

Renata Oselame Nóbrega

**EXIGÊNCIA DO ÁCIDO GRAXO α -LINOLÊNICO PARA
TILÁPIA-DO-NILO EM TEMPERATURA SUB-ÓTIMA**

Dissertação submetida ao programa de
Pós-Graduação em Aquicultura da
Universidade Federal de Santa Catarina
para a obtenção do grau de Mestre em
Aquicultura

Orientador: Débora Machado Fracalossi

Florianópolis
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Nobrega, Renata Oselame

EXIGÊNCIA DO ÁCIDO GRAXO ω -LINOLÊNICO PARA TILÁPIA-DO-NILO EM TEMPERATURA SUB-ÓTIMA / Renata Oselame Nobrega ; orientadora, Débora Machado Fracalossi - Florianópolis, SC, 2015.

64 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. Oreochromis niloticus. 3. lipídios. 4. crescimento. 5. retenção de ácidos graxos. I. Machado Fracalossi, Débora. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

Exigência do ácido graxo α -linolênico para tilápia-do-nylo em temperatura sub-ótima

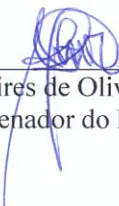
Por

RENATA OSELAME NÓBREGA

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

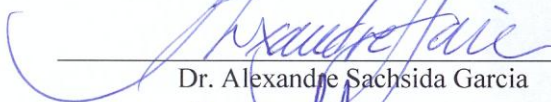


Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:



Dra. Débora Machado Fracalossi – *Orientadora*



Dr. Alexandre Sachsida Garcia



Dra. Darlane Beatriz Schoffen Enke



Dr. Vinícius Ronzani Cerqueira

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Ésio Neri da Rosa e Mara Rubia Oselame e as minhas irmãs Lais Oselame Nóbrega e Isaura da Rosa, por estarem sempre juntos e prontos para me ajudar no que for preciso;

À professora Débora Machado Fracalossi, pela orientação, auxílio, confiança, paciência e principalmente pela amizade durante o trabalho desenvolvido;

À minha amiga Bruna Mattioni, pela amizade, apoio, incentivo e paciência em ajudar a implementar as análises de ácidos graxos no laboratório;

Agradecimentos também ao professor Marcelo Maraschin e a professora Jane Mara Block pela colaboração nas análises de ácidos graxos;

À minha amiga Camila Fernandes Côrreia, pela amizade, convívio, ajuda na realização desse trabalho, pelos ensinamentos e pela contribuição ao meu crescimento profissional;

Aos amigos e companheiros do LABNUTRI: Vítor Giatti Fernandes, Fernando Brignol, Luiz Eduardo Lima de Freita, Natália Garcia do Espírito Santo, Liziane Marciel Muffato, Adriano Machado, Jorge Filipe Banza, Bruno da Silva Pierri, Tatiano Poletto, Lucas Laurini de Oliveira, Ana Paula Mercadante, Allan David da Silva, Tharniê Santos de Matos, Maria Fernanda Oliveira, Sônia Rejane Silva e Janice de Souza, sem os quais a vida e este trabalho não seriam o mesmo;

Às técnicas que passaram pelo LABNUTRI, Sabrina de Carvalho e Amarilis Paulino Scremin, pela amizade, ajuda e convívio no laboratório;

Aos colegas do LAPAD, pelo apoio em todos os momentos e por estarem sempre presentes;

Aos meus amigos do “Bloco B” Jhon Edison Jimenez, Gicella Barros, Mariana Roza de Abreu, Carolina Hope de Oliveira, Bruno Borges e Luciano Weiss, pelo convívio e por estarem sempre prontos para ajudar;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento deste estudo;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento da minha bolsa de produtividade;

A todos que de alguma forma contribuíram para minha formação durante todos estes anos de estudo.

"Reunir-se é um começo, permanecer juntos é um progresso, e trabalhar juntos é um sucesso."

(Henry Ford)

RESUMO

Existem lacunas nas exigências nutricionais da tilápia-do-Nilo em relação aos ácidos graxos, principalmente quando criada em temperatura sub-ótima. O objetivo deste estudo foi estimar a exigência em ácido graxo α -linolênico (α -LNA, 18:3n-3) para a tilápia-do-Nilo, quando mantida a 22°C. Níveis crescentes de óleo de linhaça foram adicionados a uma mistura de óleos vegetais, gerando as seguintes concentrações de α -LNA: 0,03; 0,25; 0,48; 0,71 e 0,93% do peso seco da dieta. A dieta basal foi formulada com ingredientes semi-purificados, contendo 5% de lipídio. Juvenis ($10,6 \pm 0,28$ g) de tilápia foram alimentados com as dietas experimentais duas vezes ao dia (08:30 h e 17:00 h), até a saciedade aparente, por 14 semanas. A média da temperatura da água em todo período experimental foi $22,12 \pm 0,17^\circ\text{C}$. O aumento de α -LNA na dieta afetou significativamente o ganho em peso, taxa de crescimento específico, eficiência alimentar e a ingestão diária. Os ácidos graxos da série n-3 presentes no corpo e no músculo da tilápia mostraram resposta linear significativa à inclusão crescente de α -LNA nas dietas. O acúmulo de ácido linoleico (LOA, 18:2n-6) no músculo teve relação direta com o aumento de α -LNA na dieta. No entanto, o conteúdo de LC-PUFA da série n-6 no músculo diminuiu significativamente. A exigência dietética em α -LNA estimada para juvenis de tilápia-do-Nilo de 10,67 a 59,80 g foi de 0,68% para o máximo ganho em peso de 0,55 g/dia e de 0,71% para a máxima eficiência alimentar.

Palavras-chave: Aquicultura, *Oreochromis niloticus*, lipídios, crescimento, retenção de ácidos graxos.

ABSTRACT

There are gaps in the fatty acid nutritional requirements of Nile tilapia, particularly when raised in sub-optimal temperature. The objective of this study was to estimate the dietary requirement of α -linolenic acid (α -LNA, 18: 3n-3) for Nile tilapia, when raised at 22 ° C. Increasing levels of linseed oil were added to a mixture of vegetable oils, yielding the following concentrations of α -LNA: 0.03; 0.25; 0.48; 0.71 and 0.93% dry weight. The basal diet was formulated with semipurified ingredients and contained 5% lipid. Juvenile tilapia (10.6 ± 0.28 g) were fed the experimental diets twice daily (8:30 h and 17:00 h) until satiation for 14 weeks. The average water temperature throughout the experimental period was 22.12 ± 0.17 ° C. The increase in dietary α -LNA significantly affected the weight gain, specific growth rate, feed efficiency and daily intake. Body and muscle n-3 fatty acids showed a significant linear response to the increasing dietary α -LNA. The accumulation of muscle linoleic acid (LOA, 18: 2n-6) was directly related to increase in dietary α -LNA. However, n-6 LC-PUFA content in the muscle decreased. The dietary requirement of α -LNA - estimated for juvenile Nile tilapia from 10.67 to 59.80 g - was 0.68% for a maximum weight gain of 49.13 g / day and of 0.71% for maximum feeding efficiency.

Keywords: Aquaculture, *Oreochromis niloticus*, lipids, growth, retention fatty acids.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Regressão polinomial do ganho em peso e da eficiência alimentar de juvenis de tilápia-do-Nilo, alimentados com níveis crescentes de ácido graxo α - linolênico, durante 14 semanas a 22°C ... 43
- Figura 2. Conteúdo corporal de LC-PUFA da série n-3 em juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de ácido α - linolênico, durante 14 semanas, a 22°C 46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudos sobre exigência em ácidos graxos essenciais para tilápias	27
Tabela 2. Estudos sobre exigência em ácidos graxos essenciais para tilápias mantidas a 20°C	28
Tabela 3. Formulação e composição das dietas experimentais	37
Tabela 4. Perfil de ácidos graxos das dietas experimentais	38
Tabela 5. Desempenho, sobrevivência e índices somáticos de juvenis de tilápia, quando alimentados com níveis crescentes de ácido α -linolênico, durante 14 semanas a 22°C.....	42
Tabela 6. Composição corporal (expressa na matéria úmida) de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de ácido graxo α - linolênico durante 14 semanas a 22°C	44
Tabela 7. Perfil corporal de ácidos graxos (mg . g-1 de lipídio) de juvenis de tilápia-do-Nilo, alimentados com níveis crescentes de ácido α - linolênico, durante 14 semanas, a 22°C.....	45
Tabela 8. Perfil de ácidos graxos (mg . g-1 de lipídio) no músculo de juvenis de tilápia-do-Nilo, alimentados com níveis crescentes de ácido α - linolênico, durante 14 semanas, a 22°C.....	48
Tabela 9. Taxa de retenção proteica aparente de ácidos graxos essenciais para juvenis de tilápia	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG= ácidos graxos;

SFA= ácidos graxos saturados;

MUFA= ácidos graxos monoinsaturados;

PUFA= ácidos graxos poli-insaturados;

LC-PUFA= ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa;

OLA (18:1n-9) = ácido oleico;

LOA (18:2n-6) = ácido linoleico;

α -LNA (18:3n-3) = ácido α -linolênico;

ARA (20:4n-6) = ácido araquidônico;

EPA (20:5n-3) = ácido eicosapentaenoico;

DHA (22:6n-3) = ácido docosahexaenóico;

n-3 = série n-3 (ômega-3)

n-6 = série n-6 (ômega-6)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	21
Ácidos graxos essenciais	21
Efeito da temperatura na exigência de ácidos graxos	24
A produção de tilápia e a temperatura da água	25
Ácidos graxos essenciais para tilápias	26
JUSTIFICATIVA	28
OBJETIVOS	29
CAPITULO 1 - Exigência dietética em ácido graxo α- linolênico para tilápia-do-Nilo em temperatura sub-ótima	31
RESUMO	33
Introdução	35
Material e métodos	36
Dietas Experimentais	36
Condições Experimentais e Manejo Alimentar	39
Coleta de Amostras e Análises	40
Análise estatística	41
Resultados	41
Desempenho	41
Composição corporal	44
Perfil corporal dos ácidos graxos	44
Composição dos ácidos graxos do músculo	47
Taxa de retenção aparente	49
Discussão	49
Agradecimentos	53
Referências	54
CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL	61

INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura é um dos segmentos da produção animal que mais cresce no mundo (FAO, 2012). De acordo com o *Instituto Earth Policy* (2013), em 2012 a piscicultura mundial produziu 66,6 milhões de toneladas de carne de peixe em comparação com 63 milhões de toneladas de carne bovina, superando assim a produção de carne bovina nos últimos dois anos. O crescimento global da aquicultura continua devido ao crescimento da piscicultura. O Brasil mantém a mesma tendência, encontrando-se entre os quinze principais países produtores de peixe (FAO, 2014).

A rápida expansão da aquicultura nos últimos anos e o aumento na utilização de rações formuladas produziu um volume considerável de pesquisas sobre exigências de lipídios na dieta de peixes. Os lipídios incluem compostos heterogêneos, solúveis em solventes orgânicos, que são fundamentais para a sobrevivência dos peixes, pois são fonte de energia; fazem parte das membranas celulares; são precursores de metabólitos funcionais como os eicosanóides, docosanoídes, hormônios e vitaminas. Além disso, os lipídios também atuam como vetores para a entrada de vitaminas lipossolúveis e pigmentos carotenóides (SARGENT et al., 2002).

O pescado é uma fonte quase exclusiva de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LC-PUFA) da série n-3, assim como outros componentes solúveis em lipídios, essenciais para a saúde e o bem-estar humano (NRC, 2011). Estudos clínicos e epidemiológicos sugerem que populações que consomem peixe ou óleo de peixe regularmente estão protegidas contra doenças cardiovasculares, apresentando diminuição do risco de morte súbita cardíaca (LAVIE et al., 2009). Portanto, a importância do estudo das exigências dietéticas em ácidos graxos essenciais não se limita ao fornecimento de quantidades adequadas para o desenvolvimento normal dos peixes, mas também ao seu efeito no perfil de ácidos graxos depositados nos tecidos do pescado, importante fonte de LC-PUFA da série n-3 para os humanos.

Ácidos graxos essenciais

Os ácidos graxos, principais classes do lipídio, são compostos que possuem um grupamento carboxila terminal ligado a uma cadeia de hidrocarbonetos que varia em tamanho e em número de insaturação (NRC, 2011). Dentro dessa classe, são considerados essenciais aqueles que estimulam o crescimento ou qualquer outra resposta biológica do

animal, mas não são sintetizados pelo animal ou o são em quantidade insuficiente para sustentar um crescimento adequado (TOCHER, 2010). São considerados como essenciais para a maioria dos peixes o ácido linoléico (LOA, 18:2n-6), o ácido araquidônico (ARA, 20:4n-6), o ácido α -linolênico (α -LNA, 18:3n-3), o ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) (GLENCROSS, 2009). Esses ácidos pertencem ao grupo dos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA, do inglês *polyunsaturated fatty acids*) e possuem duas ou mais ligações duplas.

