



Universidade Federal do Pará
Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental
Universidade Federal Rural da Amazônia
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

ADRIANA XAVIER ALVES

**EFEITOS DE DIETAS SUPLEMENTADAS COM VITAMINA E
SOBRE O CRESCIMENTO, EFICIÊNCIA ALIMENTAR E
PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E FISIOLÓGICOS DO
TAMBAQUI *Collossoma macropomum* (CUVIER, 1818)**

Belém - PA

2016

ADRIANA XAVIER ALVES

**EFEITOS DE DIETAS SUPLEMENTADAS COM VITAMINA E
SOBRE O CRESCIMENTO, EFICIÊNCIA ALIMENTAR E
PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E FISIOLÓGICOS DO
TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818)**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em
Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência
Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento
Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de
Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade
Federal Rural da Amazônia. Área de concentração: Ecologia
Aquática e Aquicultura.

Orientador: Prof. Dr. Galileu Crovatto Veras.

Co-orientador: Prof. Dr. Evaldo Martins da Silva.

Belém - PA

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFPA

Alves, Adriana Xavier, 1991-

Efeitos de dietas suplementadas com vitamina e sobre o crescimento, eficiência alimentar e parâmetros hematológicos e fisiológicos do tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) / Adriana Xavier Alves. - 2016.

Orientador: Galileu Crovatto Veras;
Coorientador: Evaldo Martins da Silva.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Campus de Castanhal, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Belém, 2016.

1. Tambaqui (Peixe) -- Alimentação e rações.
2. Tambaqui (Peixe) -- Nutrição. 3. Vitamina E.
I. Título.

CDD 22. ed. 639.31

ADRIANA XAVIER ALVES

**EFEITOS DE DIETAS SUPLEMENTADAS COM VITAMINA E
SOBRE O CRESCIMENTO, EFICIÊNCIA ALIMENTAR E
PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E FISIOLÓGICOS DO
TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818)**

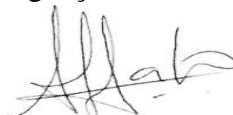
Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em
Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.
Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural.
Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa
Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da
Amazônia. Área de concentração: Ecologia Aquática e
Aqüicultura.

Data da Aprovação. Belém – PA: ____/____/____

Banca Examinadora



Prof. Dr. Galileu Crovatto Veras
Universidade Federal do Pará,
Campus de Bragança – Presidente da banca



Profa. Dra. Ana Lúcia Salaro
Universidade Federal de Viçosa, Departamento de
Biologia Animal – Membro externo



Prof. Dr. Marcos Ferreira Brabo
Universidade Federal do Pará,
Campus de Bragança – Membro externo



Prof. Dr. Daniel Abreu Vasconcelos Campelo
Universidade Federal do Pará,
Campus de Bragança – Membro externo

Aos meus pais *José Pedro Alves Neto & Petronila Xavier Alves*. Aos meus irmãos, em especial, ao *Ailson Xavier Alves* e aos meus queridos sobrinhos. Com amor e gratidão, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre estar comigo, por me proteger e conceder desafios e vitórias.

Ao meu orientador Dr. Galileu Crovatto Veras. Agradeço de início, a grande confiança depositada em mim e a oportunidade oferecida em seu laboratório. Agradeço sua enorme solicitude em me atender, esclarecer dúvidas e discutir ideias de forma sempre gentil e paciente. Agradeço pelo tempo dedicado à minha orientação e ao esforço intelectual dado para a realização deste trabalho, pessoalmente, por email ou telefone. Agradeço a amizade e o grande conhecimento científico repassado a mim durante o mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

Aos avaliadores do plano da dissertação: Dr. Evaldo Martins e Dr. Marcos Brabo pelas excelentes contribuições que enriqueceram essa pesquisa.

Aos professores avaliadores do documento final da dissertação: Dra. Ana Lúcia Salaro, Dr. Marcos Brabo e Dr. Daniel Campelo.

Ao meu Co-orientador, professor Dr. Evaldo, por me ajudar a esclarecer muitas dúvidas.

Ao Laboratório de Química do Pescado e seus alunos Caroline Ayumi, Danila e Laíse por dividirem o espaço e pelas conversas ao longo do experimento. Agradeço especialmente as amigas Kelly Duarte e Luciane Diniz que me auxiliaram nas etapas de liofilização da ração e análise bromatológica dos ingredientes.

A professora Dra. Marileide Alves, que disponibilizou o Laboratório de Tecnologia do Pescado e aos seus alunos Hayan Rodrigo e Julliany Lemos que auxiliaram no processamento da ração e análises bromatológicas.

Agradeço ao Professor Dr. Daniel Campelo, que sempre esteve disponível para esclarecer dúvidas e colaborar com o trabalho e mais uma vez ao professor Marcos Brabo pelas conversas no Laboratório da Piscicultura, conselhos e amizade.

A professora Dra. Zélia Nunes, pela enorme ajuda na obtenção de amostras ao intermediar diretamente com os produtores da região além de disponibilizar o transporte; à sua gentil cessão de materiais, reagentes e equipamentos para algumas análises do experimento. Agradeço também a seus alunos Kelle Cunha, Jonathan Alves, Cleide Marques e Samuel Teixeira que ajudaram nas análises de monitoramento da qualidade da água do cultivo.

Agradeço também aos professores Dr. Colin Beasley e Hudson Silva e os alunos Cristiney Santos e Diego Simeoni que auxiliaram nas análises da qualidade da água.

Aos professores Dra. Grazielle Gomes, Dr. Carlos Cordeiro e Dr. Marcus Vinicius Domingues que cederam materiais durante o experimento.

Ao professor Dr. Nils Asp e seus alunos Vando Gomes, Glauber Santiago e Denise Freitas do Laboratório de Geologia Costeira que foram muito generosos ao compartilharem e revezarem comigo o uso das peneiras de granulometria, que foram extremamente necessárias na padronização dos peletes da ração.

Agradeço a professora Dra. Bianca Bentes e aos colegas Giselle Silva, Bruno Eiras e especialmente à minha amiga Julliany Lemos, que sempre me receberam e gentilmente esclareceram dúvidas sobre as análises estatísticas.

À Fátima Gomes, Cintia Oliveira, Julya Mesquita e Andressa Ribeiro, que auxiliaram na identificação genética dos tabaquis.

Aos colegas, pesquisadores e produtores que foram receptivos na busca pelos tabaquis puros: Lorenzo Barroco, Philip Castro, Marcondes Júnior (Manaus) e Manoel Alessandro.

Aos produtores Juscelino Batista Lima (Piscicultura Da Torre – Ulianópolis), Yuri Moraes e Rita Sampaio (Piscicultura Tataueira – Peixe Boi) que gentilmente cederam alevinos de tabaqui para a realização deste experimento. Agradeço pela excelente recepção, por serem pessoas que apreciam e colobaram com a pesquisa, por se disponibilizarem sempre que eu precisei e pela qualidade do trabalho que realizam. MUITÍSSIMO Obrigada!

A todos os colegas que participaram da montagem do sistema de recirculação e/ou das biometrias quinzenais e final: Jonathan Alves, Bruno Eiras, Giselle Silva, Luciene Diniz, Marília Oliveira, Talita Silva, Ian Moraes, Inghrid Ribeiro, Eliene Rodrigues, Bruno Brito, Juliana Maria, Juliette Pantoja, Euliane Pereira, Layane Braun, Julya Mesquita, Victoria Fontes, Hanna Tereza, Manoela Lima e Sunamita Sardinha. De forma especial, agradeço ao Bruno Eiras, Euliane Pereira, Manoela Lima, Sunamita Sardinha e Layane Braun que participaram das etapas pré- experimento e estiveram presentes durante os 90 dias de cultivo, por permanecerem comigo nas etapas de finalização e biometria final, estando sempre de prontidão aos meus pedidos e necessidades e dispostos a me ajudar a solucionar os problemas do experimento. Agradeço por todo o período de agradável convivência e troca de experiências e a bonita amizade que cultivamos até hoje. Muito obrigada meus amigos!!!

A todos que me ajudaram muitíssimo na aquisição dos materiais, ingredientes e/ou reagentes necessários para o experimento: Cleize Sales, Jairo Fernandes, Bruno Eiras, Gabriel Lopes, Ângela Alves, José Pedro, Tatiana Soares, Daniel Campelo e Ana Lúcia Salaro.

Aos meus amigos Bruno Eiras, Gabriel Lopes e Julya Mesquita que inúmeras vezes e em qualquer horário (muitas vezes de madrugada) na ocasião de falta de energia me acompanharam até a faculdade para controlar o sistema de recirculação. Obrigada por serem excelentes amigos. Sentirei falta de morar com vocês! De forma especial, agradeço a minha querida amiga Julya por todos os bons momentos que compartilhamos... Por todos os conselhos, por sempre me ouvir e me ajudar a ficar bem. Admiro muito a bonita amizade que construímos e nunca vou esquecer de tudo que aprendi com você. Obrigada!

Também sou grata aos vigilantes do *campus*, que percebiam a minha necessidade e sempre foram atenciosos comigo me ajudando e ligando para informar qualquer problema no sistema. Agradeço especialmente os colegas Antônio Santos, Célio, Fábio, Daniel.

Ao William Gomes e Manoela Carneiro que me deram a primeira oportunidade de emprego como Engenheira de Pesca, contribuindo para minha permanência em Bragança antes da aprovação no mestrado.

Aos velhos amigos Cleane Nunes, Mariana Moreira, família Guedes, Helaise Torres, Adelson Souza, Larissa Lima, meus eternos amigos da escola Cônego Leitão e tantos outros que sempre me acompanharam.

Agradeço aos novos amigos que ganhei: Bárbara Branches, Priscila Santos, Adriane Freitas, Cintia Oliveira, Dayene Santiago e Francisca Galeana. Especialmente agradeço aos amigos Carlos Santos & Angela Maria, Jairo Fernandes & Alcirene Eiras, Alcenira Corecha e Socorro Tavernard, Wellington Sousa e Maria Lenir por todos os momentos divertidos em que me acolheram em Capanema ou Belém.

Agradeço a todos os meus tios e primos queridos pelo carinho e confiança. A os meus queridos cunhados Fabiano Costa e Priscila Guedes.

Para finalizar, agradeço imensamente à minha amada família por toda força e apoio que sempre posso contar. Meus pais José Pedro & Petronila Alves, meus queridos irmãos José Anselmo (em memória), Ailson, Angélica, José Adriano e Amanda. Aos meus sobrinhos André Barreto, Andréa Alves, Fernanda Mendes, Paulo Vitor, Kettely Priscila, Adrian Xavier, Alisson Fabiano, Álvaro Fernando e Caio Souza. Agradeço especialmente à Ângela pelas

visitas e ajuda durante esses anos. Amar e conviver com vocês me faz uma pessoa melhor e mais feliz. Peço sinceras desculpas por todas as vezes que fui ausente!

A todas as pessoas que não citei, mas que direta ou indiretamente contribuíram para que eu pudesse chegar até aqui.

Muito Obrigada!

“Tudo que é seu encontrará uma maneira de chegar até
você”

Chico Xavier

Resumo

A inclusão de vitamina E na alimentação de peixes está relacionada a melhoras no desempenho produtivo e resposta imune não específica em diversas espécies. Com o presente trabalho objetivou-se avaliar o efeito de diferentes níveis de vitamina E (acetato de DL- α -tocoferol, 50% ativo) sobre o desempenho produtivo, variáveis hematológicas, índices hematimétricos e parâmetros fisiológicos em alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Um total de 150 peixes com peso médio de $2,94 \pm 0,14$ g e comprimento padrão médio inicial de $4,29 \pm 0,07$ cm foram distribuídos em aquários (300 L) em sistema de recirculação de água, temperatura de $27,13 \pm 0,45$ °C, pH $7,16 \pm 0,45$, oxigênio dissolvido $7,15 \pm 0,88$ mg L⁻¹, condutividade elétrica $0,142 \pm 0,05$ ($\mu\text{s cm}^{-1}$); amônia, $0,00 \pm 0,00$ (ppm) e nitrito, $0,19 \pm 0,25$ mg L⁻¹. A densidade de estocagem foi de 10 peixes por unidade experimental. Os níveis de inclusão do α -tocoferol na dieta foram: 0, 250, 500, 700 e 1000 mg kg⁻¹. Desta forma, foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e três repetições, onde os peixes foram alimentados três vezes ao dia durante 90 dias. Os resultados indicam que os diferentes níveis de vitamina E não influenciaram o desempenho produtivo dos alevinos de tambaqui. Porém, a inclusão de 1000 mg kg⁻¹ de α -tocoferol reduziu ($P < 0,05$) a quantidade de glicose em comparação aos tratamentos suplementados com 0 e com 250 mg kg⁻¹. O hematócrito, a proteína total, o número de eritrócitos e os índices hematimétricos dos alevinos de tambaqui não foram influenciados ($P > 0,05$) pela suplementação com α -tocoferol. Na contagem diferencial de leucócitos, não houve diferença significativa no número de linfócitos, monócitos e basófilos. Contudo, a quantidade de neutrófilos foi maior no tratamento controle ($P < 0,05$), enquanto o número de eosinófilos e células granulocíticas especiais foi maior nos tratamentos com 700 mg kg⁻¹ e 250 mg kg⁻¹ de α -tocoferol, respectivamente. Apesar da suplementação com vitamina E na dieta não ter influenciado o desempenho produtivo dos alevinos de tambaqui, os peixes alimentados com a dieta não suplementada apresentaram aumento do número de neutrófilos, demonstrando maior susceptibilidade destes peixes a possíveis processos inflamatórios.

