

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE ZOOTECNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**TESE**

**Dieta Funcional para Juvenis de Beijupirá: Inclusão da Alga**  
***Marinha *Ulva fasciata****

**Giselle Eler Amorim Dias**

**2017**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**DIETA FUNCIONAL PARA JUVENIS DE BEIJUPIRÁ:  
INCLUSÃO DA ALGA MARINHA *ULVA FASCIATA***

**GISELLE ELER AMORIM DIAS**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Lidia Miyako Yoshii Oshiro**

*e Co-orientação dos Professores*

**José Teixeira de Seixas Filho**  
**Marcelo Maia Pereira**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal.

Seropédica, RJ  
Julho de 2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

E541d Eler Amorim Dias, Giselle , 1980-  
Dieta funcional para juvenis de beijupirá:  
inclusão da alga marinha *Ulva fasciata* / Giselle  
Eler Amorim Dias. - 2017.  
104 f.

Orientadora: Lidia Miyako Yoshii Oshiro.  
Coorientadora: José Teixeira de Seixas Filho.  
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
ZOOTECNIA, 2017.

1. Dieta funcional. 2. *Rachycentron canadum*. 3.  
*Ulva fasciata*. I. Miyako Yoshii Oshiro, Lidia , 1955  
, orient. II. Teixeira de Seixas Filho, José , 1958-,  
coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA. IV.  
Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

GISELLE ELER AMORIM DIAS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal.

TESE APROVADA EM 29 / 05 / 2017



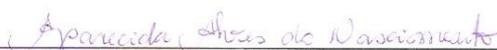
---

Lidia Miyako Yoshii Oshiro. Dr. UFRRJ  
(Orientador)



---

Cristiane Martins Cardoso de Salles. Dr. UFRRJ



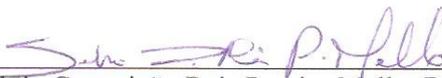
---

Aparecida Alves do Nascimento. Dr. UFRRJ



---

Rodrigo Takata. Dr. FIPERJ



---

Sílvia Conceição Reis Pereira Mello. Dr. FIPERJ

## **DEDICO**

Ao Deus que tudo fez e Dele somos. Que sonhou com a minha vida. Que plantou o amor em meu coração. Que supre todas as minhas necessidades. Que demonstra o seu amor colocando ao meu lado pessoas que me ajudaram a chegar aqui. Eu te agradeço por nunca me deixar! E te agradeço pelas podas que tens feito em minha vida, sei que é para o meu crescimento. Por tudo isso, eu te amo Jesus, a Ti seja a Glória, a Honra e o Louvor.

## AGRADECIMENTOS

À minha família querida, meu pai Ivo Amorim, minha mãe Leny Eler Amorim, minha irmã Denise Eler Amorim e minha tia Erondina Eller pela educação que me deram e todo incentivo aos meus estudos, e principalmente por todo amor que dedicam a mim.

Ao meu primo Dr. Joanir Pereira Eller, que me encaminhou para minha profissão e muito me apoiou com suas orientações.

Ao meu esposo Leandro Silva Dias, que sempre ouviu atentamente os meus sonhos e me ajudou ativamente a realizá-los.

Aos meus sogros José Carlos Pacheco Dias e Isabel Leocadia Silva Dias, pelo carinho que sempre demonstraram por mim.

À Thalyta Padulla Gerodo Rios por extrair de mim quem realmente sou, tens o meu carinho.

À minha orientadora Lidia Miyako Yoshii Oshiro, que me aceitou como orientanda no decorrer do doutorado sendo muito compreensiva e sempre com conselhos prudentes.

Ao meu coorientador José Seixas que me deu essa rica oportunidade de trabalhar neste projeto, serei sempre grata.

Ao meu coorientador Marcelo Maia, obrigada pelos conselhos.

À professora Cristiane Salles por ter acreditado neste trabalho e me dado todo apoio.

À professora Aparecida Alves por ser tão amorosa ao mesmo tempo tão correta em tudo que faz, e por ter me ensinado tudo que aprendi.

À Cristina Amorim por ter sido a minha orientadora no início do doutorado, muito do que aprendi academicamente eu atribuo a ela.

Ao professor Vinicius Pimental por me ajudar a perceber informações muito importantes para a minha tese.

Ao professor Augusto Vidal que sempre me incentivou.

À professora Sonia Regina e Dr.<sup>a</sup> Marian, que me orientaram no processo de iniciação científica e me incentivaram a cursar o mestrado e doutorado.

A todos os meus colegas pesquisadores que me deram muito apoio neste trabalho: Augusto Pereira, Beatriz Castelar, Felipe Landuci, Flávia Calixto, Luzia Triani, Marcelo Pontes, Rodrigo Takata, Silvia Conceição e Wanessa da Costa.

Aos técnicos Ilza Meirelles, Fernando Meriguetti, Felipe Dilelis, Marcos Pessoa, Evandro Manoel, Rodrigo Barbosa, Ricardo Soares, Eduardo Machado e Elaine Oliveira, obrigada!

Aos amigos Juan, Cleriston, Diego, Alexandra e Lumena, sou grata por toda ajuda!

## RESUMO

DIAS, Giselle Eler Amorim. **Dieta funcional para juvenis de beijupirá: inclusão da alga marinha *Ulva fasciata***. 2017. 104p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Um dos maiores entraves para a produção de beijupirá (*Rachycentron canadum*) é a formulação de dietas, que venham atender às necessidades nutricionais da espécie em cativeiro. Em vista disso, a utilização de alimentos funcionais em dieta animal tem sido valorizada devido aos benefícios à saúde que esses alimentos podem promover. A macroalga *Ulva fasciata* possui atividades biológicas, como ação antioxidante e antiinflamatória. Portanto, este estudo teve como objetivo incluir o farelo de *Ulva fasciata* como ingrediente funcional na dieta para a criação dessa espécie. Desta forma, contribuindo para o desenvolvimento de técnicas sustentáveis de produção de beijupirá, foi montada uma unidade de aquicultura multitrófica integrada em sistema de recirculação de água, tendo a *U. fasciata* como uma das etapas de filtração. Para a avaliação da eficiência da utilização da macroalga na dieta do peixe foram ofertadas dietas peletizadas isoproteicas, isolipídicas e isocalóricas com a inclusão do farelo de *Ulva fasciata* (0,00; 5,00; 10,00 e 15,00%) com três repetições por tratamento. Foram distribuídos 20 peixes em cada unidade experimental de 310 L. Para avaliar o desempenho aos 62 e 94 dias de experimento, os juvenis de beijupirá ficaram em jejum de 24 horas. Os parâmetros avaliados foram: consumo alimentar, peso final, ganho de peso, conversão alimentar, comprimento, índice de eficiência alimentar, índice de consumo alimentar, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica e fator de condição. As respostas aos valores crescentes do farelo de *Ulva fasciata* foram avaliadas por análise de regressão para os parâmetros de desempenho, e analisados por meio dos modelos de regressão quadrática, conforme o melhor ajustamento obtido para cada variável. Os resultados submetidos à análise de variância pelo teste de médias (Tukey) a 5% de probabilidade de erro foram para os seguintes parâmetros: peso corporal, peso de vísceras, peso de fígado, índice viscerossomático (IVS), índice hepatossomático (IHS), composição corporal de peixes eviscerados, atividades de catalase, glutatona S-transferase e medidas morfométricas do intestino delgado. O programa estatístico utilizado foi o SISVAR. Para os dois períodos avaliados, não houve diferença para consumo de ração. Nos demais parâmetros avaliados houve diferença significativa aos 62 e 94 dias de experimentação, sendo que para todos os parâmetros a melhor porcentagem de inclusão da macroalga foi 10%. Houve diferença estatística para peso de peixe aos 94 dias e peso de vísceras. Não havendo diferença para peso de fígado, IVS e IHS. Houve efeito significativo para atividade de catalase mitocondrial e citoplasmática do fígado aos 94. Houve diferenças significativas para composição corporal de juvenis de beijupirá eviscerados. A umidade, cinzas e proteína da composição corporal não diferiram entre os tratamentos. A porcentagem de lipídeos dos peixes que não receberam o farelo de *U. fasciata* foi significativamente menor do que dos peixes que receberam 10 e 15%. Não houve diferença para morfometria intestinal. A macroalga *U. fasciata* pode ser incluída em dietas para juvenis de beijupirá.

**Palavras-chave:** *Ulva fasciata*, Sistema multitrófico integrado, Beijupirá.

## ABSTRACT

DIAS, Giselle Eler Amorim. **Functional diet for juvenile beijupirá: inclusion of seaweed *Ulva fasciata***. 2017. 104p. Thesis (Doctorate in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

One of the major obstacles to the production of cobia (*Rachycentron canadum*) is the formulation of diets that meet the nutritional needs of the species in captivity. In view of this, the use of functional foods in animal diet has been valued due to the health benefits that these foods can promote. The *Ulva fasciata* macroalga has biological activities, such as antioxidant and anti-inflammatory action. Therefore, this study aimed to include *Ulva fasciata* meal as a functional ingredient in the diet for this species. Thus, contributing to the development of sustainable techniques of beijupirá production, a multi-trophic aquaculture unit integrated in a water recirculation system was set up, with *U. fasciata* being one of the filtration stages. For the evaluation of the efficiency of the use of macroalga in the diet of the fish, isoproteic, isoproteic and isocaloric pelleted diets with inclusion of *Ulva fasciata* meal (0.00; 5.00, 10.00 and 15.00%) with three replicates per treatment. Twenty fish were distributed in each experimental unit of 310 L. To evaluate the performance at 62 and 94 days of experiment, cobia juveniles were fasted for 24 hours. The parameters evaluated were: food intake, final weight, weight gain, feed conversion, length, food efficiency index, food consumption index, specific growth rate, protein efficiency ratio and condition factor. Responses to the increasing values of *Ulva fasciata* meal were evaluated by regression analysis for performance parameters, and analyzed using the quadratic regression models, according to the best fit obtained for each variable. The results were submitted to the analysis of variance by means of the test of means (Tukey) at 5% probability of error, for the following parameters: body weight, viscera weight, liver weight, viscerosomal index (VSI), hepatosomatic index (HSI), body composition of eviscerated fish, catalase activities, glutathione S-transferase and morphometric measurements of the small intestine. The statistical program used was SISVAR. For the two evaluated periods, there was no significant difference for feed intake. In the other parameters evaluated there was a significant difference at 62 and 94 days of experimentation, and for all parameters the best inclusion percentage of the macroalga was 10%. There were differences for fish weight at 94 days and viscera weight. There was no difference for liver weight, VSI and HSI. There was a significant effect for mitochondrial and cytoplasmic catalase activity of the liver at 94. There were significant differences for body composition of eviscerated gossy juveniles. The moisture, ashes and protein of the body composition did not differ between the treatments. The percentage of lipids of the fish that did not receive the *U. fasciata* meal was significantly lower than the fish that received 10 and 15%. There was no difference for intestinal morphometry. The *U. fasciata* macroalga can be included in diets for cobia juvenile.

Key words: *Ulva fasciata*, Integrated multitrophic system, Cobia.

## LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO I

<b>Figura 1.</b>	Esquema de sistema de aquicultura multitrófica integrada em sistema de recirculação de água da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.	32
<b>Figura 2.</b>	Sistema de aquicultura multitrófica integrada em sistema de recirculação de água da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ. A: Reservatório com filtro de areia; B: Reservatório com bactérias nitrificantes; C: <i>Skimmer</i> ; D: Cultivo de <i>Ulva fasciata</i> como biofiltro; E: Esterilização da água com filtro ultravioleta; F: Tanques circulares de produção de beijupirá.	33
<b>Figura 3.</b>	Biometria inicial do beijupirá na sala de biometria de peixes da EAAPM - FIPERJ, Guaratiba, RJ. Pesagem em balança digital marca Marte (A) e comprimento com auxílio de paquímetro digital marca Mitutoyo (B).	34
<b>Figura 4.</b>	Laboratório de Cultivo de Peixes Marinhos da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.	35
<b>Figura 5.</b>	Peletização das rações experimentais no Laboratório de Alimentos e Alimentação da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.	36
<b>Figura 6.</b>	Sistema de aquicultura multitrófica integrada com a macroalga <i>Ulva fasciata</i> utilizada como biofiltro no Laboratório de Cultivo de Peixes Marinhos da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.	37
<b>Figura 7.</b>	Farelo de <i>Ulva fasciata</i> incluído às rações experimentais no Laboratório de Alimentos e Alimentação da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.	38
<b>Figura 8.</b>	Pesagem em balança eletrônica (Shimadzu) de juvenil de beijupirá aos 94 dias no laboratório de ecologia de peixes da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.	39
<b>Figura 9.</b>	Médias estimadas por regressão de peso de juvenis de beijupirá aos 62 dias.	40
<b>Figura 10.</b>	Médias estimadas por regressão de ganho de peso de juvenis de beijupirá aos 62 dias.	41
<b>Figura 11.</b>	Médias estimadas por regressão de conversão alimentar de juvenis de beijupirá aos 62 dias.	41
<b>Figura 12.</b>	Médias estimadas por regressão do comprimento de juvenis de beijupirá aos 62 dias.	42
<b>Figura 13.</b>	Médias estimadas por regressão do IEA de juvenis de beijupirá aos 62 dias.	42

<b>Figura 14.</b>	Médias estimadas por regressão de ICA de juvenis de beijupirá aos 62 dias.	43
<b>Figura 15.</b>	Médias estimadas por regressão de TCE de juvenis de beijupirá aos 62 dias.	43
<b>Figura 16.</b>	Médias estimadas por regressão de TEP de juvenis de beijupirá aos 62 dias.	44
<b>Figura 17.</b>	Médias estimadas por regressão de FC de juvenis de beijupirá aos 62 dias.	44
<b>Figura 18.</b>	Médias estimadas por regressão de peso de juvenis de beijupirá aos 94 dias.	46
<b>Figura 19.</b>	Médias estimadas por regressão de conversão alimentar de juvenis de beijupirá aos 94 dias.	46
<b>Figura 20.</b>	Médias estimadas por regressão de conversão alimentar de juvenis de beijupirá aos 94 dias.	47
<b>Figura 21.</b>	Médias estimadas por regressão de comprimento de juvenis de beijupirá aos 94 dias.	47
<b>Figura 22.</b>	Médias estimadas por regressão de IEA de juvenis de beijupirá aos 94 dias.	48
<b>Figura 23.</b>	Médias estimadas por regressão de ICA de juvenis de beijupirá aos 94 dias.	48
<b>Figura 24.</b>	Médias estimadas por regressão de TCE de juvenis de beijupirá aos 94 dias.	49
<b>Figura 25.</b>	Médias estimadas por regressão de TPE de juvenis de beijupirá aos 94 dias.	49
<b>Figura 26.</b>	Médias estimadas por regressão de FC de juvenis de beijupirá aos 94 dias.	50

## LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO II

<b>Figura 1.</b>	Sistema de aquicultura multitrófica integrada em sistema de recirculação de água da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.	59
<b>Figura 2.</b>	Dietas experimentais peletizadas no Laboratório de Alimentos e Alimentação da EAAPM, Guaratiba, RJ.	62
<b>Figura 3.</b>	Pesagem em balança eletrônica Shimadzu de biomassa úmida de <i>U. fasciata</i> (A) e após secagem em estufa a 55 °C por 48 h (B) no Laboratório de Alimentos e Alimentação da EAAPM, Guaratiba, RJ.	62
<b>Figura 4.</b>	Biometria de beijupirá no Laboratório de Ecologia de Peixes da EAAPM-FIPERJ, Guaratiba, RJ. Peso corporal de beijupirá em balança eletrônica Shimadzu (A) e peso de vísceras (B).	63
<b>Figura 5.</b>	Armazenamento de fígado de beijupirá em botijão de nitrogênio líquido. Laboratório de Ecologia de Peixes da EAAPM-FIPERJ, Guaratiba, RJ.	64
<b>Figura 6.</b>	Preparo de frações solúveis de fígado de beijupirá no Laboratório de Bioquímica do Instituto de Zootecnia da UFRRJ.	65
<b>Figura 7.</b>	Dosagem da atividade da glutathione S-peroxidase (GST) no espectrofotômetro marca Thermo no Laboratório de Bioquímica do Instituto de Zootecnia da UFRRJ.	66
<b>Figura 8.</b>	Forno mufla Quimis utilizado para a determinação de cinzas, Unidade de Tecnologia de Pescado, EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.	67
<b>Figura 9.</b>	Bloco digestor Gerhardt utilizado para a digestão ácida pelo método de Kjeldhal (A), Destilador de nitrogênio Tecnal (B). Laboratório de Bromatologia, DNAP, UFRRJ.	67
<b>Figura 10.</b>	Extração de lipídeo bruto de beijupirá pelo método de Fouch, na Unidade de Tecnologia de Pescado da EAAPM-FIPERJ, Guaratiba, RJ. Partição em funil de separação.	68
<b>Figura 11.</b>	Rota evaporação do solvente em rota evaporador Fisatom; E pesagem do balão com lipídeo bruto em balança analítica Shimadzu.	69
<b>Figura 12.</b>	Digestor marca Quimis, determinação de fibra bruta. Laboratório de Bromatologia, DNAP, UFRRJ.	69
<b>Figura 13.</b>	Bomba calorimétrica utilizada para determinar a energia bruta do farelo de <i>Ulva fasciata</i> . Laboratório de Bromatologia, DNAP,	70

UFRRJ.

- Figura 14.** Incisão ventral e retirada do trato digestório de juvenis de beijupirá realizada no Laboratório de Ecologia de Peixes na EAAPM - FIPERJ. 71
- Figura 15.** Inclusão de parafina no fragmento de intestino médio de beijupirá no Laboratório de Histologia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da UFRRJ. 71
- Figura 16.** Obtenção de cortes histológicos de intestino médio de beijupirá com 5  $\mu$  de espessura em micrótomo rotativo no Laboratório de Histologia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da UFRRJ. 72
- Figura 17.** Cortes histológicos de intestino médio de beijupirá; Laboratório de Histologia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da UFRRJ. 72
- Figura 18.** Atividade de catalase no fígado de juvenis de beijupirá. 75
- Figura 19.** Atividade de glutathione S-transferase (GST) no fígado de juvenis de beijupirá. 77
- Figura 20.** Cortes histológicos (10x) do intestino médio de beijupirá. Peixes que não receberam *U. fasciata*. Camada Muscular (CM), Submucosa (SM), Mucosa (M) e Lâmina Própria (LP). 81
- Figura 21.** Cortes histológicos (10x) do intestino médio de beijupirá. Peixes que receberam 5% de *U. fasciata*. Camada Muscular (CM), Submucosa (SM), Mucosa (M) e Lâmina Própria (LP). 81
- Figura 22.** Cortes histológicos (10x) do intestino médio de beijupirá. Peixes que receberam 10% de *U. fasciata*. Camada Muscular (CM), Submucosa (SM), Mucosa (M) e Lâmina Própria (LP). 82
- Figura 23.** Cortes histológicos (10x) do intestino médio de beijupirá. Peixes que receberam 15% de *U. fasciata*. Camada Muscular (CM), Submucosa (SM), Mucosa (M) e Lâmina Própria (LP). 82

## LISTA DE TABELAS DO CAPÍTULO I

<b>Tabela 1.</b>	Formulação e composição centesimal (base matéria seca) das dietas experimentais para juvenis de beijupirá ( <i>Rachycentron canadum</i> ).	36
------------------	--	----

## LISTA DE TABELAS DO CAPÍTULO II

<b>Tabela 1.</b>	Formulação e composição centesimal (base matéria seca) das dietas experimentais para juvenis de beijupirá ( <i>Rachycentron canadum</i> ).	61
<b>Tabela 2.</b>	Índices biométricos de juvenis de beijupirá.	74
<b>Tabela 3.</b>	Atividade de catalase no fígado de beijupirá.	75
<b>Tabela 4.</b>	Atividade de glutathione S-transferase (GST) no fígado de juvenis de beijupirá.	77
<b>Tabela 5.</b>	Composição centesimal (matéria natural) de juvenis de beijupirá eviscerados.	79
<b>Tabela 6.</b>	Altura, largura e relação largura/altura das vilosidades intestinais de juvenis de beijupirá.	80

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	01
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	03
2.1 Descrição da Espécie .....	03
2.2 Distribuição Geográfica do Beijupirá .....	03
2.3 A Criação do Beijupirá .....	04
2.4 Valor Econômico do Beijupirá .....	06
2.5 Nutrição do Beijupirá .....	06
2.6 <i>Ulva fasciata</i> .....	08
2.7 Defesa Antioxidante .....	10
2.8 Normativas que Regulamentam os Alimentos Funcionais e Nutracêuticos Destinados ao Consumo Animal .....	13
<b>3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	15
<b>CAPÍTULO I - DESEMPENHO DE JUVENIS DE BEIJUPIRÁ ALIMENTADOS COM DIETA CONTENDO ALGA MARINHA <i>Ulva fasciata</i></b> .....	28
<b>RESUMO</b> .....	29
<b>ABSTRACT</b> .....	30
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	31
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	32
2.1 Ensaio de Inclusão da Dieta .....	33
2.2 Animais .....	34
2.3 Unidades Experimentais .....	34
2.4 Alimentação e Dietas Experimentais .....	35
2.5 Farelo de <i>Ulva fasciata</i> .....	37
2.6 Avaliação do Desempenho Produtivo.....	38
2.7 Análises Estatísticas .....	39
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	40
3.1 Desempenho Produtivo de Juvenis de Beijupirá aos 62 dias .....	40
3.2 Desempenho Produtivo de Juvenis de Beijupirá aos 94 dias .....	45
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	52

<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>53</b>
<b>CAPÍTULO II - ÍNDICES BIOMÉTRICOS, ATIVIDADE DA CATALAE E GST, COMPOSIÇÃO CORPORAL E MORFOMETRIA INTESTINAL DE JUVENIS DE BEIJUPIRÁ ALIMENTADOS COM DIETA CONTENDO ALGA MARINHA <i>Ulva fasciata</i> .....</b>	<b>55</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>56</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>57</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>58</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>59</b>
2.1 Ensaio de Inclusão da Dieta .....	60
2.2 Animais .....	60
2.3 Unidades Experimentais .....	60
2.4 Alimentação e Dietas Experimentais .....	60
2.5 Farelo de <i>Ulva fasciata</i> .....	62
2.6 Índices Biométricos .....	63
2.7 Determinação da Atividade Antioxidante das Enzimas Hepáticas .....	64
2.8 Determinação da Composição Centesimal .....	66
2.9 Avaliações Morfométricas do Intestino de Juvenis de Beijupirá .....	70
2.10 Análises Estatísticas .....	73
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>74</b>
3.1 Índices Biométricos .....	74
3.2 Determinação da Atividade Antioxidante das Enzimas Hepáticas .....	74
3.3 Composição Centesimal de Juvenis de Beijupirá .....	78
3.4 Avaliações Morfométricas do Intestino de Juvenis de Beijupirá .....	79
<b>4 CONCLUSÕES .....</b>	<b>84</b>
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>85</b>
<b>CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>89</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A criação de peixes marinhos no Brasil teve início no século XVII, em Pernambuco, quando a atividade teria sido introduzida durante o governo holandês de Maurício de Nassau (CEMBRA, 2015). No entanto, a piscicultura marinha ainda é incipiente no Brasil, estando limitada às iniciativas das instituições de pesquisa.

O Brasil poderia ocupar um lugar de destaque no mercado mundial de pescados. Mesmo dispondo de condições favoráveis, de empresas globalmente competitivas no setor de carnes e de um expressivo mercado consumidor potencial, o setor ainda não está plenamente estruturado, os métodos utilizados tanto na captura quanto no cultivo ainda são muito artesanais, havendo espaço para modernização e desenvolvimento tecnológico (BNDES, 2010).

Nos anos 1980, desenvolveram-se os primeiros estudos de reprodução, com a tainha (*Mugil platanus*), no Rio de Janeiro e em Santa Catarina. Na década seguinte, os projetos de produção de peixes marinhos tiveram como foco quase exclusivo a reprodução e a larvicultura do robalo (*Centropomus parallelus*) e do linguado (*Paralichthys orbignyanus*) (SAMPAIO et al., 2010).

Recentemente instituições de pesquisa do Brasil têm se interessado em realizar estudos com o beijupirá (*Rachycentron canadum*). Pois dentre as diversas espécies com potencial para o desenvolvimento da piscicultura marinha, o beijupirá apresenta características consideradas adequadas à criação, como rápido crescimento (CHOU et al., 2001; LIAO et al., 2004), facilidade para desovar em cativeiro (CHOU et al., 2001; FRANKS et al., 2001; ARNOLD et al., 2002; CARVALHO FILHO et al., 2006; BENETTI et al., 2008), domínio da tecnologia de produção de formas jovens (LIAO et al., 2004; WEIRICH et al., 2004; HOLT et al., 2007; SCHWARZ et al., 2007; SCHWARZ et al., 2008; NHU et al., 2011), relativa tolerância à variação de salinidade (FAULK; HOLT, 2006), fácil adaptação ao confinamento e aceitação de dietas peletizadas e extrusadas (CHOU et al., 2001; CHOU et al., 2004; CRAIG et al., 2006; LUNGER et al., 2006).

Segundo Hamiltom et al. (2013), existem quatro laboratórios de reprodução de larvicultura de beijupirá, um no Rio Grande do Norte, dois em São Paulo, e um na Bahia. Existem, ainda, projetos de engorda em São Paulo (Ilhabela e Ubatuba), no Rio de Janeiro (Angra dos Reis e Ilha Grande) e na Bahia (Igrapiúna). Por outro lado, a dificuldade de licenciamento ambiental é um dos grandes entraves para o desenvolvimento dessa atividade.

Além do licenciamento ambiental, um dos grandes gargalos para a produção comercial de beijupirá é o desenvolvimento de uma dieta comercial específica que atenda às necessidades nutricionais da espécie em cativeiro. Esforços estão sendo feitos para se formular dietas apropriadas para essa espécie, de acordo com as exigências nutricionais estabelecidas (CHOU et al., 2001; CHOU et al., 2004; WANG et al., 2005; CRAIG et al., 2006; ZHOU et al., 2007).

O beijupirá é uma espécie carnívora e requer a escolha de ingredientes com proteína de alto valor biológico, como encontrado em farinha de peixes, que deve entrar na composição da dieta para atender as suas exigências proteicas (aminoácidos). No entanto, outros ingredientes de origem animal e vegetal devem fazer parte da dieta para atender as exigências de nutrientes e reduzir a inclusão de farinha de peixes, visto que esta tem alto custo e produção limitada.

Somado a isto, certos ingredientes alternativos podem além de nutrir, atuar de forma positiva na saúde dos animais, caracterizando-os como alimentos funcionais. Kruger e Mann

(2003) definiram os ingredientes funcionais como um grupo de compostos que apresentam benefícios à saúde, tais como as alicinas presentes no alho, piperina na pimenta, eugenol na hortelã e orégano, os carotenoides e flavonoides encontrados em frutas e vegetais, os glucosinolatos encontrados nos vegetais crucíferos os ácidos graxos poli-insaturados presentes em óleos vegetais e óleo de peixe.

Recentemente, tem sido desenvolvido grande interesse no isolamento de novos compostos bioativos do ambiente marinho, o que representa um recurso natural de muitos ingredientes funcionais (CHRISTAKI et al., 2013). Várias espécies de algas marinhas estão sendo avaliadas quanto ao seu potencial de inclusão como alimento funcional em dietas para peixes (REVERTER et al., 2014). Essas algas possuem bioativos como carotenoides, compostos fenólicos, proteínas, ácidos graxos essenciais e vitaminas. Dentre as macroalgas marinhas, as espécies do gênero *Ulva*, a *Ulva fasciata* tem se mostrado eficiente em sistemas de cultivo, apresentando alta produtividade (CASTELAR et al., 2015), tornando-se viável a sua produção em escala comercial (TRIVEDI et al., 2013; TRIVEDI et al., 2016). Estas algas são utilizadas como etapa biológica de filtragem no sistema de recirculação de água, removendo nutrientes do meio, os quais apresentam toxicidade aos peixes. O acúmulo de biomassa produzido no sistema pode servir como ingrediente em dietas para peixes.

A *Ulva fasciata* pode ser um potencial alimento a ser incluído em rações para beijupirá, pois apresenta elevado valor nutricional, além de possuir bioativos como os polissacarídeos denominados ulvanas que podem atuar diretamente na morfologia e microbiota intestinal dos peixes, apresentando também compostos fenólicos, como os flavonoides que atuam como antioxidantes naturais.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o farelo da alga marinha *Ulva fasciata* como alimento funcional em dieta de juvenis de beijupirá, visando à higidez e a melhoria do desempenho produtivo desta espécie.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Descrição da Espécie

*Rachycentron canadum* (LINNAEUS, 1766) é a única espécie existente da família Rachycentridae. O nome popular padrão da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação – FAO da espécie é em inglês e espanhol: “cobia”, em francês: “mafou” (COLLETTE, 1981). Outros nomes comuns pelo mundo são: “lemonfish”, “crabeater”, “ling”, “black kingfish”, “black salmon”, “bacalao”, dentre outros (SHAFFER e NAKAMURA, 1989). No Brasil é conhecido por beijupirá, bijupirá, pirambiju, cação-de-escama, falso-tubarão e peixe-rei.

*Rachycentron canadum* possui corpo alongado, subcilíndrico; cabeça larga e deprimida. A boca é larga, terminal, com projeção maior da mandíbula; dentes viliformes na mandíbula, no céu da boca e na língua. A primeira nadadeira dorsal contém 7-9 (geralmente 8) curtos, porém fortes, espinhos isolados, não ligados por membrana; a segunda nadadeira dorsal é comprida, com raios anteriores elevados em adultos; nadadeiras peitorais pontudas, tornando-se falcadas com a idade; nadadeira anal similar a dorsal, mas curta; nadadeira caudal redonda em juvenis com raios centrais muito prolongados, e com o passar da idade, essa torna-se lunada em adultos. Linha lateral levemente ondulada na região anterior (COLLETTE, 1981). A coloração é composta por marrom-escuro na região superior, marrom-claro na região lateral e inferior, com uma faixa preta lateral estendendo-se do focinho, passando pelo olho, à base da nadadeira caudal, limitada acima e abaixo por uma banda pálida. A faixa preta lateral é acentuada em juvenis e tende a clarear em adultos. Superfície ventral prateada com branco acinzentado (SHAFFER e NAKAMURA, 1989).

### 2.2 Distribuição Geográfica do Beijupirá

O beijupirá possui uma ampla distribuição em oceanos tropicais, subtropicais, e temperados quentes, exceto no leste do Pacífico (BRIGGS, 1960; SHAFFER; NAKAMURA, 1989; REYES, 2008).

A maioria dos ovos, planctônicos e pelágicos, do beijupirá é encontrada em mar aberto. Conforme a espécie inicia sua fase nectônica, essa se desloca para águas costeiras, próxima às praias, desembocaduras de rios, ilhas barreiras ou baías com salinidades relativamente elevadas (SHAFFER; NAKAMURA, 1989). Quando adultos, são peixes costeiros e da plataforma continental e ocasionalmente entram em estuários, podendo ser encontrados também sobre fundos de lama, rochas, areia, cascalho e em ambientes de recife de corais (SHAFFER; NAKAMURA, 1989; COLLETTE, 2002).

A distribuição do beijupirá é fortemente influenciada pela temperatura, pois a espécie prefere migrar para regiões quentes. Entretanto, podem ocorrer em águas temperadas durante os meses quentes do ano. O beijupirá tolera uma ampla faixa de salinidade, desde hipersalinas até ambientes de baixa salinidade. No entanto, são encontrados em ambientes com grande variação de salinidade, preferencialmente em oceânicos ou de salinidades próximas à oceânica (SHAFFER; NAKAMURA, 1989). Outro parâmetro que influencia na distribuição da espécie é a abundância de alimentos disponíveis, principalmente caranguejos e outros crustáceos (DARRACOTT, 1977) citado por Shaffer e Nakamura (1989).

O beijupirá é uma espécie que não forma cardumes, sendo encontrados juntos oito exemplares ou mais (SHAFFER; NAKAMURA, 1989). Por isso é difícil de ser pescado e vendido em feiras e mercados. A captura ocorre de forma acidental, não havendo uma pesca específica (HAMILTON et al., 2013). A captura mundial em 2010 foi de 11.944 t, sendo as

Filipinas o maior produtor, com 3.033 t (FAO, 2012). No Brasil, a pesca em 2010 produziu 923 t, o que representa cerca de 0,2% do total de peixes marinhos pescados no país, que foi de 537.200 t (BRASIL, 2012; FAO, 2012).

Há relatos de que o beijupirá adulto, em seu hábitat natural pode atingir de 61,5 kg até 68 kg e 200 cm de comprimento (SHAFFER; NAKAMURA, 1989). São conhecidos por viverem até 10 anos, podendo alcançar uma longevidade de 15 anos (SHAFFER; NAKAMURA, 1989).

Seu hábito alimentar é típico de um carnívoro predador, se alimenta de peixes, crustáceos e bivalves. Arendt et al. (2001) encontrou maior porcentagem de peixes e crustáceos no conteúdo estomacal de beijupirás encontrados na Baía de “Chesapeake”, uma região típica de migração dessa espécie.

Alguns estudos mostraram que o beijupirá apresenta a enzima quitinase e, portanto tem a capacidade de digerir a quitina presente no exoesqueleto de crustáceos (FINES; HOLT, 2010).

Tem hábito natatório ativo, devido à ausência da vesícula gasosa, e de comportamento migratório. O beijupirá faz migrações sazonais relacionadas com a mudança de temperatura da água e com a desova (SHAFFER; NAKAMURA, 1989).