Os ácidos graxos mais simples são os saturados (SFA, do inglês *saturated fatty acids*), sua cadeia de carbono não possui dupla ligação, sendo designados como 16:0, 18:0, 20:0 e assim por diante. O primeiro número indica o número de átomos de carbono e o segundo, o número de duplas ligações. Já os ácidos graxos que contêm uma insaturação na cadeia de carbono são chamados de monoinsaturados (MUFA, do inglês *monounsaturated fatty acids*), como ácido oleico (OLA, 18:1n-9). Os ácidos graxos se diferenciam também quanto ao número de átomos de carbono: os PUFA de cadeia média são representados pelo LOA e pelo α -LNA, os PUFA de cadeia longa (LC-PUFA, do inglês *long chain polyunsaturated fatty acids*) são representados pelo ARA, EPA e DHA, estes considerados de alto valor biológico (GLENCROSS, 2009).

Todos os organismos vivos possuem a habilidade de produzir ácidos graxos SFA e MUFA, pois possuem a enzima dessaturase Δ -9, que aumenta o grau de insaturação na cadeia de carbono. Os peixes, assim como outros vertebrados, não são capazes de sintetizar PUFA a partir de MUFA, pois não possuem as enzimas dessaturases Δ -12 e Δ -15, necessárias para a produção de LOA e α -LNA. Essas dessaturases são encontradas apenas em plantas e em alguns invertebrados (TOCHER, 2010).

Em geral, espécies de água doce e peixes diádromos possuem as enzimas dessaturases Δ -5 e Δ -6 e alongases, responsáveis pela biossíntese dos LC-PUFA, a partir de ácidos graxos precursores como o LOA e α -LNA. A via para a síntese de EPA a partir de α -LNA utiliza as mesmas enzimas que a via para a síntese de ARA a partir de LOA. Entretanto, para a síntese de DHA são necessárias mais duas etapas de alongamento, além de uma segunda dessaturação pela enzima dessaturase Δ -6 e um passo de encurtamento de cadeia (GLENCROSS, 2009; TOCHER, 2010). Estudos feitos com salmão-do-Atlântico, *Salmo salar*, e com o peixe-zebra, *Danio rerio*, demonstraram que a mesma dessaturase (Δ -6) opera em ambos os substratos de ácidos graxos de 18 e 24 carbonos (TOCHER, 2010).

As enzimas dessaturases possuem uma afinidade na ordem de grandeza de α -LNA>LOA>OLA (TOCHER, LARGADORA E HODGSON, 1998). Na ausência de PUFA, o 18:1n-9 pode servir como um substrato para enzima dessaturases Δ -6 e ser dessaturado a 18:2n-9, alongado para 20:2n-9 e dessaturado pela enzima dessaturases Δ -5 para 20:3n-9 (TOCHER, 2010). A eficiência na biossíntese vai variar de acordo com a espécie e fase de desenvolvimento (GLENCROSS, 2009), além da temperatura (SELLNER; HAZEL, 1982) e da salinidade do ambiente (FONSECA-MADRIGAL et al., 2012). Portanto, a exigência em ácidos graxos essenciais na dieta vai variar não só entre as espécies, mas também entre o estágio de desenvolvimento dos peixes, época do ano, temperatura da água e relação entre os ácidos graxos na dieta (TURCHINI; KEONG; TOCHER, 2010).

A deficiência em ácidos graxos essenciais geralmente se traduz na redução do crescimento, piora na eficiência alimentar, aumento na concentração de 18:1n-9 e 20:3n-9 no corpo, presença de fígado gorduroso e pálido, necrose na nadadeira caudal e na nadadeira dorsal, necrose na mandíbula, baixo desempenho reprodutivo e doenças como a síndrome do choque, entre outras (SARGENT et al., 2002; GLERNCROSS, 2009; LIM et al., 2011; NRC, 2011). Por outro lado, a mortalidade de juvenis de Salmão-do-Atlântico, *Salmo salar* (ERDAL et al., 1991) e de Bagre-do-canal, *Ictalurus punctatus* (FRACALLOSSI; LOVELL, 1994) infectados com as bactérias *Yersinia ruckeri* e *Edwardsiella ictaluri*, respectivamente, aumentou com níveis excessivos de LC-PUFA da série n-3 na dieta (24,2% e 31,3%, respectivamente). Truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, alimentadas com excesso de LC-PUFA da série n-3, apresentaram pior desempenho e baixa eficiência alimentar (WATANABE, 1982).

A avaliação do efeito dos PUFA das séries n-3 e n-6 no metabolismo lipídico representa um desafio, uma vez que o efeito dos ácidos graxos da série n-3 é alterado dependendo do conteúdo de ácidos graxos n-6 e vice-versa (BLANCHARD et al., 2008). Por isso, mais importante que o fornecimento de cada precursor da série n-3 ou da n-6 separadamente, é garantir a relação adequada entre n-3/n-6. Isso porque ambas as vias metabólicas compartilham as mesmas enzimas, o que pode favorecer a síntese de um ou do outro produto, ou até inibir uma das vias (SARGENT et al., 2002; NRC 2011).

Efeito da temperatura na exigência de ácidos graxos

A flutuação na temperatura ambiente afeta todos os organismos vivos, especialmente os ectotérmicos, que dependem de uma fonte externa de calor para manter sua temperatura corporal. Os peixes são ectotérmicos e, para manter a homeostase fisiológica do organismo em temperatura ambiente desfavorável, desenvolveram mecanismos de adaptação específicos (WEBER; BOSWORTH, 2005). Entre eles, uma das principais respostas dos organismos ectotérmicos à baixa temperatura é o aumento nos níveis de insaturação dos ácidos graxos dos fosfolipídios que compõem as membranas celulares. Isso por que, quanto maiores números de duplas ligações, menor será o ponto de fusão, mantendo assim a funcionalidade das membranas mesmo em baixas temperaturas (TURCHINI; KEONG; TOCHER, 2010).

Historicamente, o acúmulo de LC-PUFA em tecidos de peixes, principalmente o DHA, foi associado com a adaptação a baixas temperaturas. Segundo Sargent, Tocher e Bell (2002) tanto as espécies marinhas tropicais quanto as espécies polares acumulam elevados níveis de DHA nos tecidos. Estudos com a carpa-comum, *Cyprinus carpio*, comprovam o aumento na atividade da enzima dessaturase Δ -9 no fígado, durante os dez primeiros dias de manutenção em temperatura de 10°C. Ao longo do tempo, a atividade dessa enzima diminui, sendo semelhante à das carpas mantidas em temperatura de 30°C. Portanto, é reconhecido que, para manter as propriedades dos fosfolipídeos das membranas, há um aumento dos MUFA em temperaturas mais frias (WODKE; COSSINS, 1991; TURCHINI; KEONG; TOCHER, 2010).

Em estudo realizado com a tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantida em temperaturas de 14°C, foi registrado um aumento de 16 vezes na expressão gênica da enzima dessaturase Δ -9 (responsável pela biossíntese dos ácidos graxos monoinsaturados) no músculo, após sete dias. A expressão deste gene também aumentou nas brânquias, mas não foi alterada no fígado e coração, indicando a necessidade da manutenção da respiração e locomoção, apesar da diminuição no metabolismo com o frio. Assim, concluiu-se que, ao contrário da carpa-comum, na tilápia a expressão da dessaturase Δ -9 no fígado não foi afetada durante a adaptação ao estresse causada pela diminuição da temperatura e que a atividade desta enzima parece estar pouco relacionada à tolerância ao frio em tilápia. Portanto, outros processos adaptativos para a tolerância ao frio devem existir em tilápia (ZERAI et al., 2010).

Apesar de numerosos estudos sobre a influência da dieta na composição de ácidos graxos em peixes, poucos são os que investigam a influência da composição de ácidos graxos na dieta, quando peixes são mantidos em temperatura sub-ótima (HSIEH et al., 2007). A tilápia híbrida, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*, quando alimentada durante oito semanas com dieta contendo 5% de óleo de peixe e 7% de óleo de milho, apresentou maior ganho em peso, maior eficiência alimentar e maior conteúdo corporal de MUFA, quando comparada com indivíduos alimentados com dieta contendo 12% de óleo de peixe, 12% de óleo rico em ácido palmitoleico e 12% de óleo de coco. Entretanto, quando submetidas à baixa temperatura durante seis dias (temperatura da água reduzida de 25°C para 15°C, na taxa de 0,5°C/h), as tilápias alimentadas com a dieta contendo óleo de peixe e óleo de milho, apresentaram maior atividade da enzima Δ -9 dessaturase no fígado (HSIEH et al., 2007).

A tilápia é uma espécie tropical que se adapta a uma faixa ampla de temperatura, mas mortes em massa foram relacionados ao inverno severo, isso causa perdas catastróficas para a aquicultura (SUN et al., 1992; SHI et al., 2015). Portanto, é necessário desenvolver tecnologias para aperfeiçoar a produção dessa espécie, já que esta enfrenta desafios ambientais nas regiões mais frias.

A produção de tilápia e a temperatura da água

A tilápia é um dos principais peixes produzidos mundialmente, com cerca de 4 milhões de toneladas, superada apenas pelas produções de carpas chinesas e de carpas indianas. A FAO (2014) registrou produção de tilápia em 135 países. A produção de tilápia está se expandindo na Ásia, América do Sul e África, tanto para o consumo interno como para exportação. Entretanto o número de países produtores é maior, isso porque os dados da produção de fazendas produtoras de tilápia não foram apresentados nas estatísticas nacionais no Canadá e em alguns países europeus (FAO, 2014).

A China, é de longe o maior produtor de tilápia do mundo, porém a produção chinesa foi menor em 2008 e 2012 devido às condições de inverno rigoroso, o que influenciou o rendimento da produção (FAO, GLOBEFISH REPORTS, 2013). A produção da tilápia aumentou significativamente nos últimos anos na Ásia, América do sul e África (FAO, 2014). No Brasil, a tilápia é a espécie de peixe mais produzida, sendo responsável por 43,1% da produção (IBGE, 2013). A região sul é a maior produtora, seguida das regiões nordeste e sudeste

(IBGE, 2013). A região sul do Brasil, como em outras regiões, aonde a tilápia é produzida, há temperaturas mais baixas durante o inverno.

De acordo com Popma e Lovshin (1995), a incapacidade da tilápia para tolerar temperaturas baixas é um grave obstáculo para a criação em regiões temperadas. A temperatura letal para a maioria das espécies é 11°C, mas para a tilápia-azul, *Oreochromis aureus*, espécie mais tolerante ao frio, a faixa é de 8 a 9°C. Alimentação cessa quando a temperatura da água cai para 17°C. Quando os peixes são alimentados até a saciedade, o crescimento em temperatura de 29°C é geralmente três vezes maior do que a 22°C, isso por que, com a queda de temperatura o consumo alimentar reduz em 40 a 50%. Assim, em regiões com uma estação fria, há redução significativa na produção durante períodos em que as médias diárias de temperatura da água ficam abaixo de 24°C.

Ácidos graxos essenciais para tilápias

O boletim do *National Research Council* (NRC) de 1993, não registrava exigência dietética em ácidos graxos da série n-3 para tilápia, somente de ácidos graxos da série n-6. Entretanto, o boletim de 2011 (NRC, 2011), já inclui a exigência em ácidos graxos de ambas as séries n-3 e n-6 para a tilápia híbrida, mas ainda sem relatar numericamente esta exigência (CHOU; SHIAU, 1999; CHOU et al., 2001; NRC, 2011).

A tilápia-azul apresenta exigência elevada de LOA, mas esta exigência é reduzida quando altos níveis de α -LNA estão presentes na dieta (STICKNEY E HARDY, 1989). Recentemente, a exigência em α -LNA foi estabelecida em 0,45 a 0,65% da dieta seca para a tilápia-do-Nilo (CHEN et al., 2013). Segundo Li et al. (2013), níveis dietéticos de 1,14% da dieta seca de LOA suprem a exigência em ácidos graxos da tilápia híbrida, mas a sua exigência também pode ser reduzida quando α -LNA está presente na dieta. Por fim, a tilápia-do-Nilo também apresenta exigência dietética de ácidos graxos de ambas as séries n-6 e n-3, sendo que a inclusão em excesso de um grupo de ácidos graxos pode substituir a exigência do outro (Yildirim-Aksoy et al., 2007). Os estudos sobre exigência em ácidos graxos para tilápias estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1. Estudos sobre exigência em ácidos graxos essenciais para tilápias.