Palavras-chave: nutrição, suplementação vitamínica, α -tocoferol, variáveis hematológicas, piscicultura

Abstract

The vitamin E inclusion in fish food is related to improvements in growth performance and nonspecific immune response for different species. The present study aimed to evaluate the effect of different vitamin E levels (DL acetate- α -tocopherol, 50% active) on productive performance, hematological variables, hematometric index and physiological parameters of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fingerlings. A total of 150 fishes with an average weight of 2.94 ± 0.14 g and initial average standard length of 4.29 ± 0.07 cm were distributed in aquariums (300 L) in water recirculation system, temperature of 27.13 ± 0.45 °C, pH 7.16 ± 0.45 , dissolved oxygen 7.15 ± 0.88 mg L⁻¹, electrical conductivity 0.142 ± 0.05 (μ s cm⁻¹); ammonia 0.00 ± 0.00 (ppm) and nitrite 0.19 ± 0.25 mg L⁻¹. The stocking density was 10 fishes per experimental unity. The inclusion levels of α -tocopherol in the diet were 0, 250, 700 and 1,000 mg kg⁻¹. Thus, was used a completely randomized design with five treatments and three repetitions, where the fishes were fed three times a day during 90 days. The results indicate that the different vitamin E levels did not affect the productive performance of tambaqui fingerlings. However, the inclusion of 1,000 mg kg⁻¹ of α -tocopherol reduced ($P < 0.05$) the glucose amount in comparison to the supplemented treatments with 0 and with 250 mg kg⁻¹. The hematocrit, total protein, erythrocytes number and hematometric index of tambaqui fingerlings were not affected ($P > 0.05$) by α -tocopherol supplementation. In differential leukocyte count, there was no significant difference of lymphocyte number, monocytes and basophiles. However, the neutrophil number was greater in the control treatment ($P > 0.05$), while eosinophil and special granulocytic cells were better than control treatment ($P < 0.05$), while the eosinophils number was special granulocytic cells was higher than treatments with 700 mg kg⁻¹ and 250 mg kg⁻¹ of α -tocopherol, respectively. Although vitamin E supplementation in the diet did not influence the productive performance of tambaqui fingerlings, the fishes fed diet nonsupplemented showed increased of neutrophils number, demonstrating greater susceptibility of these fishes to inflammation process.

Key-words: Nutrition, vitamin supplementation, α -tocopherol, hematologic variables, fishfarm.

ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

A dissertação apresenta uma introdução geral e a revisão de literatura, onde são descritas informações sobre o tambaqui (*Colossoma macropomum*), suas características e aspectos nutricionais. Também são abordadas informações sobre a utilização de micronutrientes com função antioxidante na alimentação dos peixes com destaque para a vitamina E. Ao final desses tópicos são apresentados os objetivos do presente trabalho.

Os resultados estão demonstrados em forma de um artigo, com o qual se objetivou avaliar o desempenho produtivo, as variáveis hematológicas, os índices hematimétricos e os parâmetros fisiológicos de alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas suplementadas com vitamina E. Com exceção das tabelas que foram dispostas ao longo do texto, o artigo foi redigido sob as normas da revista *Pesquisa Agropecuária Brasileira - PAB* para posterior submissão após apreciação da banca examinadora.

Sumário

1. Introdução Geral	1
2. Revisão de Literatura.....	2
2.1 O tambaqui - <i>Colossoma macropomum</i>	2
2.2 Radicais livres e estresse oxidativo	5
2.3 Defesas Antioxidantes	7
2.4 Vitamina E.....	9
3. Objetivos	13
3.1 Objetivo geral	13
3.2 Objetivos específicos.....	13
4. Referências	14
Suplementação com vitamina E em dietas para alevinos de tambaqui.....	21
Resumo	21
Introdução.....	22
Material e Métodos.....	24
Resultados	29
Discussão	33
Conclusões.....	37
Agradecimentos	38
Referências.....	38
Pesquisa Agropecuária Brasileira (Diretrizes para Autores)	44

1. Introdução Geral

O *Colossoma macropomum*, também conhecido como tambaqui, pertence à família Serrasalminidae, habita águas tropicais e ocorre nas bacias Solimões/Amazonas e Orinoco. Desperta interesse nos pesquisadores e produtores por ter fácil adaptação ao cativeiro, elevado valor de sua carne e rápido crescimento (ARAÚJO-LIMA & GOULDING, 1998; MENDONÇA et al., 2009). Essa espécie pode atingir aproximadamente 30 kg e mais de um metro de comprimento total em ambiente natural. Em cultivos, pode alcançar 1 kg/m² primeiro ano e de 1,5 a 3 kg/m² no segundo (SILVA et al., 2006).

O tambaqui possui capacidade de adaptação a diferentes sistemas de cultivo e consome diversos tipos de alimentos. Durante as fases juvenil e adulta é onívoro e, nas fases pós-larva e alevino, alimenta-se de plâncton. Este fato possibilita o melhor aproveitamento dos nutrientes, reduzindo custos relacionados à ração em sistemas semi-intensivos (ZANIBONI-FILHO & MEURER, 1997; OLIVEIRA JUNIOR & COSTA, 2003). Contudo, apesar de grande potencial zootécnico, ainda são necessárias mais informações sobre suas necessidades nutricionais (SILVA et al., 2006).

A deficiência em conhecimentos técnicos sobre nutrição e a falta de domínio de boas práticas de manejo alimentar dificulta a produção em larga escala de peixes nativos (OKAMURA et al., 2008; RESENDE et al., 2009). De acordo com Brandão et al. (2009), a expansão da piscicultura está diretamente ligada a sua rentabilidade, que pode ser melhorada quando sistemas utilizam rações balanceadas e de qualidade, possibilitando o aumento na produtividade e redução dos impactos ambientais.

Segundo Navarro et al. (2007), o desenvolvimento eficiente e saudável dos animais é dependente de uma dieta que contenha concentrações de seus nutrientes próximas do ideal, aliada a tecnologia adequada de preparação para que sejam atendidas as exigências nutricionais básicas de crescimento. Alguns parâmetros como a biodisponibilidade e estocagem dos nutrientes e a concentração de minerais e vitaminas presentes nas dietas podem interferir no desenvolvimento dos peixes (NAVARRO et al., 2009).

As vitaminas são oferecidas aos peixes em pequenas quantidades e auxiliam o crescimento, reprodução e atuam como cofatores enzimáticos de rotas metabólicas. A inclusão desses micronutrientes em dietas de peixes é necessária, principalmente, em sistemas intensivos de produção, onde o peixe é completamente dependente do alimento ofertado (GONÇALVES et al., 2010). Algumas vitaminas atuam como imunoestimulantes, e tem sido

bastante investigadas e utilizadas na aquicultura, por serem um meio eficaz de aumentar a imunocompetência e resistência a doenças através do reforço nos mecanismos de defesa não específicos dos peixes (SAKAI, 1999).

Dentre as vitaminas, a vitamina E é um nome genérico que designa todas as moléculas com bioatividade do α -tocoferol (NRC, 2011). Destaca-se por sua ação antioxidante especificamente contra a peroxidação lipídica em membranas biológicas (THERIAULT et al., 1999). Sua inclusão na alimentação de peixes está relacionada a melhoras no crescimento, taxa de eficiência proteica, eficiência alimentar, resposta imune não específica e sobrevivência (PENG & GATLIN 2009; ZHOU et al., 2013). Além de melhorar a eficiência reprodutiva dos peixes (NAVARRO et al., 2009).

Os requisitos qualitativos e quantitativos de vitamina E variam inclusive para mesma espécie, pois fatores como o tamanho do animal, taxas de crescimento, idade, características anatomofisiológicas do sistema gastrointestinal, fatores ambientais, disponibilidade da vitamina e inter-relação dos nutrientes na dieta, podem interferir na capacidade de absorção, transporte e metabolismo (NRC, 2011; NAVARRO et al., 2009). Dessa forma, são necessários estudos que determinem a exigência de micronutrientes para o tambaqui, a fim de melhorar o aproveitamento das rações e para maximizar sua produção (LEMOS et al., 2011; SILVA et al., 2007).

Portanto, com o presente trabalho, objetiva-se contribuir com informações sobre a exigência nutricional do tambaqui, especificamente relacionada ao efeito da inclusão de diferentes concentrações de vitamina E sobre o desempenho produtivo, variáveis hematológicas, índices hematimétricos e parâmetros fisiológicos da espécie.

2. Revisão de Literatura

2.1 O tambaqui - *Colossoma macropomum*

O *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) é conhecido popularmente como tambaqui (figura 1). Pertence a ordem characiformes, família Characidae e subfamília Serrasalminae. Os caracídeos formam o grupo de peixes mais diversificado da América do Sul, sendo o tambaqui a maior espécie em tamanho. Em ambiente natural, pode atingir mais de 1 m de comprimento total e 30 kg, o que o caracteriza como o segundo maior peixe de escamas. Trata-se de uma espécie migradora, que vive em águas tropicais e é distribuída nas bacias

Solimões/Amazonas e Orinoco, abrangendo o Brasil, Venezuela, Colômbia, Peru e Bolívia (ARAÚJO-LIMA & GOULDING, 1998; SILVA JUNIOR et al., 2011).



Figura 1: Exemplar de tambaqui (*Colossoma macropomum*) medindo 8,8 cm de comprimento total.

Dados do Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura do Ministério da Pesca (MPA, 2013) mostram que, em 2011, na produção aquícola continental, o *C. macropomum* passou a ser a espécie nativa mais cultivada, com uma participação de 111.084,1 toneladas, perdendo apenas para tilápia, com total de 253.824,1 toneladas. Juntas, essas duas espécies representaram 67% da produção nacional.

Isso se deve as qualidades da espécie, como fácil adaptação ao confinamento, rápido crescimento e rusticidade (MENDONÇA et al., 2009; SILVA JUNIOR et al., 2011). O tambaqui também possui uma eficiente conversão alimentar, estratégia adaptativa para suportar situações com baixas concentrações de oxigênio e disponibilidade de formas jovens durante o ano inteiro (OLIVEIRA JUNIOR E COSTA, 2003; BALDISSEROTO, 2009; IZEL & MELO, 2004).

O tambaqui também é bastante apreciado devido à alta palatabilidade de sua carne (SÁNCHEZ-BOTERO et al., 2006). Destaca-se pelo elevado valor de mercado e importância econômica e social na América Latina (SILVA et al., 2007). Esses fatores, aliados as características zootécnicas proporcionam a espécie um excelente potencial para aquicultura e desperta o interesse de pesquisadores e produtores, fazendo com que seja uma das principais espécies cultivadas na Amazônia (ARAÚJO et al., 2004; SANTOS et al., 2010).

O *C. macropomum* é onívoro durante as fases juvenil e adulta, e pode consumir tanto frutos e sementes quanto organismos planctônicos (ZANIBONI-FILHO & MEURER, 1997). Durante as fases pós-larvas e alevinos, alimentam-se de plâncton, sendo que em cativeiro aceita dieta artificial, grãos e subprodutos agroindustriais. Esta característica acaba sendo outro aspecto positivo para o cultivo, pois seu hábito alimentar possibilita o melhor aproveitamento de diversos tipos de alimentos, reduzindo custos relacionados à alimentação, que representam o maior percentual de custos operacionais e é considerado um dos maiores desafios da piscicultura (OLIVEIRA JUNIOR & COSTA, 2003; SILVA et al., 2007).

Peixes amazônicos utilizam diversos frutos e sementes como fontes de nutrientes e energia naturais em suas dietas (SILVA et al., 2003). Essa complexidade do ambiente de origem do tambaqui, bem como a sua flexibilidade alimentar tornam estudos que avaliam suas adaptações fisiológicas e metabólicas de grande importância para maiores avanços tanto na nutrição, quanto em outras áreas de produção (RODRIGUES, 2014).

Nesse sentido, diversos trabalhos investigaram a incorporação de diferentes tipos de alimentos alternativos nas rações. Silva Junior et al. (2011) e Santos et al. (2010), observaram que é viável a inclusão de 30% de farinha de abóbora (*Cucúrbita moschata*) e farinha da castanha da Amazônia (*Bertholletia excelsa*) na dieta de alevinos e juvenis, respectivamente. Pereira Junior et al. (2013) sugerem um nível de 24% de inclusão de farinha de folha de leucena (*Leucaena leucocephala*) em dietas para alevinos.

O intuito de todos esses trabalhos é similar; elaborar dietas nutricionalmente completas para a espécie, nas diferentes fases de cultivo, que possibilitem alta produtividade e economia com menor impacto ambiental. Todavia, apesar do apelo sustentável, a maioria dos ingredientes testados para o tambaqui são pouco concentrados em proteína e com alto teor de fibras e umidade, além da disponibilidade restrita ao local e volume de produção insipiente para suprir a demanda necessária nas indústrias de ração (RODRIGUES, 2014).

Diversos estudos avaliaram a exigência de proteína bruta (PB) para o tambaqui. Silva et al. (2006), sugerem um nível de 260 g kg⁻¹ de PB para alevinos com peso médio de 5,55 ± 0,12 g. Santos et al. (2010) observaram um maior desempenho e composição de carcaça em juvenis (peso médio inicial de 50,3 ± 0,26 g) alimentados com 360 g kg⁻¹ de PB na dieta, após a privação alimentar. Entretanto, Guimarães & Martins (2015) indicaram que a quantidade de proteína mais adequada para tambaquis de 1 a 50 g deve estar em torno de 440 a 480 g kg⁻¹, considerando que durante as fases iniciais essa espécie se alimenta principalmente de cladóceros e copépodes, que apresentam uma quantidade similar de proteína bruta.

A abordagem principal dos trabalhos é para as exigências de proteína, energia e suas relações, devido esse macronutriente, essencial para o crescimento do peixe, ser o ingrediente de maior custo (BOSCOLO et al., 2011; SANTOS et al., 2010). Contudo, os micronutrientes são fundamentais para um bom desenvolvimento dos animais em qualquer fase da vida, especialmente as vitaminas, por participarem de ações específicas no metabolismo, onde a deficiência desse nutriente pode ocasionar deficiências no desempenho e atividade imunológica ou, em casos crônicos, levar o animal a óbito (BOSCOLO et al., 2011). Além disso, muitos macro e microminerais não são absorvidos em quantidades suficientes, sendo necessário que haja suplementação na dieta (NRC, 2011).