Não há dimorfismo sexual marcado por características externas. Machos adultos alcançam a maturidade mais cedo que as fêmeas. Enquanto nos machos ocorre com dois anos estando com 1,14 kg, nas fêmeas ocorre com três anos, com peso de 3,27 kg. A fecundação é externa, os óvulos e esperma são liberados simultaneamente (SHAFFER; NAKAMURA, 1989).

### **2.3 A Criação do Beijupirá**

Alguns países asiáticos foram pioneiros na introdução do beijupirá em sistema de cultivo de peixes. Taiwan foi o primeiro país a ter sucesso na reprodução em cativeiro em 1994. Posteriormente, pesquisas foram realizadas nos Estados Unidos e Caribe para se estabelecer ciclos reprodutivos estendidos ao longo do ano controlando o fotoperíodo e temperatura (ARNOLD et al., 2002).

Em Taiwan, com o domínio da reprodução e da larvicultura, a produção teve um acréscimo de 3 toneladas em 1995 para 5.000 toneladas em 2004, significando pouco mais de US\$ 21 milhões (KAISER; HOLT, 2005; MIAO et al. 2009). Atualmente a China, Taiwan e Vietnã são os principais produtores, e a produção mundial em 2012 foi estimada em 43.800 toneladas, que representa quatro vezes a produção da pesca (FAO, 2013).

Existem também relatos da criação desta espécie no México (ARENDRT et al., 2001), Japão (LIU et al., 2003), Porto Rico, Tailândia, Irã, República Dominicana, Bahamas, Martinica, Panamá (BENETTI et al., 2008), Emirados Árabes Unidos (YOUSIF et al., 2009), Indonésia (KONGKEO et al., 2010), Colômbia, Singapura, Belize (FAO, 2011), Índia (GOPAKUMAR et al., 2011) e Brasil (HAMILTON et al., 2013). A maioria das criações de beijupirá nesses países utiliza principalmente tanques-rede em áreas marinhas protegidas, embora haja uma tendência cada vez maior em desenvolver a aquicultura em mar aberto.

Em cativeiro a taxa diária de alimentação para beijupirá com peso entre 5 a 5.000 g sugerida por Su et al. (2000) é de 4,3 a 7,8 % da biomassa estimada, diminuindo conforme o peixe cresce. Nessas condições o beijupirá pode chegar a pesar de 4 a 6 kg em 1 ano, sendo um peixe favorável ao cultivo em tanques-rede (CHOU et al., 2001). Essa espécie tem excelente desempenho produtivo, exibindo ótima taxa de crescimento, baixa mortalidade e conversão alimentar (BENEDITTI et al., 2007).

Os reprodutores são alimentados diariamente, utilizando alimentos de origem marinha frescos ou congelados, como peixes (como por exemplo, sardinha), lulas e camarões (BENETTI et al., 2008).

A criação intensiva de larvas em laboratório utiliza sistemas de manejo de água semi-estáticos ou de recirculação (HOLT et al., 2007; SCHWARZ et al., 2007). Nos primeiros dias pós-eclosão, as larvas se alimentam exclusivamente do vitelo, cuja qualidade depende diretamente da alimentação oferecida aos reprodutores (FAULK; HOLT, 2008). Do 3º ao 7º dia após a eclosão (DAE), as larvas são alimentadas com o rotífero *Brachionus plicatilis* enriquecido, enquanto náuplios recém-eclodidos de *Artemia* são fornecidos do 6º ao 9º DAE. A partir do 9º DAE, metanáuplios de *Artemia* enriquecidos com HUFA são então ministrados até o completo fornecimento de microdietas inertes (HOLT et al., 2007).

Ao alcançarem de 2 a 5 g, tem início a segunda etapa do berçário, onde já são considerados na fase de juvenis, do 45º ao 75º DAE, com os peixes sendo transferidos para viveiros maiores ( $\geq 300 \text{ m}^3$ ), onde serão alimentados de cinco a seis vezes por dia até atingirem cerca de 30 g. Na etapa final (75º ao 150º DAE), os beijupirás são mantidos em viveiros de terra ou em gaiolas (ou tanques-rede) até atingirem de 600 a 1.000 g (LIAO et al., 2004). A fase de berçário (juvenil) pode ser desenvolvida, também, em sistema de recirculação em condições intensivas, produzindo, após quatro semanas, juvenis de 75 g (peso inicial de 7 g) a uma densidade de 370 peixes  $\text{m}^{-3}$  (LIAO et al., 2004).

O principal sistema de engorda de beijupirá no mundo utiliza gaiolas de diversos tamanhos e formas, as quais são instaladas em áreas protegidas, como baías ou enseadas, ou em mar aberto (BENETTI et al., 2010; NHU et al., 2011). Em ambientes de mar aberto, gaiolas flutuantes, de formato circular, fabricadas em polietileno de alta densidade, são geralmente utilizadas (HAMILTON et al., 2013).

Apesar da existência de projetos de engorda na Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Rio de Janeiro e São Paulo (CAVALLI et al., 2011), até o momento, a produção de beijupirá pela aquicultura brasileira foi de apenas 49 toneladas em 2009 (BRASIL, 2010). Este volume relativamente pequeno se deve a uma série de gargalos na cadeia produtiva, como dificuldade de licenciamento ambiental, baixa qualidade e variabilidade na composição das dietas disponível no mercado nacional, instabilidade na produção de juvenis em laboratório, incidentes de colisões de embarcações contra gaiolas em mar aberto, escassez de pessoal técnico qualificado na atividade (em especial em relação à sanidade), inexistência de legislação trabalhista específica para a aquicultura em mar aberto, e os altos custos para a importação de equipamentos e embarcações especializadas (CAVALLI et al., 2011).

Outra possibilidade seria a utilização de sistemas de recirculação de água (RAS), os quais, embora tenham um custo elevado, permitem um maior controle de doenças e parasitas, e redução do impacto ambiental.

O desenvolvimento de sistemas de recirculação de água e da aquicultura integrada multitrófica (IMTA), que é um sistema integrado de criação de peixes, com o cultivo de espécies que extraem compostos inorgânicos da água, tais como algas, e espécies que extraem compostos orgânicos em suspensão, tem a promessa de contribuir para a sustentabilidade da aquicultura (NEORI et al., 2004; TROELL et al., 2009). Pesquisadores dos Estados Unidos da América e Taiwan trabalharam no desenvolvimento intensivo e superintensivo de sistemas de recirculação para a produção de juvenis, utilizando o controle de temperatura, esterilização UV, filtros cilíndricos, “skimmers” e unidades de oxigenação, obtendo sucesso com ótimas taxas de produção e sobrevivência (FAO, 2013).

## 2.4 Valor Econômico do Beijupirá

Apesar de sua ampla distribuição natural, a baixa captura pela pesca faz com que o beijupirá não seja facilmente encontrado no mercado (HAMILTON et al., 2013). O desconhecimento pelo público consumidor implica na necessidade de investimentos na área de marketing e propaganda, como forma de difundir as suas qualidades (CAVALLI et al., 2011; NHU et al., 2011).

Diferentemente do Ocidente, o beijupirá é um peixe valioso para os consumidores orientais, principalmente Japão e Taiwan. Nesses países, esse peixe possui alto valor comercial devido a sua carne branca, apreciada para consumo cru para ser servido como sashimi onde são preferidos porcentagens elevadas de lipídeos no filé (CRAIG et al., 2006; MIAO et al., 2009).

Como líder mundial na produção do beijupirá, a futura produção da China é provável que seja um fator importante na comercialização desta espécie. Até agora, a disponibilidade de farinha de peixe para uso como alimento para a expansão da indústria do beijupirá na China tem sido apontada como um dos principais fatores limitantes para a produção futura. Apesar desta falta de alimentação, os produtores identificaram o beijupirá como uma espécie que tem um grande potencial e sistemas de gaiolas são amplamente distribuídas nas províncias costeiras do sul de Guangdong e Hainan (FAO, 2013).

Segundo Schwarz e Svennevig (2009), o preço do beijupirá, em 2008, variou de acordo com a região. Na América Central, o peixe inteiro foi vendido por US\$ 13,00 kg<sup>-1</sup>, e o filé por US\$ 26,00 kg<sup>-1</sup>, enquanto no Estado da Virginia, EUA, o filé foi comercializado a US\$ 35,00-40,00 kg<sup>-1</sup>. Já nas Ilhas Reunión e Mayotte, sul do Oceano Índico, o preço era US\$ 14,28 kg<sup>-1</sup> do peixe inteiro e US\$ 31,43 kg<sup>-1</sup> do filé. No Brasil, o beijupirá inteiro alcança valores entre R\$ 12,00 e 22,00 kg<sup>-1</sup> nos supermercados. Sanches et al. (2008), por exemplo, citaram valores praticados em peixarias do litoral norte-paulista e sul-fluminense entre R\$ 15,00 e 18,00 kg<sup>-1</sup>. Na bacia Camamu-Almada, sudeste da Bahia, o preço médio comercializado pelos pescadores artesanais e pago pelo consumidor final, em 2005, era R\$ 6,00 e 7,50 kg<sup>-1</sup>, respectivamente (SOUZA e PETRERE JR, 2008). Contudo, é importante destacar que estes valores referem-se a exemplares da pesca, visto que a comercialização no mercado brasileiro de beijupirá produzido pela aquicultura é praticamente inexistente.

O futuro do fornecimento global, mercado, e os preços do beijupirá serão certamente afetados pela produção futura (ou falta de) de beijupirá na China e Taiwan, Província da China, assim como em outros países do Sudeste Asiático (FAO, 2013).

## 2.5 Nutrição do Beijupirá

As proteínas e os lipídeos são os mais importantes ingredientes nas dietas de peixes carnívoros. Chou et al. (2001) fizeram os primeiros estudos de exigências nutricionais para beijupirá através de regressão polinomial, e estimaram que o crescimento máximo de juvenis de beijupirá seria alcançado com 44,5% e 5,76% de proteína bruta e extrato etéreo na dieta, respectivamente. Wang et al. (2005) sugeriram que porcentagens de extrato etéreo acima de 15% na dieta podem afetar negativamente o crescimento de juvenis de beijupirá. Estes autores observaram que aumentos significativos das porcentagens de lipídeo nos músculos, fígado e intraperitoneal, além do aumento dos índices viscerossomático e hepatossomático ocorreram ao se aumentar a inclusão de lipídeos dietéticos de 5 para 15%. Outro experimento foi conduzido por Craig et al. (2006) em arranjo fatorial com duas porcentagens de proteína bruta (40 e 50%) e três porcentagens de lipídeo (6, 12 e 18%) e obtiveram maior eficiência alimentar em juvenis que receberam a dieta com 40% de proteína bruta. E melhores índices

viscerossomático e hepatossomático em juvenis que receberam 6% de lipídeo na dieta. Baseados nos resultados desses estudos, Fraser e Davies (2009) concluíram que o beijupirá teria menor eficiência em utilizar os lipídeos como fonte de energia, metabolizando a proteína como principal fonte energética.

Embora o estudo de Craig et al. (2006) tenha sido feito para estabelecer porcentagens ideais de proteína e lipídeo, esses autores observaram que relações de proteína/energia em dietas contendo de 100 a 167 mg de proteína bruta kcal<sup>-1</sup> de energia metabolizável não afeta o ganho em peso e a eficiência alimentar de juvenis de beijupirá que atingiram 1223 g em 6 semanas de experimento. Utilizando dietas com 40% de proteína e 6% de lipídeos, mas diferentes relações de proteína/energia devido à inclusão de dextrina, Webb et al. (2010) concluíram que a relação proteína/energia ótima para juvenis de beijupirá seria de aproximadamente 142,26 mg de proteína bruta por kcal de energia metabolizável.

Apenas as exigências de lisina e metionina foram determinadas para beijupirá. Considerando o crescimento máximo e a conversão alimentar mínima, a exigência de metionina para juvenis de beijupirá foi estimada em 1,19% na presença de 0,67% de cistina, correspondente a 2,64% da proteína dietética com base na matéria seca. Isso apoia a estimativa preliminar de 2,66% (metionina + cistina) quando expressa em porcentagem de proteína dietética determinada previamente por Chou et al. (2004). Zhou et al. (2007) também determinaram a exigência de lisina para juvenis de beijupirá estimada em 2,33% na matéria seca.

As concentrações de aminoácidos essenciais nas dietas são importantes quando se substitui a farinha de pescado por ingredientes alternativos. Em geral, as fontes de proteínas de origem vegetal possuem deficiência de aminoácidos essenciais e/ou desbalanço entre eles, além da presença de fatores antinutricionais, que podem prejudicar a disponibilidade dos nutrientes da dieta. Para cobrir possíveis deficiências na fonte proteica alternativa faz-se necessário o uso de aminoácidos sintéticos (ESPE et al., 2007; GAYLORD et al., 2009; CAVALLI; GARCIA, 2012). Contudo, para peixes carnívoros, a utilização de ingredientes vegetais ainda é limitada, tanto pela morfologia e fisiologia digestiva, tanto pelas limitações nutricionais apresentadas por estas fontes (GATLIN III et al., 2007).

Luo et al. (2012) testaram cinco porcentagens de substituição de farinha de peixe por farelo de colza tostado em juvenis de beijupirá e constataram que não houve diferença em eficiência alimentar nos peixes alimentados com até 125 g k<sup>-1</sup> de farelo de colza em relação aos peixes que só receberam farinha de peixe.

Em outro estudo utilizando até 20% de concentrado proteico de canola para salmão do Atlântico, Burr et al. (2013) concluíram que estes peixes não parecem ser capazes de tolerar o concentrado proteico de canola acima de 10% devido provavelmente aos seus fatores antinutricionais.

O uso de proteínas de origem vegetal na aquicultura requer que os ingredientes possuam certas características nutricionais, tais como baixas porcentagens de fibra, amido (especialmente carboidratos não solúvel), e reduzidos fatores antinutricionais (NAYLOR et al., 2009).

Apesar dos peixes carnívoros não terem habilidade para utilizar altas porcentagens de amidos dietéticos, estudos têm mostrado que o beijupirá é capaz de utilizar até 36% de amido dietético quando o suprimento se faz com carboidrato de baixo peso molecular como a dextrina (SCHWARZ et al.; 2007).

Webb et al. (2010) utilizando porcentagens crescentes de dextrina obtiveram melhores resultados zootécnicos ao utilizarem 34,5%, que foi o maior valor estudado, e concluíram que juvenis de beijupirá são capazes de utilizar porcentagens relativamente altas de carboidratos

quando a dieta é constituída de amidos tais como dextrina, que é um carboidrato parcialmente hidrolisado.

Testando várias fontes de carboidratos (glicose, sacarose, maltose, dextrina, amido de milho e amido de trigo) na porcentagem de 20% da matéria seca, Cui et al. (2010) relataram que os juvenis de beijupirá alimentados com amido de trigo e dextrina apresentaram maior ganho de peso, taxa de crescimento específico e taxa de eficiência proteica, enquanto os que receberam a dieta com glicose tiveram sobrevivência significativamente menor. Estes resultados indicam que a dextrina e o amido de trigo seriam as fontes preferenciais de carboidrato a serem utilizadas em dietas para o beijupirá.

No ambiente natural o beijupirá se alimenta de crustáceos, os quais possuem quitina em seu exoesqueleto. Quitina é um polímero linear no qual a unidade repetitiva é o dissacarídeo formado por 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranosose e 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose unidos por ligação glicosídica. Assim como na celulose as ligações são do tipo  $\beta(1\rightarrow4)$ , definindo-se assim os terminais redutor e não-redutor das cadeias poliméricas, os quais correspondem às extremidades que contêm grupo hidroxila livre ligado ao carbono 1 (terminal redutor) e carbono 4 (terminal não-redutor) do anel de glicopiranosose (CAMPANA-FILHO et al., 2007).

Investigando a utilização de quitina, como ingrediente para dieta de juvenis de beijupirá, Fines e Holt (2011) observaram atividade endógena das enzimas quitinase e quitinobiase no estômago do beijupirá, indicando capacidade de digerir a quitina.

Experimentos têm sido realizados para determinar a digestibilidade da proteína, lipídeo e fósforo a partir de uma série de fontes vegetais e animais em juvenis de beijupirá (NGUYEN et al. 2014).

Em um ensaio de digestibilidade testando vários ingredientes de origem animal e vegetal para juvenis de beijupirá, Zhou et al. (2004) observaram que a digestibilidade aparente da matéria seca variou de 0,60-0,88 para os produtos de origem animal e farelo de glúten de milho, e 0,59-0,71 para o farelo de soja, farelo de amendoim, e colza. Os juvenis de beijupirá apresentaram elevada capacidade de utilizar o fósforo presente nos ingredientes, enquanto a disponibilidade de aminoácidos refletiu a digestibilidade da proteína, com exceção da farinha de carne e ossos, cuja disponibilidade de alguns aminoácidos foi menor.

Sabe-se que a digestibilidade e a disponibilidade de nutrientes permitem o balanço da dieta. Isso influencia o equilíbrio orgânico animal, determina maior resistência a doenças e responde por maior produtividade em sistemas intensivos. Desta forma, deve-se questionar o valor nutritivo dos alimentos que compõem as rações utilizadas nos sistemas intensivos de produção, visando a confecção de rações balanceadas de alta qualidade, para a aplicação de boas práticas de manejo (PEZZATO et al., 2009).

Sendo assim, a avaliação da digestibilidade de um ingrediente é fundamental para a formulação e produção de dietas que sejam nutricional, econômica e ambientalmente eficientes (FRACALOSI; CIRYNO, 2012).

## **2.6 *Ulva fasciata***

*Ulva fasciata* (LINNAEUS, 1753) é uma espécie de alga marinha, do gênero *Ulva*, o qual é representado por mais de 124 espécies descritas e são amplamente distribuídas pelo mundo tanto em ambientes marinhos, costeiros e estuarinos, como também em ecossistemas de água salobra (PHYCOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA, 2015).

São macroalgas verdes mais conhecidas como “alfaces-do-mar”, geralmente são abundantes desde as zonas entre-marés até o infra-litoral, onde fornecem abrigo e nutrientes para fauna de invertebrados e vertebrados marinhos (LOBBAN; HARRISON, 1997). As

plantas ocorrem fixadas em diversos tipos de substratos consolidados como costões rochosos expostos às ações das ondas, no sedimento de baías, estuários protegidos ou até flutuando livremente na coluna d'água (HAYDEN; WAALAND, 2004).

Uma grande variedade de algas marinhas é utilizada como alimento fresco em muitas partes do mundo, principalmente no continente asiático. No Japão, espécies pertencentes ao gênero *Ulva* são tradicionalmente consumidas como “aonori”, que é um produto misto, incluindo outras algas verdes.

Em contrapartida, nos países ocidentais, o principal uso de algas é como ficocolóides, espessantes e agentes gelatinizantes para várias aplicações industriais, incluindo a indústria alimentícia (ABBOTT, 1996; WONG; CHEUNG, 2000).

A composição química de algas varia de acordo com a espécie, hábitat, maturidade e condições ambientais (ITO; HORI, 1989). No entanto, em geral, algas são ricas em polissacarídeos não amiláceos, minerais e vitaminas (MABEAU; FLEURENCE, 1993).

As macroalgas marinhas possuem elevados teores de polissacarídeos (SULLIVAN et al., 2010). Sendo facilmente isolados e considerados como potenciais ingredientes bioativos em alimentos funcionais (HAMED et al., 2015).

Os polissacarídeos extraídos de *U. fasciata* são um grupo de heteropolissacarídeos sulfatados, designados por ulvanas, principalmente compostos por ramnose, xilose, glicose, com quantidades menores de manoses, arabinose e galactose (LAHAYE et al., 1999).

O uso de polissacarídeos em dietas de peixes pode melhorar as características anatômicas do trato gastrointestinal e ter efeito no sistema imune, podendo refletir na melhoria do desempenho (SILVA; NÖRNBERG, 2003; ZHOU et al., 2010; SALAMATDOUSTNOBAR et al., 2011).

As macroalgas marinhas têm recebido atenção por possuir atividade antioxidante natural (JIMÉNEZ-ESCRIG et al., 2001). As ulvanas conferem ação antioxidante em hamster (GODARD et al., 2009), anti-inflamatória em ratos (MARGRET et al., 2009), imunomoduladora (TABARSA et al., 2012) e antibacteriana (SARITHA et al., 2013) *in vitro*.

Barbosa (2017) analisou o rendimento de ulvana obtido de amostra de *U. fasciata* cultivada em sistema AMTI da Estação de Aquicultura Almirante Paulo Moreira (EAAPM), pertencente à Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro, e obteve 750 mg de polissacarídeo seco, que representa 15% de rendimento de ulvana. Esse mesmo autor encontrou resultados superestimados para teor de fenóis totais das frações aquosas e extratos brutos da *U. fasciata*, e relacionou a isso o teor de ulvana obtido, visto que a ulvana é classificada como açúcar redutor, e este método de determinação de compostos fenólicos (Folin-Denis) não é um método específico, pois determina também substâncias redutoras.

Dentro do grupo de compostos fenólicos, os flavonoides são substâncias naturais com estrutura fenólica variável e podem ocorrer como agliconas, glicosídeos ou como parte de outras estruturas que contenham flavonoides, como as flavolignanas, porém frequentemente ocorrem como glicosídeos (BEHLING et al., 2004). Os flavonoides presentes nas algas também promovem *in vitro* ação antioxidante, anti-inflamatória, anti-hepatotóxica e anti-ulcerações (FLEURENCE, 1999; MEENAKSHI et al., 2009; CHAKKARAVARTHY; KUMAR, 2011).

Meenakshi et al. (2009) em um ensaio *in vitro* com *Ulva lactuca* observaram correlação entre ação antioxidante e compostos fenólicos. Assim, estes compostos podem contribuir com a defesa antioxidante juntamente com vitaminas e enzimas endógenas antioxidantes.

Em relação à composição centesimal das espécies pertencentes ao gênero *Ulva*, o teor de proteína pode representar entre 10 e 26% na matéria seca da planta (FLEURENCE, 1999).

Ortiz et al. (2006) obtiveram 27% de proteína bruta de *U. lactuca* (espécie de *Ulva* que tem proximidade filogenética com a *Ulva fasciata*). Estes autores observaram na *U. lactuca* 11% de matéria mineral, 0,3% de extrato etéreo e 61,5% de carboidratos (incluindo as fibras). Chakraborty e Santra (2008) observaram em *Ulva fasciata* 30,58% de carboidratos totais, 6,15% de proteína bruta e 7,13% de extrato etéreo. Já Parthiban et al. (2013) observaram em *Ulva fasciata* 14,68% de proteína bruta, 28,58% de carboidratos totais e 5,3% de extrato etéreo. A composição nutricional de algas marinhas cultivadas pode variar de acordo com a época do ano. Yedukondala et al. (2015) ao cultivarem a *Ulva fasciata* no período total de 1 ano, obtiveram de 17,25 a 32,65% de proteína bruta, de 4,69 a 14,58% de extrato etéreo, 0,08 a 16,38% de matéria mineral e 52 a 68,50% de carboidratos. Pontes et al. (2016), ao analisar a composição centesimal da *U. fasciata*, cultivada em sistema *outdoor* (em tanques circulares de polietileno) na EAAPM – Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro, obteve na matéria seca: 4,87% de umidade, 19,43% de proteína bruta, 23,22% de matéria mineral, 0,73% de extrato etéreo, 4,37% de fibra bruta e 47,38% de carboidratos. A energia bruta *U. fasciata* também foi avaliada, obtendo o valor de 3195,34 kcal/kg de matéria seca.

Devido ao valor nutricional que as macroalgas marinhas apresentam, tais algas podem ser ingredientes para a alimentação de organismos aquáticos (LARGO et al., 2004).

A alimentação de tilápia do Nilo com 5% de farelo de *Ulva* em dietas com 10% ou 20% de lipídeos, resultou na melhoria do crescimento, eficiência alimentar, utilização de nutrientes e composição corporal (ERGUN et al., 2008).

Recentemente, Santizo et al. (2014) avaliaram a composição centesimal e a digestibilidade aparente do farelo de *Ulva lactuca* e o seu concentrado proteico (extraído por método físico-químico com uso de mercaptoetanol e sulfato de amônio) para *Penaeus monodon*. Estes autores observaram 13,4% e 38,4% de proteína bruta no farelo e no concentrado proteico de *U. lactuca*, respectivamente. Eles consideraram que a porcentagem de proteína bruta observada foi baixa no concentrado proteico, comparado a outros trabalhos devido a altas quantidades de polissacarídeos (xilose e celulose) assim como de compostos fenólicos. Embora estes autores não tenham feito análise de caracterização das fibras, apenas quantificaram as fibras totais, que foram respectivamente 2,8% e 4,4% para farelo e concentrado proteico de *U. lactuca*. Quanto à digestibilidade aparente foi, para os dois produtos, de 71,53% e 98,76% para farelo e concentrado proteico de *U. lactuca*.

Em relação ao uso de algas marinhas para peixes carnívoros, Batista (2008) observou que o crescimento da dourada (*Sparus aurata*) alimentada com porcentagens de 5 a 15% de *U. rígida* foi similar aos indivíduos alimentados com a dieta referência, sendo que a maior porcentagem de 25% proporcionou maior peso. Por outro lado, Yildirim et al. (2009) testaram a inclusão de 10% de *U. lactuca* e *U. fasciata* em dietas para truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em substituição em parte, à farinha de peixe e farelo de trigo. Estes autores relataram que houve queda no ganho de peso e pior conversão alimentar nos peixes que receberam as dietas contendo 10% das algas. Em relação à composição química corporal não houve diferença entre os tratamentos.

## 2.7 Defesa Antioxidante

A molécula de oxigênio é usada biologicamente para oxidar moléculas de carbono e hidrogênio para obter a energia química e calor, essencial para a vida. Nesse processo ocorre adição gradual de quatro elétrons, dando origem às espécies reativas de oxigênio (ERO) (GUTTERIDGE, 1999).

ERO é um termo coletivo que inclui radicais livres, como o ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), os radicais hidroxila (OH), peroxila ( $RO_2^{\cdot}$ ) e hidroperoxila ( $HRO_2^{\cdot}$ ), assim como espécies que

não possuem radicais livres, mas que são agentes oxidantes e podem gerar radicais, como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o oxigênio singlet ( $^1O_2$ ) (EVANS et al., 2002; VASCONCELOS et al., 2007).

As EROs podem ser geradas exogenamente ou produzidas intracelularmente, a partir de diversas fontes, como mitocôndrias, peroxissomas, lipoxigenases, NADH oxidase, citocromo P450, entre outros (FINKEL; HOLBROOK, 2000; VALKO et al., 2004). Sendo produtos normais do metabolismo celular, por vezes as EROs são produzidas especificamente com determinadas funções biológicas, como a produção de energia, fagocitose, produção de compostos, regulação do crescimento celular e sinalização intercelular (PIETTA, 2000).

O balanço redox em líquidos biológicos, organelas, células ou tecidos é determinado pela presença de pares redox responsáveis pelo fluxo de elétrons (SCHAFER; BUETTNER, 2001).

A oxidação é uma reação química que envolve a transferência de um elétron de um elemento rico em elétrons para um elemento pobre em elétrons. A molécula que recebe elétrons é denominada oxidante ou agente oxidante.

Dentro das células os tióis (R-SH), como a glutatona (GSH) é mantida em seu estado reduzido, assim como as coenzimas nucleotídeo de nicotinamida NADH e NADPH (MORAN et al., 2001). No entanto, podem surgir circunstâncias que alteram o equilíbrio redox e levam a um ambiente mais oxidante. Nessas situações os sistemas antioxidantes removem, reparam ou controlam o ambiente normal reduzido.

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

Uma definição geral de antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SIES; STAHL, 1995).

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição à fatores exógenos. A ocorrência de um estresse oxidativo moderado, frequentemente é acompanhada do aumento das defesas antioxidantes (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Para proteger-se, a célula possui um sistema de defesa que pode atuar em duas linhas. Uma delas atua como desintoxicadora do agente antes que ele cause lesão. E isso ocorre principalmente pela inibição das reações em cadeia com ferro e o cobre (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Os organismos eucariotos possuem enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutatona peroxidase (GPx) e a glutatona S-transferase (GST) que reagem com os compostos oxidantes e protegem as células e os tecidos do estresse oxidativo (BONORDEN; PARIZA, 1994; TRABER, 1997).

A SOD catalisa a dismutação do ânion radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) a peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e  $O_2$ , a CAT que atua na decomposição de  $H_2O_2$  a  $O_2$  e  $H_2O$  e a GPx, que atua sobre peróxidos em geral, com utilização de glutatona como co-fator (HEISER; OSSWALD, 2008).

Os peixes também podem sofrer o ataque das EROs produzidas pelo metabolismo aeróbio e apresentam sistemas antioxidantes de defesa. Os mesmos podem ser classificados

em sistema enzimático, com as enzimas SOD, CAT, GPx e GST, e sistema não enzimático, com a glutathiona reduzida (GSH), vitaminas A, C e E, selênio (Se) e outros (LIVINGSTONE, 2001; VAN DER OOST et al., 2003; MONTEIRO et al., 2009; HARABAWY et al., 2014).

Os antioxidantes obtidos da dieta, tais como as vitaminas A, C e E, os flavonoides e os carotenoides são extremamente importantes na intercepção dos radicais livres (BIANCHI; ANTUNES, 1999; CERQUEIRA et al., 2007).

Outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais livres. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstrução das membranas celulares danificadas. Em alguns casos pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta a geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Nesses casos, moléculas antioxidantes presentes nos alimentos vegetais podem ajudar a diminuir o dano oxidativo, quer atuando diretamente sobre as EROs, quer estimulando sistemas defensivos endógenos (SCALBERT et al., 2005).

Entre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos, tais como os flavonoides, as antocianinas, as catequinas e os taninos. As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à sua capacidade de sequestrar os radicais livres (DECKER, 1997; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004). Conseguindo ser mais eficazes que as vitamina C e E (SCALBERT et al., 2005).

Devido à sua estrutura química, os grupos fenólicos dos polifenóis podem aceitar um elétron ou próton e formar radicais fenólicos relativamente estáveis, impedindo as reações de oxidação em cadeia nos compartimentos celulares (SCALBERT et al., 2005). A característica aromática e sistema altamente conjugado com grupos hidroxílicos múltiplos tornam esses compostos bons doadores de elétrons ou átomos de hidrogênio, neutralizando os radicais livres e outros EROSs (ZHANG; TSAO, 2016).

Para as algas marinhas, a ausência de danos oxidativos e sua sobrevivência dependem da resposta eficiente ao estresse oxidativo. Por essa razão, tais organismos podem representar importante fonte de substâncias antioxidantes naturais tanto para as indústrias alimentícias como para as farmacêuticas (MATSUKAWA et al., 1997).

As macroalgas são frequentemente expostas a uma combinação de fortes concentrações de luz e de oxigênio que provocam a formação de ERO e outros agentes oxidantes fortes. A fim de sobreviver no ambiente marinho, as algas desenvolveram sistemas de defesa protetores químicos através dos antioxidantes. Estes mecanismos consistem numa matriz de compostos antioxidantes que podem ou não trabalhar de forma sinérgica para limitar a oxidação (BURTIN, 2003; ZARAGOZÁ et al., 2008).

Sabe-se que os carotenoides presentes nos vegetais são agentes fotoprotetores que mitigam o efeito prejudicial do oxigênio reativo. Assim, os carotenoides protegem contra o excesso de luz incidente, absorvendo rapidamente a energia desses estados excitados, voltando ao estado fundamental emitindo a energia absorvida na forma de calor (MOORE et al., 1982; FRANK et al., 2004).

No organismo animal, devido a uma absorção seletiva do trato gastrointestinal, apenas 14 tipos de carotenoides são biodisponíveis, dentre eles, o beta-caroteno, o alfa-caroteno, a luteína, a zeaxantina e o licopeno. Estes têm o potencial de interromper a reação em cadeia entre um ERO e o seu substrato, servindo como substrato para as EROs, para que não sejam formados novos produtos desencadeantes que dariam continuidade à reação em cadeia (GOMES, 2007).

## **2.8 Normativas que Regulamentam os Alimentos Funcionais e Nutraceuticos Destinados ao Consumo Animal**

Para o sucesso da produção animal é imprescindível que os animais estejam saudáveis, sejam criados num ambiente favorável e recebam uma dieta balanceada que permita que a energia metabolizada seja canalizada para a produção.

O uso de aditivos na alimentação animal e o desenvolvimento de alimentos funcionais para peixes em cativeiro estão recebendo maior atenção para incrementar a produção (HOLDT; KRAAN, 2011; TACCHI et al., 2011; NEWAJ-FYZUL; AUSTIN, 2014; SALZE; DAVIS, 2015). Por outro lado, de nada adianta enriquecer a dieta com ingredientes funcionais, onerando a dieta com o valor agregado, se não há condições ambientais que permitam que os peixes estejam saudáveis (CYRINO et al., 2010).

Os alimentos funcionais surgiram como conceito em 1984 no Japão, quando cientistas estudavam relações entre nutrição e modulação de sistemas fisiológicos. Porém, em 1991, os japoneses passaram a utilizar o termo Foshu (Foods for special health use) na tentativa de não confundir a regulação dos alimentos funcionais com a farmacêutica (HEASMAN; MELLENTIN, 2001). A propósito, Japão é o único país que reconhece legalmente os alimentos funcionais como uma categoria distinta, favorecendo desta forma o avanço de seu mercado alimentar funcional (BALDISSERA et al., 2011).