Espécie	Temperatura	Ácidos graxos essenciais ¹	Exigência ²	Referência
<i>Tilapia zilli</i>	28°C	LOA ou ARA	1%	Kanazawa et al. (1980)
<i>Oreochromis niloticus</i>	28°C	LOA ou ARA	1 %	Teshima et al. (1982)
<i>Oreochromis niloticus</i>	25°C	LOA	0,50%	Takeuchi et al. (1983)
<i>O. niloticus x O. aureus</i>	25°C	PUFA n-6 e n-3	-	Chou; Shiau (1999)
<i>Oreochromis niloticus</i>	27,8°C	PUFA n-3 e/ou n-6	-	Yildirim-Aksoy et al. (2007)
<i>O. niloticus x O. aureus</i>	29,1°C	LOA	1,14%	Li et al. (2013)
<i>Oreochromis niloticus</i>	27°C	α -LNA	0,45 - 0,64%	Chen et al. (2013)

¹ LOA (18:2n-6) = o ácido linoleico, α -LNA (18:3n-3) = ácido linolênico e ARA (20:4n-6) = ácido araquidônico.

² Concentração dos ácidos graxos (expresso em % da dieta seca).

Portanto, para a tilápia, a exigência dietética em ácidos graxos da série n-3 e da série n-6 é bastante estudada quando esta é criada em temperatura ideal. Entretanto, diferenças na exigência em ácidos graxos para tilápia quando há alterações na temperatura, ainda não foram claramente relatadas. Os estudos de exigência em ácidos graxos em temperatura sub-ótima são escassos e, os realizados, foram inconclusivos, devido ao baixo ganho em peso causado principalmente pelo baixo consumo alimentar (TESHIMA et al., 1982 e TAKEUCHI et al., 1983). Estes estudos estão *sumarizados* na Tabela 2. No estudo de Takeuchi et al. (1983), os peixes alimentados com dieta contendo 2,5% de MUFA, 1,5% de LOA e 1% de α -LNA apresentaram melhor crescimento e eficiência alimentar, quando comparados àqueles alimentados com óleo de peixe, porém esta conclusão é duvidosa, já que os autores não realizaram testes estatísticos nos dados (TAKEUCHI et al., 1983).

Tabela 2. Estudos sobre exigência em ácidos graxos essenciais para tilápias mantidas a 20°C.

Espécie	Ácidos graxos essenciais ¹	Base ²	Tempo	Problemas	Referência
<i>O. niloticus</i>	LOA, α -LNA, ARA	SFA	9 semanas	Baixo consumo Excesso de SFA (4%)	Takeuchi et al. (1983)
<i>O. niloticus</i>	LOA, α -LNA, ARA, LC-PUFA n-3	MUFA	4 semanas	Baixo ganho em peso Sem diferença significativa	Teshima et al. (1982)

¹ Todos os ácidos graxos essenciais foram incluídos a 1% na dieta; LOA (18:2n-6) = ácido linoléico, α -LNA (18:3n-3) = ácido linolênico, ARA (20:4n-6) = ácido araquidônico, LC-PUFA = ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa.

² Base de ácidos graxos utilizada para inclusão de ácidos graxos essenciais (4% da dieta); SFA= ácidos graxos saturados, MUFA = ácidos graxos monoinsaturados.

Cabe salientar que é igualmente importante avaliar os efeitos do excesso de ácidos graxos essenciais sobre o desempenho da tilápia, já que foi relatada redução no seu crescimento, quando as dietas possuem mais que 1% de α -LNA (STICKNEY; HARDY, 1989) ou excesso de óleo de peixe (AL-SOUTI et al., 2012; KANAZAWA et al., 1980).

Santiago e Reyes (1993) relataram um bom crescimento de tilápia-do-Nilo, quando alimentadas com dietas ricas em LC-PUFA da série n-3; no entanto, houve prejuízo no desempenho reprodutivo dos peixes. Portanto, o excesso de ácidos graxos da série n-3 de cadeia longa foi prejudicial ao desempenho dos peixes nesta fase de desenvolvimento. Contagens elevadas de células vermelhas e brancas no sangue, produção excessiva de muco e maior susceptibilidade ao estresse foram observados em tilápia-do-Nilo após 12 semanas de alimentação com dieta contendo 7% de óleo de peixe, como única fonte lipídica (YILDIRIM-AKSOY et al., 2007).

JUSTIFICATIVA

A aquicultura nos últimos anos cresceu expressivamente, sendo evidente sua importância na produção de proteína mundial. A criação de tilápia contribuiu significativamente para esse resultado, já que é a segunda espécie de peixe mais produzida no mundo e a principal espécie de peixe produzida no Brasil. Entretanto, no Brasil, a maior produção de tilápia-do-Nilo ocorre em regiões com clima sub-tropical, que

apresentam reduções significativas de temperatura nos meses de inverno.

Organismos ectotérmicos, tais como os peixes, aumentam a incorporação de ácidos graxos insaturados em suas membranas com o decréscimo da temperatura, para manter sua funcionalidade. Como a tilápia-do-Nilo é uma espécie tropical, com maior crescimento em temperaturas mais elevadas, acredita-se que suas exigências nutricionais, principalmente em ácidos graxos, sejam alteradas quando mantida em temperaturas sub-ótimas.

A determinação das exigências nutricionais da tilápia-do-Nilo em temperatura sub-ótima será importante na produção de dietas eficientes para a manutenção do crescimento e saúde, mesmo frente aos desafios climáticos enfrentados pelos importantes produtores desta espécie, que se encontram na região sub-tropical do Brasil e do mundo.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Estimar a exigência dietética em ácido graxo α -linolênico para a tilápia-do-Nilo, quando mantida em temperatura sub-ótima.

Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito de diferentes níveis do ácido graxo α -linolênico no desempenho (sobrevivência, ganho em peso, eficiência alimentar) de juvenis tilápia-do-Nilo, quando mantidos a 22°C.
- Determinar o perfil de ácidos graxos corporal e muscular de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentadas com diferentes níveis do ácido graxo α -linolênico e mantida a 22°C.

CAPITULO 1

***Esse artigo está formatado de acordo com as normas de publicação da revista Aquaculture**

Exigência em ácido graxo α -linolênico para tilápia-do-nilo em temperatura sub-ótima

**Renata Oselame Nóbrega¹, Camila Fernandes Corrêa¹,
Bruna Mattioni², Débora Machado Fracalossi^{1*}**

¹Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas (LABNUTRI),
Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias,
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Santa
Catarina, Brasil.

²Laboratório de Ciência e Tecnologia de Cereais (CERES),
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Centro de
Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC),
Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

*Autor para correspondência: Débora Machado Fracalossi,
Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, UFSC.
Rodovia Ademar Gonzaga, 1346, 88034-001 Florianópolis, SC, Brasil.
Tel.: +55 48 3721-6300. E-mail: debora.fracalossi@ufsc.br

RESUMO

Existem lacunas nas exigências nutricionais da tilápia-do-Nilo em relação aos ácidos graxos, principalmente quando criada em temperatura sub-ótima. O objetivo deste estudo foi estimar a exigência em ácido graxo α -linolênico (α -LNA, 18:3n-3) para a tilápia-do-Nilo, quando mantida a 22°C. Níveis crescentes de óleo de linhaça foram adicionados a uma mistura de óleos vegetais, gerando as seguintes concentrações de α -LNA: 0,03; 0,25; 0,48; 0,71 e 0,93% do peso seco da dieta. A dieta basal foi formulada com ingredientes semi-purificados, contendo 5% de lipídio. Juvenis ($10,6 \pm 0,28$ g) de tilápia foram alimentados com as dietas experimentais duas vezes ao dia (08:30 h e 17:00 h), até a saciedade aparente, por 14 semanas. A média da temperatura da água em todo período experimental foi $22,12 \pm 0,17$ °C. O aumento de α -LNA na dieta afetou significativamente o ganho em peso, taxa de crescimento específico, eficiência alimentar e a ingestão diária. Os ácidos graxos da série n-3 presentes no corpo e no músculo da tilápia mostraram resposta linear significativa à inclusão crescente de α -LNA nas dietas. O acúmulo de ácido linoleico (LOA, 18:2n-6) no músculo teve relação direta com o aumento de α -LNA na dieta. No entanto, o conteúdo de LC-PUFA da série n-6 no músculo diminuiu significativamente. A exigência dietética em α -LNA estimada para juvenis de tilápia-do-Nilo de 10,67 a 59,80 g foi de 0,68% para o máximo ganho em peso de 0,55 g/dia e de 0,71% para a máxima eficiência alimentar.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*, lipídios, crescimento, retenção de ácidos graxos.

Introdução

A tilápia é uma das espécies mais produzidas na piscicultura mundial, superada apenas pelas carpas chinesas e indianas. A *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO, 2014) registrou produção de tilápia em 135 países, abrangendo todos os continentes. No Brasil, a tilápia é mais produzida na região sul, seguida das regiões nordeste e sudeste, adaptando-se a diversas condições de criação e de clima. É a espécie mais produzida no país, sendo que em 2013 foi responsável por 43,1% da produção aquícola, totalizando 169,306 t (IBGE, 2013).

A tilápia é uma espécie tropical que se adapta a uma faixa ampla de temperatura, mas verifica-se redução significativa no consumo alimentar em temperaturas de 22°C (Azaza et al., 2008). Mortalidades de tilápia foram relacionadas ao inverno severo, causando perdas para a indústria (Sun et al., 1992; Shi et al., 2015). Portanto, é necessário desenvolver tecnologias para aperfeiçoar a produção dessa espécie em regiões sub-tropicais, principalmente considerando as oscilações de temperatura da água entre verão e inverno.

Os peixes são organismos ectotérmicos, e a principal resposta à baixa temperatura é o aumento nos níveis de insaturação dos ácidos graxos nas membranas celulares, o que garante a adequada funcionalidade das membranas (Tocher, 2010). Por isso, para determinar a exigência em ácidos graxos é importante que a exigência seja estabelecida na temperatura de conforto para a espécie e em uma temperatura sub-ótima, pois esta exigência pode mudar em função deste parâmetro.

Para a tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, a exigência dietética em ácidos graxos é bastante estudada, quando mantida em temperatura ideal (27°C a 29°C). Sinais clínicos de deficiência de ácidos graxos na dieta para tilápia incluem anorexia; queda no crescimento; baixa eficiência alimentar; aumento no acúmulo de 18:1n-9 e 20:3n-9; fígado inchado, pálido e com acúmulo de gordura e queda no desempenho reprodutivo (Lim et al., 2011). A tilápia necessita da presença tanto de LOA como de α -LNA na dieta, os quais são considerados essenciais (Stickney e Hardy, 1989; Chou e Shiau, 1999; Yildirim-Aksoy et al., 2007). A exigência em 0,5% de LOA foi estabelecida para juvenis de tilápia-do-Nilo, quando mantidos a 25°C (Takeuchi et al., 1983). Já a concentração de 0,45 a 0,64% da dieta seca de α -LNA foi relatada como adequada para um bom crescimento e eficiência alimentar (Chen et al., 2013). Ainda, níveis dietéticos de

1,14% da dieta seca de LOA suprem a exigência em ácidos graxos para a tilápia híbrida, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*, mas esta exigência pode ser reduzida se o α -LNA estiver presente na dieta (Li et al., 2013). Estudo realizado com a tilápia-do-Nilo relata bom crescimento com a presença de ácidos graxos da série n-6 e da n-3 na dieta, sugerindo que a inclusão em excesso de um grupo pode compensar a exigência do outro (Yildirim-Aksoy et al., 2007).

Portanto, as exigências em ácidos graxos para a tilápia em temperatura ótima de crescimento já foram estudadas, porém há lacunas em relação à exigência em ácidos graxos essenciais em temperatura sub-ótima. Isso porque os estudos realizados com a tilápia-do-Nilo mantidas a 20°C apresentam resultados pouco conclusivos, devido ao baixo ganho em peso, resultante principalmente do baixo consumo alimentar (Teshima et al., 1982; Takeuchi et al., 1983).