Portanto, apesar da quantidade relevante de informações referentes à nutrição do tambaqui, há necessidade de estudos que esclareçam mais o aproveitamento da fibra bruta, carboidratos, aminoácidos essenciais, níveis de ácidos graxos essenciais, alimentos alternativos e vitaminas (RODRIGUES, 2014; DAIRIKI & SILVA, 2011).

Através da determinação dessas informações serão gerados subsídios para elaboração de rações economicamente sustentáveis e ambientalmente corretas. Estas serão primordiais para maximização da produção de tambaqui no Brasil, geração de renda aos piscicultores e para o fornecimento de uma fonte de proteína de qualidade para população humana (SILVA et al., 2007; DARYKI & SILVA, 2011).

2.2 Radicais livres e estresse oxidativo

O processo de oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo, assim, radicais livres são produzidos constantemente in vivo, seja naturalmente ou por alguma disfunção biológica (HALLIWELL, 1994; BARREIROS & DAVID, 2006). Por definição, os radicais livres (RL) são moléculas orgânicas e inorgânicas ou átomos, de existência independente, que contêm um ou mais elétrons desemparelhados (HALLIWELL, 1994). Essa configuração torna essas espécies químicas altamente instáveis e o não emparelhamento de elétrons da última camada confere uma alta reatividade (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

Os radicais superóxido ($O_2^{\bullet-}$), hidroxila (OH^{\bullet}), peróxila (LOO^{\bullet}), alcoxila (RO^{\bullet}) e hidroperóxila (HO_2^{\bullet}), são exemplos de espécies reativas ao oxigênio (ERO). O óxido nítrico e dióxido de nitrogênio (NO_2^{\bullet}) são radicais livres reativos ao nitrogênio (ERN). Os RL oxigênio e nitrogênio podem ser convertidos em outras espécies reativas não-radicaais, como o peróxido

de hidrogênio (H_2O_2), ácido hipocloroso (HOCl), ácido hipobromoso (HOBr) e peroxínitrito ($ONOO^-$). Deste modo, as ERO e ERN incluem espécies de radicais e não- radicais (FANG et al., 2002).

No organismo, em baixas concentrações, os RL participam de processos fisiológicos essenciais. Contribuem com a produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intracelular e síntese de substâncias biológicas importantes (HUSAIN et al., 1987). São mediadores de respostas celulares, agindo como mensageiros específicos. Além disso, uma das principais funções das ERO e ERN é a defesa imunológica do hospedeiro. Neste sentido, estas moléculas são geradas por macrófagos e neutrófilos e desempenham papéis críticos como bactericidas, antivirais e agentes antitumorais (LANDER, 1997; NATHAN, 1992).

Contudo, os RL são oxidantes fortes que, em altas concentrações, são prejudiciais e provocam agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, carboidratos e DNA. Exemplos de danos mais graves são aqueles causados ao DNA e RNA. Caso a cadeia do DNA seja quebrada, pode ser reconectada em outra posição, alterando a ordem de suas bases. Além disso, podem iniciar o processo de peroxidação lipídica ou lipoperoxidação (LPO) através da oxidação dos ácidos graxos polinsaturados das membranas celulares que interfere nos processos de transporte ativo e passivo (HUSAIN et al., 1987; BARREIROS & DAVID, 2006). Esta situação proporciona um estado de estresse oxidativo aos organismos, que pode provocar, além de lesões, morte celular (ARUOMA, 1998).

Com a variedade de prooxidantes (RL) e sua constante produção, naturalmente foram desenvolvidos diferentes tipos de mecanismos de defesa antioxidantes para combater o acúmulo destes e impedir a indução de danos (SIES, 1993). Em condições fisiológicas normais, a produção dessas defesas ocorre em equilíbrio com a de radicais livres, o que proporciona a manutenção da homeostase redox, indispensável para integridade e saúde dos organismos (SIES, 1986). O desbalanceamento na produção de prooxidantes e antioxidantes, onde o primeiro passa a ser dominante, é conhecido como estresse oxidativo. Nesta condição, um dos principais mecanismos de lesão é a lipoperoxidação, que pode ser avaliada e utilizada como um indicador desse estresse oxidativo celular (SIES, 1986; LIMA & ABDALLA, 2001).

O papel das reações dos radicais livres relacionados à patologia e a deterioração de alimentos tornou-se uma área de intenso interesse. De modo geral, as reações dos RL associados à peroxidação lipídica é uma questão importante na área de nutrição, pois cada vez mais os produtores buscam minimizar a oxidação dos alimentos que contém lipídeos através

do uso de antioxidantes durante o processo de fabricação para manter a qualidade nutricional a um determinado prazo de validade. Aliado a isso, as descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo colaboram para que exista um grande interesse no estudo dos antioxidantes (ARUOMA, 1998 BARREIROS & DAVID, 2006).

2.3 Defesas Antioxidantes

O termo antioxidante, muitas vezes, é implicitamente restrito a substâncias inibidoras capazes de quebrar a cadeia de peroxidação lipídica. Todavia, os danos ocasionados pelos radicais livres, *in vivo*, incluem também as proteínas, DNA e outras pequenas moléculas (HALLIWELL et al., 1995). Deste modo, uma definição mais abrangente de antioxidantes é “qualquer substância que, mesmo em baixas concentrações em relação ao substrato oxidável, seja capaz de retardar ou inibir significativamente o processo de oxidação desse substrato” (SIES & STHAL, 1995).

Os antioxidantes incluem catalisadores enzimáticos e não enzimáticos (Tabela 1) (SIES, 1986). O primeiro grupo é representado pelas macromoléculas, que podem atuar diretamente contra as ERO e ERN ou reparar os danos causados ao organismo por essas espécies. De acordo com Barreiros & David (2006), existem três sistemas enzimáticos antioxidantes. O primeiro é formado por dois tipos de enzima superóxido dismutase (SOD), que catalisam a destruição do radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), convertendo-o em oxigênio e peróxido de hidrogênio. O segundo é composto pela enzima catalase, que atua na dismutação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em oxigênio e água. O último sistema é constituído pela glutathiona peroxidase, que opera em ciclos entre sua forma oxidada e reduzida, sendo que este sistema também catalisa a dismutação do H_2O_2 .

O segundo grupo, os antioxidantes não enzimáticos, é constituído pelas micromoléculas. Estas são originadas no próprio organismo ou são adquiridas através da dieta e podem ser particularmente importantes para diminuir o dano oxidativo cumulativo e colaborar com a saúde dos organismos, uma vez que os sistemas de defesas antioxidantes não são 100% eficazes (HALLIWELL, 1994; BARREIROS & DAVID, 2006). Porém, é necessário reconhecer que níveis excessivos de alguns destes antioxidantes pode ter efeitos potencialmente perigosos (FANG et al., 2002).

Tabela 1: Principais agentes de defesa antioxidante. Fonte: Bianchi e Antunes 1999, adaptado de Sies 1993.

Não enzimático	Enzimático
α -tocoferol (vitamina E)	Superóxido dismutase (SOD)
B-caroteno (vitamina A)	Catalase (CAT)
Ácido ascórbico (vitamina C)	NADPH-quinona oxidoreductase
Flavonóides	Glutationa peroxidase
Proteínas do plasma	Enzimas de reparo
Selênio	
Glutationa	
Clorofina	
L-cisteína	
Curcumina	

Os antioxidantes atuam em diferentes níveis de ação. Em geral, para neutralizar as reações danosas iniciadas por metabólitos do oxigênio, os mecanismos de defesa incluem quatro níveis de proteção: A primeira é a prevenção, que impede a formação de RL, sobretudo pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre. A segunda, interceptação, onde os antioxidantes inibem os radicais livres gerados por fontes endógenas ou exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poli-insaturados e as bases do DNA. Nesta fase, os antioxidantes adquiridos da dieta como as vitaminas C, E e A, os flavonoides e carotenoides são fundamentais. A terceira é o reparo das lesões provocadas pelos RL, processo relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares. A quarta fase é a de adaptação do organismo, que pode ocorrer em resposta à geração desses radicais com o aumento da produção de enzimas antioxidantes (SIES, 1986; BIANCHI & ANTUNES, 1999).

Adicionalmente, os antioxidantes melhoram a imunidade através da manutenção da integridade funcional e estrutural de células imunitárias importantes. Isto é de grande interesse para a manutenção de bons índices de lucratividade em pisciculturas, pois um sistema imunológico comprometido tem como consequência a redução da eficiência da produção dos animais em decorrência da maior suscetibilidade a doenças, ocasionando um aumento da morbidade e mortalidade animal (MCDOWELL, 2002).

Portanto, os antioxidantes são nutrientes essenciais nas dietas de peixes, sendo a vitamina E (α -tocoferol e seus derivados) um dos mais utilizados. Isto ocorre devido à

capacidade deste antioxidante em impedir a propagação das reações em cadeia provocadas pelos radicais livres nas membranas biológicas e melhorar a resposta do sistema imunológico não específico dos peixes (TRABER & PACKER, 1995; ZHOU et al., 2013).

2.4 Vitamina E

As vitaminas são classificadas como lipossolúveis: retinol (A), D₃-colecalciferol (D), tocoferol (E) e menadiona (K); e hidrossolúveis: vitaminas do complexo B (B₁, B₂, B₃, B₅ e B₁₂) colina, biotina, ácido fólico (folacina), inositol (mioinositol) e ácido ascórbico (C), sendo estas as 15 vitaminas consideradas essenciais. Geralmente são obtidas na dieta e exigidas em pequenas quantidades para o crescimento normal, reprodução e saúde. Contudo, a quantidade requerida varia amplamente, até mesmo de forma intraespecífica, devido ser influenciada pelo tamanho, idade, taxas de crescimento, fatores ambientais e pela inter-relação dos nutrientes (NRC, 2011; PEZZATO et al. 2004).

Peixes, em ambiente natural, dificilmente apresentam deficiências nutricionais em vitaminas, uma vez que consomem alimentos com teores satisfatórios destes nutrientes. Todavia, em peixes de sistemas intensivos de produção é comum encontrar sinais clínicos de deficiência de vitaminas, seja por sua ausência na dieta ou pela suplementação inadequada (PEZZATO et al. 2004), ou devido a fatores estressantes comuns em pisciculturas, como manejo, mudanças na temperatura, hipóxia e altas densidades de estocagem (Ortuño *et al.* 2003; Belo *et al.* 2005).

A Vitamina E é um termo genérico utilizado para todas as moléculas que possuem bioatividade do α -tocoferol. Naturalmente, ocorrem oito compostos: os quatro isômeros dos tocotrienóis (α T3, β T3, γ T3 e δ T3), estruturalmente relacionados aos seus correspondentes homólogos dos tocoferóis (α T, β T, γ T e δ T), mas que diferem nas suas cadeias laterais, nas quais os isômeros contêm três duplas ligações (Figura 2). Dentre esses, o composto com maior biopotência é o α -tocoferol, sendo a forma sintética (DL- α -tocoferol) de vitamina E mais utilizada na nutrição animal (NRC, 2011; THERIAULT et al., 1999). Além disso, esse é o representante mais importante devido ao maior índice de absorção intestinal, maior deposição nos tecidos, menor excreção fecal e oxidação mais lenta (RICE & KENNEDY, 1998).

O α -tocoferol é importante em vários processos bioquímicos e fisiológicos nos peixes, sendo responsável pela primeira defesa do organismo. É reconhecida por sua ação

antioxidante, tanto em alimentos quanto *in vivo*, especificamente contra a peroxidação dos lipídios em membranas biológicas, bem como na transdução de sinal (BLAZER, 1992; THERIAULT et al., 1999, PENG & GATLIN III, 2009).

É o antioxidante lipossolúvel predominante nos animais e está relacionado a melhoras no desempenho do crescimento, taxa de eficiência proteica e sobrevivência, eficiência alimentar, e respostas imune não específicas. Além de influenciar a eficiência reprodutiva dos peixes (PENG & GATLIN III, 2009, ZHOU et al., 2013, NAVARRO et al., 2009).

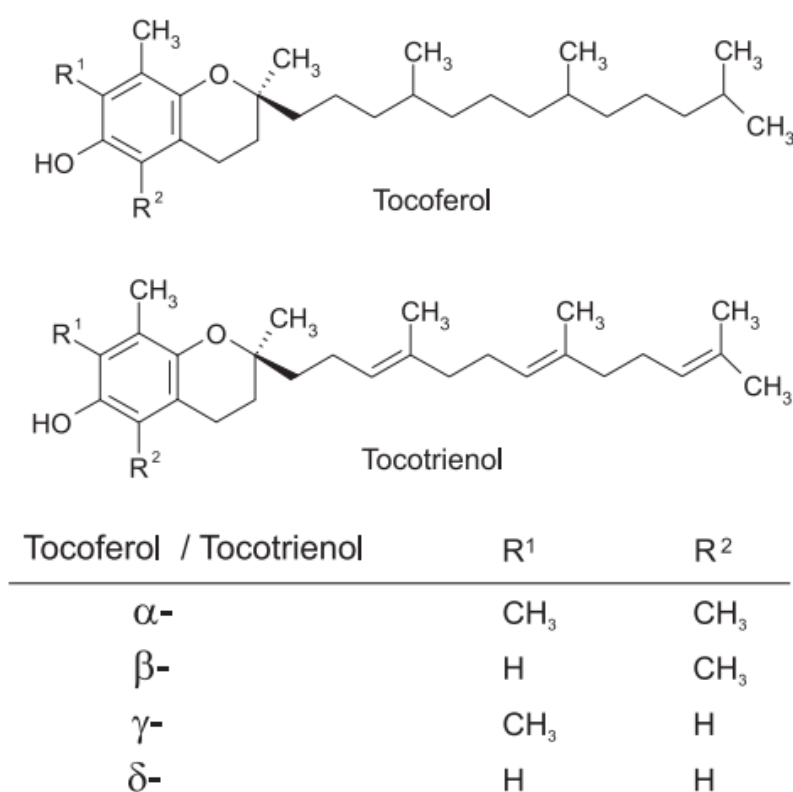


Figura 2: Estrutura dos vários homólogos do tocoferol e tocotrienol. Fonte: Cerqueira et al. (2007).

