de hemoglobina (Tandon & Joshi, 1976), o que pôde ser observado nesse estudo. Além das variações hematológicas, a exposição crônica ao estresse pode resultar em elevações nas concentrações de cortisol e glicose que prejudicam seu sistema de defesa (Yada e Nakanishi, 2002). Neste trabalho, embora os diferentes óleos não tenham apresentado diferenças significativas entre os tratamentos testados, o estresse natatório apresentou aumento significativo da glicose nos animais expostos (Tabela 2).

Assim como um aumento da glicose, alguns estudos consideram que o estresse provoca aumento nos níveis de colesterol total (Roy *et al.*, 2001). Neste estudo, não foi observadas diferenças significativas entre os tratamentos testados (Figura 1A), embora Visentainer *et al* (2005) observaram que a inclusão de óleo de linhaça possa diminuir os teores de colesterol nos filés de tilápia. Em contrapartida, a submissão dos animais ao estresse natatório ocasionou um aumento apenas para o tratamento com canola. Para o nível de triglicérides foram observados aumentos significativos nos tratamentos com soja, linhaça e canola (Figura 1B).



De acordo com os resultados encontrados podemos sugerir que a utilização dos óleos vegetais testados não influencia a saúde do animal. Entretanto, em relação ao óleo de soja, usualmente utilizado em rações comerciais, o óleo de milho parece apresentar resultados satisfatórios, considerando que em situações estressantes não apresentou diferença significativa em relação ao grupo não submetido ao estresse.

4. Referências

- Blaxhall, P.C. 1972. The haematological assesement of the health of freshwater fish. A review of selected literature. *Journal Fish Biology*, 4: 593-604.
- Brett, J.R. 1964. The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 21: 1183-1226.
- Brow, B. A. 1976. *Hematology: principles and procedures*. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 504 p.
- Chagas, E. C.; Val, A. L. Efeito da vitamina C no ganho de peso em parâmetros hematológicos de tambaqui. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 38, p. 397-402, 2003.
- Horton, H.; Moran, L. A.; Ochs, R. S.; Rawn, J. D.; Scrimgeour, K. G. 2002. *Principles of biochemistry*. 3 ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, p. 264-303.
- Justi, K.C.; Hayashi, C.; Visentainer, J.V. 2003. The influence of feed supply time on the fatty acid profile of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on a diet enriched with n-3 fatty acids. *Food Chemistry*, 80: 489-493.
- Kampen, E.J.; Zijstra, W. G. 1964. Standartization of haemoglobinometry. In: Boroviczény, C. G. (Ed.). Erythrocytometric Methods and their standartization. *Bibiotec. Haematological*, 18: 68-72.
- Kaushik, S. J.; Covès, D.; Dutto G.; Blanc, D., 2004. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 230: 391-404
- Martino, R.C.; Cyrino, J.E.P.; Portz, L.; Trugo, L.C. 2002. Performance and fatty acid composition of surubim (*Pseudoplatystoma corruscans*) fed diets with animal and plant lipids. *Aquaculture*, 209: 233-246.
- Murray, R. K.; Granner, D. L.; Mayes, P. A.; Rodwell, V. W. 2002. *Bioquímica*. São Paulo: Atheneu, 919p.

Roy, G.G.; Chaudhary, P.N.; Minj, R.K.; Goel, R.P. 2001 Dephosphorization of Ferromanganese using BaCO₃-based Fluxes by Submerged Injection of Powders: A Preliminary Kinetic Study. *Metallurgical and Materials Transactions B*, v. 32B, p. 558-561.

Sargent, J. G.; Tocher, D. R.; Bell, J. G. 2002. The lipids. In: Halver, J. E., Hardy, R. W. (Org.) *Fish nutrition*. 3rd ed. Ohio: Elsevier, p.181-257.

Tandon, R.S.; Joshi, B.D. 1976. Total red and white blood cell count of 33 species of fresh water teleosts. *Z. Tierphysiol. Tierernahrg. Futtrmittelkde*, 37, 277-286.

Visentainer, J.V.; Saldanha, T. ; Bragagnolo, N. ; Franco, M.R. B. 2005. Relação entre os teores de colesterol em filés de tilápias e níveis de óleo de linhaça na ração. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(2): 310-314.

Yada, T.; Nakanishi, T. 2002. Interaction between endocrine and immune system in fish. *Int. Rev. Cytol.*, 220: 35-92.

Zar, J.H. 1984. *Biostatistical analysis*, second edition. Prentice-Hall., Englewood Cliffs, N.J. 718p.