É igualmente importante avaliar os efeitos do excesso de ácidos graxos essenciais sobre o desempenho da tilápia. Santiago e Reyes (1993) relataram crescimento adequado para a tilápia-do-Nilo alimentada com dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LC-PUFA, do inglês *long chain polyunsaturated fatty acids*) da série n-3; no entanto, houve prejuízo no desempenho reprodutivo dos peixes. Há redução no crescimento da tilápia quando as dietas possuem mais que 1% de α -LNA (Stickney e Hardy, 1989) ou excesso de óleo de peixe. A inclusão de 5% de óleo de fígado de *Pollachius virens* ou de 8% ou 12% de óleo de fígado de bacalhau, ambos em elevados níveis de LC-PUFA da série n-3 e baixos níveis de ácidos graxos da série n-6, prejudicou o crescimento de juvenis de tilápia-do-Nilo (Kanazawa et al., 1980; Al-Souti et al., 2012). Isto demonstra a importância da determinação precisa da exigência para aumentar a eficiência da dieta e evitar perdas econômicas.

Considerando os resultados inconsistentes sobre a exigência dietética de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA, do inglês *polyunsaturated fatty acids*) da série n-3 em temperatura sub-ótima, o objetivo deste estudo é estimar a exigência em ácido graxo α -LNA para a tilápia-do-Nilo, quando mantida a 22°C.

Material e métodos

Dietas experimentais

Uma dieta basal, elaborada com ingredientes semi-purificados, foi formulada para atender às exigências nutricionais de juvenis de

tilápia-do-Nilo (NRC, 2011) (Tabela 3). As dietas experimentais continham 5% de lipídio. Foram testados cinco níveis de inclusão de óleo de linhaça sobre uma mistura de óleos vegetais, gerando os seguintes níveis de α -LNA na dieta: 0,03%; 0,25%; 0,48%; 0,71% e 0,93% do peso seco da dieta.

Tabela 3. Formulação e composição das dietas experimentais.

Ingredientes, % ¹	Ácido linolênico, %				
	0,03	0,25	0,48	0,71	0,93
Óleo de palmiste	0,92	0,68	0,43	0,19	-
Óleo de oliva	3,26	3,19	3,15	3,09	2,98
Óleo de girassol	0,82	0,66	0,49	0,32	0,16
Óleo de linhaça	-	0,47	0,94	1,40	1,86
Outros ²	95,00	95,00	95,00	95,00	95,00
Composição (% , expressa na matéria seca)					
Matéria seca	93,74	92,47	93,05	92,47	92,35
Proteína bruta	36,76	37,31	36,50	36,78	36,39
Lipídios	5,62	5,48	5,51	5,42	5,41
Matéria mineral	3,26	3,71	3,92	3,88	3,38
Ácido linoleico (LOA, 18:2n-6)	0,54	0,51	0,51	0,49	0,47
Ácido linolênico (α -LNA, 18:3n-3)	0,03	0,25	0,48	0,71	0,93

¹Óleo de palmiste, Grupo Agropalma (Belém, PR – Brasil); óleo de oliva: distribuído por Cargill Agrícola S.A. (Brasil) e produzido por Victor Guedes, Ind. Com. S.A. (Abrantes, Portugal); óleos de girassol e linhaça: Vital Atman LTDA (Uchoa, SP - Brasil).

² Dieta basal: caseína (300 mg . g⁻¹), gelatina (80 mg . g⁻¹), amido de milho (400 mg . g⁻¹), celulose (109,50 mg . g⁻¹), carboximetilcelulose (10 mg . g⁻¹), fosfato bicalcico (20 mg . g⁻¹), premix macro mineral (20 mg . g⁻¹), premix vitamínico e mineral (10 mg . g⁻¹) e butil-hidroxitolueno (BHT) (0,50 mg . g⁻¹). Premix vitamínico e micromineral (Raguife Vaccinar, Belo Horizonte, MG - Brasil), composição kg⁻¹ de produto: ácido fólico 1.200 mg, ácido pantotênico 10.000 mg, BHT 5.000 mg, biotina 200 mg, cobalto 80 mg, cobre 3.500 mg, colina 100.000 mg, ferro 20.000 mg, iodo 160 mg, manganês 10.000 mg, niacina 20.000 mg, selênio 100 mg, vitamina (vit.) A 2.400.000 UI, vit. B₁ 4.000 mg, vit. B₁₂ 8.000 mg, vit. B₂ 4.500 mg, vit. B₆ 3.500 mg, vit. C 60.000 mg, vit. D₃ 600.000 UI, vit. E 30.000 UI, vit. K 3.000 mg, zinco 24.000 mg, inositol 25.000 mg. Premix macromineral (composição por kg): fosfato bicalcico 130 g, cloreto de potássio 120 g, cloreto de sódio 130 g, sulfato de magnésio 620 g.

Os óleos vegetais utilizados como base foram o de palmiste e de oliva, com a finalidade de obter uma proporção de ácidos graxos saturados (SFA, do inglês *saturated fatty acids*) e monoinsaturados

(MUFA, do inglês *monounsaturated fatty acids*). Também foi incluído óleo de girassol para suprir a exigência em 0,50% de LOA em todas as dietas (Takeuchi et al., 1983). Para obtenção dos níveis crescentes de α -LNA foi acrescentado óleo de linhaça, em substituição ao óleo de palmiste. Para todas as dietas, o aumento dos níveis de α -LNA causou um aumento nos níveis de PUFA e uma queda nos níveis de SFA e MUFA (Tabela 4).

Tabela 4. Perfil de ácidos graxos em mg . g⁻¹ de lipídio (e % do total de ácidos graxos, em parênteses) das dietas experimentais¹

Ácidos graxos	Ácido α -linolênico, %				
	0,03	0,25	0,48	0,71	0,93
8:0	4,57 (0,51)	3,08 (0,39)	1,92 (0,27)	0,85 (0,10)	ND ¹
10:0	5,02 (0,57)	3,46 (0,44)	2,12 (0,30)	1,16 (0,14)	ND
12:0	68,82 (7,75)	46,34 (5,84)	37,59 (3,71)	13,24 (1,62)	0,51 (0,05)
14:0	26,74 (3,01)	18,36 (2,31)	10,84 (1,52)	6,01 (0,74)	1,93 (0,20)
16:0	91,92 (10,40)	80,84 (10,18)	73,77 (9,73)	79,20 (9,70)	66,68 (9,35)
18:0	8,29 (0,93)	20,15 (2,54)	25,14 (3,52)	22,84 (2,80)	40,12 (4,16)
24:0	0,90 (0,10)	0,72 (0,09)	0,80 (0,11)	0,76 (0,09)	0,73 (0,08)
16:1n-7	4,20 (0,47)	3,51 (0,44)	3,15 (0,44)	3,53 (0,43)	11,86 (1,23)
18:1n-9	601,34(63,76)	566,68(60,97)	526,07(59,16)	514,20(58,50)	481,85(53,98)
18:1n-7	8,27 (0,93)	9,59 (1,21)	9,29 (1,30)	10,78 (1,32)	12,88 (1,34)
20:1n-9	2,10 (0,24)	1,86 (0,23)	1,83 (0,22)	1,85 (0,22)	1,98 (0,25)
18:2n-6	90,87 (10,23)	86,87 (9,95)	90,82 (9,92)	88,77 (9,86)	92,51 (9,83)
18:3n-6	3,19 (0,36)	2,81 (0,35)	2,46 (0,34)	2,78 (0,34)	2,81 (0,29)
18:3n-3	4,45 (0,49)	38,46 (4,84)	66,17 (9,24)	114,03(13,95)	182,76(19,07)
20:3n-6	2,11 (0,24)	1,79 (0,23)	1,57 (0,22)	1,56 (0,19)	1,56 (0,16)
Grupos de ácidos graxos²					
AG	922,78 (100)	884,51 (100)	853,55 (100)	861,53 (100)	898,18 (100)
SFA	206,25(23,27)	172,95(21,78)	152,19(19,16)	124,04(15,19)	109,97(13,84)
MUFA	615,90(65,41)	581,63(62,85)	540,33(61,12)	530,36(60,47)	508,57(56,79)
PUFAn-3	4,45 (0,49)	38,46 (4,84)	66,17 (9,24)	114,03(13,95)	182,76(19,07)
PUFAn-6	96,17(10,83)	91,47(10,53)	94,85(10,48)	93,10(10,39)	96,88(10,29)
LC-PUFA n-3	ND ¹	ND	ND	ND	ND
LC-PUFA n-6	2,11 (0,24)	1,79 (0,23)	1,57 (0,22)	1,56 (0,19)	1,56 (0,16)
n-3 / n-6	0,05	0,42	0,70	1,22	1,89

¹ND = não detectado (<0,05%), considerado como “zero”.

² Grupos de ácidos graxos, SFA= ácidos graxos saturados, MUFA= ácidos graxos monoinsaturados, PUFA= ácidos graxos poli-insaturados.

A dieta basal foi extrusada em péletes de 2 mm e seca em estufa de circulação forçada de ar, a 50°C, durante 4h. Após a extrusão, o óleo foi aspergido sobre as dietas e impregnado com o auxílio de vácuo, para evitar perda de óleo para água. Em seguida, as dietas foram embaladas e conservadas em freezer (-20°C) até o fornecimento aos peixes.

Condições experimentais e manejo alimentar

Juvenis de tilápia-do-Nilo da linhagem GIFT, revertidos sexualmente para macho, foram adquiridos da piscicultura ACQUA SUL (Ilhota, Santa Catarina, Brasil). Grupos de 25 peixes, com peso médio de $10,60 \pm 0,09$ g, foram distribuídos aleatoriamente em 15 tanques-rede circulares de 80 L. Os tanques-rede foram colocados em tanques de 1.000 L, conectados a um sistema de recirculação fechada de água doce, com controle de temperatura, aeração, filtragem mecânica e biológica.

O presente estudo foi realizado em temperatura sub-ótima de 22°C, simulando condições de inverno das regiões sul e sudeste do Brasil.

Os peixes foram aclimatados às condições experimentais por duas semanas, sendo alimentados com a dieta contendo 0,03% de α -LNA. Após a adaptação, os tratamentos foram aleatoriamente distribuídos entre as unidades experimentais e os grupos de peixes foram alimentados com as respectivas dietas experimentais durante 14 semanas, duas vezes ao dia (08:30h e 17:00h), até a saciedade aparente. O consumo alimentar foi registrado diariamente. O fotoperíodo foi ajustado para 12 h. Os parâmetros indicadores da qualidade de água foram monitorados diariamente, resultando nas seguintes médias: temperatura $22,12 \pm 0,17^\circ\text{C}$; oxigênio dissolvido $7,21 \pm 0,92$ mg/L; saturação de oxigênio $81,59 \pm 10,34\%$; pH $7,00 \pm 0,39$; salinidade $0,92 \pm 0,05$ g/L de NaCl (sal refinado sem iodo). Amônia total, nitrito e nitrato foram monitorados uma vez por semana, não excedendo 0,40 mg/L. Os parâmetros de qualidade de água, com exceção da temperatura, permaneceram na faixa indicada para a criação de tilápia e não diferiram significativamente entre as unidades experimentais.

O manejo dos peixes durante o experimento seguiu o protocolo n° PP00815, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA, UFSC).

Coleta de amostras e análises

As biometrias foram realizadas a cada vinte dias para avaliar o desempenho dos peixes, entando os peixes eram mantidos em jejum por 24 h antes de cada biometria. No início do ensaio alimentar foram coletados três grupos de trinta peixes para as análises de composição centesimal corporal e perfil de ácidos graxos iniciais. Também foi coletada a musculatura de dez peixes para análise inicial do perfil de ácidos graxos.

Ao final do experimento, doze peixes por unidade experimental foram amostrados. Destes, três foram utilizados para o cálculo dos *índices viscerossomático* [(peso das vísceras / peso corporal) x 100] e *hepatossomático* [(peso do fígado / peso corporal) x 100]. Foi separada a musculatura para análise de ácidos graxos de seis peixes. Os três peixes restantes foram usados para análise da composição centesimal corporal final, bem como para a análise da composição de ácidos graxo corporal final. Os seguintes índices foram calculados: ganho de peso (peso final – peso inicial), ganho de peso diário [(peso final – peso inicial)/dias], taxa de crescimento específico {[ln peso final – ln peso inicial) / dias] x 100}, eficiência alimentar [(peso final - peso inicial) / consumo], conversão alimentar [consumo / (peso final - peso inicial)], Ingestão diária [consumo / (peso final + peso inicial) / 2 / tempo] x 100, retenção aparente de proteína [(proteína corporal final – proteína corporal inicial) / ingestão total de proteína], retenção aparente de ácidos graxos [(ácidos graxos corporal final – ácidos graxos corporal inicial) / ingestão total de ácidos graxos] e sobrevivência [(número final de peixes) / (número inicial de peixes) x 100].