Desta forma, é importante identificar os requisitos qualitativos e quantitativos de vitamina E que melhor se adaptam a cada espécie, nas diferentes fases de desenvolvimento. O mínimo de vitamina E exigido para os peixes em geral é de 30 mg/ kg da dieta, e para tilápias varia de 50 a 100 mg/ kg da dieta (NRC, 2011). Contudo, a exigência vitamínica é variável entre as espécies de peixes, dependendo das características anatomofisiológicas do sistema gastrointestinal, do estado fisiológico do animal, da idade e da disponibilidade da vitamina na dieta, fatores que podem interferir na capacidade de absorção, transporte e metabolismo das vitaminas no alimento (NAVARRO et al., 2009).

Outro fator que interfere na exigência dessa vitamina é a quantidade e qualidade dos lipídeos presentes nas dietas. Rações sem antioxidantes e com alta concentração de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) e pró-oxidantes (de ferro e de cobre, etc.) aumentam a exigência de vitamina E para proteger o sistema imunitário dos peixes (LALL, 2000). Em juvenis do bagre africano (*Clarias gariepinus*), alimentados com dieta contendo lipídeos oxidados, foi necessária a suplementação com vitamina E para manter os níveis de tocoferol nos tecidos. Isso pode ser especialmente importante em países onde rações instáveis podem tornar-se oxidadas devido às condições climáticas (BAKER & DAVIS, 1997).

A vitamina E possui ação acumulativa no organismo. Sua absorção ocorre no intestino e é facilitada em condições favoráveis a absorção de gorduras. Logo, níveis superiores às necessidades metabólicas geram o acúmulo deste nutriente nos tecidos e podem produzir uma condição tóxica, hipervitaminose (NRC, 2011). Por outro lado, sinais de deficiência de vitamina E como o escurecimento da pele, maior mortalidade, perda de peso associada à atrofia muscular, hemorragia, atraso no crescimento, ineficiência alimentar, anemia e elevação da peroxidação lipídica no fígado, foram encontrados em várias espécies (CHEN et al., 2004; ZHOU et al., 2013).

O uso da vitamina E na alimentação de peixes é bastante reconhecido e aplicado. A melhora equilibrada no desempenho produtivo e na capacidade antioxidante, foi observada por Li et al. (2014) para juvenis de carpa (*Ctenopharyngodon idellus*), com peso médio de $11,2 \pm 0,03$ g, alimentados com 100,36 mg de vitamina E/ kg da dieta. Além disso, estes autores sugeriram que os benefícios de níveis mais altos da vitamina devem ser ponderados: por um lado podem aumentar a capacidade antioxidante, por outro podem reduzir o crescimento.

Navarro et al. (2012) também verificaram o benefício deste antioxidante. De acordo com estes autores, juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), pesando em média $1,40 \pm 0,88$ g, alimentados com 100 e 150 mg de vitamina E/ kg da dieta, apresentaram maior relação PUFA:SFA e nível de ácidos graxos poli-insaturados da série ômega-3 (ácido linolênico) e ômega-6 (ácido linoleico), demonstrando que sua atividade preserva a estrutura lipídica. Martins et al. (2008) mostraram que a inclusão de 500mg/ kg de ração das vitaminas C e E influenciou a resposta inflamatória aguda de tilápias do Nilo com peso médio de $236,71 \pm 26,73$ g, devido a maior migração de células de defesa (leucócitos e trombócitos) para a bexiga natatória após injeção de carragenina e lipopolissacarídeo - LPS.

Quando administradas em conjunto, as vitaminas C e E demonstram um efeito sinérgico contra oxidação nas fases aquosas e lipídicas do tecido animal, respectivamente

(HAMRE et al., 1997; MARTINS et al., 2008). Ao reagir com um radical livre peroxila de um ácido graxo polinsaturado (PUFA) peroxidado, a vitamina E doa seu hidrogênio fenólico. Assim, a reação em cadeia do radical livre é quebrada e o processo de peroxidação dos PUFA em fosfolipídios nas membranas celulares e subcelulares é inibido. Entretanto, isso faz com que a vitamina E seja convertida num radical tocoferil, inativo como antioxidante. Este radical é reduzido pelo ácido ascórbico, formando um radical de vitamina C, enquanto a vitamina E é regenerada (FANG et al., 2002; HAMRE et al., 1997).

As vantagens do uso da vitamina E aplicado a espécies nativas também foram avaliadas por muitos pesquisadores. Gonçalves et al. (2010) mostraram que a suplementação das dietas com vitamina E não afetou as variáveis sanguíneas de animais em equilíbrio fisiológico. Entretanto, proporcionou melhoras no comprimento padrão, ganho de peso e conversão alimentar aparente de juvenis de tambacu (peso médio inicial de $12,12 \pm 0,31$ g), resultando em um maior aproveitamento da dieta e melhor rendimento produtivo dos peixes. Além disso, determinaram que a atividade da enzima glutathione peroxidase não está diretamente ligada à suplementação de vitamina E, mas sim à quantidade de selênio disponível na dieta.

Belo et al. (2005) sugeriram que a vitamina E pode contribuir para eficiência da resposta inflamatória de pacus (*Piaractus mesopotamicus*), com peso médio de $96,42 \pm 25,23$ g, e parece agir sobre a resposta ao estresse dos peixes provocados por altas densidades de estocagem, impedindo que ocorra a imunossupressão. Em juvenis ($7,83 \pm 0,04$ g), Sado et al. (2013), determinaram níveis crescentes de vitamina E na dieta sobre o desempenho e hematologia, demonstrando que esse micronutriente é essencial em dietas artificiais para o crescimento e a manutenção da eritropoiese nos valores normais para a espécie.

Garcia et al. (2007), em estudos com juvenis de pacu, testaram dietas com diferentes níveis de vitamina C e E. Posteriormente, realizaram um desafio em diferentes temperaturas com *Aeromonas hydrophila* e observaram que o acréscimo das vitaminas proporcionou uma maior resistência dos peixes à bactéria e maior proteção dos eritrócitos, sendo que a vitamina E funcionou como antioxidante, evitando o dano às células por radicais livres. Com base nas respostas hematológicas, recomendaram a suplementação de 250 mg de vitamina E/ kg da dieta.

Em relação ao tambaqui, Marcon & Wilhelm Filho (1999) avaliaram níveis de antioxidantes em diferentes tecidos do peixe em ambiente natural e verificaram a presença de α -tocoferol apenas no fígado ($7,8 \pm 7$ nmol/ g) e no plasma ($4,3 \pm 0,9$ nmol/ mL), onde os

antioxidantes e o conteúdo de peroxidação lipídica no fígado, sangue e plasma apresentaram correlações, sendo sugerido que os antioxidantes em diferentes tecidos atuam em conjunto.

No entanto, apesar da quantidade de trabalhos relevantes publicados sobre as espécies nativas, ainda são escassos estudos para determinação da exigência de vitaminas nas diferentes fases do desenvolvimento. Além disso, as exigências de vitaminas são estimadas sob suplementação que nem sempre atende a demanda dos peixes (BOSCOLO et al., 2011). Portanto, para buscar melhorias no crescimento, saúde e aperfeiçoamento dos mecanismos de defesa, fazem-se necessários mais estudos para definir os requerimentos do tambaqui.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito de dietas suplementadas com vitamina E (DL- α -tocoferol, 50% ativo) sobre o desempenho produtivo, variáveis hematológicas, índices hematimétricos e parâmetros fisiológicos em alevinos de tambaqui *Colossoma macropomum*.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar os efeitos da adição de diferentes níveis de vitamina E, acrescentados na dieta de alevinos de tambaqui, sobre:

- Desempenho produtivo;
- Variáveis hematológicas e índices hematimétricos;
- Parâmetros fisiológicos (glicose sanguínea e proteína plasmática).

4. Referências

- Araújo, L. D. de; Chagas, E. C.; Gomes, L. de C.; Brandão, F. R. (2004). Efeito de banhos terapêuticos com formalina sobre indicadores de estresse em tambaqui. *Pesquisa agropecuária brasileira*. v. 39, n.3, p.217-221.
- Araújo-Lima, C.´A.; Goulding, M. (1998). *Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia*. Sociedade Civil de Mamirauá. Brasília CNPq, Tefé, Amazonas. 186p.
- Aruoma, O. I. (1998). Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 75, n. 2, p. 199-212.
- Baker, R. T. M. & Davies, S. J. (1997). Modulation of tissue α -tocopherol in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), fed oxidized oils, and the compensatory effect of supplemental dietary vitamin E. *Aquaculture Nutrition*, v. 3, p. 91–97.
- Baldisserotto, B. (2009). Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro. *Ciência Rural*, v. 39, n. 1, p. 291-299.
- Barreiros, A. L. B. S. & David, J. M. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, v. 29, n.1, p. 113-123.
- Belo, M. A. A.; Schalch, F. R.; Moraes, F. R.; Soares, V. E.; Otoboni, A.M.M.B.; Moraes, J. E. R. (2005). Effect of dietary supplementation with vitamin E and stocking density on macrophage recruitment and giant cell formation in the teleost fish, *Piaractus mesopotamicus*. *Journal of Comparative Pathology*, v.133, p.146-154.
- Bianchi, M. L. P & Antunes, L. M. G. (1999). Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta free radicals and the main dietary antioxidants. *Revista de Nutrição*, v. 12, n. 2, p. 123-130
- Blazer, V. S. (1992). Nutrition and disease resistance in fish. *Annual Review of Fish Diseases*, p. 309-323.
- Boscolo, W. R.; Signor, A.; Freitas, J. M. A.; Bittencourt, F. & Feiden. A. (2011). Nutrição de peixes nativos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, p.145-154, 2011.

Brandão, L. V.; Pereira Filho, M.; Guimarães, S. F. & Fonseca, F. A. L. (2009). Suplementação de metionina e/ou lisina em rações para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). *Acta Amazonica*, v. 39, n. 3, p. 675 – 680.

Brasil. (2013). Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim estatístico da pesca e aquicultura. Brasília: MPA, 60p. MPA. (2013). Disponível em: http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20MPA%202011_FINAL3.pdf.

Cerqueira, F. M.; Medeiros, M. H. G. de & Augusto, O. (2007). Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 441-449.

Chen, R.; Lochmann, R. Goodwin, A.; Praveen, K.; Dabrowski, K. & Lee, K. J. (2004). 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*, v. 242, p. 553–569.

Dairiky, J. K.; Silva, T. B. A. (2011). Exigências nutricionais do tambaqui – Compilação de trabalhos, formulação de ração adequada e desafios futuros. *Documentos*, 92. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental.

Theriault, A.; Chao, J. T.; Wang, Q. I.; Gapor, A.; Adeli, K. (1999). Tocotrienol: A Review of Its Therapeutic Potential. *Clinical Biochemistry*, v. 32, n. 5, p. 309-319.

Fang, Y.; Yang, S. & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, v. 18, n.10, p. 872-879.

Ferreira, A. L. A. & Matsubara, L. S. (1997). Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, Brasil; v. 43, n. 1, p. 61-68.

Garcia, F.; Pilarski, F.; Onaka, E.M.; Moraes, F.R.; Martins, M.L. (2007). Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, v. 271, p. 39-46.

Guimarães, I.G. & Martins, G.P. (2015). Nutritional requirement of two Amazonian aquacultured fish species, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) and *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): a mini review. *J. Appl. Ichthyol.*, **31**, 57–66.

Gonçalves, A. C. S.; Murgas, L. D. S.; Rosa, P. V. E.; Navarro, R. D.; Costa, D. V. & Teixeira, E. A. (2010). Desempenho produtivo de tambacus através da suplementação de vitamina E na dieta. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 45, n. 1, p. 1005–1011.

Gouillou-Coustans, M.-F.; Bergot, P.; Kaushik, S. J. (1998). Dietary ascorbic acid needs of common carp (*Cyprinus carpio*) larvae. *Aquaculture*, v.161: 453-461.

Halliwell B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, v. 52, n. 8, p. 253-265.

Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J., and Aruoma, O. I. (1995). The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, v. 33, n. 7, p. 601-617.

Hamre, K.; Waagbo, R.; Berge, R. K.; Lie, O. (1997). Vitamins C and E interact in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Free Radical Biology and Medicine*, v. 22, n. 1/2, p.137-149.

Husain, S. R.; Cillard, J. & Cillard, P. (1987). Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*, v. 26, n. 9, p. 2489-2491

Izel, A. C. U. & Melo, L. A. S. (2004). Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) tanques escavados no Estado do Amazonas. Embrapa Amazônia Ocidental. *Documentos* 32. p. 20.

Lall, S. P. (2000). Nutrition and health of fish. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 19-22. Mérida, Yucatán, Mexico.

Lander, H. M. (1997). An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEBJ*, v. 11, p. 118-124.

Lemos, M. V. A.; Guimarães, I. G. & Miranda, E. C. (2011). Farelo de coco em dietas para o tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 12, n. 1, p. 188-198.

Li, J.; Liang, X. F.; Tan, Q.; Yuan, X.; Liu, L.; Zhou, Y. & Li, B. (2014). Effects of vitamin E on growth performance and antioxidant status in juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idellus*. *Aquaculture*, v. 430, p. 21–27.

Lima, e. S. & Abdalla, D. S. P. (2001). Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 37, n.3, p. 293-302.

Marcon, J. L.; Wilhelm Filho, D. (1999). Antioxidant processes of the wild tambaqui, *Colossoma macropomum* (Osteichthyes, Serrasalminae) from the Amazon. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 123: 257–263.

Martins, M. L.; Miyazaki, D. M. Y.; Moraes, F. R.; Ghiraldelli, L.; Adamante, W. B. & Mouriño, J. L. P. (2008). Ração suplementada com vitaminas C e E influencia a resposta inflamatória aguda em tilápia do Nilo. *Ciência Rural*, v. 38, n. 1, p. 213-218.

Mcdowell, R. L. (2002) Recent advances in minerals and vitamins on nutrition of lactating cows. *Pakistan Journal of Nutrition*, v. 1, n. 1, p. 8-19.