Os alimentos funcionais podem ser definidos como alimentos que resultam em benefícios fisiológicos além de cumprir as exigências nutricionais básicas de uma espécie. Por exemplo, um alimento funcional poderia melhorar o estado de saúde e reduzir a incidência da doença, e sabe-se, que vários componentes alimentares com propriedades profiláticas atuam como imuno-estimulantes (HOLDT; KRAAN, 2011; NEWAJ-FYZUL; AUSTIN, 2014; REVERTER et al., 2014).

Para validar um alimento como sendo “funcional”, parâmetros biológicos ou biomarcadores são fundamentais para medir a eficácia dos componentes bioativos, que são encontrados no organismo e servem para comprovar a eficiência do alimento funcional (ILSI, 2002).

Internacionalmente a Codex Alimentarius é responsável pela avaliação de fatores legítimos relevantes para a proteção da saúde, bem estar animal, qualidade das informações no produto e definição das características essenciais assim como o seu método de produção.

A Legislação Brasileira fiscaliza todo produto e estabelecimento destinado à alimentação animal por meio da Lei 6.198, de 26/12/1974, regulamentada pelo Decreto 6.296, de 11/12/2007, do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. No entanto, a Legislação Brasileira não define alimentos funcionais, mas sim as alegações de propriedades funcionais e de saúde de alimentos e ingredientes, sendo regulamentada para consumo humano apenas (ANVISA, 1999).

A Comissão Europeia (CE) sobre Ciências alimentares funcionais na Europa considera um alimento como funcional se for demonstrado de forma satisfatória que afete de forma benéfica uma ou mais funções alvo no corpo, para além dos efeitos nutricionais adequados, de uma forma relevante para melhor estado de saúde e bem-estar e/ou redução do risco de doença. Neste contexto, os alimentos funcionais não são pílulas ou cápsulas, mas devem permanecer alimentos e devem demonstrar seus efeitos em quantidades que normalmente podem ser consumidas na dieta (EC, 1999).

Na verdade a legislação europeia não define alimentos funcionais ou nutraceuticos como uma categoria específica de alimentos. Uma série de textos legislativos que podem ser de importância para esses alimentos já foram elaborados pela “European Commission

Concerted Action on Functional Food Science”, incluindo o regulamento geral dos gêneros alimentícios, diretiva relativa aos novos alimentos, bem como a propostas sobre alegações nutricionais e de saúde (COPPENS et al., 2006).

Mesmo em outros países, como os EUA a legislação que regulamenta o uso de nutracêuticos na alimentação animal não é muito clara (BAUER, 2001).

Nos Estados Unidos, os alimentos funcionais não são oficialmente reconhecidos como categoria regulatória pela Food and Drug Administration (FDA). No entanto, várias organizações propuseram definições para esta categoria de alimentos em rápido crescimento, principalmente o Institute Food Information Council (IFIC) e o Institute of Food Technologists (IFT). O IFIC considera como alimentos funcionais aqueles que incluem qualquer componente alimentar que possa ter benefícios para a saúde além da nutrição básica (IFIC, 2009). Da mesma forma, um relatório do Institute of Food Technologists definiu alimentos funcionais como "alimentos e componentes alimentares que proporcionam um benefício para a saúde além da nutrição básica (para a população pretendida). Essas substâncias fornecem nutrientes essenciais, muitas vezes além das quantidades necessárias para manutenção, crescimento e desenvolvimento normais, e/ou outros componentes biologicamente ativos que conferem benefícios à saúde ou efeitos fisiológicos desejáveis " (IFT, 2017).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamentou os alimentos funcionais pela Resolução RDC n. 02 de 07 de janeiro de 2002, que aprova o regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedade funcional ou de saúde (BRASIL, 2002).

Em relação a aditivos, a instrução normativa 13/2004 (MAPA, 2004) estabelece procedimentos básicos a serem adotados nos produtos destinados à alimentação animal, para avaliação de segurança de uso, registro e comercialização dos mesmos, a fim de garantir um nível adequado de proteção da saúde humana, dos animais e do meio ambiente, e introduzir requisitos na rotulagem desses aditivos, visando ao fornecimento das informações mínimas necessárias à utilização segura.

A Legislação Brasileira, à semelhança da Food and Drug Administration (FDA) do EUA, também exige a apresentação de um dossiê com as informações básicas sobre os produtos para o seu registro. Porém, há uma flexibilidade maior, pois a maioria dos produtos utilizados aqui ou são importados (portanto aprovados no país de origem) ou já foram licenciados em outros países. Quando são fabricados no Brasil, sem registro em outros países, é necessária a apresentação de dados experimentais fornecidos por instituições oficiais de pesquisa. A maior dificuldade para o registro é a longa espera para a obtenção da licença (GONZALES; MASCARENHAS, 2015).

A utilização de macroalga marinha na alimentação animal no Brasil ainda está em nível experimental, sendo que na indústria alimentícia e farmacêutica as algas marinhas são largamente utilizadas.

Na Europa, a França foi o primeiro país na elaboração de uma legislação específica para o consumo de algas (MABEAU; FLEURENCE, 1993). No entanto, a legislação em vigor na União Europeia, em especial no que concerne aos alimentos funcionais, figura como uma barreira à sua implementação, devido às aplicações para a indústria ainda se encontrarem em fase experimental (LEITE, 2017).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNOLD, C.R.; KAISER, J.B.; HOLT, G.J. Spawning of Cobia *Rachycentron canadum* in Captivity. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 33, n. 2, p.205-208, 2002.
- BALDISSERA, A.C.; BETTA, F.D.; PENNA, A.L.B.; LINDNER, J.D.D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, 2011.
- BARBOSA, C.F. **Determinação da atividade antioxidante, teor fenólico e açúcares redutores de *Ulva fasciata* cultivada em sistema de aquicultura multitrófica integrada**. 2017. 38p. Monografia (Licenciatura em Química). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Paracambi, RJ, 2017.
- BENETTI, D.D.; ORHUN, M.R.; SARDENBERG, B.; O'HANLON, B.; WELCH, A.; HOENIG, R.; ZINK, I.; RIVERA, J.A.; DENLINGER, B.; BACCOAT, D.; PALMER, K.; CAVALIN, F. Advances in hatchery and grow-out technology of cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus). **Aquaculture Research**, v. 39, p.701-711, 2008.
- BENETTI, D.D.; O'HANLON, B.; RIVERA, J.A.; WELCH, A.W.; MAXEY, C.; ORHUN, M.R. Growth rates of cobia (*Rachycentron canadum*) cultured in open ocean submerged cages in the Caribbean. **Aquaculture**, v. 302, p. 195-201, 2010.
- BIANCHI, M.L.P de; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta free radicals and the main dietary antioxidants. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- BNDES. Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. **BNDS Setorial**, v. 35, p. 421-463, 2010.
- BONORDEN, W.R.; PARIZA, M.W. Antioxidant nutrients and protection from free radicals. In: **Nutritional toxicology**. F. N. KOTSONIS, F.N.; MACKAY, M.; HJELLE, J. eds. Raven Press, New York, NY. p. 19-48. 1994.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 17, de 30 de abril de 1999. **Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos**. Brasília, 1999.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 2, de 07 de janeiro de 2002. **Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde**. Rotulagem. Brasília, 2002.
- BRASIL. **Boletim estatístico da Pesca e Aquicultura – Brasil 2008-2009**. Ministério da Pesca e Aquicultura. Brasília, 2010. 99p.
- BRASIL. **Boletim estatístico da Pesca e Aquicultura – Brasil 2010**. Ministério da Pesca e Aquicultura. Brasília, 2012. 128p.

BURR, G.S.; WOLTERS, W.R.; BARROWS, F.T.; DONKIN, A.W. Evaluation of a canola protein concentrate as a replacement for fishmeal and poultry by-product meal in a commercial production diet for Atlantic salmon (*Salmo salar*). **International Aquatic Research**, 2013, v. 5, n. 5, p. 1-8, 2013.

BURTIN, P. Nutritional value of seaweeds. **Electronic Journal of Environmental, Agriculture and Food Chemistry**, v.2, n.4, p. 498-503, 2003.

CAMPANA-FILHO, S.P.; BRITTO, D. de; CURTI, E.; ABREU, F.R.; CARDOSO, M.B.; BATTISTI, M.V.; SIM, P.C.; GOY, R.C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R.L. Extração, estruturas e propriedades de  $\alpha$ - e  $\beta$ -quitina. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 644-650, 2007.

CARVALHO FILHO, J. O êxito da primeira desova do bijupirá. **Panorama da Aquicultura**, v. 16, n. 97, p. 40-45, 2006.

CASTELAR, B.; PONTES, M.D.; COSTA, W.M. de; MOURA, L.C.F.; DIAS, G.E.A.; LANDUCI, F.S.; REIS, R.P. Biofiltering efficiency and productive performance of macroalgae with potential for integrated multi-trophic aquaculture (IMTA). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 41 (esp.), p. 763 – 770, 2015.

CAVALLI, R.O.; DOMINGUES, E.C.; HAMILTON, S. Desenvolvimento da produção de peixes marinhos em mar aberto no Brasil: possibilidades e desafios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 151-164, 2011.

CAVALLI, R.O.; GARCIA, A.S. Exigências nutricionais e alimentação do beijupirá. In: FRACALOSSI, D.M.; CIRYNO, J.E.P. **Nutriaqua**: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012. p. 269-279.

CENTRO DE EXCELÊNCIA PARA O MAR BRASILEIRO (CEMBRA). **O Brasil e o mar no século XXI**. Edição virtual. 2015. Disponível em: <http://www.cembra.org.br/segundo-projeto.html>. Acesso em: 26 janeiro 2017.

CERQUEIRA, F.; MEDEIROS, M.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHAKKARAVARTHY, M.V.; KUMAR, V. HPTLC Finger Print Analysis of Steroid, Flavonoid and Antiradical activity in *Sargassum wightii* from Gulf of Mannar. **Research Journal Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 3, n. 2, p. 72-74, 2011.

CHO, S.H., LEE, S.M., LEE, S.M., LEE, J.H., 2005. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L) reared under optimum salinity and temperature conditions. **Aquaculture Nutrition**, v. 11, p. 235–240, 2005.

CHOU, R.L.; SU, M.S.; CHEN, H.Y. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 193, p. 81-89, 2001.

CHOU, R.L.; HER, B.Y., SU, M.S.; HWANG, G.; WU, Y.H.; CHEN, H.Y. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v. 229, p. 325-333, 2004.

CHRISTAKI, E.; BONOS, E.; GIANNENAS, I.; FLOROU-PANERI, P. Functional properties of carotenoids originating from algae. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, p. 5-11, 2013.

COLLETTE, B.B. Rachycentridae. In: FISCHER, W (ed). **FAO species identification guide for fishery purposes. western and central Atlantic** (Fishing area 31). Rome: FAO, v. 4, 1981.

COPPENS, P.; SILVA, M.F. da; PETTMAN, S. European regulations on nutraceuticals, dietary supplements and functional foods: A framework based on safety. **Toxicology**, v. 221, p. 59–74, 2006.

CRAIG, S.R.; SCHWARZ, M.H.; MCLEAN, E. Juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) can utilize a wide range of protein and lipid levels without impacts on production characteristics. **Aquaculture**, v. 26, p. 384-391, 2006.

CUI, X.; ZHOU, Q.; LIANG, H.; YANG, J.; ZHAO, L. Effects of dietary carbohydrate sources on the growth performance and hepatic carbohydrate metabolic enzyme activities of juvenile cobia (*Rachycentron canadum* Linnaeus.). **Aquaculture Research**, v. 42, p. 99-107, 2010.

CYRINO, J.E.P.; BICUDO, A.J. de A.; SADO, R.Y.; BORGUESI, R.; DAIRIKI, J.K. A piscicultura e o ambiente – o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68-87, 2010.

DECKER, E.A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutrition Reviews**, New York, v.55, n.11, p.396-407, 1997.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos antioxidants properties of phenolic compounds. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DOMINGUES, E.C. **Viabilidade econômica do cultivo do beijupirá (*Rachycentron canadum*) em mar aberto em Pernambuco**. Recife. 84p. (Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco). 2012. Disponível em: <<http://www.pgpa.ufrpe.br/Trabalhos/2012/T2012ecd.pdf>>. Acesso em: 21 jun 2015.

ERGUN, S.; SOYUTURK, M.; GUROY, B.; GUROY D.; MERRIFIELD, D. Influence of Ulva meal on growth, feed utilization, and body composition of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at two levels of dietary lipid. **Aquaculture International**, v. 17, p. 355-361, 2008.

ESPE, M.; LEMME, A PETRI, A.; EL-MOWAFI, A. Assessment of lysine requirement for maximal protein accretion in Atlantic salmon using plant protein diets. **Aquaculture**, v. 263, p. 168–178, 2007.

EVANS, J.L.; GOLDFINE, I.D.; MADDUX, B.A.; GRODSKY, G.M. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. **Endocrine Reviews**, v. 23, n. 5, p. 599-622, 2002.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome: FAO, 2010. 197p. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/sofia/en>. Acesso em: 14 mar 2015.

FAO. **Fishstat plus: Universal software for fishery statistical time series**. Rome: Fisheries Department Fishery Information, Data and Statistics Unit, FAO, 2011. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat/en>. Acesso em: 31 dez 2016.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA)**. Rome: FAO, 2012. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/sofia/en>. Acesso em: 1 mar 2015.

FAO. **Cultured Aquatic Species Information Programme: *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766)**. Rome: FAO, 2013. Disponível em: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Rachycentron\\_canadum/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Rachycentron_canadum/en). Acesso em: 22 abr 2015.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA)**. Rome: FAO, 2014. 223p. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/sofia/en>. Acesso em: 15 mar 2015.

FAULK, C.K.; HOLT, G.J. Biochemical composition and quality of captive-spawned cobia *Rachycentron canadum* eggs. **Aquaculture**, v. 279, p. 70-76, 2008.

FEELEY, M.W.; BENETTI, D.D.; AULT, J.S. Elevated oxygen uptake and high rates of nitrogen excretion in early life stages of the cobia *Rachycentron canadum* (L.), a fast-growing subtropical fish. **Journal of Fish Biology**, v. 71, p. 1662–1678, 2007.

FINES, B.C.; HOLT, G.J. Chitinase and apparent digestibility of chitin in the digestive tract of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v. 303, p. 34-39, 2010.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, n. 9, p. 239-246, 2000.

FLEURENCE, J. Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 25-28, 1999.

FRACALOSSO, D.M.; CIRYNO, J.E.P. Técnicas experimentais em nutrição de peixes. In: FRACALOSSO, D.M.; CIRYNO, J.E.P. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012. p. 37-63.

FRANK, H.A.; BRUDVIG, G.W. Redox functions of carotenoids in photosynthesis. **Biochemistry**, v. 43, n. 27, p. 8607-8615, 2004.

FRANKS, J.S.; OGLE, J.T.; LOB, J.M.; NICHOLSON, L.C.; BARNES, D.N.; LARSEN, K.M. Spontaneous spawning of cobia, *Rachycentron canadum*, induced by human chorionic gonadotropin (HCG), with comments on fertilization, hatching, and larval development. **Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute**, v. 52, p. 598-609, 2001.

FRASER, T.W.K.; DAVIES, S.J. Nutritional requirements of cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus): a review. **Aquaculture Research**, v. 40, p. 1219-1234, 2009.

GATELLIER, P.; MERCIER, Y.; RENERRE, M. Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. **Meat Science**, v. 67, p. 385–394, 2004.

GATLIN III, D.M.; BARROWS, F.T.; BROWN, P.; DABROWSKI, K.; GAYLORD, T.G.; HARDY, R.W.; HERMAN, E.; HU, G.; KROGDAHL, Å.; NELSON, R.; OVERTURF, K.; RUST, M.; SEALEY, W.; SKONBERG, D.; SOUZA, E.J.; STONE, D.; WILSON, R.; WURTELE, E. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. **Aquaculture Research**, v. 38, p. 551-579, 2007.

GAYLORD, T.G.; BARROWS, F.T. Multiple amino acid supplementations to reduce dietary protein in plant-based rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, feeds. **Aquaculture**, v. 287, p. 180–184, 2009.

GODARD, M.; DÉCORDÉ, K.; VENTURA, E.; SOTERAS, G.; BACCOU, J.C.; CRISTOL, J.P.; ROUANET, J.M. Polysaccharides from the green alga *Ulva rigida* improve the antioxidant status and prevent fatty streak lesions in the high cholesterol fed hamster, an animal model of nutritionally-induced atherosclerosis. **Food Chemistry**, v. 115, p.176-180, 2009.

GOMES, F. da S. Carotenóides: uma possível proteção contra o desenvolvimento de câncer. **Revista de Nutrição**, v. 5, p. 537-548, 2007.

GONZALES, E.; MASCARENHAS, A.G. Regulamentação do uso de aditivos na alimentação animal. In: SAKOMURA, N.K. (ed.). **Nutrição de não ruminantes**. Editora Funep: SP, 2014. p. 461-465.

GOPAKUMAR, G.; NAZAR, A.A.K.; TAMILMANI, G.; SAKTHIVEL, M.; KALIDAS, C.; RAMAMOORTHY, N.; PALANICHAMY, S.; MAHARSHI, A.V.; RAO, S.K.; RAO, S.G. Broodstock development and controlled breeding of cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus 1766) from Indian seas. **Indian Journal Fish.**, v. 58, n. 4, p. 27-32, 2011.

GUTTERIDGE, J.M.C. Does redox regulation of cell function explain why antioxidants perform so poorly as therapeutic agents? **Redox Report**, v. 4, n. 3, p. 129-131, 1999.

HAMED, I.F.; ÖZOGUL, F.; ÖZOGUL, Y.; REGENSTEIN, J.M. Marine Bioactive Compounds and Their Health Benefits: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, p. 1-20, 2015.

HAMILTON, S.; SEVERI, W.; CAVALLI, R.O. Biologia e aquicultura do beijupirá: uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 39, n. 4, p. 461-477, 2013.

HARABAWY, A.S.A.; MOSLEH, Y.Y.I. The role of vitamins A, C, E and selenium as antioxidants against genotoxicity and cytotoxicity of cadmium, copper, lead and zinc on erythrocytes of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 104, p. 28-35, 2014.

HAYDEN, H.S.; WAALAND, J.R. A molecular systematic study of *Ulva* (Ulvaceae, Ulvales) from the northeast Pacific. **Phycologia**, v. 43, p. 364-382, 2004.

HEASMAN, M.; MELLENTIN, J. **The functional foods revolution: healthy people, healthy profits**. London: Earthscan, 2001. 313 p.

HEISER, H.; OSSWALD, W. F. Formação e função das espécies reativas de oxigênio nas interações planta-patógeno. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (ed.). **Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.249-283.

HOLDT, S.L.; KRAAN, S. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. **Journal Applied Phycology**, v. 23, p. 543–597, 2011.

HOLT, G.J.; FAULK, C.K.; SCHWARZ, M.H. A review of the larviculture of cobia *Rachycentrom canadum*, a warm water marine fish. **Aquaculture**, v. 268, p. 181–187, 2007.

IFIC. INTERNATIONAL FOOD INFORMATION COUNCIL FOUNDATION. **Functional Foods Fact Sheet: Probiotics and Prebiotics**. 2009. Disponível em: <[http://www.foodinsight.org/Resources/Detail.aspx?topic=Functional\\_Foods\\_Fact\\_Sheet\\_Probiotics\\_and\\_Prebiotics](http://www.foodinsight.org/Resources/Detail.aspx?topic=Functional_Foods_Fact_Sheet_Probiotics_and_Prebiotics)>. Acesso em: 07 nov. 2017.

IFT. INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. **Functional Foods**. 2017. Disponível em: <<http://www.ift.org/knowledge-center/focus-areas/food-health-and-nutrition/functional-foods.aspx>>. Acesso em: 07 nov. 2017.

ILSI. LIFE SCIENCE INTERNATIONAL INSTITUTE. **Functional foods - Scientific and Global Perspectives**. ILSI Europe Series, Summary of a Symposium held in October 2001. Washington, D C: International Life Science Institute Press, p. 7-10, 2002.

ITO, K.; HORI, K. Seaweed: chemical composition and potential food uses. **Food Reviews International**, v. 5, n. 1, p. 101-144, 1989.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; JIMÉNEZ-JIMÉNEZ, I.; PULIDO, R.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 5, p. 530-534, 2001.

KAISER, J.B.; HOLT, G.J. Species profile cobia. **Southern Regional Aquaculture Center Publication**, n. 7202, 2005.

KESHAVANATH, P.; MANJAPPA, K.; GANGADHARA, B. Evaluation of carbohydrate rich diets through common carp culture in manured tanks. **Aquaculture Nutrition**, v. 8, p. 169–174, 2002.

KONGKEO, H.; WAYNE, C.; MURDJANI, M.; BUNLIPTANON, P.; CHIEN, T. Current practices of marine fish cage culture in China, Indonesia, Thailand and Viet Nam. **Aquaculture Asia Magazine**, v. 15, n. 2, p.32-40, 2010.

KRUGER, C. L.; MANN, S. W. Safety evaluation of functional ingredients. **Food and Chemical Toxicology**. v. 41, p. 793-805, 2003.

LAHAYE, M.; CIMADEVILLA, E.A.; KUHLENKAMP, R.; QUEMENER, B.; LOGNONE, V.; DION, P. Chemical composition and <sup>13</sup>C NMR spectroscopic characterisation of ulvans from *Ulva* (*Ulvales*, *Chlorophyta*). **Journal of Applied Phycology**, v. 11, p. 1–7, 1999.

LARGO, D.B.; SEMBRANO, J.; HIRAOKA, M.; OHNO, M. Taxonomic and ecological profile of green-tide species of *Ulva* (*Ulvales*, *Chlorophyta*) in central Philippines. **Hydrobiologia**, v. 512, p. 247–253, 2004.

LEITE, B.S.M. **Novas alternativas para o uso de macroalgas da costa portuguesa em alimentação**. 2017. 301p. Dissertação (Ciências Gastronómicas). Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2017.

LIAO, I.C.; HUANG, T.S.; TSAI, W.S.; HSUEH, C.M.; CHANG, S.L.; LEAÑO, E.M. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. **Aquaculture**, v. 237, p. 155–165, 2004.

LIU, P.C.; LIN, J.Y.; LEE, K.K. Virulence of *Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida* in cultured cobia *Rachycentron canadum*. **Journal Basic Microbiology**, v. 43, n. 6, p.499–507, 2003.

LIVINGSTONE, D.R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, p. 656–666, 2001.

LOBBAN, C.S.; HARRISON, P.J. **Seaweed Ecology and Physiology**. Cambridge University Press. U.K., 1997. 366p.

LUNGER, A.N.; CRAIG, S.R.; MCLEAN, E. Replacement of fish meal in cobia (*Rachycentron canadum*) diets using an organically certified protein. **Aquaculture**, v. 257, p. 393–399, 2006.

LUO, Y.; AI, Q.; MAI, K.; ZHANG, W.; XU, W.; ZHANG, Y. Effects of dietary rapeseed meal on growth performance, digestion and protein metabolism in relation to gene expression of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 368–369, p.109–116, 2012.

MABEAU, S.; FLEURENCE, J. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 4, p. 103–107, 1993.

MARGRET, R.J.; KUMARESAN, S.; RAVIKUMAR, S. A preliminary study on the anti-inflammatory activity of methanol extract of *Ulva lactuca* in rat. **Journal Environmental Biology**, v. 30 (5 supplement), p. 899–902, 2009.

MARKLUND, S.; MARKLUND, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. **European Journal of Biochemistry**, v. 16, p. 469–474, 1974.

MATSUKAWA, R.; DUBINSKY, Z.; KISHIMOTO, E.; MASUDA, Y.; TAKEUCHI, T. A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. **Journal of Applied Phycology**, v. 9, n. 1, p. 29–35, 1997.

MEENAKSHI, S.; GNANAMBIGAI, M.D.; MOZHI, T.S.; ARUMUGAM, M.; BALASUBRAMANIAN, T. Total Flavanoid and *in vitro* Antioxidant Activity of Two

Seaweeds of Rameshwaram Coast. **Global Journal of Pharmacology**, v. 3, n. 2, p. 59-62, 2009.

MENDIOLA, J.A.; MARIN, F.R.; HERNANDEZ, S.F.; ARREDONDO, B.O.; SENORANS, F.J.; IBANEZ, E.; REGLERO, G. 2005. Characterization via liquid chromatography coupled to diode array detector and tandem mass spectrometry of supercritical fluid antioxidant extracts of *Spirulina platensis* microalga. **Journal Separation Science**, v. 28, p. 1031-1038, 2005.

MIAO, S.; JEN, C.C.; HUANG, C.T.; HU, S.H. Ecological and economic analysis for cobia *Rachycentron canadum* commercial cage culture in Taiwan. **Aquaculture International**, v. 17, p. 125-141, 2009.

MONTEIRO, D.A.; RANTIN, F.T.; KALININ, A.L. The effects of selenium on oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) exposed to organophosphate insecticide Folisuper 600 BR® (methyl parathion). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v. 149, p. 40–49, 2009.

MOORE, A.L.; JOY, A.; TOM, R.; GUST, D.; MOORE, T.A. Photoprotection by carotenoids during photosynthesis: motional dependence of intramolecular energy transfer. **Science**, v. 216, p. 982-984, 1982.

MORAN, L.H.; GUTTERIDGE, J.; QUINLAN, G.J. Thiols in cellular redox signaling and control. **Current Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 7, p. 763-772, 2001.

NAYLOR, R.; HARDYB, R.W.; BUREAUC, D.P.; CHIU, A.; ELLIOTTD, M.; FARRELLE, A.P.; FORSTERE, I.; GATLINF, D.M.; GOLDBURGH, R.J.; HUAC, K.; NICHOLS, P.D. Feeding aquaculture in an era of finite resources. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 36, p. 15103–15110, 2009.

NEMATIPOUR, G.R.; BROWN, M.L.; GATLIN III, D.M. Effects of dietary energy: protein ratio on growth characteristics and body composition of hybrid striped bass, *Morone chrysops* x *M. saxatilis*. **Aquaculture**, v. 107, p. 359-368, 1992.

NEORI, A.; CHOPINB, T.; TROELL, M.; BUSCHMANNE, A.H.; KRAEMER, G.P.; HALLING, C.; SHPIGEL, M.; YARISH, C. Integrated aquaculture: rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. **Aquaculture**, v. 231, p. 361–391, 2004.

NEWAJ-FYZUL, A.; AUSTIN, B. Probiotics, immunostimulants, plant products and oral vaccines, and their role as feed supplements in the control of bacterial fish diseases. **Journal Fish Disease**, 2014.

NGUYEN, M.V.; RØNNESTAD, I.; BUTTLE, L.; LAI, H.V.; ESPE, M. Evaluation of a high plant protein test diet for juvenile cobia *Rachycentron canadum* in comparison to commercial diets. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 2, n. 6, p. 117-125, 2014.

NHU, V.C.; NGUYEN, H.Q.; LE, T.L.; TRAN, M.T.; SORGELOOS, P.; DIERCKENS, K.; REINERTSEN, H.; KJØRSVIK, E.; SVENNEVIG, N. Cobia *Rachycentron canadum*

aquaculture in Vietnam: recent developments and prospects. **Aquaculture**, v. 315, n. 1-2, p. 20-25, 2011.

NOSE, T. Recent advances in the study of fish digestion in Japan. In: Symposium on feeding trout and salmon culture, 7., 1966, Belgrade. **Proceedings...** Belgrade: EIFAC, 1966. p. 17.

ORTIZ, J.; ROMERO, N.; ROBERT, P.; ARAYA, J.; LOPEZ-HERNÁNDEZ, J.; BOZZO, C.; NAVARRETE, E.; OSORIO, A.; RIOS, A. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea Antarctica*. **Food Chemistry**, v. 99, p. 98-104, 2006.

PAGLIA, D.E.; VALENTINE, W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Journal Laboratory Clinical Medicine**, v. 7, p. 158-169, 1967.

PARTHIBAN, C.; SARANYA, C.; GIRIJA, K.; HEMALATHA, A.; SURESH, M.; ANANTHARAMAN, P. Biochemical composition of some selected seaweeds from Tuticorin coast. **Advances in Applied Science Research**, v. 4, n. 3, p. 362-366, 2013.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FURUYA, W.M. Valor nutritivo dos alimentos utilizados na formulação de rações para peixes tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 43-51, 2009.

PHYCOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA. 2015. Disponível em: <<http://www.psaalgae.org/>>. Acesso em: 30 jun 2015.

PIETRA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **Journal National Production**, n. 63, p. 1035-1042, 2000.

PONTES, M.; CASTELAR, B.; SANTOS, M.D.M.; MOURA, L.C.F.; ELER, G.; MARTINS, A.P.; COLEPICOLO, P.; REIS, R.P.; OSHIRO, L.M.Y. Seleção de macroalga para a aquicultura multitrófica integrada (AMTI) e como ingrediente funcional para peixes. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática (Aquaciência), 7., Belo Horizonte, MG. **Anais...** Belo Horizonte, 2016.

RIGHT, R. C.; BRADEN, S. L.; CRAIG, R. J. Apparent digestibility coefficients for common feedstuffs in formulated diets for red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*. **Aquaculture**, v. 84, p. 321-334, 1990.

REVERTER, M.; BONTEMPS, N.; LECCHINI, D.; BANAIGS, B.; SASAL, P. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. **Aquaculture**, v. 433, p. 50-61, 2014.

REYES, K.K. Search FishBase. 2015. Disponível em: <[http://www.aquamaps.org/ExpertProfile.php?expert\\_id=7](http://www.aquamaps.org/ExpertProfile.php?expert_id=7)>. Acesso em: 13 mar 2015.

SALAMATDOUSTNOBAR, R.; GHORBANI, B.; MAGHAMI, S.S.G.; MOTALEBI, V. Effects of prebiotic on the fingerling Rainbow trout. Performance parameters (*Oncorhynchus mykiss*). **World Journal of Fish and Marine Sciences**, v. 3, n. 4, p. 305-307, 2011.

SALZE, G.P.; DAVIS, D.A. Taurine: a critical nutrient for future fish feeds. **Aquaculture**, v. 437, p. 215–229, 2015.

SAMPAIO, L.A.; TESSER, M.B.; WASIELESKY JR, W. Avanços da maricultura na primeira década do século XXI: piscicultura e carcinocultura marinha. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 102-111, 2010.

SANCHES, E.G.; SECKENDORFF, R.W.V.; HENRIQUES, M.B.; FAGUNDES, L.; SEBASTIANI, E.F. Viabilidade econômica do cultivo do bijupirá (*Rachycentron canadum*) em sistema *offshore*. **Informações Econômicas**, v. 38, n. 12, p. 42-51, 2008.

SANTIZO, R.B.; SERRANO JR., A.E.; CORRE, V.L. Proximate composition and dry matter digestibility of *Ulva lactuca* in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. **Animal Biology & Animal Husbandry International Journal of the Bioflux Society**, v. 6, p. 75-83, 2014.

SARITHA, K.; MANI, A.E.; PRIYALAXMI, M.; PATTERSON, J. Antibacterial Activity and Biochemical Constituents of Seaweed *Ulva lactuca*. **Global Journal of Pharmacology**, v. 7, n. 3, p. 276-282, 2013.

SCALBERT, A.; MANACH, C.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, p. 287-306, 2005.

SCHWARZ, M.H.; McLEAN, E.; CRAIG, S.R. Research experience with cobia: larval rearing, juvenile nutrition and general physiology. In: LIAO, I.C. e LEAÑO, E.M. **Cobia Aquaculture: Research, Development and Commercial Production**. Taiwan: Asian Fisheries Society, p.1-17, 2007.

SCHWARZ, M.H.; CRAIG, S.R.; DELBOS, B.C.; McLEAN, E. Efficacy of concentrated algal paste during greenwater phase of cobia larviculture. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 20, n. 4, p. 285-294, 2008.

SCHWARZ, M.H.; SVENNEVIG, N. Cobia culture, global production, markets, challenges. **Global Aquaculture Advocate**, v. 12, p. 28-30, 2009.

SCHAFER, F.Q.; BUETTNER, G.R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. **Free Radical Biology Medicine**, v. 30, n. 11, p 1191-1212, 2001.

SEIXAS FILHO, J.T.; BRÁS, J.M.; GOMIDE, A.T.M.; OLIVEIRA, M.G.A; DONZELE, J.L. MENIN, E. Anatomia Funcional e Morfometria dos Intestinos e dos Cecos Pilóricos do Teleostei (Pisces) de Água Doce *Brycon orbignyanus*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 313-324, 2000.

SHAFFER, R.V.; NAKAMURA, E.L. Synopsis of biological data on the cobia *Rachycentron canadum* (Pisces: Rachycentridae). Washington D.C.: U.S. Department of Commerce, **National Oceanic and Atmospheric Administration Technical Report**, 1989. (FAO Fisheries Synopsis 153).

- SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 215, n. 2, p. 213- 219, 1993.
- SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C,  $\beta$ -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 62, n. 6, p.1315-1321, 1995.
- SILVA, L. P.; NÖRNBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Ciência Rural**, v.33, p. 983-990, 2003.
- SOUZA FILHO, J.J.; TOSTA, G.A.M. Bijupirá: As primeiras desovas da geração F1. **Panorama da Aquicultura**, v. 18, n. 110, p.50-53, 2008.
- SOUZA, T.C.M.; PETRERE, M. Characterization of small-scale fisheries in the Camamu-Almada basin, southeast state of Bahia, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4, p. 711-719, 2008.
- SU, M.S.; CHIEN, Y.H.; LIAO, I.C. *Potencial of marine cage aquaculture in Taiwan: cobia culture*. In: LIAO, I.C.; LIAN, C.K. Cage aquaculture in Asia – Proceeding of the First International Symposium on Cage Aquaculture in Asia. **Asia Fisheries Society**, Taiwan. p. 97-109, 2000.
- SULLIVAN, L.O.; MURPHY, B.; MCLOUGHLIN, P.; DUGGAN, P.; LAWLOR, P.G.; HUGHES, H.; GARDINER, G.E. Prebiotics from Marine Macroalgae for Human and Animal Health Applications. **Marine Drugs**, v. 8, p. 2038-2064, 2010.
- TABARSA, M.; REZAEI, M.; RAMEZANPOURB, Z.; WAALAND, J.R. Chemical compositions of the marine algae *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta) and *Ulva lactuca* (Chlorophyta) as a potential food source. **Journal Science Food Agriculture**, v. 92, p. 2500–2506, 2012.
- TACCHI L.; BICKERDIKE, R.; DOUGLAS, A.; SECOMBES, C.J.; MARTIN, S.A.M. Transcriptomic responses to functional feeds in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Fish Shellfish Immunology**, v. 31, p. 704–715, 2011.
- TRABER, M.G. Cellular and molecular mechanisms of oxidants and antioxidants. **Mineral and Electrolyte Metabolism**, v. 23, n. 3-6, p. 135-139, 1997.
- TRIVEDI, N.; GUPTA, V.; REDDY, C.R.K.; JHA, B. Enzymatic hydrolysis and production of bioethanol from common macrophytic green alga *Ulva fasciata* Delile. **Bioresource Technology**, v. 150, p. 106–112, 2013.
- TRIVEDI, N.; BAGHEL, R.S.; BOTHWELL, J.; GUPTA, V.; REDDY, C.R.K.; LALI, A.M.; JHA, B. An integrated process for the extraction of fuel and chemicals from marine macroalgal biomass. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-8, 2016.
- TROELL, M.; JOYCE, A.; CHOPIN, T.; NEORI, A.; BUSCHMANN, A.H.; FANG, J. Ecological engineering in aquaculture — Potential for integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine offshore systems. **Aquaculture**, v. 297, p.1–9, 2009.

- VALKO, M.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M.; RHODES, C.J.; TELSER, J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 266, p. 37-56, 2004.
- VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, n. 2, p. 57-149, 2003.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of Ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University, 476p. 1994.
- VASCONCELOS, S.M.L.; GOULART, M.O.F.; MOURA, J.B.F. de; MANFREDINI, V.; BENFATO, M.S. da; KUBOTA, L.T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.
- WANG, J.T.; LIU, Y.J.; TIAN, L.X.; MAI, K.S.; DU, Z.Y.; WANG, Y.; YANG, H.J. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 249, p. 439- 447, 2005.
- WEBB, K.A.; RAWLINSON, L.T.; HOLT, G.J. Effects of dietary starches and the protein to energy ratio on growth and feed efficiency of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, p. 447–456, 2010.
- WEIRICH, C.R.; STOKES, A.D.; SMITH, T.I.J.; JENKINS, W.E.; DENSON, M.R.; TOMASSO, J.R.; CHAPPEL, J.; BURNSIDE, D. Cobia Aquaculture research in South Carolina, USA: captive reproduction, pond nursery production, and selected environmental requirements of juveniles. In: LIAO, I.C. e LEAÑO, E.M. **Cobia aquaculture: research, development and commercial production**. Taiwan: Asian Fisheries Society. p. 19-44, 2007.
- WONG, K.H.; CHEUNG, P.C.K. Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds Part I - proximate composition, amino acid profiles and some physico-chemical properties. **Food Chemistry**, v. 71, p. 475-482, 2000.
- YEDUKONDALA, R.P.; SUDHA, R.D.; NAGA, K.V.D.; RUKMINI, S.I. Seasonal changes of biochemical composition of green algae *Ulva fasciata* Delile, 1813 and *Caulerpa racemosa* Agardh, 1873 from coastal waters of Visakhapatnam, east coast of India. **Asian Journal of Plant Science and Research**, v. 5, n. 6, p. 57-62, 2015.
- YILDIRIM, Ö.; ERGÜN, S.; YAMAN, S.; TÜRKER, A. Effects of Two Seaweeds (*Ulva lactuca* and *Enteromorpha linza*) as a Feed Additive in Diets on Growth Performance, Feed Utilization, and Body Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 15, n. 3, p. 455-460, 2009.
- YOUSIF, O.M.; KUMAR, K.K.; ABDUL-RAHMAN, A.F.A. Growth response of cobia *Rachycentron canadum* (Pisces: Rachycentridae) under the hypersaline conditions of the Emirate of Abu Dhabi. **Aquaculture Asia Magazine**, v. 13, p. 41-42, 2009.

YU, S.L.; UENG, P.S. Impact of water temperature on growth in cobia, *Rachycentron canadum*, cultured in cages. **The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh**, v. 59, p. 47-51, 2007.

ZARAGOZÁ, M.C.; LÓPEZ, D.; SÁIZ, M. P.; POQUET, M.; PÉREZ, J.; PUIG-PARELLALA, P.; MÀRMOL, F.; SIMONETTI, P.; GARDANA, C.; LERAT, Y.; BURTIN, P.; INISAN, C.; ROUSSEAU, I.; BESNARD, M.; MITJAVILA, M. T. Toxicity and antioxidant activity in vitro and in vivo of two *Fucus vesiculosus* extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 7773-7780, 2008.

ZHANG, H.; TSAO, R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 33-42, 2016.

ZHOU, Q.; TANC, B.; MAI, K.; LIU, Y. Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v. 241 p. 441–451, 2004.

ZHOU, Q.C.; WU, Z.H.; TAN, B.P.; CHI, S.Y.; YANG, Q.H. Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 273, p. 634-640, 2007.

ZHOU, Q.C.; BUENTELLO, J.A.; GATLIN III, D.M. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). **Aquaculture**, v. 309, p. 253–257, 2010.

## **CAPÍTULO I**

### **DESEMPENHO DE JUVENIS DE BEIJUPIRÁ ALIMENTADOS COM DIETA CONTENDO ALGA MARINHA *Ulva fasciata***

## RESUMO

DIAS, Giselle Eler Amorim. **Desempenho de juvenis de beijupirá (*Rachycentron canadum*) alimentados com dieta contendo alga marinha *Ulva fasciata***. 2017. 28p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o desempenho produtivo de juvenis de beijupirá com a inclusão de diferentes porcentagens de alga marinha *Ulva fasciata* na dieta como alimento funcional. Os peixes foram criados em sistema de aquicultura multitrófica integrada em sistema de recirculação de água. As dietas-teste tiveram quatro porcentagens de inclusão do farelo de macroalga na sua composição (0,00; 5,00; 10,00 e 15,00%). Foram utilizadas 12 unidades experimentais que consistiram em tanques de polietileno com 310 L de água, com 20 animais por tanque. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e três repetições. Com o uso de um pHmetro portátil, marca Hanna modelo Combo, foram feitas avaliações de pH e temperatura, cujas médias foram respectivamente  $7,13 \pm 0,63$  e  $25,22 \pm 2,71$  °C. O oxigênio dissolvido, medido com oxímetro Hanna teve um valor médio de  $5,74 \pm 0,45$  mg/L. A média de salinidade foi  $34,13 \pm 2,94$  ppm, sendo mensurada por meio de refratômetro portátil Quimis. As concentrações de amônia, nitrito, nitrato e fosfato, estimadas com fotômetro Hanna, foram respectivamente: 0,44 mg/L, 21 mg/L, 26,5 mg/L, e 21,5 mg/L. Foram formuladas quatro dietas isoproteicas, isolipídicas e isocalóricas, contendo aproximadamente 45% de proteína bruta, 8,00% de extrato etéreo e 4.000 kcal/kg de ração em energia bruta, de acordo com as exigências nutricionais desta espécie. As macroalgas destinadas à produção do farelo foram cultivadas em sistema *outdoor* e também no sistema de recirculação multitrófico instalado para a criação dos peixes. Para a avaliação do desempenho aos 62 e 94 dias de experimento, os juvenis de beijupirá ficaram em jejum de 24 horas. Os parâmetros avaliados foram: consumo alimentar, peso final (PF), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), comprimento, índice de eficiência alimentar (IEA), índice de consumo alimentar (ICA), taxa de crescimento específico (TCE), taxa de eficiência proteica (TEP) e fator de condição (FC). As respostas aos valores crescentes de inclusão do farelo de *Ulva fasciata* foram avaliadas por meio de análise de regressão para os parâmetros de desempenho, e os efeitos das relações com porcentagens crescentes de farelo de macroalga foram analisados por meio dos modelos de regressão quadrática, conforme o melhor ajustamento obtido para cada variável, utilizando o programa estatístico SISVAR. Para os dois períodos avaliados não houve diferença significativa para o consumo de ração. Nos demais parâmetros avaliados houve diferença significativa aos 62 e 94 dias de experimentação, sendo que para todos os parâmetros a melhor porcentagem de inclusão da macroalga foi 10%. A macroalga *Ulva fasciata* pode ser incluída em dietas para juvenis de beijupirá.

**Palavras-chave:** *Ulva fasciata*, Beijupirá, Desempenho.

## ABSTRACT

DIAS, Giselle Eler Amorim. **Performance of cobia juvenile (*Rachycentron canadum*) fed diet containing *Ulva fasciata* seaweed.** 2017. 28p. Thesis (Doctorate in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

The present study had as objective to evaluate the productive performance of cobia juvenile with the inclusion of different percentages of *Ulva fasciata* seaweed in the diet as functional food. The fish were raised in a multitrophic aquaculture system integrated in a water recirculation system. The test diets had four percentages of inclusion of macroalga meal in their composition (0.00, 5.00, 10.00 and 15.00%). Twelve experimental units consisted of polyethylene tanks with 310 L of water, with 20 animals per tank. The experimental design was the completely randomized (DIC), with four treatments and three replicates. With the use of a Hanna portable pH meter pH and temperature evaluations were done, whose averages were respectively  $7.13 \pm 0.63$  and  $25.22 \pm 2.71$  ° C. The dissolved oxygen, measured with the Hanna oximeter, had an average value of  $5.74 \pm 0.45$  mg/L. The mean salinity was  $34.13 \pm 2.94$  ppm and was measured using a Quimis portable refractometer. The concentrations of ammonia, nitrite, nitrate and phosphate, estimated with Hanna photometer, were respectively: 0.44 mg/L, 21 mg/L, 26.5 mg/L, and 21.5 mg/L. Four isoproteic diets were formulated, isolipídicas and isocaloric, containing approximately 45% of crude protein, 8.00% of ethereal extract and 4000 kcal / kg of feed in crude energy, according to the nutritional requirements of this species. The macroalga destined to the production of the bran were cultivated in outdoor system and also in the system of recirculation multitrophic installed for the creation of the fish. For the evaluation of performance at 62 and 94 days of experiment, juveniles of beijupirá were fasted for 24 hours. The parameters evaluated were: food intake, final weight (FW), weight gain (WG), feed conversion (FC), length, food efficiency index (FEI), food consumption index (FCI), specific growth rate (SGR), protein efficiency rate (PER) and condition factor (CF). Responses to increasing inclusion values of *Ulva fasciata* meal were evaluated by means of regression analysis for performance parameters, and the effects of relationships with increasing percentages of macroalga meal were analyzed using quadratic regression models, according to the the best adjustment obtained for each variable using the SISVAR statistical program. For the two evaluated periods there was no significant difference for the feed consumption. In the other parameters evaluated there was a significant difference at 62 and 94 days of experimentation, and for all parameters the best inclusion percentage of the macroalga was 10%. The *Ulva fasciata* macroalga can be included in diets for cobia juvenile.

**Key words:** *Ulva fasciata*, Cobia, Performance.

## 1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma atividade humana que vem crescendo no mundo, especialmente no sul e sudeste asiáticos, devido a sua cultura, mas também em outros continentes como Europa, América do Norte, América Central, América do Sul e Oceania (BENETTI et al, 2008, BENETTI et al., 2010).

Esse aumento é devido a diversos fatores como incremento de novas tecnologias e preocupação com os estoques de recursos pesqueiros.

Entre os peixes escolhidos para produção ganha destaque o beijupirá (*Rachycentron canadum*) por sua taxa de crescimento rápido, alta demanda de mercado com excelente potencial para a aquicultura. O Taiwan na década de 90 conseguiu obter sucesso na reprodução e larvicultura do beijupirá, possibilitando assim a produção em cativeiro em larga escala (LIAO et al., 2004). Apesar de todo avanço tecnológico, a alimentação dos peixes nesses países ainda é feita com dieta úmida (peixe fresco de menor importância comercial), ou 50% dieta úmida e 50% de dieta seca, devido ao alto preço da dieta comercial (HUNG; MAO, 2010).

Por outro lado, os países da América Latina e Caribe estão se beneficiando com os avanços tecnológicos da indústria de aquicultura do camarão para as operações comerciais do beijupirá (BENETTI et al, 2008).

A farinha de peixe ainda é o alimento de maior consumo em dietas para peixes marinhos, devido ao seu alto valor biológico. Estima-se que anualmente 35% da produção de farinha de peixe é destinada à aquicultura (FINES; HOLT, 2010). Por ser um alimento de alto custo, e principalmente por questões de sustentabilidade, outros ingredientes de origem animal e vegetal compõe a dieta com a finalidade de atender às exigências nutricionais do beijupirá.

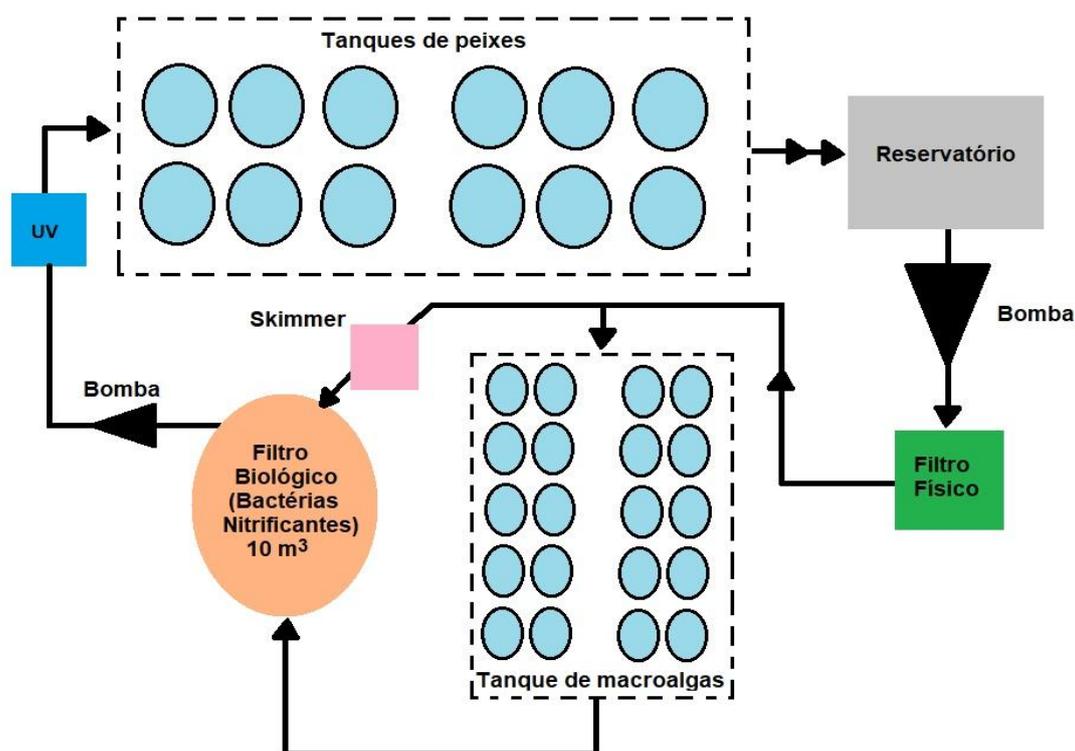
Existem muitos estudos em nutrição de beijupirá, quanto às suas exigências (CHOU et al., 2001; WANG et al., 2005; CRAIG et al. 2006; ZHOU et al., 2007; LUNGER et al., 2007b) e alimentos alternativos (CHOU et al., 2004; ZHOU et al., 2004, 2005; LUNGER et al., 2006, 2007a). No entanto há poucos estudos com alimentos considerados funcionais e sua atuação no desempenho de beijupirá em cativeiro (GENG et al, 2011).

O presente estudo teve como objetivo avaliar o desempenho produtivo de juvenis de beijupirá com a inclusão de diferentes porcentagens de alga marinha *Ulva fasciata* na dieta como alimento funcional.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultivo de Peixes Marinhos da Estação de Aquicultura Almirante Paulo Moreira (EAAPM), Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro (FIPERJ), Avenida das Américas, 31.501, Guaratiba, RJ. Com aprovação dos procedimentos éticos pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA- IZ) processo 23083.005745/2015-82.

O laboratório foi adaptado como modelo de um sistema de aquicultura multitrófica integrada (AMTI) em sistema de recirculação de água (Figura 1). O sistema foi composto de uma sala de criação de peixes, com 12 tanques circulares de 310 L de capacidade, onde foi conduzido o ensaio de inclusão do farelo de macroalgas na dieta. Além disso, o laboratório possui dois tanques para recepção e aclimação de animais, com capacidade de 500 e 310 L, integrado ao sistema de recirculação.



**Figura 1.** Esquema de sistema de aquicultura multitrófica integrada em sistema de recirculação de água da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.

O sistema de filtragem da água utilizado no Laboratório de Cultivo de Peixes Marinhos foi dotado de filtragem física (filtro de areia) (Figura 2A) e biológica em duas etapas: a primeira com bactérias nitrificantes inseridas no reservatório de 3000 L (Figura 2B), no qual também foi acoplado um filtro *skimmer*, para remoção de matéria orgânica (Figura 2C) e a segunda com a macroalga *U. fasciata* (Figura 2D), cultivada em tanques circulares de

50 L. A água do sistema passou por um filtro ultravioleta (UV) (Figura 2E) para a esterilização antes de abastecer os tanques (Figura 2F).



**Figura 2.** Sistema de aquicultura multitrófica integrada em sistema de recirculação de água da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ. A: Reservatório com filtro de areia; B: Reservatório com bactérias nitrificantes; C: *Skimmer*; D: Cultivo de *Ulva fasciata* como biofiltro; E: Esterilização da água com filtro ultravioleta; F: Tanques circulares de produção de beijupirá.

## 2.1 Ensaio de Inclusão da Dieta

Este ensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (dietas) e três repetições, por um período experimental de 94 dias.

## 2.2 Animais

Os juvenis de beijupirá utilizados na pesquisa foram obtidos da Maricultura Redemar Alevinos, Ilha Bela – São Paulo, com 3 g em média, transportados em veículo com caixa de transporte de 500 L, com sistema de oxigenação, até as instalações da EAAPM.

Durante o período pré-experimental de duas semanas, os animais foram estocados em um tanque de polietileno de 500 L e foram alimentados com a dieta referência, isenta de farelo de *Ulva fasciata*, quatro vezes ao dia.

Para a biometria, os peixes foram pesados individualmente em balança eletrônica digital marca Marte, com precisão de 0,01 g e medidos (Figura 2), para determinação do comprimento padrão (BÉRTIN, 1958), com auxílio de paquímetro digital marca Mitutoyo (precisão de 0,1 mm). Posteriormente, os peixes foram classificados de acordo com o peso, e foram selecionados 240 peixes com  $7,0 \pm 1$  g de peso vivo os quais foram distribuídos nas unidades experimentais.



**Figura 3.** Biometria inicial do beijupirá na sala de biometria de peixes da EAAPM - FIPERJ, Guaratiba, RJ. Pesagem em balança digital marca Marte (A) e comprimento com auxílio de paquímetro digital marca Mitutoyo (B).

## 2.3 Unidades Experimentais

Foram utilizadas 12 unidades experimentais que consistiram em tanques de polietileno com 310 L de água, com 20 animais por tanque. Os módulos foram dotados de sistema de aeração individual (Figura 4), constante, através de aerador central, por meio de mangueiras 3/16' acopladas a pedras porosas. As lâmpadas fluorescentes foram ligadas entre o período das 7 às 19 horas, perfazendo o fotoperíodo de 12 horas.

Os tanques foram sifonados todos os dias para retirada de resíduos no fundo dos mesmos. A média de oxigênio dissolvido durante todo período foi de  $5,74 \pm 0,45$  mg/L, cuja medição foi realizada com auxílio de um oxímetro digital de marca Hanna. Com o uso de um pHmetro portátil de marca Hanna foram feitas avaliações de pH e temperatura cujas médias foram respectivamente  $7,13 \pm 0,63$  e  $25,22 \pm 2,71$  °C. A média de salinidade foi  $34,13 \pm 2,94$  ppm, sendo mensurada por meio de refratômetro portátil Quimis. As concentrações de amônia, nitrito, nitrato e fosfato, estimadas com fotômetro, marca Hanna, foram respectivamente: 0,44 mg/L, 21 mg/L, 26,5 mg/L, e 21,5 mg/L.



**Figura 4.** Laboratório de Cultivo de Peixes Marinhos da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.

#### **2.4 Alimentação e Dietas Experimentais**

Durante o período experimental, com duração de 94 dias, os peixes foram alimentados diariamente, três vezes ao dia (9h; 12h e 15h), com suas respectivas rações experimentais até saciamento aparente, ou seja, até o momento em que não foi verificada a captura imediata do alimento.

Foram formuladas quatro dietas isoproteicas, isolipídicas e isocalóricas, contendo aproximadamente 45% de proteína bruta, 8,00% de extrato etéreo e 4000 kcal/kg de ração em energia bruta, de acordo com as exigências nutricionais desta espécie (CHOU et al., 2001). As dietas-teste tiveram quatro porcentagens de inclusão do farelo de macroalga na sua composição (0,00; 5,00; 10,00 e 15,00%) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Formulação e composição centesimal (base matéria seca) das dietas experimentais para juvenis de beijupirá (*Rachycentron canadum*).

<b>Ingredientes %</b>				
<b>Farinha de peixe</b>	40,00	40,00	40,00	40,00
<b>Farinha de vísceras de aves</b>	7,79	6,91	6,50	6,20
<b>Farelo de soja</b>	25,00	25,00	25,00	25,00
<b>Farelo de trigo</b>	15,00	14,98	8,77	1,27
<b>Fubá de milho</b>	9,56	5,00	6,48	9,20
<b>Óleo de peixe</b>	1,00	1,00	1,00	1,00
<b>Óleo de soja</b>	0,32	0,75	0,87	0,93
<b>DL - Metionina</b>	0,31	0,34	0,36	0,38
<b>Suplemento mineral/vitamínico<sup>1</sup></b>	1,00	1,00	1,00	1,00
<b>BHT</b>	0,02	0,02	0,02	0,02
<b>Alga marinha <i>U. fasciata</i></b>	0,00	5,00	10,00	15,00
<b>Composição (valores calculados)</b>				
<b>Proteína bruta (%)</b>	45,00	45,00	45,00	45,00
<b>Extrato etéreo (%)</b>	8,00	8,00	8,00	8,00
<b>Fibra bruta (%)</b>	2,92	3,60	3,80	3,90
<b>Matéria mineral (%)</b>	13,85	14,85	15,74	16,60
<b>Extrato não nitrogenado (%)</b>	32,00	30,99	30,09	29,23
<b>Energia bruta (kcal/kg)</b>	4151,00	4082,00	4002,00	3920,00
<b>Lisina (%)</b>	2,38	2,38	2,38	2,38
<b>Metionina (%)</b>	1,19	1,19	1,19	1,19
<b>Cálcio (%)</b>	2,30	2,29	2,29	2,30
<b>Fósforo (%)</b>	1,47	1,44	1,38	1,31

<sup>1</sup>Premix NUTRIFISH-GUABI. Porcentagens de garantia (kg produto): vit A min - 2500000 UI; vit D3 min - 600000 UI; vit E min - 37500 UI; vit K3 min - 3750 mg; vit C min - 50000 mg; tiamina (B1) min - 4000 mg; riboflavina (B2) min - 4000 mg; piridoxina (B6) min - 4000 mg; vit B12 min - 4000 mcg; niacina min - 22500 mg; biotina min - 15 mg; ácido fólico min - 1250 mg; pantotenato de cálcio min - 12000 mg; cobre min - 2500 mg; cobalto min - 125 mg; ferro min - 15 g; iodo min - 375 mg; manganês min - 12,5 g; selênio min - 87,5 mg; zinco min - 12,5 g. <sup>2</sup>Extrato não nitrogenado = 100 - (umidade + proteína bruta + extrato etéreo + fibra bruta + matéria mineral). <sup>3</sup>Composição centesimal do farelo de *Ulva fasciata*: 21,57% de matéria mineral, 1,22% de extrato etéreo, 3,16% de fibra bruta, 10,87% de fibra em detergente ácido (FDA), 17,69% de proteína bruta e 2477,98 kcal/kg de energia bruta em 86% de matéria seca.

Para a confecção das dietas, os ingredientes foram moídos em moinho a rotor e peneirados em malha de 30 *mesh* (0,595 mm), pesados em balança centesimais (0,01 g), marca Shimadzu, de acordo com a formulação e então misturados com o auxílio de misturador em Y, por 10 minutos. Em seguida, a mistura foi peletizada (Figura 5) e os peletes foram secos em estufa de circulação forçada (55 °C, 48 h). Após a confecção, as dietas foram

acondicionadas em sacos plásticos com fecho hermético (zip lock) e acondicionadas em freezer (-15 °C) até o momento da utilização.



**Figura 5.** Peletização das rações experimentais no Laboratório de Alimentos e Alimentação da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.

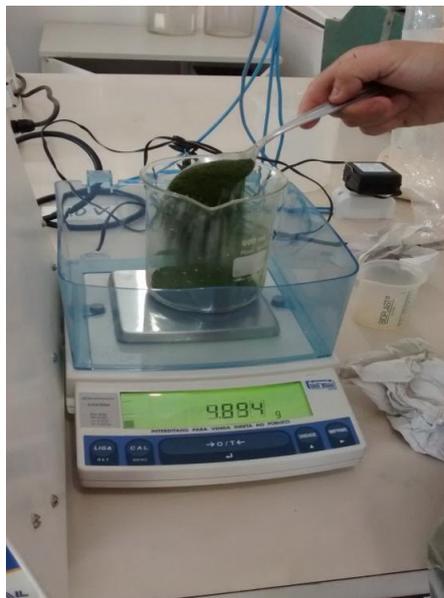
### 2.5 Farelo de *U. fasciata*

As macroalgas destinadas à produção do farelo foram cultivadas na EAAPM, em sistema *outdoor* e também no sistema de recirculação multitrófico instalado para a criação dos peixes (Figura 6).



**Figura 6.** Sistema de aquicultura multitrófica integrada com a macroalga *Ulva fasciata* utilizada como biofiltro no Laboratório de Cultivo de Peixes Marinhos da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.

Para a produção do farelo de macroalga, uma parte da biomassa de *U. fasciata* foi coletada quinzenalmente, pesada e seca em estufa de circulação forçada (55 °C) por 48 horas, e posteriormente triturada em moinho a rotor, com o intuito de se produzir um farelo com 90% de matéria seca e granulometria de 0,3 mm. O farelo foi colocado em saco plástico com fecho hermético (zip lock) e acondicionado em freezer (-15 °C) até o momento da utilização na confecção das dietas (Figura 7).



**Figura 7.** Farelo de *Ulva fasciata* incluído às rações experimentais no Laboratório de Alimentos e Alimentação da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.

## 2.6 Avaliação do Desempenho Produtivo

Aos 61 dias, os juvenis de beijupirá ficaram em jejum de 24 horas para avaliar o desempenho aos 62 dias de experimento. Foi padronizado o período de jejum de 24 horas devido ao hábito carnívoro desta espécie (SAMPAIO; TESSER, 2010). Os peixes de cada unidade experimental foram pesados em balança eletrônica Shimadzu (Figura 8), com precisão de 0,01 g e mensurados com o auxílio de um paquímetro digital Mitutoyo. Com os valores de peso inicial e peso aos 62 dias foi calculado o ganho de peso. O consumo no período foi avaliado e foi calculado a conversão alimentar. Ao final do período experimental, aos 93 dias de experimento os peixes ficaram em jejum de 24 horas e após isso foram submetidos à biometria para avaliação dos seguintes parâmetros zootécnicos: consumo de ração (CR), peso final (PF), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), comprimento, índice de eficiência alimentar (IEA), índice de consumo alimentar (ICA), taxa de crescimento específico (TCE), taxa de eficiência proteica (TEP) e fator de condição (FC). Para o cálculo dos parâmetros citados foram utilizadas as seguintes fórmulas:

$$CR = \text{consumo final (g)} - \text{consumo inicial (g)}$$

$$GP = \text{peso final (g)} - \text{peso inicial (g)}$$

$$CA = \frac{CR}{GP}$$

$$\text{IEA (\%)} = \frac{\text{GP}}{\text{CR}}$$

$$\text{ICA (\%)} = 100 \times \text{CR} \div \frac{[(P_F + P_I) \div 2]}{\text{Período Total}}$$

$$\text{TCE (\% dia}^{-1}\text{)} = 100 \times \frac{(\ln P_F - \ln P_I)}{\text{Período Total}}$$

$$\text{TEP (\%)} = \text{GP} \div (\text{CR} \times \text{proteína bruta da dieta})$$

$$\text{FC (\%)} = 100 \times \frac{\text{GP}}{(\text{comprimento total})^2}$$



**Figura 8.** Pesagem em balança eletrônica (Shimadzu) de juvenil de beijupirá aos 94 dias no laboratório de ecologia de peixes da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.

## 2.7 Análises Estatísticas

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com 4 tratamentos e três repetições, totalizando 12 unidades experimentais.

O modelo estatístico adotado para as medidas avaliadas no experimento foi:

$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ , em que:

$Y_{ij}$ : valor observado relativo ao tratamento  $i$ , na repetição  $j$ ;

$\mu$ : média geral do experimento;

$T_i$ : efeito do tratamento  $i$ ,  $i$  = porcentagens de *Ulva fasciata* (0; 5,00; 10,00; 15,00%), sendo  $i = 1, 2, 3$  e  $4$ .

$e_{ij}$ : erro aleatório associado a cada observação, associado ao tratamento  $i$  na repetição  $j$ , sendo  $j = 1, 2$  e  $3$ .

As respostas aos valores crescentes de *Ulva fasciata* foram avaliadas por meio de análise de regressão para os parâmetros de desempenho, e os efeitos das relações com porcentagens crescentes da alga foram analisados por meio dos modelos de regressão quadrática, conforme o melhor ajustamento obtido para cada variável. O programa estatístico utilizado foi o SISVAR (2010).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

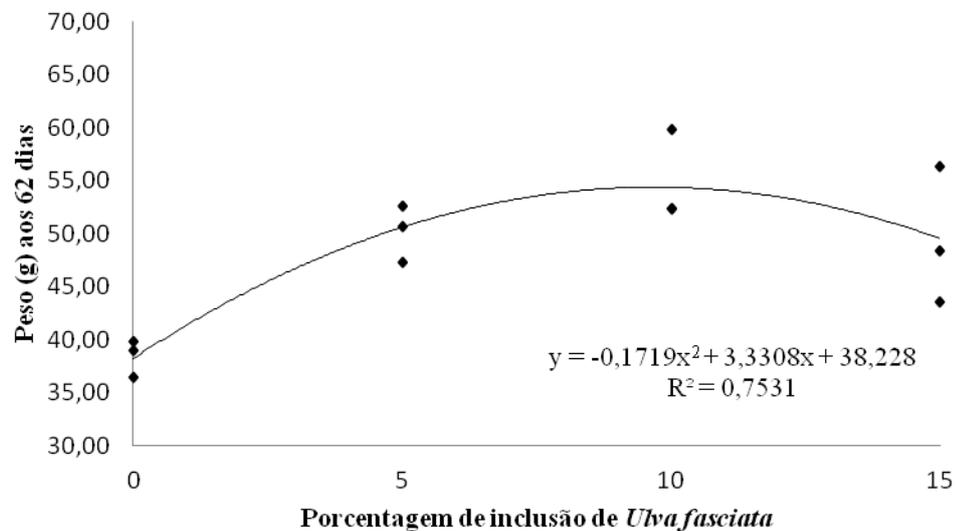
#### 3.1 Desempenho Produtivo de Juvenis de Beijupirá aos 62 dias

Não foi observada rejeição às dietas experimentais. Não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) para consumo de ração entre os tratamentos utilizados (0, 5, 10 e 15% de inclusão de farelo de *Ulva fasciata*).

É relatado que o beijupirá em seu habitat é um peixe carnívoro de hábito predador e que costuma se alimentar preferencialmente de peixes ósseos, podendo se alimentar também de crustáceos e moluscos, conforme a oferta (ARENDRT et al., 2001).