Tanto as amostras de músculo como de peixe inteiro, foram moídas, homogeneizadas antes do seu uso nas análises químicas, sendo conservadas a -20°C. A composição centesimal seguiu as normas da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1999), incluindo teor de umidade (secagem até peso constante em estufa a 105°C), extrato etéreo (método de Soxhlet), proteína bruta (método de Kjeldahl) e matéria mineral (incineração à 550°C).

Para as análises de ácidos graxos, os lipídios foram extraídos e quantificados pelo método de Folch et al. (1957), modificado por Ways e Hanahan (1964). Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram preparados pelo método de O Fallon et al. (2007) e separados por meio de cromatógrafo gasoso Shimadzu 2014, com coluna capilar RTX 2330 (105 m x 0,25 mm x 0,20 µm), o gás de arraste foi ar medicinal e os gases de *make up* nitrogênio e hidrogênio. Os parâmetros de operação

foram: temperatura do injetor 250°C com *split ratio* 1:40, detector de ionização de chama (FID) a 260°C e com a seguinte rampa de aquecimento da coluna: inicialmente a 130°C por 5 min, seguido de 130°C até 180°C a 5°C/min, 180°C por 10 min, 180 até 240°C a 3°C/min e 240°C por 13 min. Para a identificação dos tempos de retenção, os ácidos graxos foram comparados com dois padrões externos (PUFA Mix 37 e PUFA No. 3 - Menhaden oil, Supelco[®], Bellefonte) e o padrão interno (Ácido Tricosanóico – C23, Sigma, Saint Louis) foi adicionado para quantificação.

Análise estatística

Os dados zootécnicos, composição corporal e a retenção dos ácidos graxos foram submetidos à análise de regressão polinomial, a um nível de significância de 5%. Os dados de composição dos ácidos graxos da série n-3 e da relação n-3/n-6 foram submetidos à análise de regressão linear, porém, os dados de composição de todos os outros ácidos graxos foram submetidos à regressão polinomial, a um nível de significância de 5%.

Resultados

Desempenho

Com o aumento de α -LNA na dieta, o ajuste de uma regressão cúbica foi significativa para as variáveis de crescimento. Para as outras variáveis de desempenho foi ajustada uma regressão quadrática (Tabela 5). Os peixes alimentados com a dieta 0,71% de α -LNA apresentaram maior peso final, ganho em peso diário e taxa de crescimento específico. A conversão alimentar melhorou com o aumento de α -LNA na dieta, até a concentração de 0,71%, mas piorou com o nível mais elevado. A dieta que continha 0,03% de α -LNA propiciou a maior ingestão diária pelos peixes. A sobrevivência foi superior a 93% em todos os tratamentos e não foi influenciada pelas dietas experimentais. O índice viscerossomático também não diferiu entre os tratamentos. Porém, o índice hepatossomático apresentou resposta quadrática, sendo maior nos peixes alimentados com a dieta 0,71% de α -LNA.

Tabela 5. Desempenho, sobrevivência e índices somáticos de juvenis de tilápia, quando alimentados com níveis crescentes de ácido α -linolênico, durante 14 semanas a 22°C.

Variáveis de desempenho	Ácido α -linolênico, %					<i>pooled</i> SEM	R ²	Valor <i>p</i>
	0,03	0,25	0,48	0,71	0,93			
Peso final, g	49,80	49,56	56,34	59,80	51,39	2,05	0,90	<0,001
Ganho em peso diário, g.dia ⁻¹	0,44	0,43	0,51	0,55	0,45	0,02	0,91	<0,001
Taxa de crescimento específico, %.dia ⁻¹	1,72	1,72	1,85	1,91	1,76	0,04	0,90	<0,001
Conversão alimentar, %	1,21	1,14	1,10	1,05	1,10	0,04	0,76	<0,001
Ingestão diária, %.dia ⁻¹	1,74	1,64	1,62	1,61	1,61	0,04	0,73	0,002
Sobrevivência, %	98,67	98,67	93,33	94,67	100	3,53	0,37	0,086
Índice viscerossomático, %	10,30	10,56	11,73	11,79	10,77	0,93	0,41	0,064
Índice hepatossomático, %	1,52	1,91	2,42	2,49	1,84	0,32	0,70	0,003

¹ Regressão polinomial foi significativa para todas as variáveis e geraram as seguintes equações: peso final $y = 50,83 - 40,01x + 175,79x^2 - 143,11x^3$; ganho em peso diário $y = 0,448 - 0,44x + 1,93x^2 - 1,57x^3$; taxa de crescimento específico $y = 1,74 - 0,78x + 3,38x^2 - 2,74x^3$; conversão alimentar $y = 1,23 - 0,43x + 0,31x^2$; ingestão diário $y = 1,74 - 0,42x + 0,30x^2$; sobrevivência $y = 100,55 - 24,58x + 25,14x^2$; índice viscerossomático $y = 9,89 + 6,03x - 5,31x^2$; índice hepatossomático $y = 1,31 + 4,02x - 3,65x^2$.

A análise de regressão polinomial de terceira ordem se ajustou melhor para determinar a exigência dietética de α -LNA para tilápia-do-Nilo para o ganho em peso, sendo o ponto máximo de inflexão, 0,68% de α -LNA, estimado como a exigência dietética para maior ganho em peso (Figura 1). Já a relação entre a eficiência alimentar e os níveis dietéticos de α -LNA foi melhor representada por uma equação de segunda ordem, sendo o nível dietético 0,71% de α -LNA o mais adequado para a maior eficiência. Considerando o máximo ganho em peso 49,13 g e eficiência alimentar 0,94 a exigência dietética de α -LNA para tilápia-do Nilo é de 0,68 a 0,71% do peso seco da dieta, respectivamente (Figura 1).

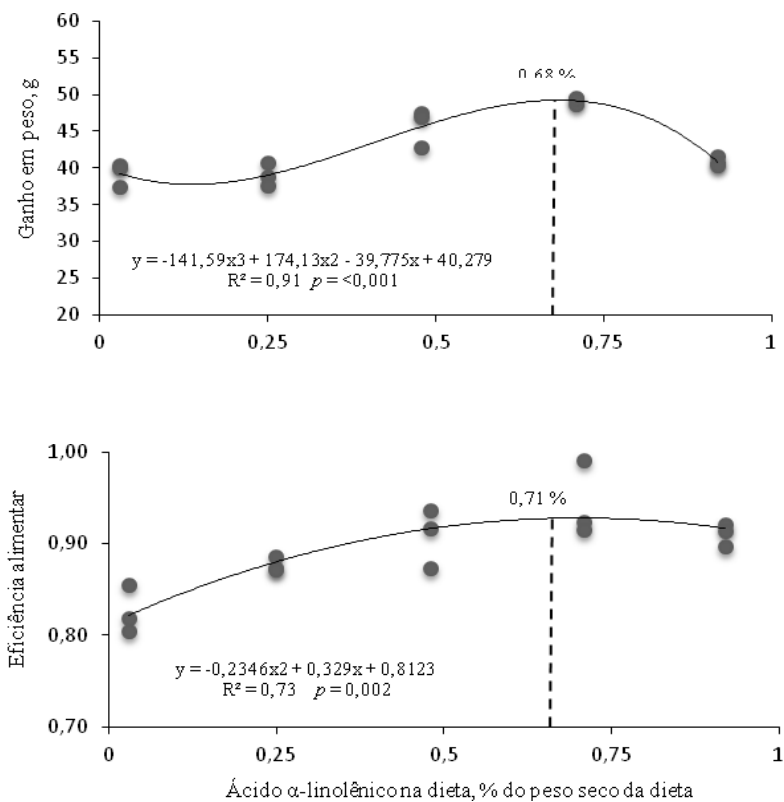


Figura 1. Regressão polinomial do ganho em peso e da eficiência alimentar de juvenis de tilápia-do-Nilo, alimentados com níveis crescentes de ácido graxo α -linolênico, durante 14 semanas a 22°C.

Composição corporal

A composição corporal das tilápias foi afetada pela inclusão de α -LNA na dieta (Tabela 6), sendo que o conteúdo de umidade e lipídio apresentaram resposta quadrática significativa ($<0,05$). Com o aumento de α -LNA na dieta, o conteúdo de gordura corporal diminuiu e a umidade aumentou. O conteúdo corporal de proteína e cinzas não foram afetados significativamente ($>0,05$).

Tabela 6. Composição corporal (expressa na matéria úmida) de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de ácido graxo α -linolênico durante 14 semanas a 22°C.

Fração	Peixe inicial	Ácido α -linolênico, %					<i>pooled</i> SEM ¹	R ²	Valo <i>p</i>
		0,03	0,25	0,48	0,71	0,93			
Úmidade	78,81	70,39	70,99	71,77	71,48	72,62	0,97	0,51	0,026
Proteína bruta	13,66	15,32	15,98	15,68	15,78	15,99	0,21	0,35	0,095
Lipídio	2,79	9,00	8,97	8,87	8,49	7,87	0,63	0,53	0,023
Cinzas	3,48	3,01	3,16	3,06	2,94	2,96	0,23	0,13	0,347

¹ Erro padrão da média

Perfil corporal de ácidos graxos

O perfil corporal de ácidos graxos das tilápias ao final do ensaio alimentar foi influenciado diretamente pelos níveis crescentes de α -LNA na dieta (Tabela 7). Os MUFA foram os mais abundantes na fração lipídica dos peixes, seguidos pelos SFA. O total de SFA foi afetado significativamente pelo aumento de α -LNA, com valor crescente para os peixes alimentados até 0,25%; após esse nível na dieta, houve queda no acúmulo corporal. Por outro lado, não houve diferença significativa no conteúdo corporal de MUFA com o aumento de α -LNA na dieta.

Tabela 7. Perfil corporal de ácidos graxos (mg . g⁻¹ de lipídio) de juvenis de tilápia-do-Nilo, alimentados com níveis crescentes de ácido α -linolênico, durante 14 semanas, a 22°C.

Ácidos graxos ^{2,3}	Peixe inicial	Ácido α -linolênico, %						<i>pooled</i> SEM ¹	R ²	Valor <i>p</i>
		0,03	0,25	0,48	0,71	0,93				
12:0	6,99	13,16	10,49	6,81	3,52	1,39	0,25	0,96	<0,001	
14:0	23,10	35,71	33,10	28,67	25,55	23,77	1,69	0,73	0,002	
16:0	161,29	176,96	183,34	171,91	171,63	162,16	3,76	0,34	0,10	
18:0	50,58	38,62	45,82	45,91	43,47	40,72	1,65	0,51	0,03	
16:1 n-7	29,76	47,10	43,92	41,18	44,73	40,99	1,55	0,25	0,18	
18:1 n-9	266,75	351,41	364,77	369,24	354,13	352,94	9,98	0,17	0,29	
18:1 n-7	22,59	27,64	26,99	23,44	24,95	24,85	0,76	0,45	0,05	
20:1 n-11	15,85	24,09	22,91	21,39	19,00	19,47	0,70	0,77	<0,001	
18:2 n-6	64,59	24,35	17,09	26,21	25,47	31,62	1,96	0,28	0,16	
18:3 n-3	3,54	2,35	8,11	13,74	20,26	28,62	0,59	0,99	<0,001	
20:4 n-6	4,58	3,18	3,38	2,97	2,92	3,00	0,08	0,19	0,26	
20:3 n-3	ND ³	ND	0,72	1,18	1,86	2,39	0,05	0,99	<0,001	
20:4 n-3	ND	ND	0,46	0,50	0,92	1,04	0,02	0,96	<0,001	
20:5 n-3	ND	ND	ND	0,41	0,58	0,62	0,01	0,95	<0,001	
22:4 n-6	3,24	3,81	3,01	2,26	2,38	2,24	0,18	0,74	0,001	
22:5 n-3	0,56	0,46	0,96	1,40	2,09	2,64	0,05	0,99	<0,001	
22:6 n-3	1,95	0,96	2,96	4,07	5,66	6,21	0,18	0,99	<0,001	
Grupos de ácidos graxos⁴										
AG	678,14	766,67	810,10	776,90	754,91	757,88	16,45	0,05	0,58	
SFA	249,90	269,90	280,46	258,51	249,22	233,43	3,94	0,56	0,02	
MUFA	339,06	455,23	477,82	458,68	435,58	436,70	11,82	0,17	0,28	
PUFA n-3	11,37	4,23	13,98	22,53	33,11	43,73	0,49	0,99	<0,001	
PUFA n-6	76,23	34,67	35,33	35,17	34,88	41,62	2,34	0,26	0,17	
PUFAs	89,18	41,53	51,83	59,70	70,12	87,75	4,76	0,85	<0,001	
LC-PUFA n-3	2,51	1,43	5,10	7,56	11,10	12,90	0,20	0,99	<0,001	
LC-PUFA n-6	9,06	8,83	8,77	6,96	7,10	8,32	0,44	0,24	0,19	
(n-3) / (n-6)	0,15	0,12	0,40	0,64	0,95	1,05	0,03	0,98	<0,001	

¹ Erro padrão da média.