Mendonça, P.P.; Costa, P. C.; Polese, M. F.; Vidal Junior, M. V. & Andrade, D. R. (2012). Efeito da suplementação de fitase na alimentação de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Archivos de Zootecnia*, v. 61, n. 235, p. 437-448.

Mendonça, P.P.; Ferreira, R. A.; Vidal Junior, M. V.; Andrade, D. R.; Santos, M. V. B.; Ferreira, A. V *Rezende, F. P. (2009). Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Archivos de Zootecnia*, v. 58, n. 223, p. 323-331.

Nathan, C. (1992). Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEBJ*, v. 6, p. 3051-3064.

NRC - National Research Council (2011). *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. Washington, DC: The National Academic Press. 376p.

Navarro, R. D.; Lanna, E. A. T.; Donzele J. L., Matta, S. L. P. & Souza, M. A. (2007). Níveis de energia digestível da dieta sobre o desempenho de piauçu (*Leporinus Macrocephalus*) em fase pós-larval. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, v. 29, n.1, p. 109-114.

Navarro, R. D.; Ribeiro Filho, O. P.; Ferreira, W. M.; Pereira, F. K. S. (2009). A importância das vitaminas E, C e A na reprodução de peixes: revisão de literatura. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 33, n.1, p. 20-25.

Navarro, R.D.; Navarro, F. K. S. P.; Ribeiro Filho, O. P.; Ferreira, W. M.; Pereira, M. M.; Seixas Filho, J. T. (2012). Quality of polyunsaturated fatty acids in Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) fed with vitamin E supplementation. *Food Chemistry*, v. 134, p. 215–218.

Okamura, D.; Arapujo, F. G.; Logato, P. V. R.; Silveira, U. S. Murgas, L. D. S. & Freitas, R. T. F. (2008). Palmitato de ascorbil e acetato de tocoferol como antioxidantes metabólicos em larvas de dourado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, n. 8, p. 1061-1068.

Oliveira Junior, A. R. & Costa, A. M. (2003). *Projeto potencialidades regionais estudo de viabilidade econômica. Piscicultura*. Superintendência da Zona Franca de Manaus – SUFRAMA, 8: 63 p.

Peng, L.I. & Gatlin III, D. M. (2009). Dietary vitamin E requirement of the red drum *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture Nutrition*, v. 15; p. 313 – 319.

Pereira Junior, G.; Pereira Filho, M. Roubach, R. Barbosa, P. S. & Shimoda, E. (2013). Farinha de folha de leucena (*Leucaena leucocephala* Lam. de wit) como fonte de proteína para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). *Acta Amazonica*, v. 43, n. 2, p. 227 – 234.

Pezzato, L. E.; Barros, M. M., Fracalossi, D. M., Cyrino, J. E. P. Nutrição de peixes. In: Cyrino, J. E.P.; Urbinati, E. C.; Fracalossi, D. M. (Eds.) *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. São Paulo: TecArt, 2004. p.75-169.

Resende, E. K. (2009). Pesquisa em rede em aquicultura: bases tecnológicas para o desenvolvimento sustentável da aquicultura no Brasil. Aquabrazil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, p. 52-57 (supl. especial).

Rice, D.; Kennedy, S. (1998). Vitamin E: function and effects of deficiency. *British Veterinary Journal*, v. 144, n. 5. p. 482-496.

Rodrigues, A. P. O. (2014). Nutrição e alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Boletim Instituto de Pesca*, v. 40, n. 1, p. 135 – 145.

Sado, R. Y.; Bicudo, A. J. A. & Cyrino, J. E. P. (2013). Growth and hematology of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) fed with increasing levels of vitamin E (DL- α -tocopheryl acetate). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 85, n.1, p. 385-393.

Sakai, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, v. 172, p. 63–92.

Sánchez-Botero, J. I.; Garcez, D. S. & Cortezão, W. C. (2006). Histórico do comprimento total de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae, Cuvier, 1818) desembarcado no mercado de tefé, Amazonas, Brasil, com nove recomendações para o manejo pesqueiro da espécie. *Uakari*, v. 2, p. 27-33.

Santos, L.; Filho, M. P.; Sobreira, C.; Itauassú, D. & Fonseca, F. A. L. (2010). Exigência protéica de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após privação alimentar. *Acta Amazonica*, v. 40, n. 3, p. 597 – 604.

Santos, M. Q. C.; Oishi, C. A.; Pereira Filho, M.; Lima, M. A. C.; Ono, E. A. & Affonso, E. G. (2010). Physiological response and performance of tambaqui fed with diets supplemented with Amazonian nut. *Ciência Rural*, 2181 *Ciência Rural*, v. 40, n. 10, p. 2181-2185.

Sies, H. & Stahl, W. (1995). Antioxidant functions of vitamins E and C, β -carotene and other carotenoids. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 62, p. 1315-1321.

Sies, H. (1986). Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie, International Edition in English*, v. 25: 1058-1071.

Sies, H. (1993). Strategies of antioxidant defense. *European Journal of Biochemistry*, v. 215: 213-9.

Silva Junior, W. A. S. J.; Silva, C. N.; Penafort, J. M.; Souza, R. A. L. & Pimenta Junior, J. (2011). Alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com ração comercial

incrementada por abóbora (*Cucúrbita moschata*). Anais do 9º Seminário Anual de Iniciação Científica.

Silva, J. A. M.; Pereira Filho, M. & Oliveira-Pereira, M. I. (2003). Frutos e Sementes Consumidos pelo Tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) Incorporados em Rações. Digestibilidade e Velocidade de Trânsito pelo Trato Gastrointestinal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32 (6): 1815-1824 (Supl. 2).

Silva, J. A. M.; Pereira Filho, M.; Caveiro, B. A. S & Oliveira-Pereira, M. I. (2007). Digestibilidade aparente dos nutrientes e energia de ração suplementada com enzimas digestivas exógenas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). *Acta Amazonica*, v. 37, n. 1, p. 157 – 164.

Silva, L. F. L.; Miranda, E. C.; Fraga, A. B.; Santos, E. L.; Fonseca, L. A. P.; Pacheco, K. M. G. & Pontes, E. C. (2006). Níveis de proteína bruta no desenvolvimento de alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*). ZOOTEC - 22 a 26 de maio - Centro de Convenções de Pernambuco.

Traber, M. G. & Packer, L. (1995). Vitamin E - beyond antioxidant function. *Journal of Clinical Nutrition*, v. 62, p. 1501–1509.

Vidal Junior, M. V.; Donzele, J. L.; Camargo, A. C. S.; Andrade, D. R.; Santos, L. C. (1998). Níveis de proteína para Tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) dos 30 aos 250 g de peso vivo. Desempenho dos Tambaquis. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 27, n. 3, p. 421-426.

Zaniboni Filho, E.; Meurer, S. (1997) Limitações e potencialidades do cultivo de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) na região subtropical do Brasil. *Boletim Instituto Pesca*, v. 24 (especial), p.169-172.

Zhou, Q.C.; Wang, L.G.; Wang, H.L.; Wang, T.; Elmada, C.Z. & Xie, F.J. (2013). Dietary vitamin E could improve growth performance, lipid peroxidation and non-specific immune responses for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture Nutrition*, v. 19, p. 421 – 429.

Suplementação com vitamina E em dietas para alevinos de tambaqui

Adriana Xavier Alves⁽¹⁾, Galileu Crovatto Veras⁽¹⁾ Evaldo Martins da Silva⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Federal do Pará (UFPA). Alameda Leandro Ribeiro s/n, 68.600-000, Bragança, Pará, Brasil.

E-mail: adrianaengp@gmail.com, galileu@ufpa.br

Resumo – Um experimento de 90 dias foi conduzido para avaliar o efeito de diferentes níveis de vitamina E sobre o desempenho produtivo, variáveis hematológicas, índices hematimétricos e parâmetros fisiológicos em alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*). As dietas foram suplementadas com 0, 250, 500, 700 e 1000 mg kg⁻¹ de vitamina E (acetato de DL- α -tocoferol, 50% ativo). Não ocorreu diferença significativa no desempenho produtivo dos peixes. Contudo, a inclusão de 1000 mg kg⁻¹ de α -tocoferol reduziu significativamente a quantidade de glicose, comparada aos tratamentos sem suplementação e com 250 mg kg⁻¹. As demais variáveis hematológicas e os índices hematimétricos não apresentaram diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Na contagem diferencial de leucócitos, o número de linfócitos, monócitos e basófilos não apresentaram diferença. Entretanto, os peixes alimentados com a dieta contendo 1000 mg kg⁻¹ apresentaram uma menor proporção de neutrófilos ($P < 0,05$) comparado aos demais tratamentos. A quantidade de eosinófilos e células granulocíticas especiais foi maior nos tratamentos com 700 mg kg⁻¹ e 250 mg kg⁻¹, respectivamente. Apesar da suplementação com vitamina E na dieta não ter influenciado o desempenho produtivo dos alevinos de tambaqui, a dieta sem suplementação promoveu aumento do número de neutrófilos, demonstrando maior susceptibilidade destes peixes aos processos inflamatórios.

Termos para indexação: suplementação vitamínica, α -tocoferol, variáveis hematológicas, nutrição, piscicultura, *Colossoma macropomum*

Vitamin E supplementation in diets for tambaqui fingerlings

Abstract – A experiment of 90 days was conducted to evaluate the effect of different vitamin E levels on productive performance, hematological variables, hematometric index and physiological parameters of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fingerlings. The diets were supplemented with 0, 250, 500, 700 and 1,000 mg kg⁻¹ of vitamin E (DL acetate- α -tocopherol, 50% active). There was no significant difference in fish productive performance. However, the inclusion of 1,000 mg kg⁻¹ of α -tocopherol significantly reduced the glucose amount, compared to treatments without supplementation and with 250 mg kg⁻¹. The others hematological variables and the hematometric index did not differences (P>0.05) between treatments. In the leukocyte differential account, the lymphocytes number, monocytes and basophiles showed no difference. However, the fishes fed with diet containing 1,000 mg kg⁻¹ showed a lower neutrophils proportion (P<0.05) compared to other treatments. The eosinophils number and special granulocytic cells was higher in the treatments with 700 mg kg⁻¹ and 250 mg kg⁻¹, respectively. Although the vitamin E supplementation in the diet did not influence the productive performance of tambaqui fingerlings, the diet without supplementation promoted increase in the neutrophils number, demonstrating greater susceptibility of these fishes to inflammatory process.

Index terms: Vitamin supplementation, α -tocopherol, hematological variable, nutrition, fishfarm, *Colossoma macropomum*

Introdução

A vitamina E participa de vários processos bioquímicos e fisiológicos nos peixes, sendo responsável pela primeira defesa do organismo. É reconhecida por sua ação

antioxidante nos alimentos e *in vivo*, especificamente contra a lipoperoxidação em membranas biológicas, bem como na transdução de sinal (Blazer, 1992; Peng & Gatlin, 2009).

Vitamina E é um termo genérico utilizado para todas as moléculas que possuem bioatividade do α -tocoferol (NRC, 2011), o antioxidante lipossolúvel predominante nos animais (Navarro et al., 2009). O uso na alimentação dos peixes está relacionado a melhoras no crescimento, taxa de eficiência proteica, sobrevivência, eficiência alimentar, (Sado et al., 2013; Zhou et al., 2013) respostas imunes não específicas e ação antioxidante em diversas espécies (Galaz et al., 2010; Li et al., 2014). Contudo, a exigência em vitamina E pode variar dependendo da fase do desenvolvimento do animal, das condições experimentais e das interações com os demais nutrientes da dieta (Hamre, 2011; Zhou et al., 2013).

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma espécie importante economicamente e socialmente na América Latina, especialmente na região amazônica. Na aquicultura brasileira é a segunda espécie mais produzida. Seu excelente potencial produtivo deve-se ao seu elevado valor de mercado, qualidade de sua carne e ao seu desempenho zootécnico, destacando-se pela boa adaptação ao cativeiro, rusticidade no manejo, aceitação de dietas artificiais, rápido crescimento e elevado sucesso de desovas obtidas pela reprodução induzida (Guimarães & Martins, 2015).

Apesar do potencial para a piscicultura, existem lacunas em informações sobre as exigências nutricionais da espécie, especialmente em estudos que avaliem as necessidades em vitaminas e outros micronutrientes (Rodrigues, 2014; Guimarães & Martins, 2015). Além disso, as exigências de vitaminas são estimadas sob suplementação que nem sempre atende a demanda dos peixes (Boscolo et al., 2011). Portanto, com o presente trabalho objetiva-se avaliar o efeito da suplementação de diferentes níveis de vitamina E sobre o desempenho produtivo, variáveis hematológicas, índices hematimétricos e parâmetros fisiológicos em alevinos de tambaqui.

Material e Métodos

Local, delineamento e condições experimentais

Os alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) foram adquiridos na piscicultura Da Torre, localizada no município de Ulianópolis – PA e, em seguida transportados para o Laboratório de Piscicultura da Universidade Federal do Pará, *Campus* de Bragança, onde o experimento foi conduzido no período de 18 de dezembro de 2015 a 17 de março de 2016.

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, um sem suplementação e os demais com quatro diferentes níveis de suplementação de vitamina E (0, 250, 500, 700 e 1000 mg kg⁻¹ da dieta) e três repetições, sendo o aquário de 300 L a unidade experimental.

Foi realizada uma biometria inicial dos alevinos, na qual foi selecionado um total de 150 exemplares com média de $4,29 \pm 0,07$ cm de comprimento padrão e peso médio de $2,94 \pm 0,14$ g. Posteriormente, os peixes foram dispostos em aquários (300 L), sistema de recirculação com biofiltro e filtro mecânico, taxa de renovação diária de 13%, temperatura constante de 27 °C e densidade de estocagem dez peixes por aquário.