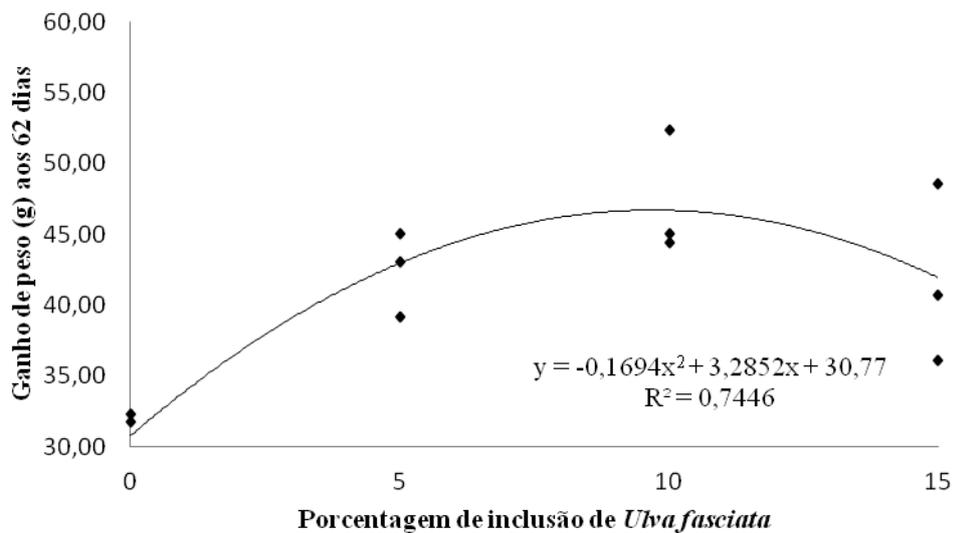
Em cativeiro o beijupirá foi condicionado a receber dietas estritamente secas e aceita bem ingredientes vegetais (CHOU et al., 2004). O uso de ingredientes vegetais e seus bioativos podem influenciar positivamente ou negativamente a aquicultura, porém estudos estão sendo feitos para reduzir os efeitos negativos, como inclusão de enzimas exógenas e potencializar os seus efeitos positivos, tornando a atividade sustentável (GATLIN III et al., 2007).

Os demais parâmetros de desempenho aos 62 dias foram influenciados significativamente ( $p < 0,05$ ) pela inclusão da macroalga *Ulva fasciata*. O maior peso médio observado foi do tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 9,69%, utilizando a equação  $y = -0,1719x^2 + 3,3308x + 38,228$  (Figura 9).



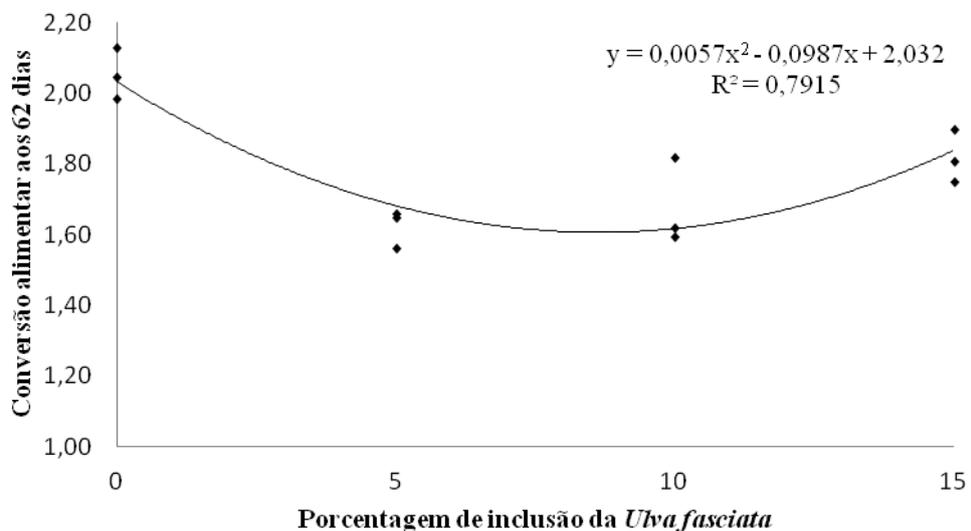
**Figura 9.** Médias estimadas por regressão de peso de juvenis de beijupirá aos 62 dias.

A maior média de ganho de peso aos 62 dias observada foi no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 9,70%, utilizando a equação  $y = -0,1694x^2 + 3,2852x + 30,77$  (Figura 10).



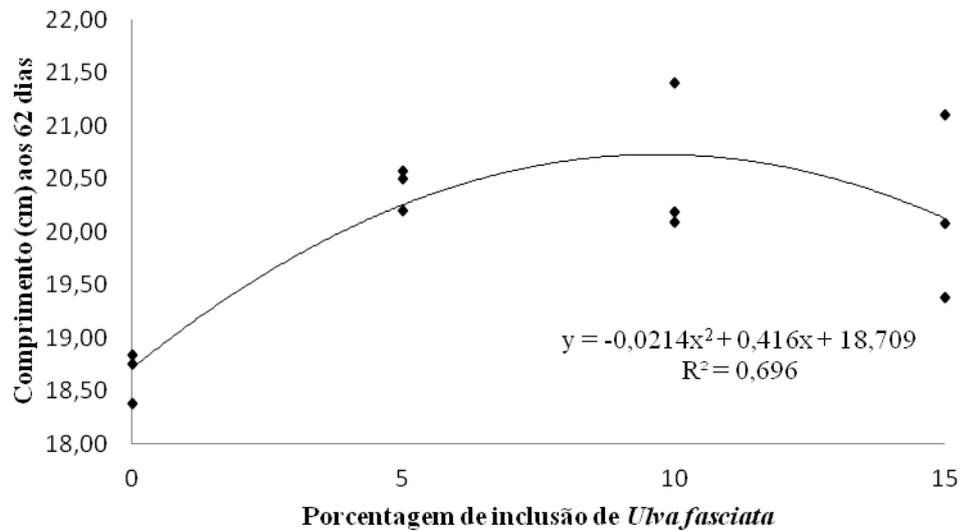
**Figura 10.** Médias estimadas por regressão de ganho de peso de juvenis de beijupirá aos 62 dias.

A melhor conversão alimentar aos 62 dias foi observada no tratamento que recebeu 5% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 8,66%, utilizando a equação  $y = 0,0057 x^2 - 0,0987 x + 2,032$  (Figura 11).



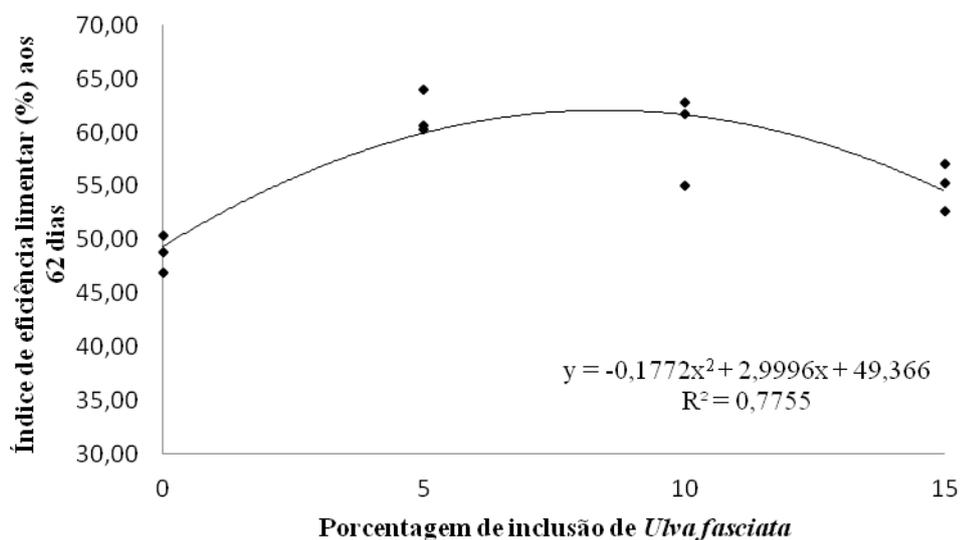
**Figura 11.** Médias estimadas por regressão de conversão alimentar de juvenis de beijupirá aos 62 dias.

A maior média de comprimento foi observada no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 9,72%, utilizando a equação  $y = -0,0214 x^2 + 0,416 x + 18,709$  (Figura 12).



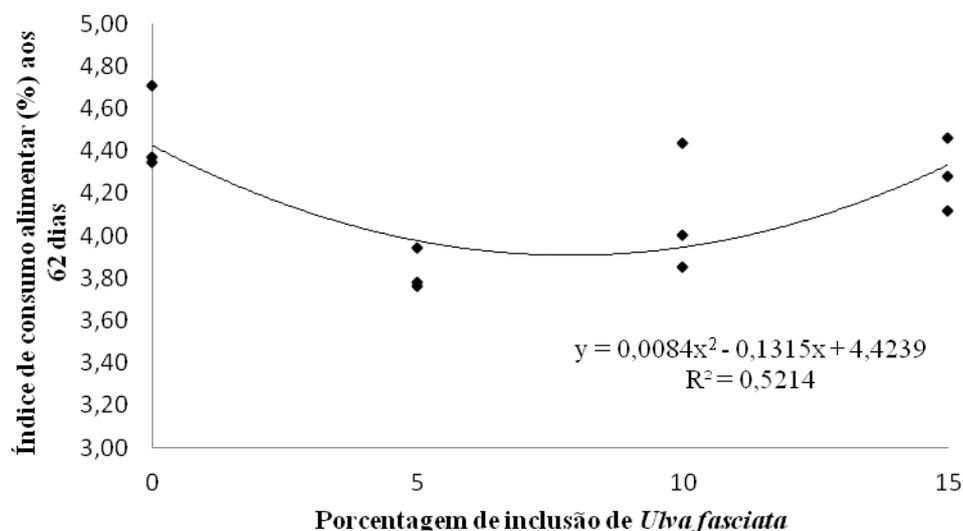
**Figura 12.** Médias estimadas por regressão do comprimento de juvenis de beijupirá aos 62 dias.

A maior média do Índice de Eficiência Alimentar (IEA) foi observada no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 8,45%, utilizando a equação  $y = -0,1772x^2 + 2,996x + 49,366$  (Figura 13).



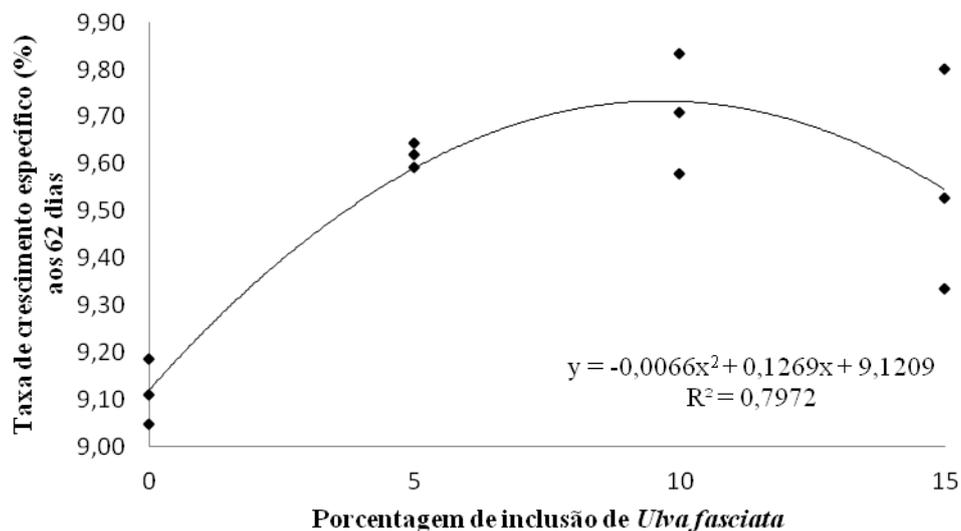
**Figura 13.** Médias estimadas por regressão do IEA de juvenis de beijupirá aos 62 dias.

A melhor média do Índice de Consumo Alimentar (ICA) foi observada no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 7,83%, utilizando a equação  $y = 0,0084x^2 - 0,1315x + 4,4239$  (Figura 14).



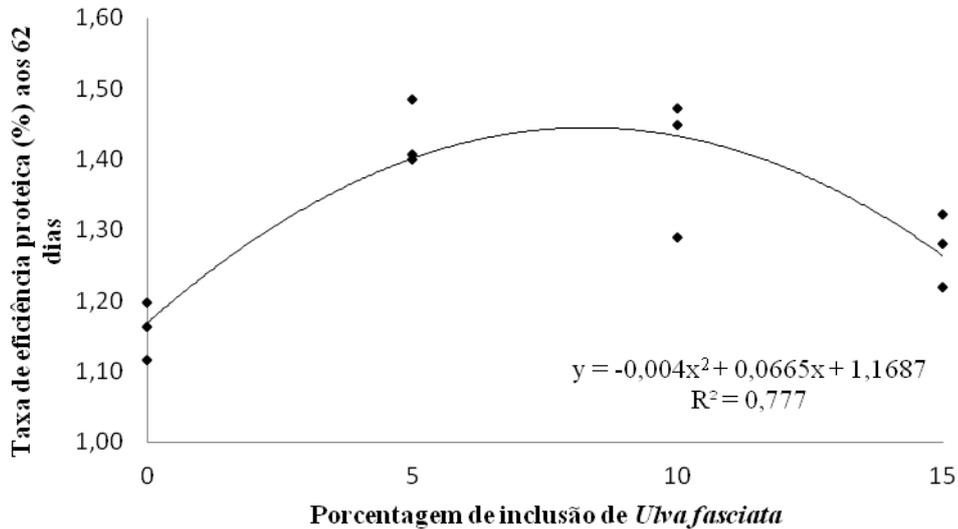
**Figura 14.** Médias estimadas por regressão de ICA de juvenis de beijupirá aos 62 dias.

A maior média da Taxa de Crescimento Específico (TCE) foi observada no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 9,61%, utilizando a equação  $y = -0,0066x^2 + 0,1269x + 9,1209$  (Figura 15).



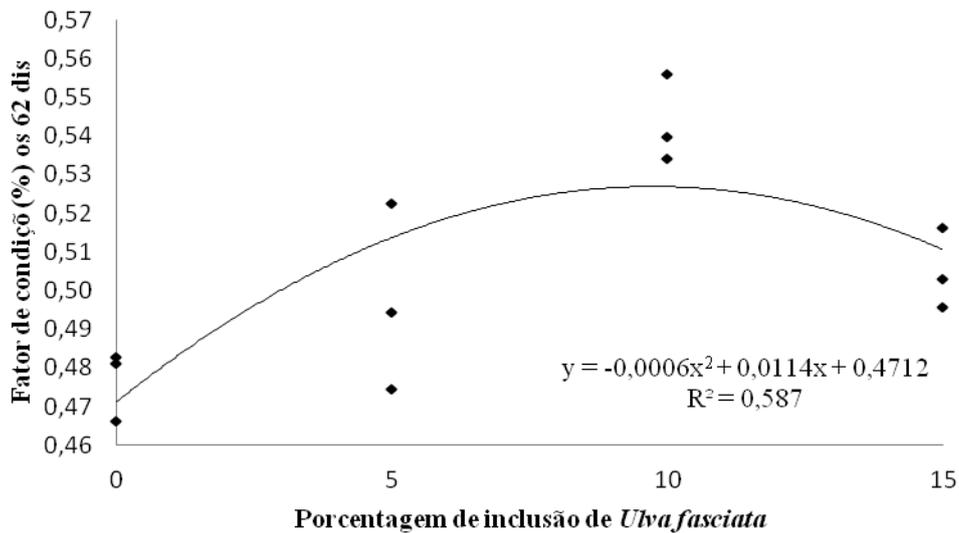
**Figura 15.** Médias estimadas por regressão de TCE de juvenis de beijupirá aos 62 dias.

A maior média da Taxa de Eficiência Proteica (TEP) foi observada no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 8,31%, utilizando a equação  $y = -0,004x^2 + 0,0665x + 1,1687$  (Figura 16).



**Figura 16.** Médias estimadas por regressão de TEP de juvenis de beijupirá aos 62 dias.

A maior média do Fator de Condição (FC) foi observada no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 9,5%, utilizando a equação  $y = -0,0006x^2 + 0,0114x + 0,4712$  (Figura 17).



**Figura 17.** Médias estimadas por regressão de FC de juvenis de beijupirá aos 62 dias.

O beijupirá, assim como acontece com todos os animais, requer uma dieta balanceada para manter o crescimento e saúde, e as exigências por nutrientes são determinadas pelo conteúdo energético da dieta (FRASER; DAVIES, 2009).

Cui et al. (2010) pesquisaram a inclusão de diferentes tipos de carboidratos em dietas para juvenis de beijupirá e observaram aos 60 dias que o melhor ganho de peso, conversão alimentar, fator de condição e eficiência proteica ocorreram nos animais que receberam como fonte de carboidratos o polissacarídeo dextrina, trigo e milho, embora tenha havido diferença significativa entre os dois primeiros e o milho. Estes autores concluíram que estes ingredientes podem ser usados como fontes energéticas não proteicas.

A alga marinha *Ulva fasciata* utilizada no presente estudo apresentou 21,57% de matéria mineral, 1,22% de extrato etéreo, 3,16% de fibra bruta, 10,87% de fibra em detergente ácido (FDA), 17,69% de proteína bruta e 2477,98 kcal/kg de energia bruta em 86% de matéria seca. Ao formular as dietas, o farelo de *U. fasciata* substituiu o farelo de trigo da dieta (Tabela 1), contribuindo como uma fonte alternativa de carboidrato.

Yildirim et al. (2009) também fizeram a inclusão de duas espécies de macroalgas verdes, *Ulva lactuca* e *Enteromorpha linza*, substituindo o farelo de trigo na dieta referência de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Diferente do presente estudo, esses autores observaram menor consumo da dieta ( $P < 0,05$ ), pior conversão alimentar ( $P < 0,05$ ), menor taxa de eficiência proteica ( $P < 0,05$ ) e consequentemente, menor ganho de peso ( $P < 0,05$ ) e menor crescimento específico ( $P < 0,05$ ) aos 60 dias em trutas que receberam dieta contendo farelo de *Ulva lactuca* e *Enteromorpha linza*, em relação à dieta controle sem as macroalgas.

Por outro lado, Morshedi et al. (2017), em 40 dias de inclusão de farelo de macroalga *Gracilaria pulvinata* em até 9% em dieta seca para barramundi (*Lates calcarifer*), que é um peixe marinho carnívoro, não observaram diferenças estatísticas para os parâmetros zootécnicos. Diferente do presente trabalho, esses autores fizeram substituições crescentes da farinha de peixe (de 54 para 35%) por farelo de *Gracilaria pulvinata*. O resultado encontrado por Morshedi et al. (2017) é interessante devido ao barramundi, assim como o beijupirá ser um peixe carnívoro e portanto sensível a variações feitas na inclusão de farinha de peixe na dieta referência.

Chou et al. (2004) testaram a substituição crescente de farinha de peixe por farelo de soja durante 60 dias em juvenis de beijupirá e observaram redução de ganho de peso e eficiência proteica, além da piora na conversão alimentar, quando a substituição foi superior a 20%. Os autores observaram que os carboidratos presentes na soja não são digestíveis para animais monogástricos e alguns componentes apresentam efeitos antinutricionais.

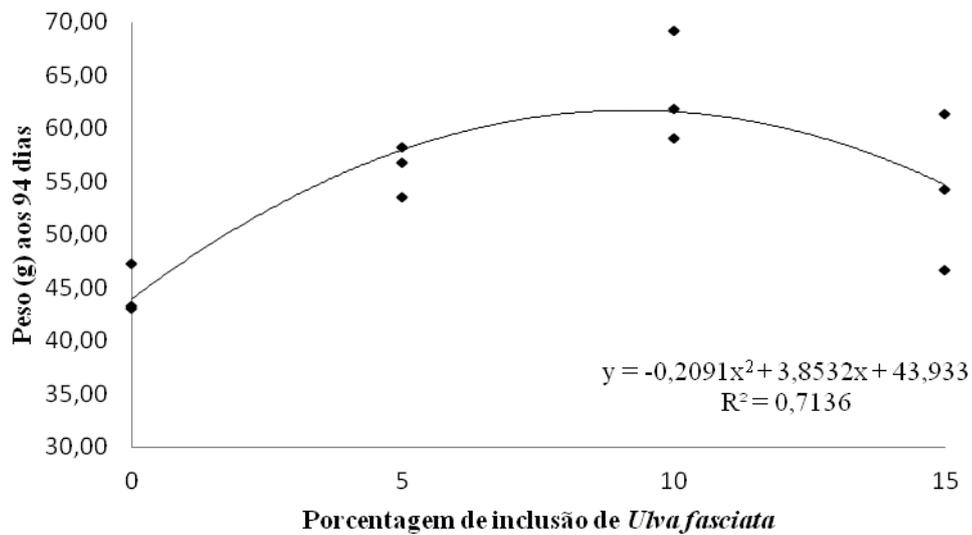
No atual experimento, foi formulada uma dieta convencional para beijupirá, onde foi utilizado 40% de farinha de peixe e 25% de farelo de soja. O melhor desempenho dos peixes que receberam dieta contendo *U. fasciata* pode indicar que além de sua adição contribuir nutricionalmente à dieta, esta pode ter algum efeito protetor contra os fatores antinutricionais da soja.

### 3.2 Desempenho Produtivo de Juvenis de Beijupirá aos 94 dias

No período total de experimentação não foi observada rejeição às dietas experimentais. Não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) para consumo de ração entre os tratamentos utilizados (0, 5, 10 e 15% de inclusão de farelo de *Ulva fasciata*).

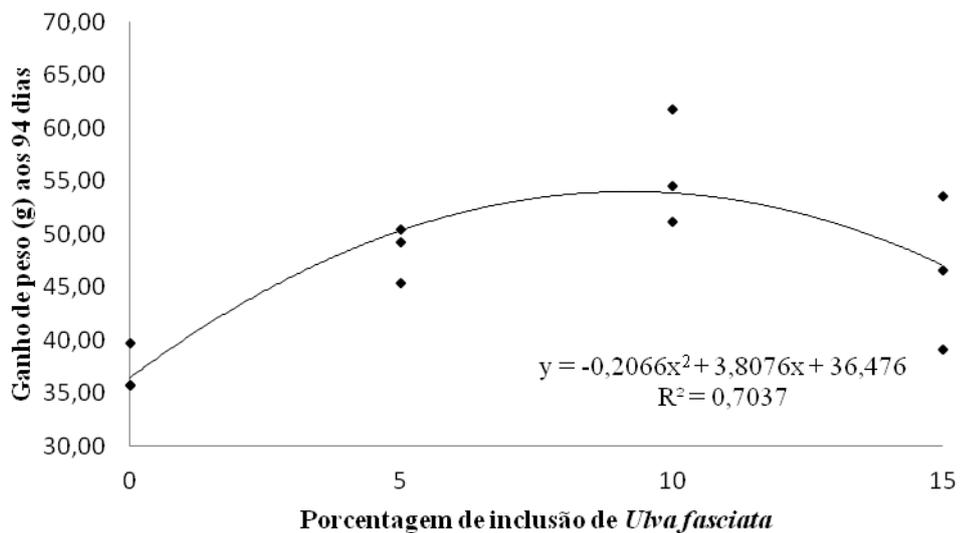
Os demais parâmetros de desempenho aos 94 dias foram influenciados significativamente ( $p < 0,05$ ) pela inclusão da macroalga *Ulva fasciata*. O maior peso médio observado foi do tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de

inclusão da alga foi estimada em 9,21%, utilizando a equação  $y = -0,2091x^2 + 3,8532x + 43,933$  (Figura 18).



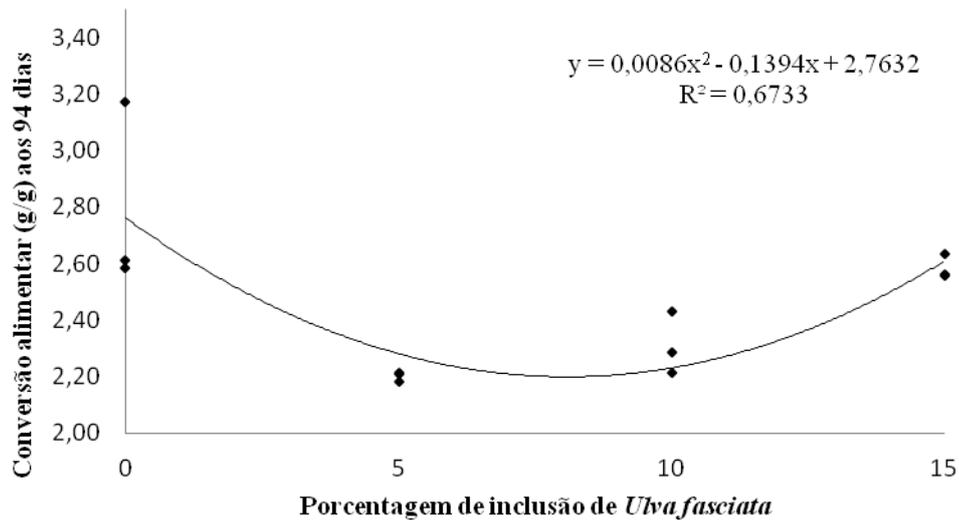
**Figura 18.** Médias estimadas por regressão de peso de juvenis de beijupirá aos 94 dias.

A maior média de ganho de peso aos 94 dias observada foi do tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 9,21%, utilizando a equação  $y = -0,2066x^2 + 3,8076x + 36,476$  (Figura 19).



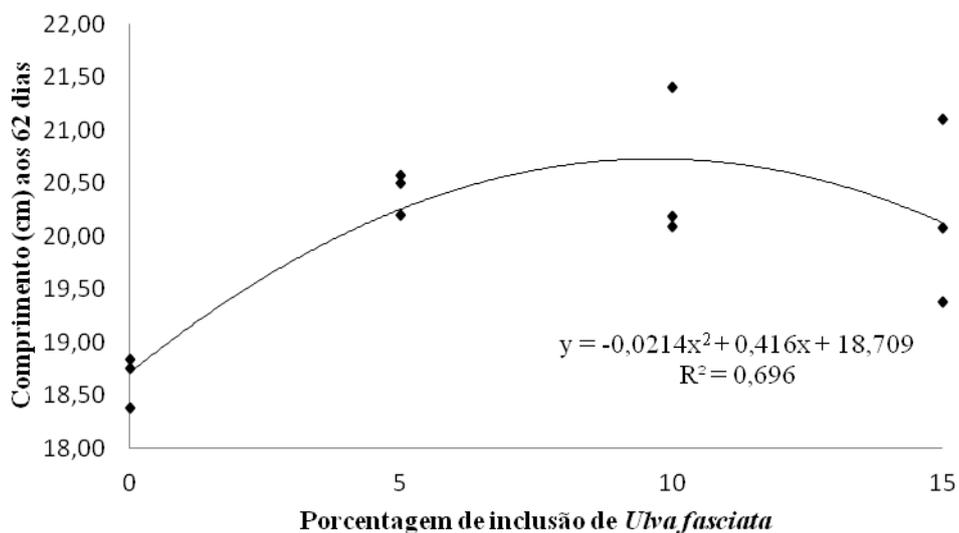
**Figura 19.** Médias estimadas por regressão de ganho de peso de juvenis de beijupirá aos 94 dias.

A melhor conversão alimentar aos 94 dias foi observada no tratamento que recebeu 5% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 8,10%, utilizando a equação  $y = 0,0086x^2 - 0,1394x + 2,7632$  (Figura 20).



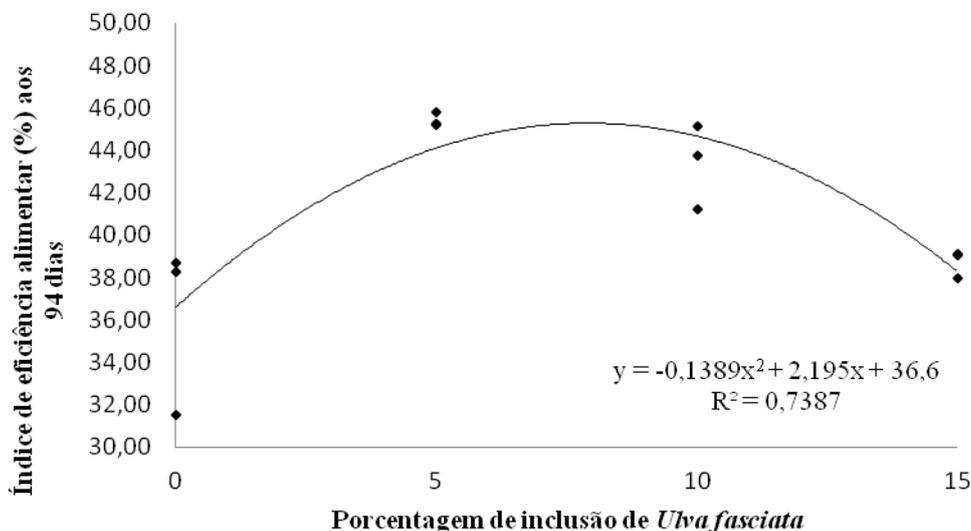
**Figura 20.** Médias estimadas por regressão de conversão alimentar de juvenis de beijupirá aos 94 dias.

A maior média de comprimento foi observada no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 9,04%, utilizando a equação  $y = -0,0214x^2 + 0,416x + 18,709$  (Figura 21).



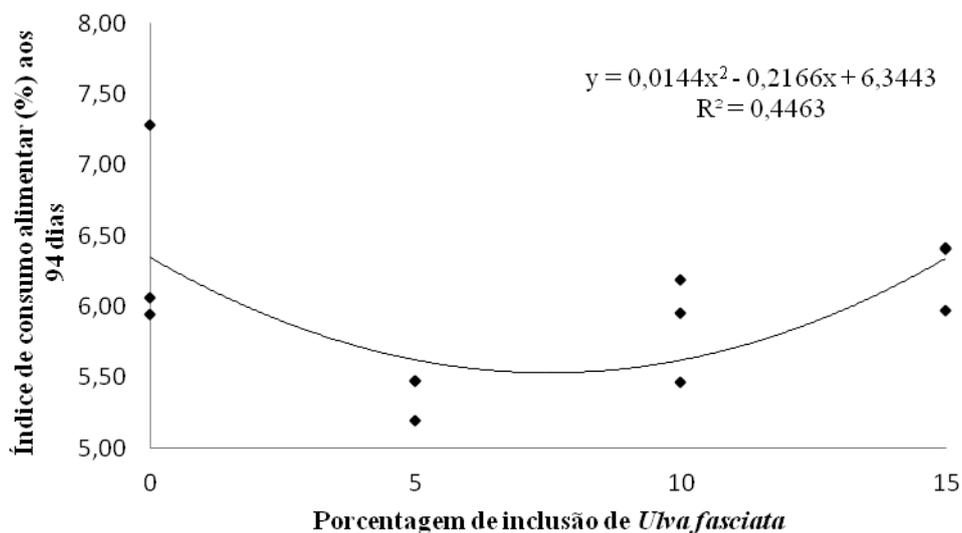
**Figura 21.** Médias estimadas por regressão de comprimento de juvenis de beijupirá aos 94 dias.

A maior média do Índice de Eficiência Alimentar (IEA) foi observada no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 7,90%, utilizando a equação  $y = -0,1389x^2 + 2,195x + 36,6$  (Figura 22).



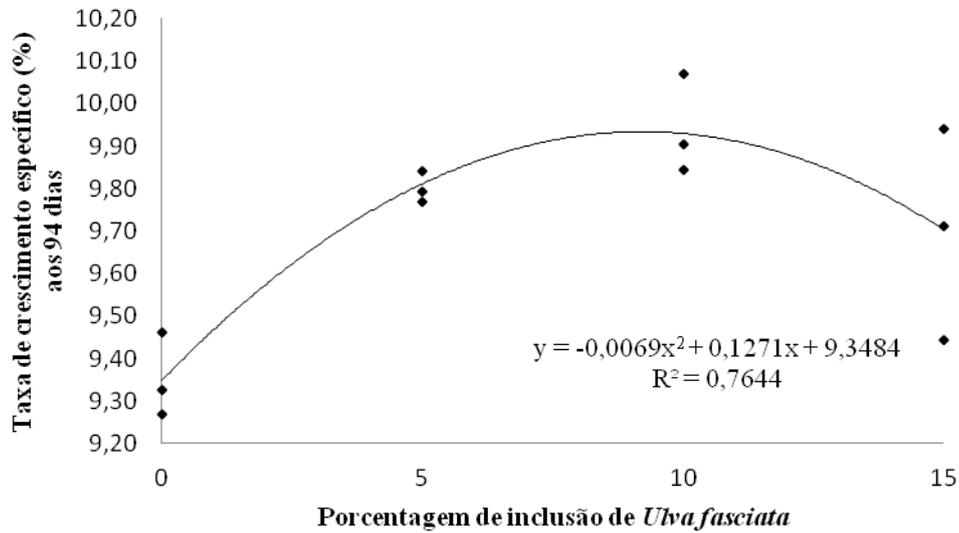
**Figura 22.** Médias estimadas por regressão de IEA de juvenis de beijupirá aos 94 dias.

A melhor média da Taxa de Consumo Alimentar (ICA) foi observada no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 7,52%, utilizando a equação  $y = 0,0144x^2 - 0,2166x + 6,3443$  (Figura 23).



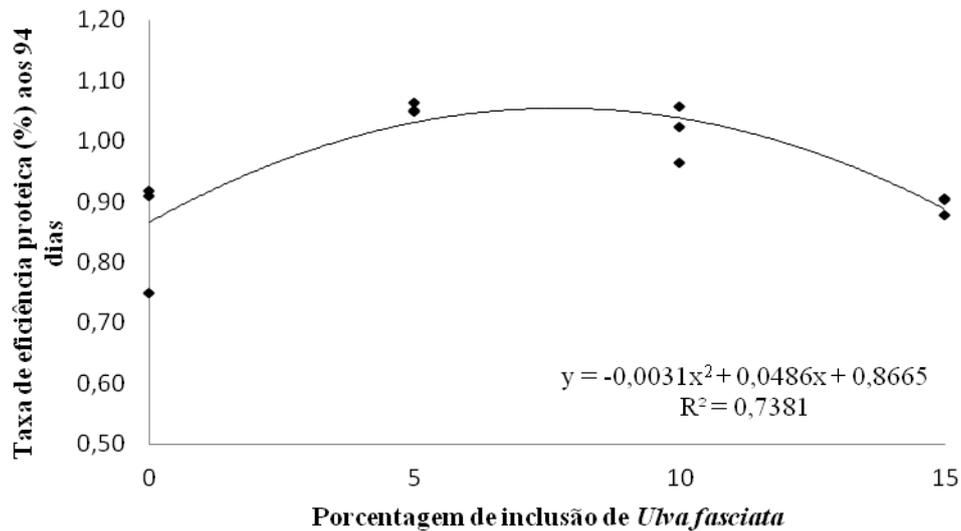
**Figura 23.** Médias estimadas por regressão de ICA de juvenis de beijupirá aos 94 dias.