² ND = não detectado (<0,05%), considerado como “zero”.

³ Ácidos graxos detectados e totalizados, mas não exibidos devido ao seu baixo valor nos peixes alimentados com todas as dietas (< 0,3%): 14:1n-5, 16:2 n-4, 16:3n-4, 18:3n-4, 18:3n-6, 18:4 n-3, 20:0, 20:1n-9, 20:2 n-6, 20:3n-6, 22:0, 22:1, 24:0, 24:1n-9.

⁴ Grupos de ácidos graxos, AG= ácidos graxos, SFA= ácidos graxos saturados, MUFA= ácidos graxos monoinsaturados, PUFA= ácidos graxos poli-insaturados, LC-PUFA= PUFA de cadeia longa.

O total corporal de ácidos graxos da série n-3 apresentou resposta linear significativa com a inclusão crescente de α -LNA na dieta. O aumento crescente de α -LNA na dieta foi diretamente relacionado com seu conteúdo no perfil corporal dos peixes. A tilápia-do-Nilo acumulou preferencialmente o ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3), dentre todos os LC-PUFA da série n-3, o que fica evidente na Figura 2. Apesar do ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) ser considerado um ácido graxo de alto valor biológico, ele foi pouco acumulado, não sendo detectado nos peixes alimentados com níveis mais baixos de α -LNA.

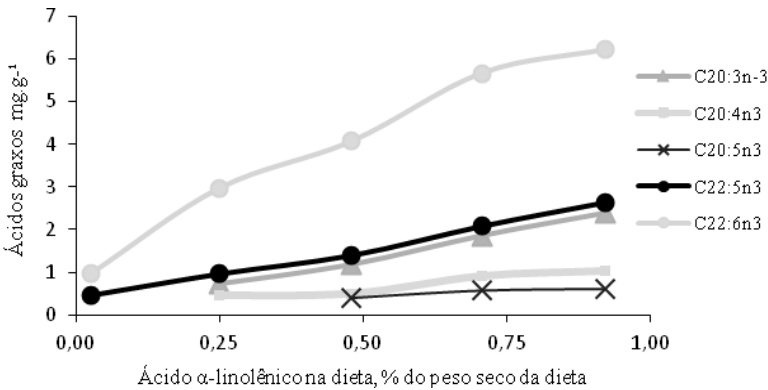


Figura 2. Conteúdo corporal de LC-PUFA da série n-3 em juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de ácido α -linolênico, durante 14 semanas, a 22°C.

O acúmulo de ácidos graxos da série n-6 no corpo da tilápia não apresentou relação com as dietas, tanto para os ácidos graxos isolados, quanto para os grupos de PUFA e LC-PUFA. A relação n-3/n-6 corporal aumentou com os níveis crescentes de α -LNA na dieta, variando de 0,12 a 1,05.

Composição de ácidos graxos do músculo

A dieta influenciou diretamente a composição de alguns ácidos graxos do músculo de juvenis de tilápia (Tabela 8). A composição dos SFA e os MUFA no músculo dos peixes não tiveram relação significativa com a dieta.

O total dos ácidos graxos da série n-3 apresentou aumento linear significativo no músculo da tilápia com a inclusão crescente de α -LNA na dieta, sendo que o DHA e o α -LNA foram os dois ácidos graxos mais acumulados.

O total dos PUFA da série n-6 no músculo da tilápia não foi influenciado pela dieta. Entretanto, o acúmulo de LOA no músculo apresentou relação direta com o aumento de α -LNA na dieta. O total de LC-PUFA da série n-6 diminuiu com o aumento de α -LNA na dieta, devido à diminuição do ácido graxo 22:4n-6. Porém, o conteúdo de ARA no músculo não variou significativamente com o aumento de α -LNA na dieta.

A relação n-3/n-6 no músculo aumentou com os níveis crescentes de α -LNA na ração, variando de 0,28 a 1,49. O maior acúmulo de LC-PUFA da série n-3 e de LOA no músculo dos peixes foi observado quando estes foram alimentados com a dieta 0,93% de α -LNA.

Tabela 8. Perfil de ácidos graxos ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de lipídio) no músculo de juvenis de tilápia-do-Nilo, alimentados com níveis crescentes de ácido α -linolênico, durante 14 semanas, a 22°C.

Ácidos graxos ^{2,3}	Peixe inicial ¹	Ácido α -linolênico, %					<i>pooled</i>		R ²	Valor <i>p</i>
		0,03	0,25	0,48	0,71	0,93	SEM ¹			
12:0	3,58	6,74	7,03	3,92	1,87	0,70	0,34	0,69	0,003	
14:0	14,51	22,63	25,27	19,82	16,92	16,62	1,06	0,43	0,05	
16:0	153,80	146,51	185,01	147,95	149,78	147,11	7,68	0,16	0,32	
18:0	62,52	36,46	47,81	38,89	40,02	38,84	1,62	0,15	0,33	
16:1 n-7	26,51	42,41	52,75	37,91	41,07	38,83	1,54	0,10	0,44	
18:1 n-9	197,42	249,27	320,31	270,39	277,65	284,19	13,54	0,11	0,40	
18:1 n-7	23,58	20,68	26,10	21,08	20,96	21,58	0,55	0,15	0,33	
20:1 n-11	13,84	16,45	19,21	15,71	14,12	15,54	0,39	0,27	0,17	
22:1 n-11	2,45	0,91	1,19	0,92	0,94	0,71	0,08	0,15	0,32	
18:2 n-6	72,20	18,28	21,24	22,72	23,10	23,15	0,69	0,68	0,004	
18:3 n-3	3,79	1,56	6,89	11,01	15,88	22,63	0,71	0,98	<0,001	
18:4 n-3	ND ³	6,51	8,50	1,26	5,52	2,29	0,12	0,26	0,17	
20:3 n-3	ND	ND	ND	1,02	1,39	2,18	0,08	0,95	<0,001	
20:4 n-6	33,93	8,77	9,01	8,02	7,60	7,17	0,66	0,26	0,19	
20:5 n-3	ND	ND	0,88	1,00	1,45	1,69	0,13	0,97	<0,001	
22:4 n-6	32,62	13,40	10,34	8,30	7,25	6,79	0,82	0,80	<0,001	
22:5 n-3	3,71	0,90	3,02	3,52	4,67	5,50	0,28	0,95	<0,001	
22:6 n-3	21,89	3,33	10,88	16,85	20,42	24,00	0,97	0,94	<0,001	
Grupos de ácidos graxos⁴										
AG ⁴	716,19	611,61	778,17	647,74	668,85	675,49	25,33	0,10	0,43	
SFA	266,39	220,17	276,17	218,09	215,74	209,47	10,47	0,25	0,18	
MUFA	270,65	335,16	425,97	349,57	358,70	364,39	15,34	0,11	0,41	
PUFA n-3	29,39	12,30	30,86	35,43	50,46	59,56	0,96	0,97	<0,001	
PUFA n-6	149,75	43,39	44,45	42,10	41,12	39,93	2,28	0,02	0,75	
LC-PUFA n-3	25,60	4,23	15,47	23,16	29,06	34,63	1,28	0,95	<0,001	
LC-PUFA n-6	75,95	23,97	21,85	18,19	16,72	15,75	1,33	0,72	0,002	
(n-3)/(n-6)	0,20	0,28	0,69	0,84	1,27	1,49	0,03	0,97	<0,001	
Em % da dieta úmida										
Lipídio	0,57	7,00	6,57	6,57	6,76	5,90	0,43	0,24	0,203	

¹ Erro padrão da média

² ND = não detectado (<0,05%), considerado como "zero"

³ Ácidos graxos detectados e totalizados, mas não exibidos devido ao seu baixo valor nos peixes alimentados com todas as dietas (< 0,3%): 8:0, 14:1 n-5, 16:2n-4, 16:3n-4, 18:3n-4, 18:3 n-6, 20:0, 20:1n-9, 20:2 n-6, 20:4n-3, 20:3n-6, 22:0, 22:1n-9, 24:0, 24:1n-9.

⁴ Grupos de ácidos graxos, AG= ácidos graxos, SFA= ácidos graxos saturados, MUFA= ácidos graxos monoinsaturados, PUFA= ácidos graxos poli-insaturados, LC-PUFA= PUFA de cadeia longa.

Taxa de retenção aparente

A retenção proteica e a retenção de ácidos graxos nos peixes responderam de forma quadrática com o aumento de α -LNA na dieta (Tabela 9). A maior retenção proteica foi verificada quando os peixes foram alimentados com a dieta de 0,71% de α -LNA.

Houve uma diminuição significativa na retenção de α -LNA nos peixes com o aumento de α -LNA na dieta. A retenção do total de ácidos graxos da série n-3, assim como do α -LNA separadamente, foram as mais influenciadas pela dieta. Não houve relação na retenção de ácidos graxos da série n-6 nas tilápias alimentadas com níveis crescentes de α -LNA.

Tabela 9. Taxa de retenção proteica aparente de ácidos graxos essenciais para juvenis de tilápia.

Taxa de retenção ²	Ácido α -linolênico, %				<i>pooled</i> 0,93	SEM ¹	R ²	Valor P
	0,03	0,25	0,48	0,71				
Proteína	37,90	41,87	45,24	46,88	44,65	0,87	0,92	<0,001
LOA	43,71	50,48	53,72	52,36	54,36	1,59	0,38	0,078
α-LNA	50,45	30,78	36,34	33,44	24,05	2,44	0,62	0,008
PUFA n-3	83,64	55,89	59,61	52,05	36,58	4,24	0,78	<0,001
PUFA n-6	57,26	64,73	66,34	65,04	65,25	1,77	0,21	0,21

¹ Erro padrão da média.

² PUFA = ácidos graxos poli-insaturado, LOA (18:2n-6) = o ácido linolêico, α -LNA (18:3n-3) = ácido linolênico.

Regressão polinomial foi significativa para todas as variáveis e geraram as seguintes equações: taxa de retenção proteica $y = 36,79 + 27,56x - 20,25x^2$, taxa de retenção de LOA $y = 43,39 + 29,92x - 20,59x^2$, taxa de retenção de α -LNA $y = 47,82 - 38,81x + 17,44x^2$, taxa de retenção de PUFA da série n-3 $y = 81,05 - 66,91x + 24,59x^2$, taxa de retenção de PUFA da série n-6 $y = 57,06 + 31,39x - 25,38x^2$.

Taxa de retenção de proteína (TRP, %) = [(proteína corporal final – proteína corporal inicial) / ingestão total de proteína]. Taxa de retenção de ácidos graxos (TR, %) = [(ácidos graxos corporal final – ácidos graxos corporal inicial) / ingestão total de ácidos graxos].

Discussão

Juvenis de tilápia-do-Nilo, mantidos a 22°C, apresentam exigência em α -LNA entre 0,68 a 0,71% da dieta seca para maior ganho em peso e eficiência alimentar, respectivamente. Já quando os peixes são mantidos a 27°C a exigência relatada é de 0,45 a 0,64% α -LNA da dieta seca (Chen et al., 2013). Portanto, constata-se que a exigência em α -LNA é ligeiramente maior em temperatura sub-ótima.

Os peixes mantidos a 22°C apresentaram um aumento na eficiência alimentar com o aumento de α -LNA na dieta até 0,71%, mas após esse nível houve queda, sugerindo que o excesso desse ácido graxo afeta de forma negativa a eficiência alimentar. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos com tilápia-do-Nilo (Chen et al., 2013) e tilápia híbrida, *O. niloticus* x *O. aureus* (Li et al., 2013; Chou et al., 2001), onde os peixes foram mantidos em temperatura mais elevada. O maior consumo de alimento foi registrado para os peixes alimentados com o menor nível de inclusão de α -LNA, provavelmente para compensar sua deficiência.