Durante o período experimental, os parâmetros de qualidade de água se mantiveram adequados, apresentando os seguintes valores: oxigênio dissolvido, $7,15 \pm 0,88$ mg L⁻¹; pH, $7,16 \pm 0,45$; temperatura, $27,13 \pm 0,45$ °C; condutividade elétrica, $0,142 \pm 0,05$ (µs cm⁻¹); amônia, $0,00 \pm 0,00$ (ppm) e nitrito, $0,19 \pm 0,25$ mg L⁻¹. Os níveis de amônia e nitrito foram verificados a cada quinze dias por meio de Kits colorimétricos (Labtest). Os demais parâmetros foram mensurados semanalmente por meio de uma sonda multiparâmetro (Horiba U50). Os peixes permaneceram nessas condições por um período de 90 dias, onde foram alimentados com as dietas-teste.

Preparação das dietas

Cinco dietas isoproteicas e isocalóricas, com 399,98 g kg⁻¹ de proteína bruta e 3209,80 kcal de ED/ kg de ração, respectivamente, foram preparadas para posterior inclusão de 0, 250, 500, 700 e 1000 mg kg⁻¹ de vitamina E (Tabela 1). A formulação e o preparo das dietas foram realizados no laboratório de piscicultura e a avaliação da composição química dos ingredientes (proteína, lipídio, matéria seca e matéria mineral) foi realizada no Laboratório de Tecnologia do Pescado, ambos da Universidade Federal do Pará, *Campus* de Bragança.

Tabela 1. Valores da composição percentual da dieta basal.

Ingredientes	g kg ⁻¹
Farelo de soja	640,00
Farinha de Peixe	150,00
Fubá de milho	70,00
Farelo de trigo	66,00
Óleo de soja	39,50
Fosfato bicálcio	13,50
Premix vit./min. ¹	5,00
Lisina	10,80
DL metionina	5,00
BHT ²	0,20
Total	1000,00
Nutrientes e Energia	
Proteína Bruta (g kg ⁻¹)	399,98
Energia digestível (kcal kg ⁻¹)	3209,80
Extrato etéreo (g kg ⁻¹)	53,20
Fibra Bruta (g kg ⁻¹)	45,30

¹Premix vitamínico e mineral isento de vitamina E: Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 24.000 UI; Vit. D3, 6.000 UI; Vit. K3, 30 mg; Vit. B1, 40 mg; Vit. B2, 40 mg; Vit. B6, 35 mg; Vit. B12, 80mg; Ác. fólico, 12 mg; Pantotenato Ca, 100 mg; Vit. C, 600 mg; Biotina, 2 mg; Colina, 1.000 mg; Niacina; Ferro, 200 mg; Cobre, 35 mg; Manganês, 100 mg; Zinco, 240 mg; Iodo, 1,6 mg; Cobalto, 0,8 mg; ²Butil Hidroxi Tolueno.

Após a formulação das dietas experimentais, os ingredientes foram finamente moídos (0,05 mm), pesados em balança analítica e homogeneizados. Em seguida, a quantidade de vitamina E, na forma de acetato de DL- α -tocoferol, 50% ativo (Mapric, São Paulo), correspondente a cada dieta, foi pesada e misturada aos ingredientes. Posteriormente, ocorreu uma nova homogeneização, desta vez com todos os ingredientes umedecidos em 50% de água a 50 °C. As dietas foram peletizadas em moedor elétrico, congeladas em freezer – 20°C por 24 h e posteriormente liofilizadas durante 26 h para garantir a secagem da ração sem a degradação da vitamina E. As rações foram trituradas e peneiradas para a padronização do tamanho dos peletes de 1,0 a 2,0 mm, devidamente compatíveis com a fase de desenvolvimento da espécie. Depois de finalizado o processamento, as rações foram armazenadas sob refrigeração a uma temperatura de aproximadamente 10°C.

Manejo alimentar

O alimento foi fornecido três vezes ao dia às 08, 12 e 16 h, num nível próximo à saciedade aparente (quantidade correspondente a 8% do peso vivo). Quinzenalmente foram realizadas biometrias em todos os tratamentos para acompanhar o crescimento dos peixes e ajustar o fornecimento da dieta. Diariamente foram registrados os dados de consumo e de sobrevivência, assim como foi realizado o sifonamento dos tanques, uma hora após a última alimentação.

Avaliação do desempenho produtivo

Após o término do experimento, os alevinos passaram por um período de 24 horas de jejum. Em seguida, os peixes foram contabilizados, pesados e medidos para se obter os seguintes índices de desempenho produtivo:

- Taxa de sobrevivência: $TS (\%) = (\text{número final de peixes} / \text{número inicial de peixes}) \times 100$;

- Ganho de peso: $GP (g) = \text{peso final} - \text{peso inicial}$;
- Ganho de comprimento: $GC (cm) = \text{comprimento final} - \text{comprimento inicial}$;
- Taxa de crescimento específico: $TCE (\% \text{ dia}^{-1}) = (\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial} / \text{número de dias de experimento}) \times 100$
- Conversão alimentar: $CA = \text{consumo de ração} / \text{ganho de peso}$
- Taxa de eficiência proteica: $TEP = \text{ganho de peso} / \text{consumo de proteína}$
- Fator de condição: $100 \times [\text{peso final} / (\text{comprimento final})^3]$

Após coleta de sangue, os animais foram individualmente eutanasiados por meio de decaptação. Em seguida, os peixes foram eviscerados, sendo separados o fígado, as vísceras, a gordura visceral e o baço, os quais foram pesados individualmente para a obtenção dos seguintes índices de rendimento:

- Rendimento de carcaça: $RC (\%) = (\text{peso do peixe eviscerado sem cabeça} / \text{peso final do peixe}) \times 100$
- Índice hepatossomático: $IHS (\%) = (\text{peso do fígado} / \text{peso final do peixe}) \times 100$;
- Índice viscerossomático: $IVS (\%) = (\text{peso das vísceras} / \text{peso final do peixe}) \times 100$;
- Índice gorduroviscerossomático (IGVS) = $(\text{peso da gordura visceral} / \text{peso final do peixe}) \times 100$
- Índice esplenossomático (IES) = $(\text{peso do baço} / \text{peso final do peixe}) \times 100$

Avaliações hematológicas, hematimétricas e fisiológicas

Todos os peixes foram utilizados para coleta de amostra sanguínea, realizada por punção dos vasos caudais com o auxílio de agulhas e seringas de 1 mL previamente umedecidas com EDTA (10%). Cada amostra de sangue foi transferida para microtubos de 2 mL devidamente etiquetados.

Com uma alíquota de 10 μ L de sangue foi determinada a glicemia (mg dL⁻¹) utilizando o medidor automático (Acon® modelo On Call Plus). O hematócrito (%) foi determinado pelo método do microhematócrito em centrífuga a 12000 rpm durante cinco minutos (Quimis® modelo Q222H). Com o plasma obtido após centrifugação dos microcapilares, foi determinado o valor de proteína plasmática total (g dL⁻¹), por meio de um refratômetro da marca Quimis®. A taxa de hemoglobina total (g dL⁻¹) foi determinada em espectrofotômetro (Bioespectra® modelo SP22) com leitura em comprimento de onda de 540nm, utilizando o reagente de Drabkin.

Com auxílio de microscópio de luz em aumento de 40X, realizou-se a contagem total de eritrócitos em câmara de Neubauer (número de eritrócitos/ μ L de sangue). Posteriormente, com os resultados da taxa de hemoglobina (Hb), do número total de eritrócitos (Er) e do hematócrito (Ht) foram calculados os índices hematimétricos absolutos:

- Volume corpuscular médio: $VCM (fL) = Ht \times 10/Er$
- Hemoglobina Corpuscular Média: $HCM (\mu g) = Hb \times 10/Er$
- Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média: $CHCM (g/dL) = Hb \times 100/Ht$

Para a realização da contagem diferencial relativa de leucócitos, foram confeccionadas extensões sanguíneas secas ao ar e coradas com May-Grünwald-Giemsa-Wright - MGGW (tempo de coloração: 1 min. puro e 7 min diluído com solução tampão). Foram diferenciados 100 leucócitos em cada extensão sanguínea avaliada por peixe.

Análise estatística

Para análise estatística, foi utilizado o programa STATISTICA 7.0. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-wilk e a homocedasticidade pelo teste de Levene. Apenas os dados referentes ao percentual de monócitos e neutrófilos foram transformados

utilizando a função Log10. Posteriormente, os resultados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA - oneway, $\alpha = 0,05$), seguido pelo teste de Tukey.

Resultados

Não houve efeito significativo dos níveis crescentes de α -tocoferol sobre as variáveis de desempenho produtivo dos alevinos de tambaqui. (Tabela 2). Da mesma forma, não foi observada diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos em relação aos índices de rendimento (Tabela 3).

Tabela 2. Média (\pm DP) das variáveis de desempenho produtivo dos alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com diferentes níveis de vitamina E.

	Níveis de Vitamina E na dieta (mg kg^{-1})					CV (%)	P
	0	250	500	700	1000		
S (%)	100	100	100	100	100	-	-
GC (cm)	7,53 \pm 0,14	7,33 \pm 0,97	7,49 \pm 1,13	7,12 \pm 1,16	7,44 \pm 0,13	9,92	0,9742
PF (g)	64,86 \pm 2,22	63,57 \pm 18,07	69,43 \pm 20,04	60,98 \pm 19,23	64,05 \pm 1,54	19,94	0,9685
GP (g)	61,82 \pm 2,15	60,83 \pm 18,11	66,35 \pm 19,65	58,14 \pm 19,23	61,02 \pm 1,81	20,75	0,9713
TCE (% dia⁻¹)	3,40 \pm 08	3,47 \pm 0,33	3,43 \pm 0,23	3,37 \pm 0,34	3,40 \pm 0,16	6,23	0,9902
CR (g dia⁻¹)	1,23 \pm 0,06	1,21 \pm 0,25	1,26 \pm 0,32	1,13 \pm 0,16	1,24 \pm 0,05	14,20	0,9396
CA	1,61 \pm 0,06	1,64 \pm 0,16	1,56 \pm 0,17	1,64 \pm 0,30	1,64 \pm 0,09	9,34	0,9739
TEP	1,56 \pm 0,06	1,53 \pm 0,15	1,61 \pm 0,18	1,56 \pm 0,31	1,52 \pm 0,09	9,98	0,9786
FC	3,93 \pm 0,15	4,08 \pm 0,12	4,08 \pm 0,04	4,02 \pm 0,19	3,92 \pm 0,18	3,59	0,5034

S: sobrevivência; GC: ganho de crescimento; PF: peso final; GP: ganho de peso; TCE: taxa de crescimento específico; CR: consumo médio de ração diário; CA: conversão alimentar; TEP: taxa de eficiência proteica.

Tabela 3. Média (\pm DP) dos índices de rendimento dos alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com diferentes níveis de vitamina E na dieta.

(%)	Níveis de Vitamina E na dieta (mg kg^{-1})					CV (%)	P
	0	250	500	700	1000		
RC	66,46 \pm 1,64	65,87 \pm 1,19	67,11 \pm 2,52	65,05 \pm 1,07	66,40 \pm 0,65	2,26	0,5858
IHS	1,64 \pm 0,07	1,43 \pm 0,30	1,45 \pm 0,37	1,26 \pm 0,03	1,26 \pm 0,01	16,49	0,2564
IVS	7,68 \pm 0,10	7,41 \pm 0,34	7,32 \pm 0,69	6,98 \pm 0,35	7,43 \pm 0,24	5,57	0,3627
IGVS	1,07 \pm 0,26	1,08 \pm 0,22	0,96 \pm 0,12	0,89 \pm 0,13	0,78 \pm 0,24	21,71	0,3805
IES	0,04 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,07 \pm 0,05	0,05 \pm 0,05	0,08 \pm 0,05	67,28	0,6960

RC: Rendimento de carcaça; IHS: índice hepatossomático; IVS: índice viscerossomático; IGVS: índice gorduroviscerossomático; IES: índice esplenossomático.

Os constituintes hematológicos estão apresentados na Tabela 4. Houve efeito significativo dos níveis de vitamina E na dieta sobre a glicemia dos alevinos de tambaqui. Os peixes do tratamento contendo 1000 mg kg^{-1} de α -tocoferol apresentaram uma redução significativa na quantidade de glicose em comparação aos peixes alimentados com a dieta controle e com 250 mg kg^{-1} ; porém não diferiram ($P > 0,05$) dos peixes alimentados com 500 e 700 mg kg^{-1} de α -tocoferol. O hematócrito, a proteína total, o número de eritrócitos, o volume corpuscular médio, a hemoglobina corpuscular média e a concentração de hemoglobina corpuscular média dos alevinos de tambaqui não foram influenciados ($P > 0,05$) pelos níveis de vitamina E na dieta (Tabela 4).

Tabela 4. Média (\pm DP) das variáveis hematológicas e índices hematimétricos de alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com diferentes níveis dietéticos de vitamina E⁽¹⁾.

	Níveis de Vitamina E na dieta (mg kg ⁻¹)					CV (%)	P
	0	250	500	700	1000		
Gli (mg dL⁻¹)	117,3 \pm 9,959a	126,77 \pm 18,94a	116,67 \pm 19,64ab	92,37 \pm 8,11ab	80,4 \pm 1,85b	12,66	0,0009
Ht (%)	30,43 \pm 1,06	31,40 \pm 1,16	30,02 \pm 1,46	30,19 \pm 4,02	27,24 \pm 0,84	6,88	0,3877
Pt (g dL⁻¹)	5,30 \pm 0,34	5,09 \pm 0,26	5,04 \pm 0,28	5,15 \pm 0,20	5,07 \pm 0,26	5,03	0,7855
Hb (g dL⁻¹)	7,39 \pm 0,66	7,39 \pm 0,54	6,40 \pm 0,36	6,98 \pm 0,62	7,45 \pm 0,81	8,65	0,256
Er (10⁶ μL)	1,73 \pm 0,15	1,80 \pm 0,22	1,49 \pm 0,13	1,48 \pm 0,05	1,70 \pm 0,22	10,08	0,1301
VCM (fL)	180,62 \pm 20,48	174,53 \pm 17,03	194,38 \pm 16,61	206,86 \pm 36,15	177,32 \pm 17,84	11,86	0,4682
HCM (g dL⁻¹)	44,05 \pm 3,72	40,99 \pm 3,67	41,57 \pm 3,77	46,16 \pm 5,42	44,06 \pm 6,80	11,16	0,694
CHCM (g dL⁻¹)	24,55 \pm 1,47	23,64 \pm 0,81	21,47 \pm 1,43	23,61 \pm 2,16	25,89 \pm 2,77	6,86	0,144

⁽¹⁾ Médias acompanhadas por letras iguais, nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Gli: glicose, Ht: hematócrito, Pt: proteína plasmática total, Hb: hemoglobina, Er: eritrócitos, VCM: volume corpuscular médio, HCM: hemoglobina corpuscular média, CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média.