A maior média da Taxa de Crescimento Específico (TCE) foi observada no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 9,2%, utilizando a equação  $y = -0,0069x^2 + 0,1271x + 9,3484$  (Figura 24).



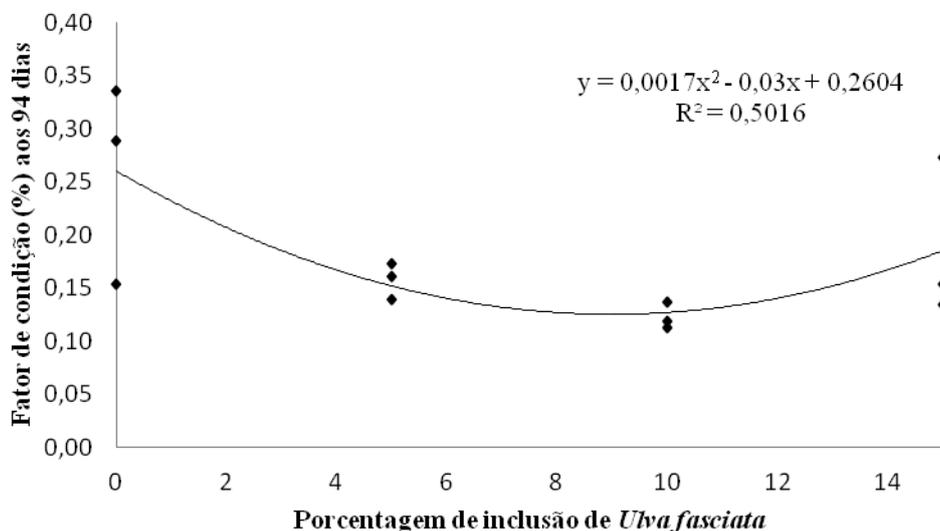
**Figura 24.** Médias estimadas por regressão de TCE de juvenis de beijupirá aos 94 dias.

A maior média da Taxa de Eficiência Proteica (TEP) foi observada no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 7,84%, utilizando a equação  $y = -0,0031x^2 + 0,0486x + 0,8665$  (Figura 25).



**Figura 25.** Médias estimadas por regressão de TPE de juvenis de beijupirá aos 94 dias.

A maior média do Fator de Condição (FC) foi observada no tratamento que recebeu 10% de *Ulva fasciata* e a melhor porcentagem de inclusão da alga foi estimada em 8,8%, utilizando a equação  $y = 0,0017x^2 - 0,03x + 0,2604$  (Figura 26).



**Figura 26.** Médias estimadas por regressão de FC de juvenis de beijupirá aos 94 dias.

Os carboidratos são amplamente incluídos nas dietas para reduzir o catabolismo de outros nutrientes como as proteínas e lipídeos para produção de energia e para prover metabólitos intermediários para a síntese de outros importantes componentes biológicos (VIELMA et al., 2003).

Os peixes, particularmente as espécies carnívoras, utilizam mal o carboidrato dietético como fonte de energia e normalmente requerem altas porcentagens de proteína (STONE, 2003).

Ao realizarem dois experimentos de 6 semanas cada com juvenis de beijupirá, Salze et al. (2010) avaliaram no primeiro, em arranjo fatorial, o efeito de dietas com ou sem o prebiótico manano oligossacarídeo (MOS), em relação a porcentagens de substituição de farinha de arenque por concentrado proteico de soja, onde o controle não recebeu o concentrado nem MOS. No segundo experimento os mesmos autores testaram dietas à base de farelo de soja e com concentrado proteico de soja, uma com porcentagem de farelo de soja semelhante à dieta controle, e outra com valor aumentado de farelo de soja e redução de farinha de arenque, mais duas dietas iguais a estas, porém com inclusão de MOS e uma última dieta com inclusão de farinha de minhoca no lugar da farinha de arenque. No primeiro experimento houve diferença apenas para o efeito de substituição, sendo os melhores resultados de 50 a 75% de substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja, representando até 49,4% de inclusão do concentrado. Já no segundo experimento os melhores resultados para ganho de peso, eficiência alimentar e crescimento específico ocorreram nos tratamentos com farelo de soja, valor referência (32,4%) e aumentando (39,9) e que receberam MOS. Concluindo que a inclusão de prebiótico tem efeito protetor aos fatores antinutricionais da soja.

Suarez et al. (2013) realizaram experimento com beijupirá na fase de engorda durante 90 dias, em que os tratamentos consistiam de dietas com inclusão de Navita, que é uma soja

não modificada geneticamente, e que contém níveis reduzidos de fatores antinutricionais e ainda 20% a mais de proteína bruta que a soja comum. Aos 60 dias estes autores observaram que os peixes que receberam 37,7 e 45,4% de Navita tiveram melhor crescimento específico em relação aos peixes que não receberam, não diferindo dos peixes que receberam a dieta referência, com maior porcentagem de farinha de peixe. No período total de 90 dias os autores não encontraram diferenças entre os tratamentos. Estes autores concluíram que o uso dessa nova variedade de soja não modificada geneticamente seria uma alternativa para substituir a farinha de peixe.

Zhou et al. (2014) testaram em juvenis de beijupirá a substituição parcial de farinha de peixe por 10% de farelo de soja, 20% de farelo de soja, 10% de levedura de cervejaria ou 10% de glúten de milho. Estes autores observaram que os peixes que receberam a dieta com 100% de farinha de peixe obtiveram melhor desempenho.

Ergun et al. (2008) observaram que tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*) após 16 semanas de recebendo dieta seca contendo 5% de farelo da macroalga *Ulva rígida*, ganharam mais peso ( $P > 0,05$ ), tiveram maior taxa de crescimento específico ( $P > 0,05$ ) e melhor conversão alimentar ( $P > 0,05$ ) em relação às tilápias que receberam a dieta controle sem a macroalga. Esses autores não alteraram os valores de farinha de peixe da dieta referência, que foi fixada em 30%, a *U. rígida* foi incluída na dieta substituindo parte do amido de milho, que é um carboidrato solúvel. Diferente do presente estudo, que o farelo de *U. fasciata* substituiu de forma crescente os níveis de farelo de trigo.

#### 4 CONCLUSÃO

Nos períodos de 1 a 62 dias e de 1 a 94 dias, os juvenis de beijupirá alimentados com dietas contendo a alga marinha *Ulva fasciata* apresentaram melhor desempenho em todos parâmetros avaliados, sendo a melhor porcentagem de inclusão da alga de 10%.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARENDDT, M.D.; OLNEY, J.E.; LUCY, J.A. Stomach content analysis of cobia, *Rachycentron canadum*, from lower Chesapeake Bay. **Fishery Bulletin**, v. 99, n. 4, p.665-670, 2001.
- BENETTI, D.D.; ORHUN, M.R.; SARDENBERG, B.; O'HANLON, B.; WELCH, A.; HOENIG, R.; ZINK, I.; RIVERA, J.A.; DENLINGER, B.; BACCOAT, D.; PALMER, K.; CAVALIN, F. Advances in hatchery and grow-out technology of cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus). **Aquaculture Research**, v.39, p.701-711, 2008.
- BENETTI, D.D.; O'HANLON, B.; RIVERA, J.A.; WELCH, A.W.; MAXEY, C.; ORHUN, M.R. Growth rates of cobia (*Rachycentron canadum*) cultured in open ocean submerged cages in the Caribbean. **Aquaculture**, v. 302, p. 195-201, 2010.
- BÉRTIN, L. Appareil digestif. In: GRASSÉ, P.P. (ed.). **Traité de zoologie**. Paris: Masson, v.13, 1958. p. 1249-1301.
- CHOU, R.L.; SU, M.S.; CHEN, H.Y. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 193, p. 81-89, 2001.
- CHOU, R.L.; HER, B.Y., SU, M.S.; HWANG, G.; WU, Y.H.; CHEN, H.Y. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v. 229, p. 325-333, 2004.
- CRAIG, S.R.; SCHWARZ, M.H.; MCLEAN, E. Juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) can utilize a wide range of protein and lipid levels without impacts on production characteristics. **Aquaculture**, v. 26, p. 384-391, 2006.
- CUI, X.; ZHOU, Q.; LIANG, H.; YANG, J.; ZHAO, L. Effects of dietary carbohydrate sources on the growth performance and hepatic carbohydrate metabolic enzyme activities of juvenile cobia (*Rachycentron canadum* Linnaeus.). **Aquaculture Research**, v. 42, p. 99-107, 2010.
- FINES, B.C.; HOLT, G.J. Chitinase and apparent digestibility of chitin in the digestive tract of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v. 303, p. 34-39, 2010.
- FRASER, T.W.K.; DAVIES, S.J. Nutritional requirements of cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus): a review. **Aquaculture Research**, v. 40, p. 1219-1234, 2009.
- GATLIN III, D.M.; BARROWS, F.T.; BROWN, P.; DABROWSKI, K.; GAYLORD, T.G.; HARDY, R.W.; HERMAN, E.; HU, G.; KROGDAHL, Å.; NELSON, R.; OVERTURF, K.; RUST, M.; SEALEY, W.; SKONBERG, D.; SOUZA, E.J.; STONE, D.; WILSON, R.; WURTELE, E. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. **Aquaculture Research**, v. 38, p. 551-579, 2007.
- GENG, X.; DONG, X.H.; TAN, B.P.; YANG, Q.; CHI, S.Y.; LIU, H.Y.; LIU, X.Q. Effects of dietary chitosan and *Bacillus subtilis* on the growth performance, non-specific immunity

and disease resistance of cobia, *Rachycentron canadum*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 31, p. 400-406, 2011.

HUNG, P.D.; MAO, N.D. Effects of different trash fish with alginate binding on growth and body composition of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture Asia Magazine**, v. 15, n. 2, p. 40-42, 2010.

LIAO, I.C.; HUANG, T.S.; TSAI, W.S.; HSUEH, C.M.; CHANG, S.L.; LEAÑO, E.M. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. **Aquaculture**, v. 237, p. 155-165, 2004.

LUNGER, A.N.; CRAIG, S.R.; MCLEAN, E. Replacement of fish meal in cobia (*Rachycentron canadum*) diets using an organically certified protein. **Aquaculture**, v. 257, p. 393-399, 2006.

LUNGER, A.N.; MCLEAN, E.; CRAIG, S.R. The effects of organic protein supplementation upon growth, feed conversion and texture quality parameters of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 264, p. 342-352, 2007a.

LUNGER, A.N.; MCLEAN, E.; GAYLORD, T.G.; KUHN, D.; CRAIG, S.R. Taurine supplementation to alternative dietary proteins used in fish meal replacement enhances growth of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 271, p. 401-410, 2007b.

SALZE G.; McLEAN E.; BATLLE, P.R.; SCHWARZ, M.H.; CRAIG S.R. Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v. 298, p. 294-299, 2010.

STONE, D.A.J. Dietary carbohydrate utilization by fish. **Reviews in Fisheries Science**, v. 11, p. 337-369, 2003.

VIELMA J.; KOSKELA J.; RUOHONEN, K.; JOKINEN, I.; KETTUNEN, J. Optimal diet composition for European whitefish (*Coregonus lavaretus*): carbohydrate stress and immune parameter responses. **Aquaculture**, v. 225, p. 3-16, 2003.

WANG, J.T.; LIU, Y.J.; TIAN, L.X.; MAI, K.S.; DU, Z.Y.; WANG, Y.; YANG, H.J. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 249, p. 439- 447, 2005.

ZHOU, Q.; TANC, B.; MAI, K.; LIU, Y. Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v. 241 p. 441-451, 2004.

ZHOU, Q.C.; WU, Z.H.; TAN, B.P.; CHI, S.Y.; YANG, Q.H. Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 273, p. 634-640, 2007.

ZHOU, H.; CHEN, G.; GU, B.; LIN, X. Relative contribution of alternative proteins to the growth of Juvenile Cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus). **Aquaculture Research**, p. 1-13, 2014.

## **CAPÍTULO II**

### **ÍNDICES BIOMÉTRICOS, ATIVIDADES DA CATALASE E GLUTATIONA S-TRANSFERASE, COMPOSIÇÃO CORPORAL E MORFOMETRIA INTESTINAL DE JUVENIS DE BEIJUPIRÁ ALIMENTADOS COM DIETA CONTENDO ALGA MARINHA *Ulva fasciata***

## RESUMO

DIAS, Giselle Eler Amorim. **Índices biométricos, atividades da catalase e glutathione S-transferase, composição corporal e morfometria intestinal de juvenis de beijupirá alimentados com dieta contendo alga marinha *Ulva fasciata***. 2017. 34p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

O presente estudo teve como objetivo avaliar os índices de saúde, a atividade de catalase, glutathione S-transferase, composição corporal e morfometria intestinal de juvenis de beijupirá com a inclusão de diferentes porcentagens de alga marinha *Ulva fasciata* na dieta como alimento funcional. Os peixes foram criados em sistema de aquicultura multitrófica integrada em sistema de recirculação de água. As dietas-teste tiveram quatro porcentagens de inclusão do farelo de macroalga na sua composição (0,00; 5,00; 10,00 e 15,00%). Foram utilizadas 12 unidades experimentais que consistiram em tanques de polietileno com 310 L de água, com 20 animais por tanque. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e três repetições. Com o uso de um pHmetro portátil, marca Hanna modelo Combo, foram feitas avaliações de pH e temperatura, cujas médias foram respectivamente  $7,13 \pm 0,63$  e  $25,22 \pm 2,71$  °C. O oxigênio dissolvido, medido com oxímetro Hanna teve um valor médio de  $5,74 \pm 0,45$  mg/L. A média de salinidade foi  $34,13 \pm 2,94$  ppm, sendo mensurada por meio de refratômetro portátil Quimis. As concentrações de amônia, nitrito, nitrato e fosfato, estimadas com fotômetro Hanna, foram respectivamente: 0,44 mg/L, 21 mg/L, 26,5 mg/L, e 21,5 mg/L. Foram formuladas quatro dietas isoproteicas, isolipídicas e isocalóricas, contendo aproximadamente 45% de proteína bruta, 8,00% de extrato etéreo e 4.000 kcal/kg de ração em energia bruta, de acordo com as exigências nutricionais desta espécie. As macroalgas destinadas à produção do farelo foram cultivadas em sistema *outdoor* e também no sistema de recirculação multitrófico instalado para a criação dos peixes. Aos 93 dias de experimento, os juvenis de beijupirá ficaram em jejum de 24 horas para as avaliações biométricas e posteriores análises. Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Tukey) a 5% de probabilidade de erro para os parâmetros: peso corporal, peso de vísceras, peso de fígado, índice viscerossomático (IVS), índice hepatossomático (IHS), composição corporal de juvenis de beijupirá eviscerados, atividade de catalase, glutathione S-transferase e medidas morfométricas do intestino delgado. O programa estatístico utilizado foi o SISVAR. Houve diferença para peso de peixe aos 94 dias e peso de vísceras. Não havendo diferença para peso de fígado e IVS e IHS. Houve efeito significativo para atividade de catalase mitocondrial e citoplasmática do fígado aos 94 dias de experimento com os juvenis de beijupirá. Houve diferenças significativas para composição corporal de juvenis de beijupirá eviscerados. A umidade, cinzas e proteína da composição corporal de juvenis de beijupirá eviscerados não diferiram entre os tratamentos. A porcentagem de lipídeos dos peixes que não receberam a macroalga *Ulva fasciata* foi significativamente menor do que a porcentagem de lipídeo dos peixes que receberam 10 e 15% de *Ulva fasciata*. Não houve diferença para morfometria intestinal. A macroalga *Ulva fasciata* pode ser incluída em dietas para juvenis de beijupirá.

**Palavras-chave:** *Ulva fasciata*, Beijupirá, Catalase, Glutathione S-transferase, Morfometria.

## ABSTRACT

DIAS, Giselle Eler Amorim. **Biometric indices, catalase and glutathione S-transferase activities, body composition and intestinal morphometry of juveniles of beijupirá fed with diet containing *Ulva fasciata* seaweed.** 2017. 34p. Thesis (Doctorate in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

The objective of this study was to evaluate the health indexes, the activity of catalase, glutathione S-transferase, body composition and intestinal morphometry of cobia juveniles with the inclusion of different percentages of *Ulva fasciata* seaweed in the diet as functional food. The fish were raised in a multitrophic aquaculture system integrated in a water recirculation system. The test diets had four percentages of inclusion of macroalga meal in their composition (0.00, 5.00, 10.00 and 15.00%). Twelve experimental units consisted of polyethylene tanks with 310 L of water, with 20 animals per tank. The experimental design was the completely randomized (DIC), with four treatments and three replicates. With the use of a Hanna portable pH meter pH and temperature evaluations were done, whose averages were respectively  $7.13 \pm 0.63$  and  $25.22 \pm 2.71$  ° C. The dissolved oxygen, measured with the Hanna oximeter, had an average value of  $5.74 \pm 0.45$  mg/L. The mean salinity was  $34.13 \pm 2.94$  ppm and was measured using a Quimis portable refractometer. The concentrations of ammonia, nitrite, nitrate and phosphate, estimated with Hanna photometer, were respectively: 0.44 mg/L, 21 mg/L, 26.5 mg/L, and 21.5 mg/L. Four isoproteic diets were formulated, isolipídicas and isocaloric, containing approximately 45% of crude protein, 8.00% of ethereal extract and 4.000 kcal / kg of feed in crude energy, according to the nutritional requirements of this species. The macroalgae destined to the production of the bran were cultivated in outdoor system and also in the system of recirculation multitrophic installed for the creation of the fish. At 93 days of experiment, juveniles of beijupirá were fasted for 24 hours for biometric assessments and subsequent analyzes. The results were submitted to analysis of variance and test of means (Tukey) at 5% error probability for the parameters: body weight, viscera weight, liver weight, viscerosomatic index (VSI), hepatosomatic index (HSI), body composition of eviscerated gonadotomy juveniles, catalase activity, glutathione S-transferase and morphometric measurements of the small intestine. The statistical program used was SISVAR. There were differences for fish weight at 94 days and viscera weight. There was no difference for liver weight and VSI and HSI. There was a significant effect for mitochondrial and cytoplasmic catalase activity of the liver at 94 days of experiment with juvenile beijupirá. There were significant differences for body composition of eviscerated gossy juveniles. Moisture, ash and protein of the body composition of eviscerated gonad juveniles did not differ between treatments. The percentage of lipids of the fish that did not receive the *Ulva fasciata* macroalga was significantly lower than the lipid percentage of the fish that received 10 and 15% of *Ulva fasciata*. There was no difference for intestinal morphometry. The macroalgae *Ulva fasciata* macroalga can be included in diets for cobia juvenile.

**Key words:** *Ulva fasciata*, Cobia, Catalase, Glutathione S-transferase, Morphometry.

## I INTRODUÇÃO

O beijupirá (*Rachycentron canadum*) é uma espécie de peixe carnívora pertencente à família Rachycentridae, que possui ampla distribuição em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, com exceção da região leste do Oceano Pacífico (SHAFFER; NAKAMURA, 1989). Sabe-se que a espécie se reproduz prontamente em cativeiro (ARNOLD et al., 2002), apresenta alta sobrevivência após a adaptação ao alimento seco (KAISE; HOLT, 2004), se adapta muito bem ao confinamento (CRAIG et al., 2005).

O beijupirá apresenta várias características favoráveis para a aquicultura, como rápido crescimento alcançando o peso comercial de 2 a 6 kg em um ano (CHOU et al., 2001, BENETTI, 2010), boa eficiência alimentar (WEBB et al., 2007). Deve-se ainda ressaltar que o beijupirá possui carne branca e de qualidade, tendo alto valor comercial (FRASER; DAVIES, 2009).

Contudo, um dos maiores gargalos para a produção de beijupirá é a formulação de uma dieta balanceada em que não esteja totalmente dependente de ingredientes de origem animal, especialmente da farinha de peixe, que tem alto custo e flutuação de oferta no mercado. Somado a isso, resultados de pesquisas realizadas nos últimos anos têm demonstrado que os melhores resultados de desempenho, saúde e composição corporal de beijupirá ocorrem em dietas em que a fonte de proteína não é estritamente proveniente da farinha de peixe (CHOU et al., 2004; SALZE et al., 2010).

O uso de ingredientes de origem vegetal na aquicultura requer que os ingredientes possuam certas características nutricionais, tais como baixas porcentagens de fibra, amido (especialmente carboidratos não solúvel), e reduzidos fatores antinutricionais (NAYLOR et al., 2009).

A utilização de algas marinhas, ou macroalgas, nas dietas para aquicultura pode melhorar a eficiência alimentar dos peixes e conseqüentemente reduzir os custos com a dieta (BANERJEE et al., 2010).

As algas marinhas, em especial as espécies do gênero *Ulva*, têm sido investigadas como ingrediente dietético para uma variedade de espécies de peixes, por possuírem alto valor nutricional, sendo fonte de proteínas, ácidos graxos essenciais, minerais, vitaminas, pigmentos, antioxidantes e alguns componentes polissacarídicos, proporcionando assim uma nutrição equilibrada e melhora no crescimento animal (ORTIZ et al., 2006; RAJAPAKSE; KIM, 2011).

Pesquisas recentes estão sendo realizadas para buscar ingredientes efetivos que podem substituir parcialmente ou totalmente a farinha de peixe e outros ingredientes como fontes de proteína na alimentação da aquicultura. Morshedi et al. (2017) utilizaram a macroalga *Gracilaria pulvinata*, incluída à dieta seca (até 9%) fornecida ao barramundi (*Lates calcarifer*) e relataram que não houve efeito negativo no desempenho de crescimento e eficiência alimentar dos peixes, recomendando a inclusão de 3% da macroalga na dieta.

Abdel-Aziz e Ragab (2017) pesquisaram a substituição de 50% da dieta seca fornecida ao macua (*Siganus rivulatus*) pela macroalga fresca (*Ulva fasciata*) e tiveram efeito positivo sobre o desempenho e redução do custo da dieta.

O objetivo do presente estudo foi avaliar os índices de saúde, a atividade de catalase, glutathione S-transferase, composição corporal e morfometria intestinal de juvenis de beijupirá com a inclusão de diferentes porcentagens de alga marinha *Ulva fasciata* na dieta como alimento funcional.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultivo de Peixes Marinhos da Estação de Aquicultura Almirante Paulo Moreira (EAAPM), Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro (FIPERJ), Avenida das Américas, 31.501, Guaratiba, RJ. Com aprovação dos procedimentos éticos pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA- IZ) processo 23083.005745/2015-82.

O laboratório foi adaptado como modelo de um sistema de aquicultura multitrófica integrada (AMTI) em sistema de recirculação de água (Figura 1). O sistema foi composto de uma sala de criação de peixes, composta por 12 tanques circulares com 310 L de capacidade, onde foi conduzido o ensaio de inclusão do farelo de macroalgas na dieta. Além disso, o laboratório possui duas caixas para recepção e aclimatação de animais, com capacidade de 500 e 310 L, integrado ao sistema de recirculação.

O sistema de filtragem da água utilizado no Laboratório de Cultivo de Peixes Marinhos foi dotado de filtragem física (filtro de areia) e biológica em duas etapas: a primeira com bactérias nitrificantes inseridas no reservatório de 3000 L, no qual também foi acoplado um filtro *skimmer*, para remoção de matéria orgânica e a segunda com a macroalga *U. fasciata*, cultivada em tanques circulares de 50 L. A água do sistema passou por um filtro ultravioleta (UV) para a esterilização antes de abastecer os tanques.



**Figura 1.** Sistema de aquicultura multitrófica integrada em sistema de recirculação de água da EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.

## 2.1 Ensaio de Inclusão da Dieta

Este ensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (dietas) e três repetições, por um período experimental de 94 dias.

## 2.2 Animais

Os juvenis de beijupirá utilizados na pesquisa foram obtidos da Maricultura Redemar Alevinos, Ilha Bela – São Paulo, com 3 g em média, transportados em veículo com caixa de transporte de 500 L, com sistema de oxigenação, até as instalações da EAAPM.

Durante o período pré-experimental de duas semanas, os animais foram estocados em um tanque de polietileno de 500 L e foram alimentados com a dieta referência, isenta de farelo de *Ulva fasciata*, quatro vezes ao dia.

Para a biometria, os peixes foram pesados individualmente em balança eletrônica digital marca Marte, com precisão de 0,01 g e medidos, para determinação do comprimento padrão (BÉRTIN, 1958), com auxílio de paquímetro digital marca Mitutoyo (precisão de 0,1 mm). Posteriormente, os peixes foram classificados de acordo com o peso, e foram selecionados 240 peixes com  $7,0 \pm 1$  g de peso vivo os quais foram distribuídos nas unidades experimentais.

## 2.3 Unidades Experimentais

Foram utilizadas 12 unidades experimentais que consistiram em tanques de polietileno com 310 L de água, com 20 animais por tanque. Os módulos foram dotados de sistema de aeração individual, constante, através de aerador central, por meio de mangueiras 3/16' acopladas a pedras porosas. As lâmpadas fluorescentes foram ligadas entre o período das 7 às 19 horas, perfazendo o fotoperíodo de 12 horas.

Os tanques foram sifonados todos os dias para retirada de resíduos no fundo dos mesmos. A média de oxigênio dissolvido durante todo período foi de 5,74 mg/L, cuja medição foi realizada com auxílio de um oxímetro digital de marca Hanna. Com o uso de um pHmetro portátil de marca Hanna foram feitas avaliações de pH e temperatura cujas médias foram respectivamente 7,13 e 25,22 °C. A média de salinidade foi 34,13 ppm, sendo mensurada por meio de refratômetro portátil Quimis. As concentrações de amônia, nitrito, nitrato e fosfato, estimadas com fotômetro Hanna, foram respectivamente: 0,44 mg/L, 21 mg/L, 26,5 mg/L, e 21,5 mg/L.

## 2.4 Alimentação e Dietas Experimentais

Durante o período experimental, com duração de 94 dias, os peixes foram alimentados diariamente, três vezes ao dia (9h; 12h e 15h), com suas respectivas rações experimentais até saciamento aparente. Foram formuladas quatro dietas isoproteicas, isolipídicas e isocalóricas, contendo aproximadamente 45% de proteína bruta, 8,00% de extrato etéreo e 4000 kcal/kg de ração em energia bruta, de acordo com as exigências nutricionais desta espécie (CHOU et al., 2001). As dietas-teste tiveram quatro porcentagens de inclusão do farelo de macroalga na sua composição (0,00; 5,00; 10,00 e 15,00%) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Formulação e composição centesimal (base matéria seca) das dietas experimentais para juvenis de beijupirá (*Rachycentron canadum*).

<b>Ingredientes %</b>				
<b>Farinha de peixe</b>	40,00	40,00	40,00	40,00
<b>Farinha de vísceras de aves</b>	7,79	6,91	6,50	6,20
<b>Farelo de soja</b>	25,00	25,00	25,00	25,00
<b>Farelo de trigo</b>	15,00	14,98	8,77	1,27
<b>Fubá de milho</b>	9,56	5,00	6,48	9,20
<b>Óleo de peixe</b>	1,00	1,00	1,00	1,00
<b>Óleo de soja</b>	0,32	0,75	0,87	0,93
<b>DL - Metionina</b>	0,31	0,34	0,36	0,38
<b>Suplemento mineral/vitamínico<sup>1</sup></b>	1,00	1,00	1,00	1,00
<b>BHT</b>	0,02	0,02	0,02	0,02
<b>Alga marinha <i>U. fasciata</i></b>	0,00	5,00	10,00	15,00
<b>Composição (valores calculados)</b>				
<b>Proteína bruta (%)</b>	45,00	45,00	45,00	45,00
<b>Extrato etéreo (%)</b>	8,00	8,00	8,00	8,00
<b>Fibra bruta (%)</b>	2,92	3,60	3,80	3,90
<b>Matéria mineral (%)</b>	13,85	14,85	15,74	16,60
<b>Extrato não nitrogenado (%)</b>	32,00	30,99	30,09	29,23
<b>Energia bruta (kcal/kg)</b>	4151,00	4082,00	4002,00	3920,00
<b>Lisina (%)</b>	2,38	2,38	2,38	2,38
<b>Metionina (%)</b>	1,19	1,19	1,19	1,19
<b>Cálcio (%)</b>	2,30	2,29	2,29	2,30
<b>Fósforo (%)</b>	1,47	1,44	1,38	1,31

<sup>1</sup>Premix NUTRIFISH-GUABI. Porcentagens de garantia (kg produto): vit A min - 2500000 UI; vit D3 min - 600000 UI; vit E min - 37500 UI; vit K3 min - 3750 mg; vit C min - 50000 mg; tiamina (B1) min - 4000 mg; riboflavina (B2) min - 4000 mg; piridoxina (B6) min - 4000 mg; vit B12 min - 4000 mcg; niacina min - 22500 mg; biotina min - 15 mg; ácido fólico min - 1250 mg; pantotenato de cálcio min - 12000 mg; cobre min - 2500 mg; cobalto min - 125 mg; ferro min - 15 g; iodo min - 375 mg; manganês min - 12,5 g; selênio min - 87,5 mg; zinco min - 12,5 g. <sup>2</sup>Extrato não nitrogenado = 100 - (umidade + proteína bruta + extrato etéreo + fibra bruta + matéria mineral). <sup>3</sup> Composição centesimal do farelo de *Ulva fasciata*: 21,57% de matéria mineral, 1,22% de extrato etéreo, 3,16% de fibra bruta, 10,87% de fibra em detergente ácido (FDA), 17,69% de proteína bruta e 2477,98 kcal/kg de energia bruta em 86% de matéria seca.

Para a confecção das dietas, os ingredientes foram moídos em moinho a rotor e peneirados em malha de 30 *mesh*, pesados em balança centesimal (0,01 g) de acordo com a formulação e então misturados com o auxílio de misturador em Y, por 10 minutos. Em seguida, a mistura foi peletizada (Figura 2) e os peletes foram secos em estufa de circulação forçada (55°C, 48 h). Após a confecção, as dietas foram acondicionadas em sacos plásticos

com fecho hermético (zip lock) e acondicionadas em freezer (-15 °C) até o momento da utilização.

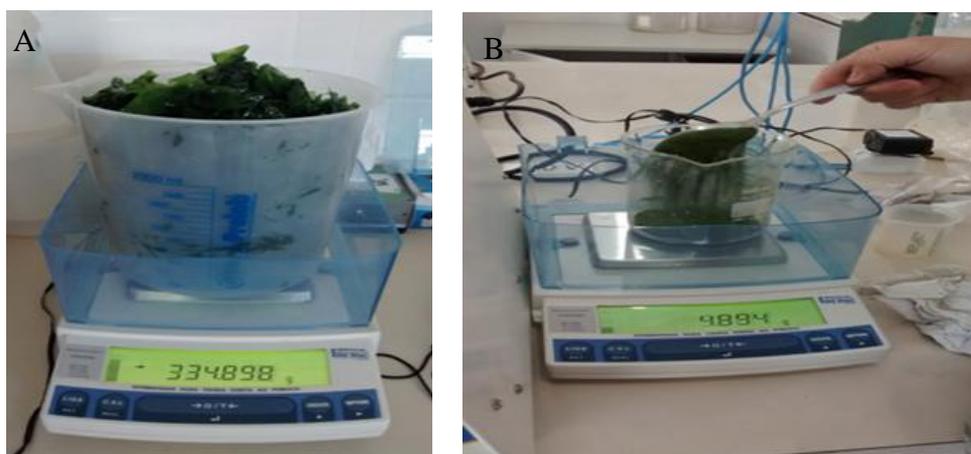


**Figura 2.** Dietas experimentais peletizadas no Laboratório de Alimentos e Alimentação da EAAPM, Guaratiba, RJ.

### 2.5 Farelo de *U. fasciata*

As macroalgas destinadas à produção do farelo foram cultivadas na EAAPM, em sistema *outdoor* e também no sistema de recirculação multitrófico instalado para a criação dos peixes.

Para a produção do farelo de macroalga, uma parte da biomassa de *U. fasciata* foi coletada quinzenalmente, pesada e seca em estufa de circulação forçada (55 °C) por 48 horas, e posteriormente triturada em moinho a rotor, com o intuito de se produzir um farelo com 90% de matéria seca e granulometria de 0,3 mm. O farelo foi colocado em saco plástico com fecho hermético (zip lock) e acondicionado em freezer (-15 °C) até o momento da utilização na confecção das dietas.



**Figura 3.** Pesagem em balança eletrônica Shimadzu de biomassa úmida de *U. fasciata* (A) e após secagem em estufa a 55 °C por 48 h (B) no Laboratório de Alimentos e Alimentação da EAAPM, Guaratiba, RJ.