De acordo com a literatura, a tilápia possui exigência de PUFA das séries n-3 e n-6 para crescimento máximo, sugerindo que alto nível de um pode substituir a exigência do outro (Yildirim-Aksoy et al., 2007). Para a tilápia azul, *Oreochromis aureus*, embora a exigência em ácidos graxos não tenha sido definida, Stickney e McGeachin (1983) indicaram que PUFAs da série n-3 ou n-6 não são necessários acima de 1% da dieta. No entanto, para a tilápia híbrida, *Oreochromis niloticus*x*Oreochromis aureus*, Li et al. (2013) indicaram que 1,14% de LOA supre a exigência em ácidos graxos, mas esta exigência pode ser reduzida quando o α -LNA também está presente na dieta. No presente estudo, a 22°C, a dieta com 0,71% de α -LNA mais 0,49% de LOA propiciou melhor resposta para ganho em peso, sendo que o total de PUFA foi de 1,20% da dieta. No estudo de Chen et al. (2013), também com a tilápia-do-Nilo, a dieta com 0,63% de α -LNA mais 0,62% de LOA resultou em melhor desempenho produtivo, sendo que o total de PUFA desta dieta foi de 1,25%. Com base na literatura e nos resultados do presente trabalho, a exigência em ácidos graxos é satisfeita pela combinação de PUFA das séries n-3 e n-6 em torno de 1,20% da dieta seca.

No presente estudo, o aumento do nível dietético de α -LNA resultou em menor teor de gordura corporal, que foi semelhante ao obtido em outros estudos com tilápia-do-Nilo (Chen et al., 2013), tilápia híbrida (Ng et al., 2001) e salmão-do-Atlântico, *Salmo salar* (Todorcević et al., 2009). Estudos recentes mostram que os LC-PUFAs da série n-3 na dieta do salmão-do-Atlântico diminuíram o percentual de gordura do tecido adiposo branco e aumentaram a capacidade da β -oxidação dos ácidos graxos; no entanto, níveis elevados levaram ao estresse oxidativo e perda de funções mitocondriais (Todorcević et al., 2009).

O conteúdo de proteína na composição corporal dos peixes não teve relação com o aumento de α -LNA na dieta, porém, a retenção proteica aparente aumentou de forma linear. Efeito semelhante foi

relatado por Chen et al. (2013). Entretanto, naquele estudo, o teor de proteína na composição corporal também aumentou com o aumento de α -LNA na dieta, com resultado significativo nos níveis de 1,56 e 2% de α -LNA, portanto acima dos testados no presente estudo. Foi retalato que variações dietéticas de LOA e de α -LNA tiveram efeito significativo sobre a atividade da enzima adenilato ciclase, responsável pela síntese de cAMP. Este mensageiro secundário é importante para regular muitas respostas fisiológicas, sendo uma delas a síntese proteica (Glencross, 2009).

Estudos anteriores demonstraram que dieta ricas em PUFA influenciam a composição corporal e do músculo da tilápia, quando mantida em temperatura ótima de criação (Li et al., 2013; Teoh et al., 2011; Lim et al., 2011; Tonial et al., 2009; Karapanogiotidis et al., 2007). Após 14 semanas mantidas a 22°C, houve um aumento linear dos os ácidos graxos da série n-3, tanto no corpo inteiro, como no músculo dos peixes alimentados com níveis crescentes de α -LNA na dieta.

No presente estudo, observou-se que a tilápia-do-Nilo acumula preferencialmente DHA entre todos os LC-PUFA da série n-3, tanto no corpo, como no músculo. Resultados semelhantes foram encontrados para a tilápia híbrida (Al-Souti et al., 2012; Chou et al., 2001) e para a tilápia-do-Nilo e a tilápia-vermelha híbrida, *Oreochromis sp.* (Teoh et al., 2011). Apesar do EPA ser considerado um ácido graxo de alto valor biológico, este foi pouco acumulado nas tilápias. Os ácidos graxos são importantes fontes de energia para o organismo, independente do seu tamanho de cadeia ou número de insaturações, porém, o DHA tende a ser conservado nos fosfolipídios das membranas (Turchini et al., 2010; Sargent et al., 2002). O resultado do presente estudo apoia a suposição de que o EPA é usado seletivamente como um substrato para a β -oxidação na tilápia (Karapanogiotidis et al., 2007). Outra possível explicação, sugerida por Tonial et al. (2009), é que o EPA é precursor de DHA, prostaglandinas e leucotrienos, o que diminui sua concentração nos tecidos (Tonial et al., 2009).

Em tilápia alimentada com dieta rica em α -LNA e LOA, o acúmulo corporal de α -LNA foi menor que o de LOA, o que foi relacionado à maior afinidade aparente das enzimas dessaturase Δ -6 e alongases com o α -LNA, para a bioconversão em LC-PUFA (Teoh et al., 2011). No presente trabalho, o acúmulo corporal de LOA não foi afetado pelo incremento de α -LNA dietético, porém, para todas as dietas, o conteúdo de LOA foi sempre maior que o de α -LNA nos tecidos. Tonial et al. (2009) relataram aumento de LOA, maior que o

acúmulo de α -LNA, no músculo da tilápia mantida em temperatura ótima, após 15 dias de alimentação com óleo de linhaça.

A incorporação dos ácidos graxos no tecido é influenciada pela dieta, por vários fatores metabólicos e ambientais (Sargent et al., 2002). Apesar dos relatos na literatura sobre a preferência das enzimas dessaturases Δ -5 e Δ -6 por ácidos graxos da série n-3 (Tocher 2010; NRC 2011), no presente estudo observou-se que, mesmo com o aumento no acúmulo corporal de LC-PUFA da série n-3 com a inclusão de α -LNA na dieta, o acúmulo de LC-PUFA da série n-6 não foi influenciado pela dieta. Uma exceção foi o conteúdo corporal do ácido graxo 22:4n-6, que apresentou uma pequena queda com o aumento de α -LNA na dieta.

Estudos com tilápias mantidas em temperatura ótima mostraram resultados divergentes aos encontrados no presente estudo. Peixes alimentados com níveis crescentes de α -LNA mostraram aumento de DHA no músculo e redução no conteúdo de ARA e seus intermediários, tal como 20:2n-6 e 20:3n-6 (Chen et al., 2013; Tonial et al., 2009). Já no presente trabalho, o total de LC-PUFA da série n-6 diminuiu significativamente no músculo das tilápias com o aumento de α -LNA na dieta, isso por causa da queda na concentração do ácido graxo 22:4n-6. Porém, o conteúdo de ARA no músculo não variou significativamente, enquanto que seus intermediários foram pouco acumulados. Segundo Karapanagiotidis e colaboradores (2007), quando a relação n-3/n-6 é elevada na dieta, a dessaturação de LOA pode ser bloqueada ou pelo menos retardada. Portanto, acredita-se que a bioconversão de LOA para ARA não foi influenciada com o incremento de α -LNA na dieta, assim fica evidente a importância biológica do ARA, quando a tilápia é mantida em temperatura sub-ótima.

No presente estudo, a retenção corporal de PUFAs da série n-6 não foi afetada pelo incremento de α -LNA na dieta, porém foi maior que a retenção de PUFAs da série n-3. Em outro estudo, tilápias alimentadas com óleo de peixe retiveram mais os PUFAs da série n-6, exceto LOA, do que os PUFAs da série n-3 (Karapanagiotidis et al., 2007). Os autores deste trabalho enfatizaram que a retenção preferencial de ARA e 22:5n-6 sugere a importância nutricional destes ácidos graxos para a tilápia (Karapanagiotidis et al., 2007). No entanto, nas tilápias alimentadas com a dieta 0,03% de α -LNA, a retenção de PUFAs da série n-3 foi maior do que de PUFAs da série n-6. Resultados semelhantes foram relatados por Karapanagiotidis et al. (2007), onde os PUFAs das séries n-3 e n-6, que estavam em baixas concentrações na dieta, foram preferencialmente retidos pelos peixes. Contudo, a medida em que há

aumento nos níveis de α -LNA na dieta observa-se uma queda na retenção deste ácido graxo.

No presente estudo, a adição de fontes lipídicas vegetais na dieta, contendo praticamente PUFA de 18 carbonos, propiciou o acúmulo de LC-PUFA das séries n-3 e n-6, provavelmente pela bioconversão dos seus precursores de cadeia mais curta. Nossos resultados corroboram aqueles relatados por Teoh e colaboradores (2011), que calcularam o balanço de ácidos graxos *in vivo* e constataram que a tilápia-do-Nilo, quando alimentada com dieta contendo uma mistura de óleos vegetais, se mostrou eficiente na dessaturação e alongação dos PUFA da série n-3 e n-6. Tocher et al. (2002) já haviam demonstrado que ocorre dessaturação e alongação de ácidos graxos nos hepatócitos da tilápia-do-Nilo. No entanto, apesar da maior atividade dessas enzimas ocorrer nos peixes alimentados com óleos vegetais, a bioconversão ainda foi insuficiente para manter os mesmos níveis de EPA e DHA nos tecidos dos peixes, quando estes são alimentados com óleo de peixe.

Em conclusão, o presente estudo demonstrou que a tilápia-do-Nilo responde ao incremento de α -LNA na dieta, com melhor desempenho produtivo, quando mantida em temperatura de 22°C. A exigência dietética de α -LNA estimada para juvenis de tilápia-do-Nilo de 10,67 a 59,80 g mantidos a 22°C e alimentados com dieta contendo 5,41% de lipídios e 0,49% de LOA é de 0,68% para maior ganho em peso e 0,71% para maior eficiência alimentar.

Estudos adicionais serão necessários para estabelecer o total de PUFA exigido pela tilápia-do-Nilo na dieta e também para determinar a relação ótima entre os ácidos graxos da série n-3 e n-6, que promova o melhor desempenho produtivo.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento deste estudo, bem como pela bolsa concedida ao último autor. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida à primeira autora. Agradecimentos também são devidos ao Dr. Marcelo Maraschin (Universidade Federal de Santa Catarina, Grupo de Morfogênese e Bioquímica Vegetal, Florianópolis, SC, Brasil) e à Dr.^a Jane Mara Block (Universidade Federal de Santa Catarina, Grupo de Óleos e Gorduras, Florianópolis, SC, Brasil) pela colaboração nas análises de ácidos graxos. Agradecemos especialmente ao Dr. Giovanni M. Turchini

(Universidade Deakin, School of Life and Environmental Sciences, Warrnambool, VIC, Australia) pelo auxílio no estabelecimento do protocolo de extração de gordura.

Referências

A.O.A.C. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists** (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg. 1999.

Al-Souti, A., Al-Sabahi, J., Soussi, B., Goddard, S., 2012. The effects of fish oil-enriched diets on growth, feed conversion and fatty acid content of red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp. **Food Chemistry**. 133, 723–727.

Azaza, M. S., Dhraïef, M. N., Kraïem, M. M., 2008. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. **Journal of Thermal Biology**. 33, 98-105.

Chen, C., Sun, B., Li, X., Li, P., Wutai, G., Bi, Y., Pan, Q., 2013. N-3 essential fatty acids in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: Quantification of optimum requirement of dietary linolenic acid in juvenile fish. **Aquaculture**. 417, 99-104.

Chou, B. S. e Shiau, S. Y., 1999. Both n-6 and n-3 fatty acids are required for maximal growth of juvenile hybrid tilapia. **North American Journal of Aquaculture**. 61, 13-20.

Chou, B. S., Shiau, S. Y., Hung, S. S., 2001. Effect of dietary cod liver oil on growth and fatty acids of juvenile hybrid tilapia. **North American Journal of Aquaculture**. 63, 277-284.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2014**. Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome, 2012. 209 p.

Folch, J. M., Lees, M., Sloane-Stanley, G. H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**. 226, 497–509.

Folch, J., Lees, M., Stanley, G. H. S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**. 226, 497-509.

Glencross, B. D., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. **Reviews in Aquaculture**. 1, 71-124.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal 2013**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro, 2013. v. 41, 108p.

Kanazawa, A.; Teshima, S.; Sakamoto, M., 1980. Requirements of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**. 46, 1353-1356.

Karapanagiotidis, I.T., Bell, M.V., Little, D.C., Yakupitiyage, A., 2007. Replacement of dietary fish oils by alpha-linolenic acid-rich oils lowers omega-3 content in tilapia flesh. **Lipids**. 42, 547-559.

Li, E., Lim, C., Klesius, P. H., Welker, T. L., 2013. Growth, Body Fatty Acid Composition, Immune Response, and Resistance to *Streptococcus iniae* of Hybrid Tilapia, *Oreochromis niloticus*×*Oreochromis aureus*, Fed Diets Containing Various Levels of Linoleic and Linolenic Acids. **Journal of the World Aquaculture Society**. 44, 42-55.

Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Klesius, P., 2011. Lipid and Fatty Acid Requirements of Tilapias. **North American Journal of Aquaculture**. 73. 188-193.

Ng, W. K., Chong, C. Y., Wang, Y., Romano, N., 2013. Effects of dietary fish and vegetable oils on the growth, tissue fatty acid composition, oxidative stability and vitamin E content of red hybrid tilapia and efficacy of using fish oil finishing diets. **Aquaculture**. 375, 97-110.