Na contagem diferencial de leucócitos, seis diferentes tipos de células foram encontrados nas lâminas hematológicas dos alevinos de tambaqui. Os linfócitos foram mais predominantes em todos os tratamentos. Contudo, os diferentes níveis de α -tocoferol na dieta não afetaram a quantidade deste leucócito ($P>0,05$) (Tabela 5). Do mesmo modo, não ocorreu diferença ($P>0,05$) no número de monócitos e basófilos, sendo que deste último foram contabilizadas apenas duas células no tratamento contendo 700 mg kg^{-1} de α -tocoferol. Já o número eosinófilos, neutrófilos e células granulocíticas especiais diferenciaram significativamente nos alevinos alimentados com diferentes níveis de vitamina E na dieta (Tabela 5).

Tabela 5. Média (\pm DP) do percentual do número de leucócitos presentes nas lâminas hematológicas de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*)⁽¹⁾.

(%)	Níveis de Vitamina E na dieta (mg kg^{-1})					CV (%)	P
	0	250	500	700	1000		
Lin	72,47 \pm 2,84	75,07 \pm 10,24	71,87 \pm 7,68	79,13 \pm 4,32	84,60 \pm 4,20	9,57	0,1670
Mon	14,33 \pm 3,97	13,40 \pm 3,62	17,13 \pm 8,90	12,33 \pm 0,92	11,33 \pm 3,82	34,12	0,7074
Eos	1,40 \pm 0,53ab	0,87 \pm 0,61ab	0,47 \pm 0,12b	1,67 \pm 0,23a	0,40 \pm 0,00b	63,58	0,0210
Neu	11,40 \pm 1,91a	10,13 \pm 6,11a	10,27 \pm 1,40a	6,27 \pm 4,50a	3,53 \pm 0,31b	51,56	0,0354
Bas	0	0	0	0,13 \pm 0,23	0	387,30	0,4520
CGE	0,33 \pm 0,12ab	0,53 \pm 0,12a	0,07 \pm 0,12b	0,33 \pm 0,31ab	0,07 \pm 0,12b	88,14	0,0322

⁽¹⁾ Médias acompanhadas por letras iguais, nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Lin: linfócitos; Mon: monócitos; Eos: eosinófilos; Neu: Neutrófilos; Bas: basófilos; CGE: Células granulocíticas especiais.

A quantidade de eosinófilos foi significativamente maior nos peixes alimentados com a dieta suplementada com 700 mg kg^{-1} de α -tocoferol, diferindo apenas dos tratamentos com 500 e 1000 mg kg^{-1} de vitamina E (Tabela 5). Em relação aos neutrófilos, os peixes alimentados com a dieta contendo 1000 mg kg^{-1} apresentaram uma menor proporção deste

leucócito ($P < 0,05$) comparado aos demais tratamentos. Foi observado maior quantidade de células granulocíticas especiais ($P < 0,05$) no tratamento contendo 250 mg kg^{-1} de vitamina E, diferindo apenas dos tratamentos com 500 e 1000 mg kg^{-1} de α -tocoferol (Tabela 5).

Discussão

A deficiência em vitamina E é associada ao atraso no crescimento, ineficiência alimentar, perda de peso, maior mortalidade e anemia em diversas espécies de peixes (Chen et al., 2004; Zhou et al., 2013). No entanto, no presente estudo, não foi detectado nenhum destes sinais clínicos de deficiência em vitamina E nos alevinos de tambaqui.

Em *Oreochromis niloticus*, a vitamina E também não influenciou o desempenho produtivo de pós-larvas (Navarro et al., 2010). Contudo, o desempenho dos juvenis de *Rachycentron canadum* alimentados com diferentes níveis de α -tocoferol foi superior quando comparado aos peixes do tratamento sem suplementação (Zhou et al., 2013).

Diferentes níveis dietéticos de α -tocoferol não influenciaram o consumo de ração e a conversão alimentar de juvenis de *P. mesopotamicus* (Sado et al., 2013), corroborando com o presente estudo. Entretanto, em juvenis de *O. fasciatus* e *R. canadum* a inclusão de α -tocoferol melhorou significativamente a conversão alimentar e a taxa de eficiência proteica (Galaz et al., 2010; Zhou et al., 2013). Portanto, a vitamina E parece melhorar a eficiência alimentar e, conseqüentemente, promover um melhor crescimento em algumas espécies.

Todavia, o efeito da vitamina E sobre o crescimento dos peixes ainda é controverso (Sado et al., 2013). Como ocorrem interações com outros nutrientes da dieta, é normal que ocorram variações de forma interespecífica e dependendo das condições experimentais e da fase do desenvolvimento. Além disso, também ocorre variação dos níveis de α -tocoferol nos tecidos das diferentes espécies de peixes (Hamre, 2011; Zhou et al., 2013).

Estudos com diferentes espécies de peixes mostraram uma redução no crescimento, ganho de peso e aumento da mortalidade dos animais quando as dietas continham óleos

oxidados e baixos níveis de vitamina E (Hamre, 2011). Normalmente, quanto menor o nível de lipídeos, menor a necessidade em utilizar a vitamina E para resistir ao estresse oxidativo e proteger o sistema imunológico dos peixes (Huang & Huang, 2004). No presente trabalho as dietas isocalóricas continham 53,20 g kg⁻¹ de lipídio, quantidade adequada para espécies onívoras como o tambaqui. Desta forma, como a exigência de lipídeo para a espécie é relativamente baixa em relação à de um peixe carnívoro, isso provavelmente resultou em uma baixa exigência em vitamina E, apresentando a dieta sem suplementação, apenas em seus ingredientes, quantidade satisfatória deste nutriente para suprir a exigência do animal.

Deste modo, o nível e a qualidade dos lipídeos, outros antioxidantes ou enzimas antioxidantes presentes no organismo ou na alimentação são fatores que podem afetar a exigência de vitamina E (Huang & Huang, 2004). Além disso, a quantidade requerida varia amplamente, até mesmo de forma intraespecífica, pois outros fatores como as características anatomofisiológicas do sistema gastrointestinal, disponibilidade da vitamina na dieta e o estado fisiológico do animal, também podem afetar na capacidade de absorção, transporte e o metabolismo da vitamina (Navarro et al., 2009; NRC, 2011).

Sobre os índices de rendimento, assim como foi demonstrado no presente estudo, diferentes níveis de vitamina E não tiveram efeito significativo sobre o índice hepatossomático e sobre o fator de condição em juvenis de *R. canadum* (Zhou et al., 2013). Da mesma forma a vitamina E não influenciou o índice viscerossomático em juvenis de *C. idellus* (Li et al., 2014). De acordo com Sheare (1994), considerando um estado de nutrição adequado, o tamanho relativo dos tecidos e órgãos dos peixes depende do tamanho e do ciclo de vida da espécie.

Quanto aos parâmetros hematológicos, em juvenis do híbrido tambacu (*Colossoma macropomum* ♀ x *Piaractus mesopotamicus* ♂) não foram observadas diferenças significativas para o hematócrito, proteína total, número de eritrócitos, volume corpuscular

médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média entre os tratamentos (Gonçalves et al., 2010). No presente trabalho, o tamanho dos peixes utilizados e as condições experimentais mantidas, juntamente com os ingredientes da dieta sem suplementação com vitamina E, proporcionaram um desempenho produtivo e higidez favoráveis aos alevinos de tambaqui, não afetando a maioria das variáveis avaliadas, como foi observado por Gonçalves et al. (2010).

As concentrações de glicose podem variar bastante dependendo do estado fisiológico do animal e dos procedimentos experimentais. Deste modo, esse parâmetro funciona como indicador da resposta ao estresse (Miar et al., 2013; Sado et al., 2013). Semelhante a presente pesquisa, a administração de vitaminas antioxidantes como o α -tocoferol foi capaz de reduzir os valores de glicose no sangue de *O. mykiss* (Ortuño et al., 2003). De acordo com esses autores, a vitamina E está envolvida nas células do eixo hipotálamo-simpático-cromafim. Além disso, também pode interferir nas respostas terciárias como a imunossupressão, onde protegeria as funções dos leucócitos (Tavares-Dias & Moraes, 2004).

No leucograma dos alevinos de tambaqui do presente trabalho, os linfócitos foram as células predominantes, como observado por Tavares-Dias & Moraes (2004). Já os eosinófilos, células granulocíticas especiais e basófilos foram encontrados em menor proporção. Normalmente, a presença desses leucócitos não ocorre com frequência no sangue dos peixes (Tavares-Dias & Mataqueiro, 2004; Tavares-Dias & Moraes, 2004). O baixo percentual dessas células ocasionou uma alta dispersão dos dados em relação à média. Todavia, valores elevados no coeficiente de variação em variáveis hematológicas são considerados normais em peixes (Tavares-Dias & Mataqueiro, 2004). O maior percentual de células granulocíticas especiais também foi observado em juvenis de *P. mesopotamicus* alimentados com 250 mg kg⁻¹ de vitamina E (Garcia et al., 2007).

A maioria dos leucócitos, especialmente os linfócitos são responsáveis pela produção de anticorpos ou de imunoglobulina nos peixes. A membrana dessas células tornam-se mais insaturadas durante a estimulação imune (Blazer & Wolke, 1984; Amlashi et al., 2011). Deste modo, um dos diferentes sinais de deficiência em vitamina E nos peixes é a diminuição do número de linfócitos e atividade imunológica devido à fragilidade da membrana e lise celular e/ou a migração desse leucócito para o tecido muscular degenerado (Sado et al., 2013). No entanto, no presente trabalho, os peixes alimentados com a dieta controle não apresentaram essa característica.

Em juvenis de *Arapaima gigas*, não houve diferença no número de monócitos (Menezes et al., 2006), resultado similar ao presente trabalho. Contudo, após o desafio com altas densidades de estocagem, juvenis de *P. mesopotamicus*, alimentados com 450 mg kg⁻¹ de vitamina E apresentaram melhor eficiência da resposta inflamatória em comparação aos peixes do tratamento controle (Belo et al., 2005). De acordo com esses autores, o α -tocoferol pode ter estimulado a imunidade desses peixes devido o aumento da atividade cinética de recrutamento de macrófagos e formação de células gigantes nas reações de corpo estranho.

Em relação aos neutrófilos, assim como no presente trabalho, foi observada uma grande proporção em juvenis de *Notemigonus crysoleucas* alimentados com a dieta sem suplementação vitamínica. Isso pode estar relacionado à redução da capacidade antioxidante devido à deficiência em α -tocoferol e, conseqüentemente, maior susceptibilidade à inflamação (Chen et al., 2004). Normalmente, respostas inflamatórias são associadas ao acúmulo de neutrófilos no local lesionado, processo conhecido por neutrofilia (Secombes, 1996).

Muitas vezes, os benefícios do α -tocoferol nas variáveis hematológicas, respostas imunes, ou no desempenho produtivo são observados após algum tipo de desafio fisiológico (manejo, mudanças na temperatura, hipóxia, altas densidades de estocagem ou agentes patogênicos) (Ortuño et al., 2003; Belo et al., 2005; Garcia et al., 2007; Galaz et al., 2010).

Como os peixes do presente trabalho não foram submetidos a nenhum desafio e as condições experimentais estavam favoráveis à espécie, não houve mudanças entre os tratamentos com diferentes níveis de vitamina E na maioria das variáveis estudadas. De acordo com Blazer & Wolke, (1984), é possível que os peixes possuam deficiência em vitamina E sem demonstrar sinais evidentes e que continuem a crescer aparentemente saudáveis. Contudo, esses animais podem estar com a resistência imunológica natural comprometida.

Adicionalmente, o tipo de dieta utilizada nos experimentos também pode ter influenciado as respostas do α -tocoferol no organismo. Diversos trabalhos que utilizaram dietas purificadas ou semi-purificadas, observaram o efeito significativo da vitamina E em diferentes espécies de peixes nas variáveis de desempenho produtivo e ação antioxidante (Peng & Gatlin, 2009; Galaz et al., 2010; Li et al., 2014). Nestes trabalhos, os autores recomendam quantidades que variaram entre 25 e 200 mg kg⁻¹ de vitamina E na dieta, sendo o mínimo exigido para os peixes, em geral, de 30 mg kg⁻¹ (NRC, 2011).

No presente estudo foram utilizadas dietas convencionais, ou seja, não purificadas, as quais foram suplementadas com vitamina E. Deste modo, é possível que os níveis de vitamina E fornecidos somente com os ingredientes da dieta foram suficientes para atender a exigência dos alevinos de tambaqui do tratamento controle, não influenciando a maioria das variáveis avaliadas. Portanto, vários fatores estão envolvidos na expressão dos sinais de deficiência dessa vitamina, poupando ou aumentando a necessidade do seu uso (Miar et al., 2013).

Conclusões

1. Efeitos da suplementação com vitamina E em espécies nativas com potencial para piscicultura nas diferentes fases do desenvolvimento devem ser mais explorados.
2. Melhoras significativas em alguma variável de desempenho produtivo proporcionadas pela suplementação com vitamina E são utilizadas para determinar a dose mais adequada.

Contudo, nas condições experimentais apresentadas, a maioria das variáveis não foi afetada pelos diferentes níveis de vitamina E na dieta.