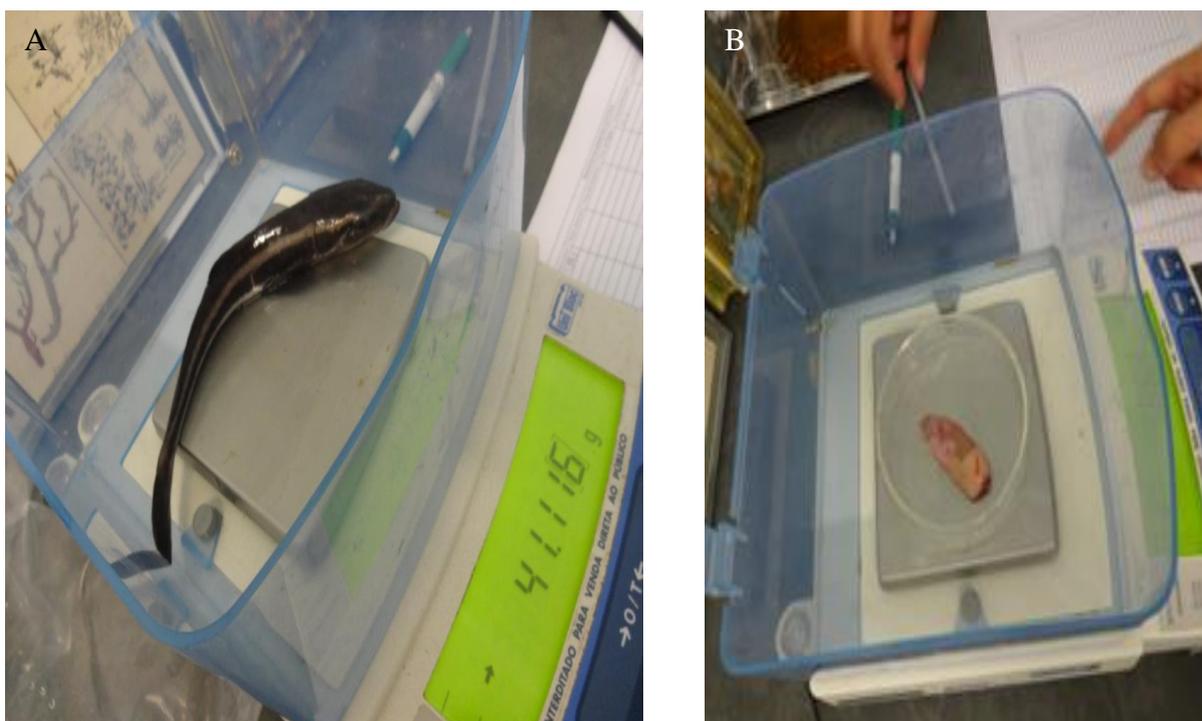
## 2.6 Índices Biométricos

Ao final do período experimental, aos 93 dias de experimento os peixes ficaram em jejum de 24 horas e após isso foram abatidos por hipotermia (gelo) e submetidos à biometria. Foram utilizados 4 peixes por unidade experimental e após pesagem corporal (Figura 4) foram eviscerados, e pesadas as vísceras e fígado separadamente para o cálculo dos índices viscerossomático (IVS) e hepatossomático (IHS). A fórmula de IVS e IHS é respectivamente:

$$\text{IVS (\%)} = 100 \times \frac{\text{(peso de vísceras (g))}}{\text{peso corporal (g)}}$$
$$\text{IHS (\%)} = 100 \times \frac{\text{(peso de fígado (g))}}{\text{peso corporal (g)}}$$

Os fígados foram colocados em tubos crioprotetores e armazenados em botijão de nitrogênio líquido (capacidade de 6 m<sup>3</sup>) para serem transportados para o Instituto de Química da UFRRJ, para serem armazenados em ultrafreezer a - 80 ° C até o momento da análise enzimática.

Os peixes eviscerados foram acondicionados em sacos hermeticamente fechados (zip lock) e armazenados em freezer a - 15 ° C para posterior análise de composição centesimal.



**Figura 4.** Biometria de beijupirá no Laboratório de Ecologia de Peixes da EAAPM-FIPERJ, Guaratiba, RJ. Peso corporal de beijupirá em balança eletrônica Shimadzu (A) e peso de vísceras (B).



**Figura 5.** Armazenamento de fígado de beijupirá em botijão de nitrogênio líquido. Laboratório de Ecologia de Peixes da EAAPM-FIPERJ, Guaratiba, RJ.

### **2.7 Determinação da Atividade Antioxidante das Enzimas Hepáticas**

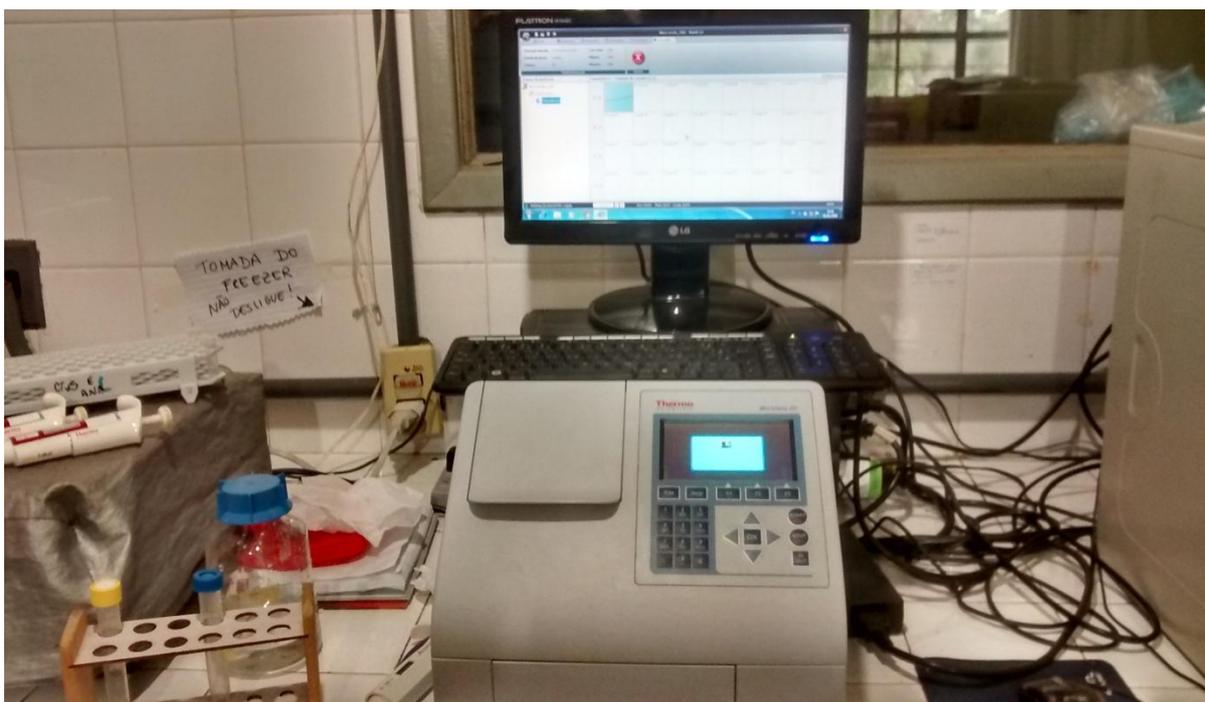
As amostras de fígado de beijupirá foram descongeladas, pesadas e homogeneizadas em homogeneizador Potter-Elvehjem teflon/vidro, numa proporção de 1,0 g de fígado para 4,0 mL de solução tampão gelada (fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 e sacarose 250 mM) (Figura 4). Os homogeneizados seguiram para o fracionamento a fim de realizar posteriormente os testes bioquímicos. A primeira fração foi feita em centrífuga a 1000 G de rotação por 10 minutos a 4 °C, forçando a precipitação de núcleos celulares. Uma parcela do sobrenadante deste processo foi recolhida, alíquotada e armazenada em freezer (aproximadamente -20 °C) até sua utilização na determinação de atividade enzimática da catalase. Após a centrifugação em 1000 G, o restante do sobrenadante foi submetido ao segundo fracionamento em centrífuga a 12000 G por 20 minutos a 4 °C para precipitação de mitocôndrias e lisossomos. O sobrenadante desta fração foi utilizado tanto para a determinação da atividade da catalase quando da glutationala S-transferase.



**Figura 6.** Preparo de frações solúveis de fígado de beijupirá no Laboratório de Bioquímica do Instituto de Zootecnia da UFRRJ.

A atividade de catalase (CAT) foi analisada por uma modificação do método de Aebi (1983). O meio reacional conteve tampão fosfato de potássio dibásico (50mM pH 7,0),  $\text{H}_2\text{O}_2$  11mM e, para comparação, proteína tanto da primeira quanto da segunda fração. A atividade de catalase foi estimada pela diminuição da absorvância da  $\text{H}_2\text{O}_2$ , medida por espectrofotômetro (marca Thermo) com 14 leituras em série a 240nm e intervalos de 10 segundos. Uma unidade de CAT foi definida pela quantidade de enzima requerida para decompor 1 mol de  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min}$ , e a atividade foi expressa em  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  proteína.

A atividade de glutathione S-transferase (GST) foi analisada através do método de Habig et al. (1974). O meio reacional conteve tampão fosfato de potássio mono e dibásico (100mM, pH 6,0), glutathione reduzida (GSH) 50mM, 1-cloro2,4-dinitrobenzeno (CDNB) 100mM (preparado em etanol) e proteína. A atividade de GST foi estimada pelo aumento da absorvância por meio do espectrofotômetro (marca Thermo) com 7 leituras em série a 340nm e intervalos 30 segundos (Figura 6). Para o cálculo da atividade específica da GST foi utilizado o coeficiente de absorvância molar  $9,6\text{mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima que catalisa a formação de 1  $\mu\text{mol}$  de produto/min. A atividade específica foi definida como  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  proteína.



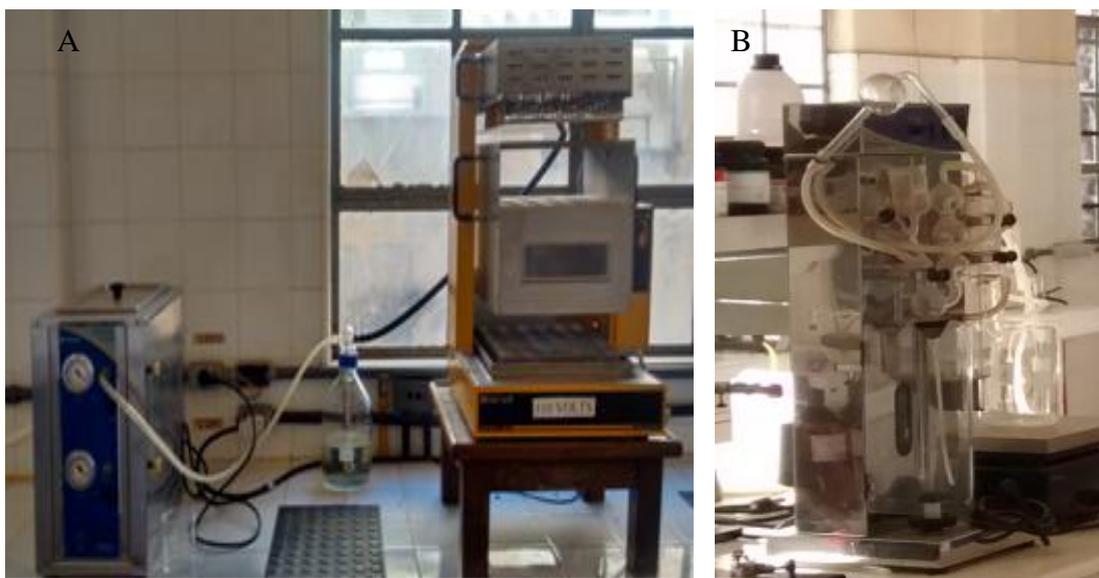
**Figura 7.** Dosagem da atividade da glutathione S-peroxidase (GST) no espectrofotômetro marca Thermo no Laboratório de Bioquímica do Instituto de Zootecnia da UFRRJ.

## 2.8 Determinação da Composição Centesimal

As amostras de macroalga seca *Ulva Fasciata* e de beijupirá eviscerado (quatro peixes por unidade experimental) foram submetidas às análises bromatológicas de acordo com o método oficial de análises da AOAC (2000) e algumas modificações por Silva e Queiroz (2006). A umidade foi determinada pelo método seco, pesando-se as amostras em estufa a 105 °C por 16 horas (secagem definitiva). As cinzas (ou matéria mineral) foram determinadas incinerando-se as amostras em forno mufla (Quimis) (Figura 8) a 600 °C por 4 horas, após resfriados em dessecador, os cadinhos com resíduo mineral foram pesados em balança analítica marca Shimadzu, obtendo-se as cinzas pela diferença entre o peso do cadinho vazio e o peso do cadinho mais resíduo mineral. A análise de proteína bruta (Figura 9) foi realizada pelo método de Kjeldhal (AOAC, 2000). Neste método, foi utilizado o bloco digestor de marca Gerhardt, e por meio de digestão ácida com o ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4$ ) e a mistura digestora sulfato de cobre ( $CuSO_4$ ) como catalisador da reação, o nitrogênio da amostra é transformado em amônio ( $NH_4^+$ ), o qual posteriormente foi separado por destilação (destilador marca Tecnal), nesse processo ao se adicionar o hidróxido de sódio (NaOH) a amônia desprendida foi transferida para um erlenmeyer contendo o ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) como indicador. A última fase da análise é a titulação, onde o borato de amônio ( $NH_4H_2BO_3$ ) foi titulado com uma solução-padrão de  $H_2SO_4$  0,05 N com fator conhecido, até a viragem do indicador. Para o cálculo de proteína bruta foi utilizado o fator de conversão 6,25, o qual é normalmente usado para transformar a porcentagem de nitrogênio em proteína. O cálculo de proteína bruta é feito com a seguinte fórmula: variação do volume gasto para titulação multiplicado pelo fator de correção do  $H_2SO_4$ , multiplicado pelo miliequivalente-grama do nitrogênio (0,014), dividido pelo peso da amostra.



**Figura 8.** Forno mufla Quimis utilizado para a determinação de cinzas, Unidade de Tecnologia de Pescado, EAAPM – FIPERJ, Guaratiba, RJ.



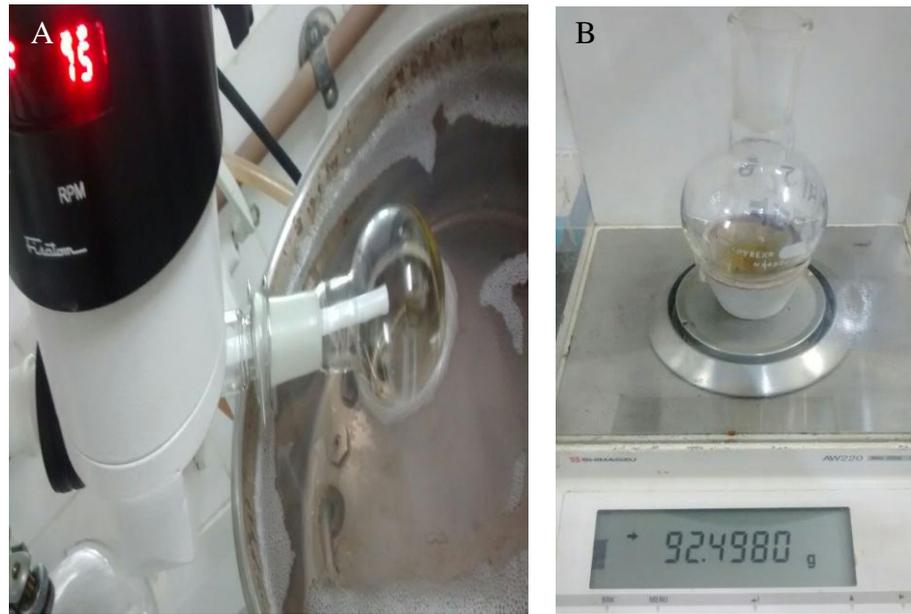
**Figura 9.** Bloco digestor Gerhardt utilizado para a digestão ácida pelo método de Kjeldhal (A), Destilador de nitrogênio Tecnal (B). Laboratório de Bromatologia, DNAP, UFRRJ.

Para a análise de lipídeo foi utilizado o método de Folch et al., (1957), utilizando-se a solução de clorofórmio-metanol 2:1 como solvente e após um período de descanso em funil de separação a porção polar foi separada da apolar (Figura 10), esta sendo recolhida, e separada do solvente apolar com o uso de um rota-evaporador marca Fisatom. Após isso o balão foi pesado, obtendo-se o lipídeo bruto pela diferença entre o peso do balão vazio e o peso do balão mais lipídeo bruto. A análise de fibra bruta ( Figura 12) do farelo de *U. fasciata* foi realizada seguindo o método oficial de análises da AOAC (2000), onde a amostra seca foi

submetida às digestões ácida ( $\text{H}_2\text{SO}_4 - 1,25\%$ ) e básica ( $\text{NaOH} - 1,25\%$ ) durante 30 minutos em cada digestão (digestor Quimis). O resíduo orgânico é recebido em cadinho de vidro. Calcula-se a fibra bruta pela diferença de peso do cadinho antes e após a queima do resíduo em mufla, a  $480\text{ }^\circ\text{C}$ . A análise de energia bruta (Figura 13) do farelo de *U. fasciata* foi determinada através da queima das amostras em bomba calorimétrica e cálculo multiplicando a variação de temperatura na queima da amostra pela constante hidrotérmica ( $2445,91\text{ cal}/^\circ\text{C}$ ), dividido pelo peso da amostra. As análises de proteína bruta, fibra bruta e energia bruta foram realizadas no Laboratório de Análises Bromatológicas no Departamento de Nutrição Animal e Pastagens do Instituto de Zootecnia, UFRRJ. As demais análises foram realizadas na Unidade de Tecnologia do Pescado (UTPo) da EAPPM, FIPERJ.



**Figura 10.** Extração de lipídeo bruto de beijupirá pelo método de Fouch, na Unidade de Tecnologia de Pescado da EAAPM-FIPERJ, Guaratiba, RJ. Partição em funil de separação



**Figura 11.** Rota evaporação do solvente em rota evaporador Fisatom; E pesagem do balão com lipídeo bruto em balança analítica Shimadzu.



**Figura 12.** Digestor marca Quimis, determinação de fibra bruta. Laboratório de Bromatologia, DNAP, UFRRJ.



**Figura 13.** Bomba calorimétrica utilizada para determinar a energia bruta do farelo de *Ulva fasciata*. Laboratório de Bromatologia, DNAP, UFRRJ.

## 2.9 Avaliações Morfométricas do Intestino de Juvenis de Beijupirá

Para as análises morfométricas do intestino, após os peixes serem sacrificados no Laboratório de Cultivo de Peixes Marinhos da EAAPM - FIPERJ, estes foram levados para o Laboratório de Ecologia de Peixes na EAAPM - FIPERJ, onde foram coletados os intestinos de dois peixes por unidade experimental (Figura 14). Neste estudo foi considerada a divisão do trato digestório segundo Bértin (1958), correspondendo ao intestino propriamente dito (intestino médio).

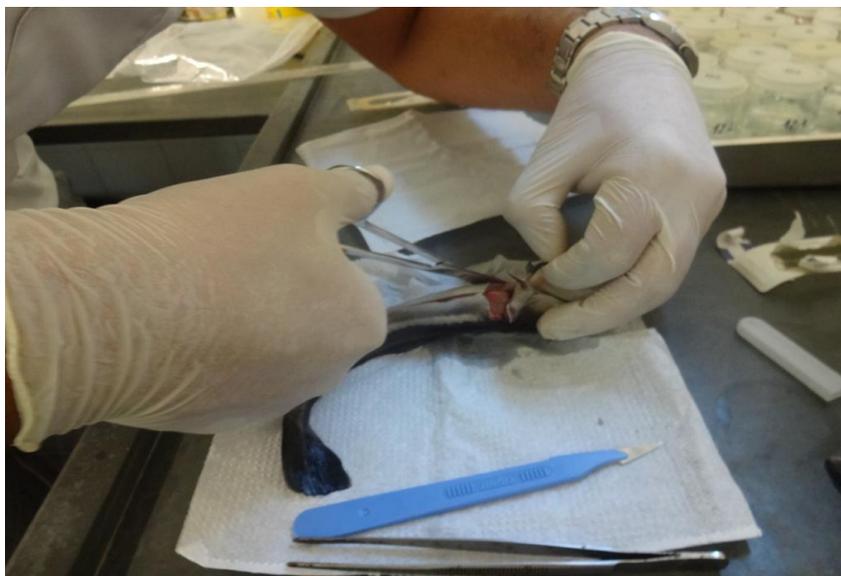
Foram fixadas em formol 10% as porções intestinais inteiras em frascos devidamente identificados. Após 48 horas em formol 10%, foram cortados fragmentos de aproximadamente 5 mm de três regiões do intestino médio (porção proximal, medial e distal). A proximal logo após o estômago, próximo aos cecos pilóricos, a medial no centro do intestino médio, e a distal próximo ao esfíncter íleorretal.

Os fragmentos foram acondicionados nos mesmos frascos, sendo feita a troca do formol 10% por etanol 70 ° GL, sendo realizadas várias trocas para retirada total do fixador.

No Laboratório de Histologia do instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da UFRRJ, foram submetidos às demais etapas do processamento histológico de rotina (em processador histológico automático), segundo Humason (1972): desidratação (em uma série de concentração crescente de etanol 70 ° GL a 100 ° GL); diafanização em xilol; impregnação e inclusão em parafina – Histosec (56-58 ° C) (Figura 15) para obtenção de cortes histológicos de 5  $\mu$  de espessura em micrótomo (rotativo) (Figura 16).

Posteriormente, para exame de arquitetura histológica do órgão pela microscopia de luz, estes foram desparafinados em xilol, hidratados em concentrações decrescentes de etanol, corados pela hematoxilina de Delafield (cerca de 3 minutos), banhados em água corrente por 10 minutos, corados com eosina por 1 minuto; lavados em água destilada, desidratados em soluções crescentes de etanol, clarificados em xilol I, II e III por 2 minutos em cada e montados entre lâmina e lamínula com Entellan (Figura 17).

Os cortes histológicos foram fotomicrografados e analisados com auxílio de microscópio de captura de imagens utilizando objetiva de 10X e de cada amostra avaliou-se as medidas de altura e largura de vilosidades, e a relação largura/altura de vilosidade, com o auxílio do *software* LABOMED (Figura 15).



**Figura 14.** Incisão ventral e retirada do trato digestório de juvenis de beijupirá realizada no Laboratório de Ecologia de Peixes na EAAPM - FIPERJ.



**Figura 15.** Inclusão de parafina no fragmento de intestino médio de beijupirá no Laboratório de Histologia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da UFRRJ.



**Figura 16.** Obtenção de cortes histológicos de intestino médio de beijupirá com  $5\ \mu$  de espessura em micrótomo rotativo no Laboratório de Histologia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da UFRRJ.



**Figura 17.** Cortes histológicos de intestino médio de beijupirá; Laboratório de Histologia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da UFRRJ.

## 2.10 Análises Estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Tukey) a 5% de probabilidade de erro para os parâmetros: peso corporal, peso de vísceras, peso de fígado, IVS, IHS e composição centesimal de juvenis de beijupirá, atividade de catalase, glutathione S-transferase e medidas morfométricas do intestino médio.

O modelo estatístico adotado para as medidas avaliadas no experimento foi:

$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ , em que:

$Y_{ij}$ : valor observado relativo ao tratamento  $i$ , na repetição  $j$ ;

$\mu$ : média geral do experimento;

$T_i$ : efeito do tratamento  $i$ ,  $i$  = porcentagens de *Ulva fasciata* (0; 5,00; 10,00; 15,00%), sendo  $i = 1, 2, 3$  e  $4$ .

$e_{ij}$ : erro aleatório associado a cada observação, associado ao tratamento  $i$  na repetição  $j$ , sendo  $j = 1, 2$  e  $3$ .

Foi utilizado o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2010) para a realização das análises estatísticas.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Índices Biométricos

Houve diferença estatística para peso corporal aos 94 dias e peso de vísceras. Não havendo diferença  $P > 0,05$  para peso de fígado e índices viscerossomático (IVS) e hepatossomático (IHS) (Tabela 2).

Batista (2008) ao incluir o farelo de *Ulva rígida* (5 a 25%) em dieta seca de dourada (*Sparus aurata*) também observou diferença estatística para peso corporal ao final do experimento, obtendo maior peso nos animais que receberam a macroalga a 25% de inclusão. Esse autor também não obteve diferença ( $P > 0,05$ ) para IVS, e diferente do presente estudo, obteve menor IHS nos peixes que ingeriram a dieta contendo níveis crescentes de *Ulva rígida*.

Por outro lado, Natify et al. (2015) não encontraram diferenças ( $P > 0,05$ ) para índices biométricos em tilápias do Nilo alimentadas com dieta seca contendo 5 e 10% de farelo de *Ulva lactuca*. Peixoto et al. (2016) também não encontraram diferenças estatísticas para os índices biométricos de robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) incluindo três gêneros diferentes de macroalgas (*Gracilaria spp.*; *Ulva spp.*; e *Fucus spp.*) às dieta referência em duas porcentagens, 2,5 e 7,5%.

**Tabela 2.** Índices biométricos de juvenis de beijupirá.

Tratamentos	Peso corporal(g)	Peso visceral(g)	Peso de fígado(g)	IV*(%)	IH** (%)
Dieta sem <i>U. fasciata</i>	44,64 <sup>b</sup>	6,20 <sup>b</sup>	1,47	13,89	3,27
Dieta com 5% de <i>U. fasciata</i>	55,82 <sup>a</sup>	7,41 <sup>ab</sup>	1,54	13,26	2,76
Dieta com 10% de <i>U. fasciata</i>	63,74 <sup>a</sup>	9,03 <sup>a</sup>	1,97	14,16	3,10
Dieta com 15% de <i>U. fasciata</i>	55,10 <sup>a</sup>	7,96 <sup>a</sup>	1,71	14,47	3,08
CV (%)	6,25	8,45	13,76	5,33	10,07

\*Índice viscerossomático.

\*\*Índice hepatossomático.

Médias com letras diferentes na linha diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

#### 3.2 Determinação da Atividade Antioxidante das Enzimas Hepáticas

Houve efeito significativo  $P < 0,05$  para atividade de catalase mitocondrial (S1) e citoplasmática (S2) do fígado aos 94 dias de experimentação de juvenis de beijupirá (Tabela 3 e Figura 18).

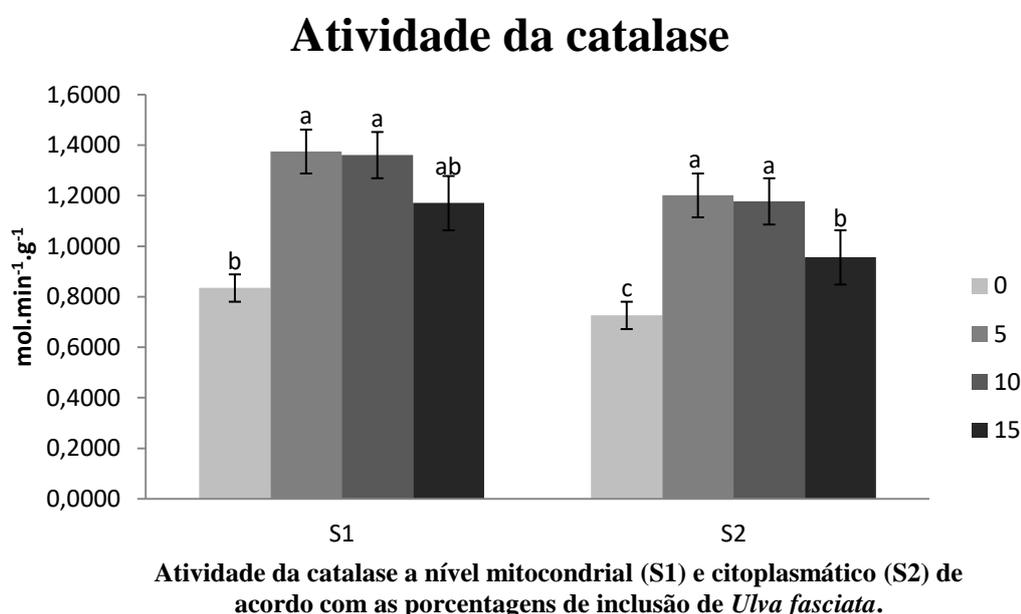
Pode-se observar que a maior atividade de catalase ocorreu no tratamento que recebeu 5% e 10% de *U. fasciata* em relação ao tratamento que não recebeu a alga. Isso pode indicar a ação antioxidante da *U. fasciata* evidenciada em vários estudos (FLEURENCE, 1999; MEENAKSHI et al., 2009; CHAKKARAVARTHY; KUMAR, 2011).

**Tabela 3.** Atividade de catalase no fígado de juvenis de beijupirá.

Tratamentos	Atividade da catalase S1	Atividade da catalase S2
Dieta sem <i>U. fasciata</i>	0,8349 <sup>b</sup>	0,7266 <sup>c</sup>
Dieta com 5% de <i>U. fasciata</i>	1,3753 <sup>a</sup>	1,2017 <sup>a</sup>
Dieta com 10% de <i>U. fasciata</i>	1,3612 <sup>a</sup>	1,1780 <sup>a</sup>
Dieta com 15% de <i>U. fasciata</i>	1,1711 <sup>ab</sup>	0,9563 <sup>b</sup>
CV (%)	24,39	13,43

Médias com letras diferentes na linha diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

S1: atividade de catalase mitocondrial ( $\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ); S2: atividade de catalase citoplasmática ( $\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ).



**Figura 18.** Atividade de catalase no fígado de juvenis de beijupirá.

Sabe-se que os peixes são suscetíveis a o ataque de espécies reativas de oxigênio e desenvolveu defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas contra o estresse antioxidativo (MARTÍNEZ-ÁLVAREZ et al., 2005; FONTAGNÉ-DICHARRY et al., 2014).

A formação de radicais livres in vivo ocorre via catalítica de enzimas. Na maioria dos casos, os radicais livres são originados fisiologicamente, como consequência dos processos de transferência de elétrons, no metabolismo celular de sistemas biológicos. Como é o caso da produção de radicais livres pelas mitocôndrias como consequência da fosforilação oxidativa, sendo este o principal local de formação destas substâncias (SILVA; FERRARI, 2011). No entanto, diversas enzimas antioxidantes impedem a cascata de reações oxidantes, interceptando e inativando os intermediários reativos de oxigênio, fechando o ciclo lipídico de peroxidação (MARTÍNEZ-ÁLVAREZ et al., 2005).

A enzima catalase (CAT, EC 1.11.1.6), um componente de defesa antioxidante primário, exerce duas funções importantes: a decomposição de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

a água e oxigênio ( $H_2O + O_2$ ) e a oxidação de compostos hidrogenados, como metanol, etanol, ácido fórmico, fenóis, com o consumo de um mol de peróxido (AEBI, 1984).

No presente estudo para avaliar a atividade de catalase foi realizado o fracionamento das amostras de fígado em duas centrifugações, 1000 G, obtendo o sobrenadante denominado S1 representando a catalase mitocondrial, e 12000 G, para obter o sobrenadante S2, com precipitação das mitocôndrias e lisossomos. O objetivo nesse fracionamento foi verificar a concentração de atividade da catalase em cada um desses sobrenadantes.

A catalase é uma enzima intracelular localizada principalmente em peroxissomos hepáticos. Entretanto também há atividade de catalase em mitocôndrias hepáticas. Existem estudos que sugerem que a atividade de catalase mitocondrial seja maior por estar acoplada a atividade da superóxido dismutase com cofator manganês (SOD-Mn) (PETROVA et al., 2002; LISMONT et al., 2015).

Os peixes que receberam 15% de *U. fasciata* não apresentaram diferença significativa de atividade da catalase mitocondrial (S1) em relação às menores porcentagens de inclusão da alga e a não inclusão.

Em relação à atividade da catalase citoplasmática (S2), as maiores atividades ( $P < 0,05$ ) também foram observadas no fígado de peixes que receberam 5 e 10% de *U. fasciata*. No entanto, em S2 a atividade de catalase nos peixes que receberam 15% de *U. fasciata* foi menor ( $P < 0,05$ ) que nos peixes que receberam as menores porcentagens da macroalga. Isso pode sugerir que a inclusão da alga em maior concentração atuou como defesa primária antioxidante, ou seja, reduzindo a formação de ROS. Assim, poderia ser explicada a menor atividade da catalase. Sabe-se que a catalase é uma enzima que age desativando ROS do tipo  $H_2O_2$ , obtendo como produto  $H_2O$  e  $O_2$ . Um antioxidante exógeno que age semelhantemente é o  $\beta$ -caroteno (SINGH et al., 2004). Sabe-se que o gênero *Ulva* apresenta carotenoides em sua composição química e que estes conferem a ela potencial antioxidante (EL-BAKY et al., 2008). Pontes et al. (2016), cultivaram a macroalga *Ulva fasciata* em sistema *outdoor* na EAAPM – Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro, encontraram valores de luteína e  $\beta$ -caroteno de 1,07 e 1,06%, respectivamente. Então o potencial antioxidante da *U. fasciata* poderia ser por atuar tanto como uma barreira primária como secundária aos radicais livres.

Barbosa (2017) encontrou na macroalga *Ulva fasciata* (seca) maior atividade antioxidante *in vitro* pelo método de consumo de DPPH do extrato hexanoico, que é um solvente apolar, e o mesmo extrato obtido por decocção a 80 °C. Esse autor testou essa temperatura de decocção por ser a temperatura em que a dieta de peixes é submetida no processo de peletização.