Ng, W. K., Lim, P. K., Sidek, H., 2001. The influence of a dietary lipid source on growth, muscle fatty acid composition and erythrocyte osmotic fragility of hybrid tilapia. **Fish Physiology and Biochemistry**. 25, 301-310.

NRC (National Research Council). **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington, D.C.: National Academic Press, 2011. 360p.

O'Fallon, J.V., Busboom, J.R., Nelson, M.L., Gaskins, C. T. A., 2007. Direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. **Journal of Animal Science.** 85, 1511-1521.

Santiago, C. B. e Reyes, O. S., 1993. Effects of dietary lipid source on reproductive performance and tissue lipid levels of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) broodstock. **Journal of Applied Ichthyology.** 9, 33 – 40.

Sargent J. R., Tocher D.R., Bell J. G., 2002. **The lipids.** In: Fish Nutrition, 3rd edn, p. 181-257. Academic Press, San Diego, VA, USA.

Satoh, S., Poe, W. E., Wilson, R. P., 1989. Studies on the essential fatty acid requirement of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture.** 79, 121–128.

Shi, G. C., Dong, X. H., Chen, G., Tan, B. P., Yang Q. H., Chi S. Y., Liu H. Y., 2015. Physiological responses and HSP70 mRNA expression of GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under cold stress. **Aquaculture Research.** 46. 658-668.

Stickney R. R. e Hardy R. W., 1989. Lipid requirements of some warmwater species. **Aquaculture.** 79. 145-156.

Stickney, R. R., e McGeachin, R. B., 1983. Responses of Tilapia aurea to Semipurified Diets of Differing Fatty Acid Composition. In: Fishelson, L., Yaron, Z. (Eds.), Proceedings of the International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Tel Aviv University Press, Tel Aviv, Israel, pp. 346–355.

Sun L. T., Chen G. R., Chang C. F., 1992. The physiology responses of tilapia exposed to low temperature. **Journal of Thermal Biology.** 17. 149-153.

Takeuchi, T., e Watanabe, T., 1977. Requirement of carp for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish.** 43, 541–551.

Takeuchi, T., Satoh, S., Watanabe, T., 1983. Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries.** 49, 1127-1134.

Takeuchi, T., Watanabe, K., Yong, W. Y., Watanabe, T., 1991. Essential fatty acids of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Nippon Suisan Gakkaishi**. 57, 467–473.

Teoh, C. Y., Turchini, G. M., Ng, W. K., 2011. Genetically improved farmed Nile tilapia and red hybrid tilapia showed differences in fatty acid metabolism when fed diets with added fish oil or a vegetable oil blend. **Aquaculture**. 312, 126–136.

Teshima S. I., Akio K., Sakamoto M., 1982. Essential fatty acids of tilapia nilotica. **Mem. Fac. Fish.** Kagoshima Univ. 31, 201-204.

Tocher D. R., Agaba M., Hastings N., Bell J. G., Dick J. R., Teale A. J., 2002. Nutritional regulation of hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition in zebrafish (*Danio rerio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish Physiology and Biochemistry**. 24, 309-320.

Tocher, D.R. 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. **Aquaculture Research**. 41, 717 – 732.

Todorčević, M., Kjær, M. A., Djaković, N., Vegusdal, A., Torstensen, B. E., Ruyter, B., 2009. N-3 HUFAs affect fat deposition, susceptibility to oxidative stress, and apoptosis in Atlantic salmon visceral adipose tissue. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**. 152, 135–143.

Tonial, I. B., Stevanato, F. B., Matsushita, M., De Souza, N. E., Furuya, W. M., Visentainer, J. V., 2009. Optimization of flaxseed oil feeding time length in adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) as a function of muscle omega-3 fatty acids composition. **Aquaculture Nutrition**. 15, 564–568.

Turchini, G. M., Keong Ng, W., Tocher, D. R., **Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds**. 1. Ed. New York. CRC Press. 2010. 522p.

Ways, P. e Hanahan, D. J., 1964. Characterization and quantification of red cell lipids in normal man. **Journal of Lipid Research**. 5, 318-328.

Yildirim-Aksoy, M.; Lim, C.; Davis, A. D.; Shelby, R.; Klesius, P. H., 2007. Influence of dietary lipid sources on the growth performance, immune response and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, to *Streptococcus iniae* challenge. **Journal of Applied Aquaculture**. 19, 29 – 47.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta dissertação faz parte de uma linha de pesquisa cujo o objetivo é aprimorar a tecnologia de produção da Tilápia-do-Nilo em diferentes temperaturas pelo uso de fontes adequadas de ácidos graxos essenciais. Uma Tese de doutorado que está em estágio de conclusão, está inserida neste projeto. A tese avaliou diferentes fontes lipídicas no desempenho da tilápia-do-Nilo em temperatura ótima e sub-ótima de criação.

Os tanques-rede cilíndrico-cônico se mostraram adequados para realizar experimento de crescimento com a Tilápia-do-Nilo. Esta é uma espécie extremamente territorialista, acentuada na linhagem GIFT. O tanque-rede circular permite a fuga dos peixes, mostrando-se eficiente para a experimentação com tilápias.

Os peixes foram mantidos a 22°C, sendo que essa é uma boa temperatura sub-ótima para serem realizados os ensaios. Nesta temperatura, apesar do consumo ter reduzido, ainda houve crescimento, o que gerou diferença significativa entre os tratamentos. Durante todos os ensaios, a salinidade do sistema de recirculação de água foi mantida em 0,92 g/L de NaCl (sal refinado sem iodo) como medida profilática, devido à susceptibilidade de juvenis de tilápia, principalmente quando criadas em temperatura sub-ótima à bacteriose.

Durante este trabalho foi formada parceria com outros laboratórios da UFSC, como o do professor Marcelo Maraschin (Grupo de Morfogênese e Bioquímica Vegetal) e da professora Jane Mara Block (Grupo de Óleos e Gorduras). Sem o trabalho conjunto com estes parceiros, as análises de ácidos graxos não teriam sido possíveis.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

BLANCHARD G., MAKOMBU J. G., KESTEMONT P.: Influence of different dietary 18:3n-3/18:2n-6 ratio on growth performance, fatty acid composition and hepatic ultrastructure in Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. **Aquaculture**, v. 284, p. 144-150, 2008.

CHEN C., SUN B., LI X., LI P., WUTAI G., BI Y., PAN Q.: N-3 essential fatty acids in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: Quantification of optimum requirement of dietary linolenic acid in juvenile fish. **Aquaculture**, v. 417, p. 99-104, 2013.

CHOU B. S.; SHIAU S. Y., HUNG S. S.: Effect of dietary cod liver oil on growth and fatty acids of juvenile hybrid tilapia. **North American Journal of Aquaculture**, v.63, p.277-284, 2001.

CHOU, B. S. & SHIAU, S. Y.: Both n-6 and n-3 fatty acids are required for maximal growth of juvenile hybrid tilapia. **North American Journal of Aquaculture**, v.61, p.13-20, 1999.

ERDAL, J. I., EVENSEN O., KAURSTAD O. K., LILLEHAUG A., THORUD K.: Relationship between diet and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) after feeding various levels of ascorbic acid and omega-3 fatty acids. **Aquaculture**, v. 98, p. 363-379, 1991.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture. 2012**. Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome, 2012. 209 p.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture. 2014**. Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome, 2014. 243 p.

FONSECA-MADRIGAL J., PINEDA-DELGADO D., MARTÍNEZ-PALACIOS C., RODRÍGUEZ C., TOCHER D. R.: Effect of salinity on the biosynthesis of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in silverside *Chirostoma estor*. **Fish physiology and biochemistry**, v. 38, p. 1047-1057, 2012.

FRACALOSSO D. M., LOVEL R. T.: Dietary lipid sources influence responses of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to challenge with the pathogen *Edwardsiella ictaluri*. **Aquaculture**, v.119, p.287-298, 1994.

GLENCROSS, B. D.: Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. **Reviews in Aquaculture**, v.1, p.71-124, 2009.

FAO Globefish Reports. **FAO Globefish Quarterly Update August 2013 – Tilapia**. Disponível em: <<http://www.thefishsite.com/reports/?id=2563>> acesso em: 29 de abril, 2015.

HSIEH, S. L., HU C. Y., HSU, Y. T., HSIEH, T.J.: Influence of dietary lipids on the fatty acid composition and stearyl-CoA desaturase expression in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*) under cold shock. **Comparative biochemistry and physiology. Part B**. v. 147. p. 438–444, 2007.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal 2013**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro, 2013. v. 41, 108p.

Instituto Earth Policy. **Farmed Fish Production Overtakes Beef**. Disponível em: <http://www.earth-policy.org/plan_b_updates/2013/update114> acesso em: 27 de abril, 2015.

KANAZAWA, A., TESHIMA, S., SAKAMOTO, M.: Requirements of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 46, n. 11, p. 1353-1356, 1980.

LAVIE, C. J., MILANI, R. V., MEHRA, M. R., VENTURA, H. O.: Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Cardiovascular Diseases. **Journal of the American College of Cardiology**. v. 54. p. 585-594, 2009.

LI, E.; LIM, C.; KLESIUS, P.H.; WELKER, T. L.; Growth, Body Fatty Acid Composition, Immune Response, and Resistance to *Streptococcus iniae* of Hybrid Tilapia, *Oreochromis niloticus*×*Oreochromis aureus*, Fed Diets Containing Various Levels of Linoleic and Linolenic Acids. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 44, n.1, p. 42-55, 2013.

LIM, C., YILDIRIM-AKSOY, M., KLESIUS, P.: Lipid and Fatty Acid Requirements of Tilapias. **North American Journal of Aquaculture**. v. 73. p. 188-193, 2011.

NRC (National Research Council). **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington, D.C.: National Academic Press, 2011. 360p.

POPMA T. J., LOVSHIN L. L.: **Worldwide Prospects for Commercial Production of Tilapia** by. Alabama. Processing, 1995. 42p.

SANTIAGO C. B., REYES O. S.: Effects of dietary lipid source on reproductive performance and tissue lipid levels of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) broodstock. **Journal of Applied Ichthyology**. v. 9, p. 33-40, 1993.

SARGENT J. R., TOCHER, D. R., BELL, J. G.: 2002. The lipid. Pages 181-257 in Harvel J.E. editor. **Fish Nutrition**. Academic Press, San Diego, USA.

SELLNER, P.A., HAZEL, J. R.: Desaturation and elongation of unsaturated fatty acids in hepatocytes from thermally acclimated rainbow trout. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v. 1. p. 58-66, 1982.

SHI, G. C., DONG, X. H., CHEN, G., TAN, B. P., YANG Q. H., CHI S. Y., LIU H. Y.: Physiological responses and HSP70 mRNA expression of GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under cold stress. **Aquaculture Research**. v. 46. p.658-668, 2015.

STICKNEY R. R., HARDY R. W.: Lipid requirements of some warmwater species. **Aquaculture**. v. 79. p. 145-156, 1989.

SUN L. T., CHEN G. R., CHANG C. F.: The physiology responses of tilapia exposed to low temperature. **Journal of Thermal Biology**. v. 17. p. 149-153, 1992.

TAKEUCHI, T., SATOH S., WATANABE T.: Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 49. p. 1127-1134, 1983.

TESHIMA S. I., AKIO K., SAKAMOTO M.: Essential fatty acids of tilapia nilotica. **Mem. Fac. Fish**. Kagoshima Univ. v.31 p. 201-204, 1982.

TURCHINI G. M., KEONG NG, W., TOCHER, D. R.: **Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds**. Ed. 1. New York. CRC Press. 2010. 522p.

WATANABE, T.: Lipid nutrition in fish. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part B**. Vancouver v. 73. p. 3-15, 1982.

WEBER T. E., BOSWORTH B. G.: Effects of 28 day exposure to cold temperature or feed restriction on growth, body composition, and expression of genes related to muscle growth and metabolism in channel catfish. **Aquaculture**. v. 246. p. 483-492, 2005.

WODKE E., COSSINS A. R.: Rapid cold-induced changes of membrane order and $\Delta 9$ -desaturase activity in endoplasmic reticulum of carp liver: a time-course study of thermal acclimation. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1064. p. 343–350, 1991.

YILDIRIM-AKSOY M., LIM C., DAVIS D. A., SHELBY R., KLESIUS P. H.: Influence of dietary lipid source on the growth performance, immune response and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, to *Streptococcus iniae* Challenge. **Aquaculture**. v. 19. p. 29-49, 2007.

ZERAI, D. B , FITZSIMMONS, K. M., COLLIER, R. J.: Transcriptional Response of Delta-9-Desaturase Gene to Acute and Chronic Cold Stress in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**. v. 41. p.800-806, 2010.