

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
CURSO DE ENGENHARIA DE AQUICULTURA

Danielly Santos

**Parâmetros hematológicos de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*
Steinachner, 1879) alimentada com diferentes concentrações de ácidos graxos
na dieta**

Florianópolis

2022

Danielly Santos

**Parâmetros hematológicos de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*
Steinachner, 1879) alimentada com diferentes concentrações de ácidos graxos
na dieta**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Engenharia de Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Engenharia de Aquicultura.

Orientador: Dr. Maurício Laterça Martins
Coorientadora: Fernanda Scheuer

Florianópolis

2022

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

Santos, Danielly

Parâmetros hematológicos de sardinha-verdadeira
(*Sardinella brasiliensis* Steinachner, 1879) alimentada com
diferentes concentrações de ácidos graxos na dieta /
Danielly Santos ; orientador, Maurício Laterça Martins ,
coorientadora, Fernanda Scheuer, 2022.

34 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agrárias, Graduação em Engenharia de Aquicultura,
Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Engenharia de Aquicultura. I. Martins , Maurício
Laterça . II. Scheuer, Fernanda . III. Universidade Federal
de Santa Catarina. Graduação em Engenharia de Aquicultura.
IV. Título.

Danielly Santos

Parâmetros hematológicos de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis* Steinachner, 1879) alimentada com diferentes concentrações de ácidos graxos na dieta

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharela em Engenharia de Aquicultura e aprovado em sua forma final pelo Curso Engenharia de Aquicultura.

Florianópolis, 16 de dezembro de 2022.



Coordenação do Curso

Banca examinadora

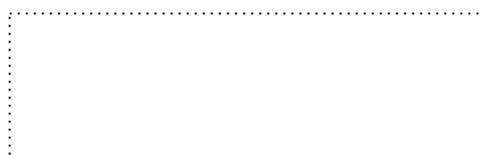


Prof. Maurício Laterça Martins, Dr.

Orientador



Marília Lazarotto de Almeida, ME
Universidade Federal de Santa Catarina



Emilly Monteiro Lopes, ME
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2022.

Dedico este trabalho aos meus pais,
que sempre fizeram o possível e o impossível por mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me abençoado e protegido durante toda essa jornada.

Agradeço ao meu pai, Luiz Fabiano Santos, por sempre colocar minha felicidade acima de todo o resto, por ser também meu melhor amigo e parceiro de todos os dias e por ser o melhor pai do universo.

Agradeço a minha mãe, Débora Arruda Saldanha Santos, pelo seu amor incondicional por mim, por sempre me ouvir e aconselhar, por todos os cafés com uma boa conversa e muitas risadas e por ser minha melhor amiga e confidente.

Agradeço ao meu namorado, Bruno Souza de Lima, por ser meu grande incentivador, amigo e amor, por cuidar de mim e sempre estar ao meu lado me fazendo sorrir e tornando minha vida mais feliz e colorida.

Agradeço a toda minha família, que sempre esteve muito presente em minha vida. Agradeço especialmente a minha vó, Neusa, que sempre torceu por mim, deu os melhores conselhos da vida e sei que deve estar muito orgulhosa agora.

Agradeço aos meus grandes amigos, Michel Viana e Bruna Domaradzki, por estarem ao meu lado diariamente (mesmo que não fisicamente) há mais de 10 anos, por todo o “carinho”, as risadas, indicações de filmes e series, áudios que alegam os meus dias e pelo suporte emocional incondicional de sempre.

Agradeço aos amigos que fiz durante os semestres que cursei Engenharia Civil, em especial a Simone Ropelato, Lucas Baader e Maycon Silva, por toda a parceria e o apoio que sempre me deram e sei que sempre darão quando eu precisar.

Agradeço aos amigos que fiz durante minha graduação em Engenharia de Aquicultura, em especial a Mike Cuevas, Luciano Souza do Nascimento e Vitor Hugo Mariano de Campos, por tornarem esses anos infinitamente mais divertidos e leves.

Agradeço ao meu orientador, Maurício Laterça Martins, por toda a paciência e apoio durante a elaboração deste trabalho, por ser um exemplo de professor e pesquisador que serviu de grande inspiração durante toda minha graduação.