Esse achado de Barbosa (2017) colabora para a hipótese de que a atividade antioxidante de *Ulva fasciata* pode provir dos compostos lipossolúveis da macroalga *Ulva fasciata*, como a vitamina A e o seu precursor  $\beta$ -caroteno, ou de outros carotenoides presentes na alga marinha.

Por outro lado, os compostos hidrossolúveis, como os fenóis, podem exercer a defesa antioxidante de forma sinérgica com os compostos hidrossolúveis. Barbosa (2017) observou a presença de compostos fenólicos nos extratos e frações analisados na *Ulva fasciata*, embora os mesmos apresentaram baixa atividade antioxidante DPPH.

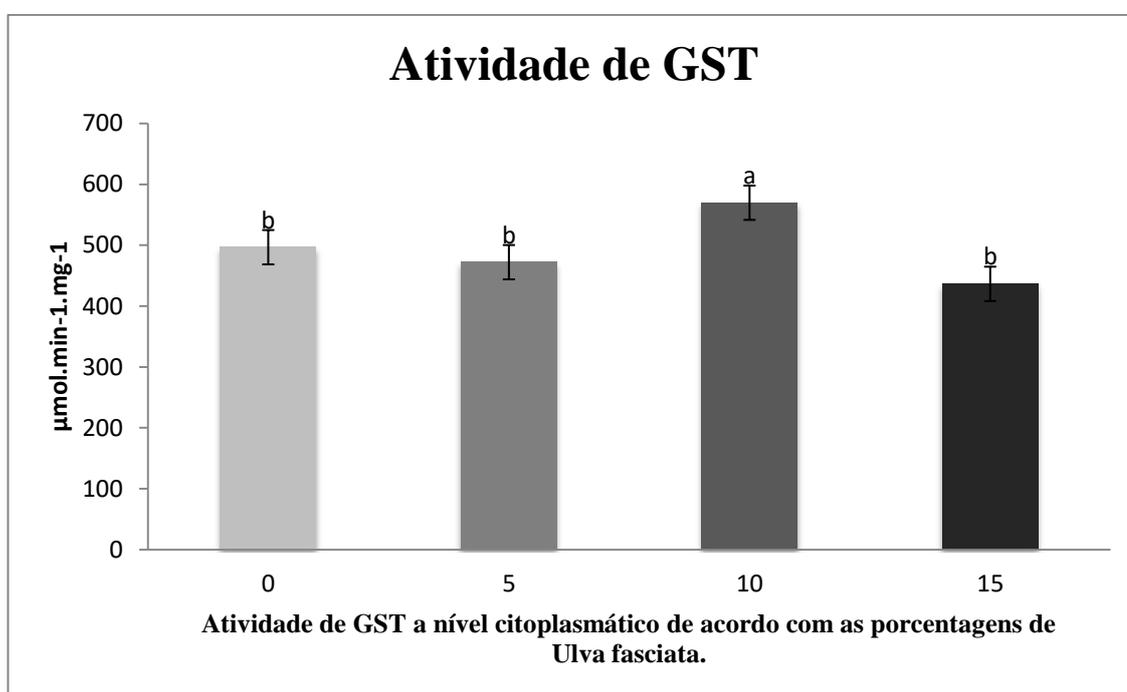
Houve efeito significativo  $P < 0,05$  para atividade de glutathione S-transferase (GST) do fígado aos 94 dias de idade de juvenis de beijupirá (Tabela 4 e Figura 19).

Pode-se observar que a maior atividade de GST ocorreu no tratamento que recebeu 10% de *U. fasciata* em relação ao tratamento que não recebeu a alga e demais porcentagens da alga.

**Tabela 4.** Atividade de glutathione S-transferase (GST) no fígado de juvenis de beijupirá.

Tratamentos	Atividade de glutathione S-transferase (GST)
Dieta sem <i>U. fasciata</i>	496,7 <sup>b</sup>
Dieta com 5% de <i>U. fasciata</i>	472,07 <sup>b</sup>
Dieta com 10% de <i>U. fasciata</i>	569,75 <sup>a</sup>
Dieta com 15% de <i>U. fasciata</i>	436,5 <sup>b</sup>
CV (%)	10,02

Médias com letras diferentes na linha diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey. Atividade de glutathione S-transferase (GST) ( $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ).



**Figura 19.** Atividade de glutathione S-transferase (GST) no fígado de juvenis de beijupirá.

A cadeia respiratória mitocondrial exerce papel-chave no funcionamento celular, sendo responsável pela conversão do  $\text{O}_2$  à água, em um processo de redução que envolve 4 elétrons e um complexo sistema metaloenzimático (DABROWSKI; GUDERLEY, 2002). Uma pequena parte deste  $\text{O}_2$  não é convertida à água por vazamento eletrônico associado a imperfeições na cadeia respiratória, dando origem às espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) (TOLEDANO et al, 2003). Como mecanismo de defesa interno contra os efeitos deletérios dessas espécies reativas, enzimas específicas são ativadas para realizar a inativação destas.

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição à fatores exógenos. A ocorrência de um estresse oxidativo moderado, frequentemente é acompanhada do aumento das defesas antioxidantes enzimáticas (BIANCHI; ANTUNES,

1999). Para proteger-se, a célula possui um sistema de defesa que pode atuar em duas linhas. Uma delas atua como desintoxicadora do agente antes que ele cause lesão. Esta linha é constituída por glutathiona reduzida (GSH), superóxido-dismutase (SOD), catalase, glutathiona-peroxidase (GSH-Px) e vitamina E. A outra linha de defesa tem a função de reparar a lesão ocorrida, sendo constituída pelo ácido ascórbico, pela glutathiona-redutase (GSH-Rd) e pela GSHPx, entre outros (VASCONCELOS et al., 2007).

As Glutathionas S-Transferases (GSTs) (E.C 2.5.1.18) são um grupo de enzimas que apresentam especificidades comuns em relação ao substrato aceptor eletrofílico. Uma característica da GST é a elevada especificidade pela glutathiona reduzida (GSH); após combinada, apresenta maior especificidade para um segundo substrato. A GSH, formada pelos aminoácidos glicina, cisteína e glutamato, é o co-fator para a GST. A capacidade redutora da GSH é determinada pelo grupamento SH, presente na cisteína. Considerada a principal enzima desintoxicadora da fase II, desempenha papel fisiológico na iniciação da desintoxicação de potenciais agentes alquilantes, incluindo compostos farmacologicamente ativos, gerados intracelularmente ou encontrados na forma de xenobióticos (WHEATLEY et al., 1994).

Durante o experimento a temperatura média foi de 25 °C e foi observado em muitos momentos o comportamento de “descanso” no fundo dos tanques, como uma forma de poupar energia em um possível estresse térmico de perda de calor para o meio.

Os peixes são animais ectotérmicos e, portanto, suas funções metabólicas são muito influenciadas pela temperatura do ambiente onde vivem. O beijupirá é encontrado em águas onde a temperatura pode variar entre 16 a 32 °C suportando temperaturas de até 37,7 °C, mas expressa melhor desempenho de crescimento e maior atividade metabólica em temperatura entre 27 e 33°C (SHAFFER; NAKAMURA, 1989; SUN et al., 2006; SUN; CHEN, 2014).

Giannenas et al. (2015) testaram a inclusão de probiótico comercial em dieta para truta-arco-íris e como biomarcador de possível ação antioxidante do probiótico avaliaram a atividade de GST e CAT. Os mesmos autores observaram que os peixes que receberam o probiótico tiveram a atividade aumentada dessas enzimas antioxidantes.

Ding et al. (2017) adicionaram à dieta de juvenis de beijupirá alanil glutamina e vitamina E e observaram aumento de CAT e GST nos animais suplementados.

### 3.3 Composição Centesimal de Juvenis de Beijupirá

Houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) para composição corporal de juvenis de beijupirá eviscerados (Tabela 5). A umidade da composição corporal de juvenis de beijupirá eviscerados não diferiu ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos (sem inclusão de alga e com 5, 10 e 15% de *Ulva fasciata*).

Em relação às cinzas, não houve diferença ( $P > 0,05$ ) em relação aos demais tratamentos.

A porcentagem de lipídeos dos peixes que não receberam a macroalga *Ulva fasciata* foi significativamente menor do que a porcentagem de lipídeo dos peixes que receberam 10 e 15% de *Ulva fasciata*. Os peixes que receberam 5% da macroalga *Ulva fasciata* tiveram valores intermediários ( $P < 0,05$ ) de lipídeo bruto em sua composição corporal.

A porcentagem de proteína bruta corporal não diferiu significativamente entre os tratamentos.

Ao pesquisarem a inclusão do prebiótico MOS adicionado como enriquecimento de alimento vivo para larvas de beijupirá, Salze et al. (2008) observaram melhora no desempenho e composição corporal.

**Tabela 5.** Composição centesimal (matéria natural) de juvenis de beijupirá eviscerados.

Tratamentos	Umidade (%)	Cinzas (%)	Lipídeo (%)	Proteína (%)	Retenção proteica
Dieta sem <i>U. fasciata</i>	78,78	4,19	2,11 <sup>b</sup>	14,54	0,33
Dieta com 5% de <i>U. fasciata</i>	78,31	4,03	2,72 <sup>ab</sup>	15,57	0,36
Dieta com 10% de <i>U. fasciata</i>	78,86	3,74	2,89 <sup>a</sup>	14,97	0,28
Dieta com 15% de <i>U. fasciata</i>	77,37	3,99	3,18 <sup>a</sup>	14,73	0,29
CV (%)	2,2	10,95	9,32	8,82	13,20

Médias com letras diferentes na linha diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

A alimentação de tilápia do Nilo com 5% de farelo de *Ulva* em dietas com 10% ou 20% de lipídeos, resultou na melhoria do crescimento, eficiência alimentar, utilização de nutrientes e composição corporal (ERGUN et al., 2008).

Morshedi et al. (2017) utilizaram a macroalga *Gracilaria pulvinata*, incluída à dieta seca (até 9%) fornecida ao barramundi (*Lates calcarifer*) também não encontraram diferenças significativas para a composição corporal (umidade, lipídeo bruto, proteína bruta e cinzas), recomendando a inclusão de 3% da macroalga na dieta.

Abdel-Aziz e Ragab (2017) pesquisaram a substituição de 50% da dieta seca fornecida ao macua (*Siganus rivulatus*) pela macroalga fresca (*Ulva fasciata*) e tiveram efeito positivo sobre a composição corporal dos peixes, com aumento de proteína bruta e redução de lipídeo bruto. Esses resultados estão de acordo com o presente estudo, em que os juvenis de beijupirá apresentaram redução do lipídeo bruto com a inclusão do farelo de *Ulva fasciata*, embora não tenha havido diferença ( $P > 0,05$ ) para proteína bruta na composição corporal.

Vários estudos mostraram que pequenas quantidades (2,5-10% da dieta) de algas nas dietas de peixe resultou em efeitos positivos, incluindo: aumento do desempenho do crescimento, eficiência da utilização dos alimentos, qualidade da carcaça, atividade fisiológica, micro biota intestinal (MUSTAFA; NAKAGAWA, 1995; VALENTE et al 2006), resistência a doenças, melhora da resposta ao estresse, modulação da metabolismo lipídico e retenção de proteína melhorada durante o período de inverno, quando há redução de ingestão de alimento (NAKAGAWA et al., 1987; SATOH et al., 1987; NAKAGAWA et al, 1997; WASSEF et al., 2005).

### 3.4 Avaliações Morfométricas do Intestino de Juvenis de Beijupirá

Não houve diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) para morfometria do intestino delgado de juvenis de beijupirá (Tabela 7). Esse resultado pode indicar que a inclusão de *U. fasciata* à dieta não prejudica a área de absorção intestinal de juvenis de beijupirá.

**Tabela 6.** Altura, largura e relação largura/altura das vilosidades intestinais de juvenis de beijupirá.

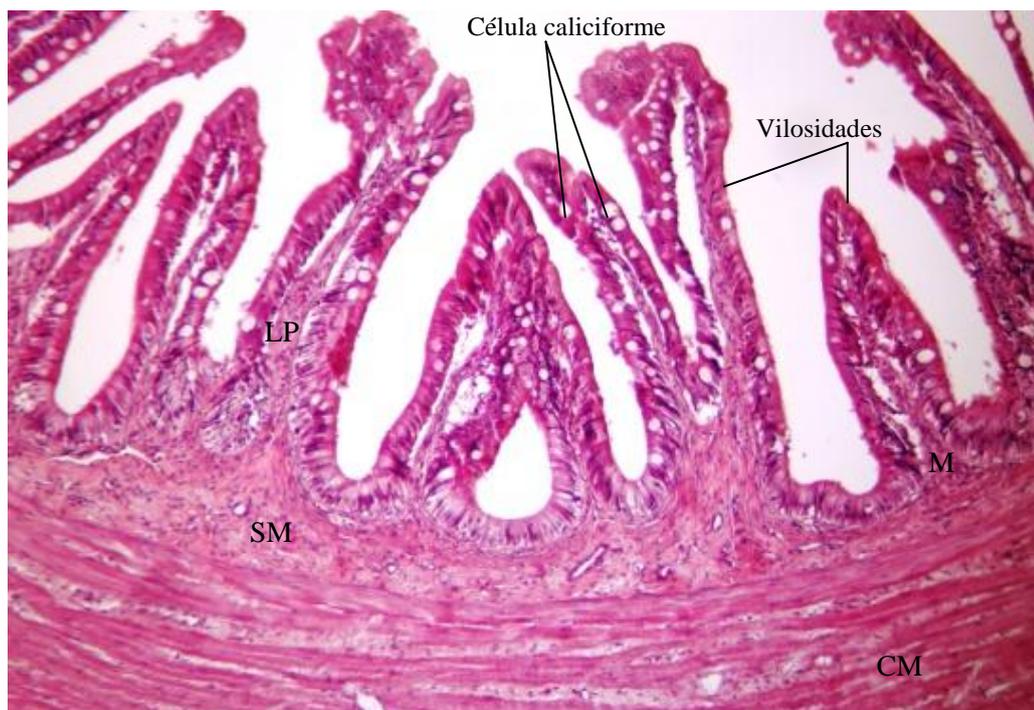
Tratamentos	Tratamentos*				
	D 0	D 5	D 10	D 15	CV (%)
Altura da vilosidade ( $\mu\text{m}$ )					
Proximal	76,09	87,01	92,64	103,92	27,12
Medial	137,97	149,91	174,46	167,16	17,06
Distal	154,12	139,59	174,21	177,33	25,48
Largura da vilosidade ( $\mu\text{m}$ )					
Proximal	29,25	31,85	31,02	29,73	23,18
Medial	36,5	34,95	41,01	47,64	19,38
Distal	44,98	40,43	50,43	49,19	22,67
Largura/altura					
Proximal	0,40	0,39	0,35	0,29	27,27
Medial	0,27	0,25	0,24	0,29	25,70
Distal	0,29	0,33	0,31	0,29	35,82

\* D 0 - Dieta sem *U. fasciata*, D 5 - Dieta com 5% de *U. fasciata*, D 10 - Dieta com 10% de *U. fasciata* e D 15 - Dieta com 15% de *U. fasciata*.

Médias com letras diferentes na linha diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Resultados semelhantes para beijupirá foram encontrados por Watson et al. (2014), avaliando a substituição de farinha de peixe por farelo de soja não observaram diferenças significativas para as medidas morfométricas do intestino delgado dos peixes.

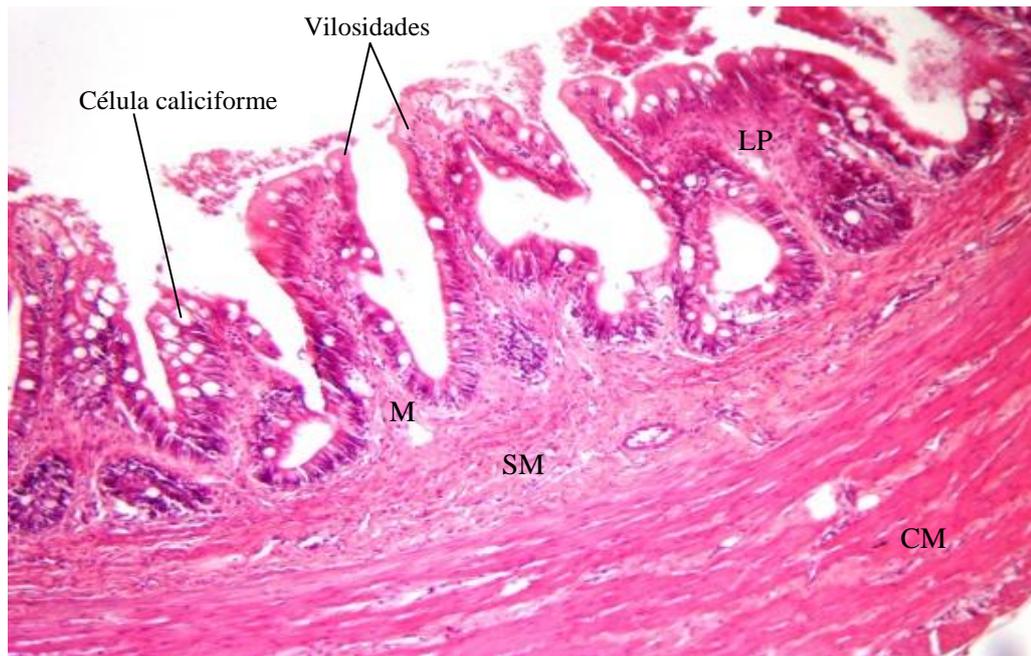
A análise histológica dos cortes histológicos foi realizada sem evidenciar alterações de anormalidade sobre o epitélio intestinal (Figura 20 a 23).



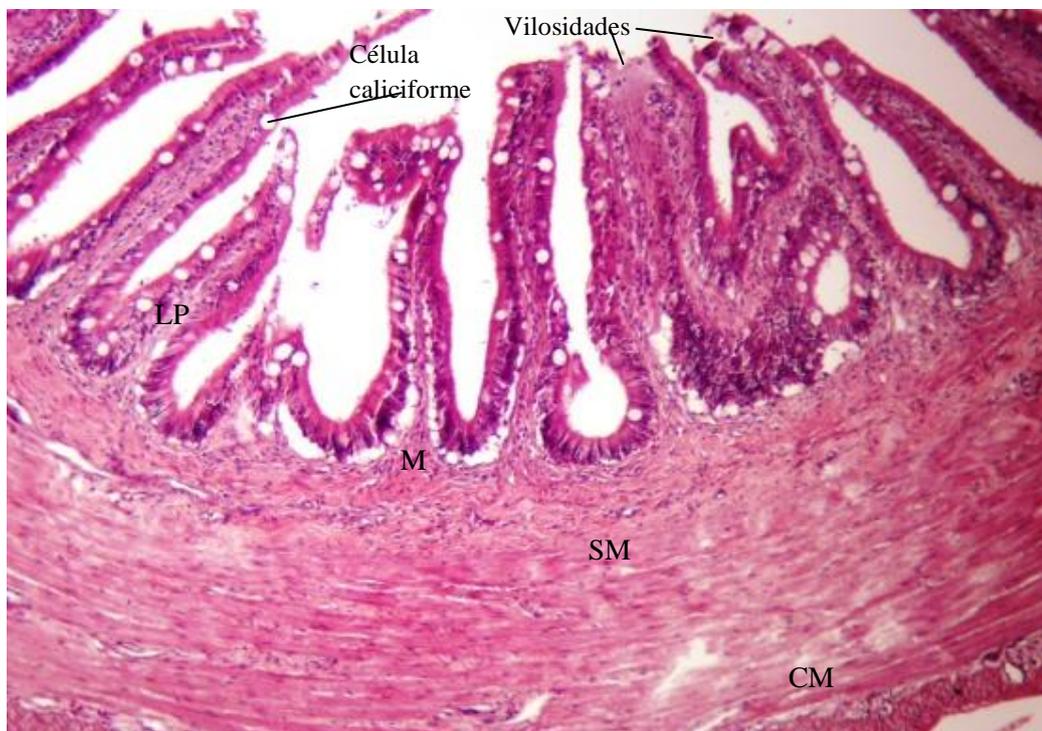
**Figura 20.** Cortes histológicos (10x) do intestino médio de beijupirá. Peixes que não receberam *U. fasciata*. Camada Muscular (CM), Submucosa (SM), Mucosa (M) e Lâmina Própria (LP).



**Figura 21.** Cortes histológicos (10x) do intestino médio de beijupirá. Peixes que receberam 5% de *U. fasciata*. Camada Muscular (CM), Submucosa (SM), Mucosa (M) e Lâmina Própria (LP).



**Figura 22.** Cortes histológicos (10x) do intestino médio de beijupirá. Peixes que receberam 10% de *U. fasciata*. Camada Muscular (CM), Submucosa (SM), Mucosa (M) e Lâmina Própria (LP).



**Figura 23.** Cortes histológicos (10x) do intestino médio de beijupirá. Peixes que receberam 15% de *U. fasciata*. Camada Muscular (CM), Submucosa (SM), Mucosa (M) e Lâmina Própria (LP).

Romarheim et al. (2008) também relataram não terem encontrado evidências de processos inflamatórios na mucosa intestinal de juvenis de beijupirá alimentados com dietas contendo farelo de soja.

Entretanto, Araújo et al. (2014) realizaram análise histológica de juvenis de beijupirá alimentados com dietas contendo porcentagens de substituição de farinha de peixe por farelo de soja. Estes autores relataram dados relevantes sobre o efeito de progressivas inclusões do farelo de soja em dietas para o beijupirá associado ao aparecimento de lesões nos órgãos da espécie. Na região distal dos intestinos analisados, observaram-se a presença de vacúolos supranucleares nos enterócitos, infiltração de leucócitos na lâmina própria dos vilos, deformação estrutural das vilosidades, assim como variação na quantidade de células caliciformes e espessura da submucosa intestinal em quase todos os tratamentos.

García-Ortega et al. (2016) ao avaliarem a histologia do intestino distal de garoupa (*Epinephelus lanceolatus*) alimentadas com dieta com substituições crescentes de farinha de peixe por farelo de soja e com inclusão de farelo de alga marinha (*Schizochytrium limacinum*) revelou a parede intestinal saudável consistindo em quatro camadas primárias: epiteliais mucosa com vilosidades abundantes (dobras da mucosa) e copas numerosas células, mucosa subepitelial, muscular e serosa. Esses autores observaram perda geral na integridade do tecido e alterações na relação de largura/altura de vilosidades da mucosa.

#### 4 CONCLUSÕES

A inclusão do farelo de macroalga *Ulva fasciata* teve efeito positivo à saúde dos peixes prevenindo o estresse oxidativo e proporcionando aumento de peso nos juvenis de beijupirá. Proporcionou redução da porcentagem de lipídeo bruto na composição corporal dos juvenis de beijupirá, sem alteração de umidade, proteína bruta e cinzas. Também não houve alteração na morfometria do intestino médio dos juvenis de beijupirá.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-AZIZ, M., RAGAB, M. Effect of use fresh macro algae (seaweed) *Ulva fasciata* and *Enteromorpha flexusa* with or without artificial feed on growth performance and feed utilization of rabbitfish (*Siganus rivulatus*) fry. **Journal of Aquaculture Research & Development**, v. 8, n. 4, p. 1-8, 2017.
- AEBI, H.E. Catalase. In: **Methods of Enzymatic Analysis**, 3 ed., BERGMAYER, H.U. (ed); CHEMIE, V. Weinheim, Florida, 1983. p. 273–286.
- ARNOLD, C.R.; KAISER, J.B.; HOLT, G.J. Spawning of Cobia *Rachycentron canadum* in Captivity. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 33, n. 2, p. 205-208, 2002.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official Methods of Analysis**, 17 ed. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, 2000.
- ARAÚJO, P.F.R.; COELHO, M. das G.L.; HOLANDA, M.B.C.; NUNES, A.J.P.; ANDRADE, T.P. de. NUNES, A.J.P. Investigação histopatológica do fígado e intestino e hematologia de juvenis do beijupirá, *Rachycentron canadum*, alimentados com crescentes níveis de inclusão de farelo de soja em dietas práticas. In: **Ensaio com beijupirá: *Rachycentron canadum***. Fortaleza: Ministério da pesca e Aquicultura/CNPQ/UFC, 2014.
- BANERJEE, K.; MITRA, A.; MONDAL, K. Cost-effective and eco-friendly shrimp feed from red seaweed *Catenella repens* (Gigartinales: Rhodophyta). **Current Biotchnology**, v. 4, p. 23–43, 2010.
- BATISTA, S.I.M. **Efeito da substituição da farinha de peixe por farinha de algas *Gracilaria sp.* e *Ulva rigida* no crescimento e nos parâmetros metabólicos da dourada (*Sparus aurata*)**. Dissertação de mestrado integrado de Engenharia Biológica. Universidade do Algarve, Faro: 2008. 58p.
- BIANCHI, M.L.P de; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta free radicals and the main dietary antioxidants. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- CHAKKARAVARTHY, M.V.; KUMAR, V. HPTLC Finger Print Analysis of Steroid, Flavonoid and Antiradical activity in *Sargassum wightii* from Gulf of Mannar. **Research Journal Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 3, n. 2, p. 72-74, 2011.
- CHOU, R.L.; SU, M.S.; CHEN, H.Y. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 193, p. 81-89, 2001.
- CHOU, R.L.; HER, B.Y., SU, M.S.; HWANG, G.; WU, Y.H.; CHEN, H.Y. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v. 229, p. 325-333, 2004.
- CRAIG, S.R.; SCHWARZ, M.H.; MCLEAN, E. Nutrition research with cobia. **Global Aquaculture Advocate**, v.8, p.76-78, 2005.

ERGUN, S.; SOYUTURK, M.; GUROY, B.; GUROY D.; MERRIFIELD, D. Influence of *Ulva* meal on growth, feed utilization, and body composition of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at two levels of dietary lipid. **Aquaculture International**, v. 17, p. 355-361, 2008.

FERREIRA, D.F. **SISVAR**: programa de análises estatística e planejamento de experimentos, versão 5.3. Lavras: UFLA/DEX, 2010. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/danielff/sisvar>>. Acesso em: 15 out. 2010.

FLEURENCE, J. Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 25-28, 1999.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY-SLOANE, G.H. A simple method for the isolation purification of total lipids from animal tissues. **Journal Biology Chemistry**, v. 226, p. 497-507, 1957.

FONTAGNÉ-DICHARRY, S.; LATAILLADE, E.; SURGET, A.; LARROQUET, L.; CLUZEAUD, M.; KAUSHIK, S. Antioxidant defense system is altered by dietary oxidized lipid in first-feeding rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 424, p. 220-227, 2014.

FRASER, T.W.K.; DAVIES, S.J. Nutritional requirements of cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus): a review. **Aquaculture Research**, v. 40, p. 1219-1234, 2009.

GARCÍA-ORTEGA, A.; KISSINGER, K.R.; TRUSHENSK, J.T. Evaluation of fish meal and fish oil replacement by soybean protein and algal meal from *Schizochytrium limacinum* in diets for giant grouper *Epinephelus lanceolatus*. **Aquaculture**, v. 452, p. 1-8, 2016.

HABIG, W.H.; PABST, M.J.; JAKOBY, W.B. **Journal Biology Chemistry**, v. 249, p. 7130-7139, 1974.

HOLT, G.J.; FAULK, C.K.; SCHWARZ, M.H. A review of the larviculture of cobia *Rachycentrom canadum*, a warm water marine fish. **Aquaculture**, v. 268, p. 181-187, 2007.

HUMASON, G.L. **Animal tissue techniques**. 3.ed. Freeman and Company, 1972. 641p.

LISMONT, C.; NORDGREN, M.; VELDHOVEN, P.P.V.; FRANSEN, M. Redox interplay between mitochondria and peroxisomes. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 3, p. 1-19, 2015.

MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, R.M.; MORALES, A.E.; SANZ, A. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, p. 75-88, 2005.

MORSHEDI, V.; BAHABADI, M.N.; SOTOUDEH, E.; AZODI, M.; HAFEZIEH, M. Nutritional evaluation of *Gracilaria pulvinata* as partial substitute with fish meal in practical diets of barramundi (*Lates calcarifer*). **Journal of Applied Phycology**, 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10811-017-1199-y.pdf>>. Acesso em: 13 nov 2017.

- MUSTAFA, M.G.; NAKAGAWA, H. A review: Dietary benefits of algae as an additive in fish feed. **Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh**, v. 47, p. 155-162, 1995.
- NAKAGAWA, H.; KASAHARA, S.; SUGIYAMA, T. Effect of *Ulva* meal supplementation on lipid metabolism of black sea bream, *Acanthopagrus schlegeli* (Bleeker). **Aquaculture**, v. 62, n. 2, p. 109-121, 1987.
- NAKAGAWA, H. Effect of dietary algae on improvement of lipid metabolism in fish. **Biomedicine**, v. 51, n. 8, p. 345-348, 1997.
- NATIFY, W.; DROUSSI, M.; BERDAY, N.; ARABA, A.; BENABID, M. Effect of the seaweed *Ulva lactuca* as a feed additive on growth performance, feed utilization and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **International Journal of Agronomy and Agricultural Research**, v. 7, n. 3, p. 85-92, 2015.
- NAYLOR, R.; HARDYB, R.W.; BUREAUC, D.P.; CHIUA, A.; ELLIOTTD, M.; FARRELLE, A.P.; FORSTERE, I.; GATLINF, D.M.; GOLDBURGH, R.J.; HUAC, K.; NICHOLS, P.D. Feeding aquaculture in an era of finite resources. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 36, p. 15103–15110, 2009.
- ORTIZ, J.; ROMERO, N.; ROBERT, P.; ARAYA, J.; LOPEZ-HERNÁNDEZ, J.; BOZZO, C.; NAVARRETE, E.; OSORIO, A.; RIOS, A. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea Antarctica*. **Food Chemistry**, v. 99, p. 98-104, 2006.
- PEIXOTO, M.J.; SALAS-LEITÓN, E.; PEREIRA, L.F.; QUEIROZ, A.; MAGALHÃES, F.; PEREIRA, R.; ABREU, H.; REIS, P.A.; GONÇALVES, J.F.M.; OZÓRIO, R.O. de A. Role of dietary seaweed supplementation on growth performance, digestive capacity and immune and stress responsiveness in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture Reports**, v. 3, p. 189–197, 2016.
- PETROVA, V.Y.; RASHEVA, T.V.; KUJUMDZIEVA, A.V. Catalase enzyme in mitochondria of *Saccharomyces cerevisiae*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 5, p. 29-41, 2002.
- RAJAPAKSE, N.; KIM, S.K. Nutritional and digestive health benefits of seaweed. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 64, p. 17–28, 2011.
- SALZE G.; McLEAN E.; SCHWARZ M.H.; CRAIG S.R. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval coho. **Aquaculture**, v. 274, p. 148-152, 2008.
- SALZE G.; McLEAN E.; BATLLE, P.R.; SCHWARZ, M.H.; CRAIG S.R. Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile coho, *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v. 298, p. 294-299, 2010.
- SAMPAIO, L.A.; TESSER, M.B. Cultivo do Beijupirá. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**. UFSM, Santa Maria, 2010. 606p.

SATOH, K.I.; NAKAGAWA, H.; KASAHARA, S. Effect of *Ulva* meal supplementation on disease resistance of red Sea Bream. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 53, n. 7, 1115-1120, 1987.

SHAFFER, R.V.; NAKAMURA, E.L. Synopsis of biological data on the cobia *Rachycentron canadum* (Pisces: Rachycentridae). Washington D.C.: U.S. Department of Commerce, **NOAA Technical Report**, 1989. (FAO Fisheries Synopsis 153).

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. Viçosa, 3 ed. MG: UFV, 2006. 235 p.

SILVA, W.J.M da; FERRARI, C.K.B. Metabolismo mitocondrial, radicais livres e envelhecimento. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 14, n. 3, p. 441-451, 2011.

SUN, L.; CHEN, H.; HUANG, L. Effect of temperature on growth and energy budget of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 261, p.872–878, 2006.

SUN, L., CHEN, H. Effects of water temperature and fish size on growth and bioenergetics of cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 426-427, p. 172-180, 2014.

VALENTE, L.M.P.; GOUVEIA, A.; REMA, P.; MATOS, J.; Gomes E.F.; PINTO, I.S. Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture**, v. 252, p. 85–91, 2006.

VASCONCELOS, S.M.L.; GOULART, M.O.F.; MOURA, J.B.F. de; MANFREDINI, V.; BENFATO, M.S. da; KUBOTA, L.T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

WASSEF, E.; EL-SAYED, A.M.; KANDEEL, K.M., EM S. Evaluation of pterocladia (Rhodophyta) and *Ulva* (Chlorophyta) meals as additives to gilthead seabream *Sparus aurata* diets. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 31, p. 321-332, 2005.

WEBB, K.A.; RAWLINSON, L.T.; HOLT, G.J. Effects of dietary starches and the protein to energy ratio on growth and feed efficiency of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, p. 447–456, 2007.

WHEATLEY, J.B.; KELLEY, M.K.; MONTALI, J.A.; BERRY, C.O.A.; SCHMIDT, Jr., D. E. Examination of glutathione S-transferase isoenzyme profiles in human liver using high-performance affinity chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 663, p. 53-63, 1994.

## CONCLUSÕES GERAIS

A inclusão da alga marinha *Ulva fasciata* proporcionou aos juvenis de beijupirá melhores índices zootécnicos e melhores índices de avaliação da saúde dos peixes.

A inclusão da alga marinha *Ulva fasciata* não danificou a integridade do epitélio intestinal e não houve diferenças entre a morfometria intestinal de juvenis que receberam a alga daqueles que não receberam.

A inclusão de *Ulva fasciata* em até 10% foi satisfatória pelos parâmetros avaliados.