3. A utilização de 1000 mg kg⁻¹ de α -tocoferol reduziu o nível de glicose, podendo melhorar a resistência dos peixes em condições de estresse, enquanto os alevinos de tambaqui alimentados com dieta sem suplementação apresentaram aumento do número de neutrófilos, demonstrando estarem mais suscetíveis aos processos inflamatórios.

4. Deste modo, o uso de vitamina E na alimentação de alevinos de tambaqui não deve ser descartado. Porém, são necessárias mais pesquisas que avaliem a exigência do α -tocoferol após desafios fisiológicos para elucidar os efeitos relacionados às respostas imunológicas.

Agradecimentos

Ao suporte do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) referente à bolsa de pós- graduação fornecida a Adriana X. Alves. Aos pesquisadores, piscicultores e colegas que contribuíram na aquisição dos alevinos e compra de materiais e reagentes, em especial Dra. Zélia M. P. Nunes, Juscelino B. Lima, Yuri Morais, Rita Santiago, Euliane Pereira e José P. Alves Neto.

Referências

AMLASHI, A. S.; FALAHATKAR, B.; SATTARI, M.; GILANI, T.M.H. Effect of dietary vitamin E on growth, muscle composition, hematological and immunological parameters of sub-yearling beluga *Huso huso* L. **Fish and Shellfish Immunology**, v.30, p.807-814, 2011. DOI:10.1016/j.fsi.2011.01.002.

BELO, M.A.A.; SCHALCH, F.R.; MORAES, F.R.; SOARES, V.E.; OTOBONI, A.M.M.B.; MORAES, J. E. R. Effect of dietary supplementation with vitamin E and stocking density on macrophage recruitment and giant cell formation in the teleost fish, *Piaractus mesopotamicus*.

Journal of Comparative Pathology, v.133, p.146-154, 2005. DOI: 10.1016/j.jcpa.2005.04.004

BLAZER, V.S. Nutrition and disease resistance in fish. **Annual Review of Fish Diseases**, v.2, p.309-323, 1992. DOI:10.1016/0959-8030(92)90068-9

BLAZER, V.S.; WOLKE, R.E. The effects of a-tocopherol on the immune response and non-specific resistance factors of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). **Aquaculture**, v.37, p.1-9, 1984. DOI:10.1016/0044-8486(84)90039-5.

BOSCOLO, W. R.; SIGNOR, A.; FREITAS, J. M. A.; BITTENCOURT, F.; FEIDEN. A. Nutrição de peixes nativos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.145-154, 2011.

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**, v.242, 553–569, 2004. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2004.09.012

GALAZ, G.B.; KIM, S.S.; LEE, K.J. Effects of different dietary vitamin E levels on growth performance, non-specific immune responses, and disease resistance against *Vibrio anguillarum* in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v.23, p.916–923, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2010.90494>.

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**, v.271, p.39–46, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.06.021>.

GONÇALVES, A.C.S.; MURGAS, L.D.S.; ROSA, P.V.E.; NAVARRO, R.D.; COSTA, D.V.; TEIXEIRA, E.A. Desempenho produtivo de tambacus através da suplementação de vitamina E na dieta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.1005–1011, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2010000900010>.

GUIMARÃES, I.G.; MARTINS, G.P. Nutritional requirement of two Amazonian aquacultured fish species, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) and *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): a mini review. **Journal of Applied Ichthyology**, v.31, p.57–66, 2015. DOI: 10.1111/jai.12976.

HAMRE, K. Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish. **Aquaculture Nutrition**, v.17, p.98–115, 2011. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2010.00806.x.

HUANG, C.H.; HUANG, S.L. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, fed oxidized oil. **Aquaculture**, v.237, p.381–389, 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.04.002>.

LI, J.; LIANG, X.F.; TAN, Q.; YUAN, X.; LIU, L.; ZHOU, Y.; LI, B. Effects of vitamin E on growth performance and antioxidant status in juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idellus*. **Aquaculture**, v.430, p.21–27, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.03.019>

MENEZES, G.C.; TAVARES-DIAS, M.; ONO, E.A.; ANDRADE, J.I.A.; BRASIL, E.M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E.C.; MARCON, J.L.; AFFONSO, E.A. The influence of dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of pirarucu, *Arapaima gigas*, in net culture. **Comparative Biochemistry and Physiology** (Molecular & Integrative Physiology), v.145, 274–279, 2006. DOI: 10.1016/j.cbpa.2006.06.035.

MIAR, A.; MATINFAR, A.; SHAMSAEI, M.; SOLTANI, M. Effects of Different Dietary Vitamin C and E Levels on Growth Performance and Hematological Parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). **World Journal of Fish and Marine Sciences**, v.5, p.220-226, 2013. DOI: 10.5829/idosi.wjfds.2013.05.02.726.

NAVARRO, R.D.; FERREIRA, W.M.; RIBEIRO FILHO, O.P.; VELOSO, D.P.; FONTES, D.O.; SILVA, R.F. Desempenho de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) suplementada com Vitamina E. **Archivos de Zootecnia**, v.59, p.185–194, 2010.

NAVARRO, R.D.; RIBEIRO FILHO, O.P.; FERREIRA, W.M.; PEREIRA, F.K.S. A importância das vitaminas E, C e A na reprodução de peixes: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, p.20–25, 2009.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. Washington, DC: The National Academic Press. 2011. 376p.

ORTUÑO, J.; ESTEBAN, M.A.; MESEGUER, J. The effect of dietary intake of vitamins C and E on the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). **Fish and Shellfish Immunology**, v.14, p.145–156, 2003. DOI:10.1006/fsim.2002.0428.

PENG, L.I.; GATLIN III, D.M. Dietary vitamin E requirement of the red drum *Sciaenops ocellatus*. **Aquaculture Nutrition**, v.15, p.313–319, 2009. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2008.00596.x

RODRIGUES, A.P.O. Nutrição e alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.40, p.135–145, 2014.

SADO, R.Y.; BICUDO, A.J.A.; CYRINO, J.E.P. Growth and hematology of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) fed with increasing levels of vitamin E (DL- α -

tocopheryl acetate). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.85, p.385-393, 2013.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652013005000036>.

SECOMBES, C.J. The nonspecific immune system: cellular defenses. In: Iwana, G.; Nakanishi, T. (Ed.). **The fish immune system: Organism, Pathogen and Environment**. Academic Press, London. 1996. p. 63-103.

SHEARER, K.D. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. **Aquaculture**, v.119, p.63–88, 1994. DOI:10.1016/0044-8486(94)90444-8

TAVARES-DIAS, M.; MATAQUEIRO, M.I. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. **Acta Scientiarum** (Biological Sciences), v.26, p.157-162, 2004. DOI: 10.4025/actascibiols.v26i2.1647.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. **Hematologia de Peixes Teleósteos**. Ribeirão Preto: Villimpress, 2004. 144p.

ZHOU, Q.C.; WANG, L.G.; WANG, H.L.; WANG, T.; ELMADA, C.Z.; XIE, F.J. Dietary vitamin E could improve growth performance, lipid peroxidation and non-specific immune responses for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture Nutrition**, v.19, p.421-429, 2013. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2012.00977.x.

ANEXO

Pesquisa Agropecuária Brasileira (Diretrizes para Autores)

ISSN Versão online: 1678-3921

ISSN Versão impressa: 0100-204X

Escopo e política editorial

A revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB) é uma publicação mensal da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em português, espanhol ou inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas e Revisões a convite do Editor.

Análise dos artigos

A Comissão Editorial faz a análise dos trabalhos antes de submetê-los à assessoria científica. Nessa análise, consideram-se aspectos como escopo, apresentação do artigo segundo as normas da revista, formulação do objetivo de forma clara, clareza da redação, fundamentação teórica, atualização da revisão da literatura, coerência e precisão da metodologia, resultados com contribuição significativa, discussão dos fatos observados em relação aos descritos na literatura, qualidade das tabelas e figuras, originalidade e consistência das conclusões. Após a aplicação desses critérios, se o número de trabalhos aprovados ultrapassa a capacidade mensal de publicação, é aplicado o critério da relevância relativa, pelo qual são aprovados os trabalhos cuja contribuição para o avanço do conhecimento científico é considerada mais significativa. Esse critério é aplicado somente aos trabalhos que atendem aos requisitos de qualidade para publicação na revista, mas que, em razão do elevado número, não podem ser todos aprovados para publicação. Os trabalhos rejeitados são devolvidos aos autores e os demais são submetidos à análise de assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo.

Forma e preparação de manuscritos

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos (não terem dados – tabelas e figuras – publicadas parcial ou integralmente em nenhum outro veículo de divulgação técnico-científica, como boletins institucionais, anais de eventos, comunicados técnicos, notas científicas etc.) e não podem ter sido encaminhados simultaneamente a outro periódico científico ou técnico. Dados publicados na forma de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho.

- São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor.

- Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.

- O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas.

Informações necessárias na submissão on-line de trabalhos

No passo 1 da submissão (Início), em “comentários ao editor”, informar a relevância e o aspecto inédito do trabalho.

No passo 2 da submissão (Transferência do manuscrito), carregar o trabalho completo em arquivo Microsoft Word.

No passo 3 da submissão (Inclusão de metadados), em “resumo da biografia” de cada autor, informar o link do sistema de currículos lattes (ex.: <http://lattes.cnpq.br/0577680271652459>). Clicar em “incluir autor” para inserir todos os coautores do trabalho, na ordem de autoria.

Ainda no passo 3, copiar e colar o título, resumo e termos para indexação (key words) do trabalho nos respectivos campos do sistema.

No passo 4 da submissão (Transferência de documentos suplementares), carregar, no sistema on-line da revista PAB, um arquivo Word com todas as cartas (mensagens) de concordância dos coautores coladas conforme as explicações abaixo:

- Colar um e-mail no arquivo word de cada coautor de concordância com o seguinte conteúdo:

“Eu, ..., concordo com o conteúdo do trabalho intitulado “.....” e com a submissão para a publicação na revista PAB.

Como fazer:

Peça ao coautor que lhe envie um e-mail de concordância, encaminhe-o para o seu próprio e-mail (assim gerará os dados da mensagem original: assunto, data, de e para), marque todo o email e copie e depois cole no arquivo word. Assim, teremos todas as cartas de concordâncias dos co-autores num mesmo arquivo.

Organização do Artigo Científico

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

- Artigos em português - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

- Artigos em inglês - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

- Artigos em espanhol - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

- O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

- O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

Título

- Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.

- Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.

- Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como “efeito” ou “influência”.

- Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.

- Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.

- As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

Nomes dos autores

- Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção “e”, “y” ou “and”, no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.

- O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

Endereço dos autores

- São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.

- Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.

- Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

Resumo

- O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.

- Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.

- Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão.

- Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.
- O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

Termos para indexação

- A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.
- Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.
- Não devem conter palavras que componham o título.
- Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.
- Devem, preferencialmente, ser termos contidos no AGROVOC: Multilingual Agricultural Thesaurus ou no Índice de Assuntos da base SciELO.

Introdução

- A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.
- O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

Material e Métodos

- A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.
- Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.
- Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.
- Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.
- Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.
- Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.
- Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.
- Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.

- Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

Resultados e Discussão

- A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

- Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.

- As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.

- Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores.

- Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados.

- Dados não apresentados não podem ser discutidos.

- Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.

- As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.

- Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.

- As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

Conclusões

- O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

- Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo.

- Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho.

- Não podem consistir no resumo dos resultados.

- Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.

- Devem ser numeradas e no máximo cinco.

Agradecimentos

- A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

- Devem ser breves e diretos, iniciando-se com “Ao, Aos, À ou Às” (pessoas ou instituições).

- Devem conter o motivo do agradecimento.

Referências

- A palavra *Referências* deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

- Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.

- Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

- Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.

- Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.

- Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.

- Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.

- Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.

- Devem ser trinta, no máximo.

Exemplos:

- Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)

AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.

- Artigos de periódicos

SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.67-75, 2006.

- Capítulos de livros

AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.

- Livros

OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. **Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).

- Teses

HAMADA, E. **Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR**. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- Fontes eletrônicas

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste: relatório do ano de 2003**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: . Acesso em: 18 abr. 2006.

Citações

- Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados. - A autocitação deve ser evitada. - Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

- Redação das citações dentro de parênteses

- Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.

- Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.

- Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.

- Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.

- Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.

- Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão “citado por” e da citação da obra consultada.

- Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.

- Redação das citações fora de parênteses

- Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

Fórmulas, expressões e equações matemáticas

- Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.

- Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

Tabelas

- As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências.

- Devem ser auto-explicativas.

- Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.

- Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.

- O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes.

- No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.

- Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.

- Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo.

- Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.

- Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.

- Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.

- As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.

- Notas de rodapé das tabelas

- Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.

- Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre

parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto.

- Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); * e ** (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

Figuras

- São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.

- Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.

- O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.

- Devem ser auto-explicativas.

- A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.

- Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.

- Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.

- O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração. - As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.

- Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).

- Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante.

- As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.

- Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.

- Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções.

- Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.

- No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).
- Não usar negrito nas figuras.
- As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.
- Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.

Notas Científicas

- Notas científicas são breves comunicações, cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito de importância, mas com volume insuficiente para constituir um artigo científico completo.

Apresentação de Notas Científicas

- A ordenação da Nota Científica deve ser feita da seguinte forma: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, texto propriamente dito (incluindo introdução, material e métodos, resultados e discussão, e conclusão, sem divisão), Referências, tabelas e figuras.
- As normas de apresentação da Nota Científica são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:
- Resumo com 100 palavras, no máximo.
- Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras.
- Deve apresentar, no máximo, 15 referências e duas ilustrações (tabelas e figuras).

Outras informações

- Não há cobrança de taxa de publicação.
- Os manuscritos aprovados para publicação são revisados por no mínimo dois especialistas.
- O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações nos artigos e de decidir sobre a sua publicação.
- São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos.
- Os trabalhos aceitos não podem ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da PAB.

Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos por telefone: (61)3448-4231, via e-mail: sct.pab@embrapa.br ou pelos correios:

Embrapa Informação Tecnológica Pesquisa Agropecuária Brasileira – PAB

Caixa Postal 040315 CEP 70770 901 Brasília, DF.