Agradeço a todos os colegas do AQUOS que de alguma forma me ajudarem a concluir este trabalho, em especial a Ana P. de Souza e a Gracienne G. Santos, que foram essenciais durante todo esse processo e tanto me ensinaram.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo auxílio financeiro e apoio a ciência, que tornou este trabalho possível.

*“Por vezes
sentimos que aquilo que fazemos
não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor
se lhe faltasse uma gota.”
Madre Teresa de Calcutá*

RESUMO

A sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) é uma espécie de peixe marinho, pertencente a família Clupeidae, que possui altos teores de ácidos graxos da série n-3, o que traz inúmeros benefícios para a saúde humana de quem a consome. Além disso, a espécie é de grande importância para a pesca comercial das regiões Sul e Sudeste do Brasil, encontrando-se atualmente ameaçada de extinção por conta da sobrepesca. Diante desse panorama, a aquicultura entra como uma boa alternativa para atender a demanda da indústria de maneira sustentável, evitando a exploração demasiada da espécie através de cultivos aquícolas. Atualmente, o foco das pesquisas está em avaliar as exigências nutricionais da espécie, para que possam ser atendidas através de dietas comerciais. Os parâmetros hematológicos são importante ferramenta para verificar a saúde de peixes em condições de cultivo, no entanto, segundo a literatura especializada, nada tem sido observado sobre a descrição das células sanguíneas da sardinha-verdadeira. Sendo assim, o presente estudo objetivou avaliar a inserção de diferentes níveis de inclusão de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA n-3) na dieta de sardinha-verdadeira, sobre os parâmetros hematológicos. Os peixes foram provenientes de desovas naturais utilizando os reprodutores já aclimatados no LAPMAR, divididos em 15 unidades experimentais para que os efeitos da dieta fossem avaliados em triplicata. Os níveis de total PUFA n-3 na ração foram de: 0; 0,3; 0,6; 0,9 ou 1,2% da fração lipídica da dieta. Os valores utilizados representam a porcentagem total de PUFA n-3 da fração lipídica da dieta, sendo que 0% de n-3 representa o controle negativo. Os peixes foram alimentados três vezes ao dia (8h30min, 12h30min e 16h30min) durante todo o período experimental (45 dias). Cinco peixes de cada unidade experimental foram coletados ao fim do experimento, para as análises hematológicas, incluindo número total de eritrócitos, percentual de hematócrito, concentração de hemoglobina e de glicose e contagem diferencial de leucócitos. A concentração de hemoglobina foi significativamente menor nas fêmeas do que nos machos. Maiores números de eosinófilos circulantes foram observados nos peixes alimentados com 0,30% e 1,20% de PUFA n-3. Embora não tenham sido observadas diferenças significativas em diversos parâmetros, os resultados demonstram que a saúde dos animais não foi afetada pela adição de PUFA n-3 na dieta.

Palavras-chave: Aquicultura, Clupeidae, alimentação, hematologia.

ABSTRACT

The sardine (*Sardinella brasiliensis*) is a species of marine fish belonging to the Clupeidae family, which has high levels of n-3 fatty acids, which brings numerous benefits to human health of those who consume it. In addition, the species is of great importance for commercial fishing in the south and southeast regions of Brazil, and is currently threatened with extinction due to overfishing. Given this panorama, aquaculture is a good alternative to meet the demand of the industry in a sustainable way, avoiding the overexploitation of the species through aquaculture cultures. Currently, the focus of research is to evaluate the species' nutritional requirements, so that they can be met through commercial diets. Hematological parameters are an important tool to verify the health of fish under culture conditions; however, according to the specialized literature, nothing has been observed about the description of the blood cells of the sardine. Thus, the present study aimed to evaluate the inclusion of different levels of polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA) in the diet of green sardines on hematological parameters. The fish were obtained from natural spawning using broodstock already acclimated at LAPMAR, and divided into 15 experimental units so that the dietary effects could be evaluated in triplicate. The levels of total n-3 PUFA in the feed were: 0; 0.3; 0.6; 0.9 or 1.2% of the lipid fraction of the diet. The values used to represent the percentage of total n-3 PUFA in the lipid fraction of the diet, with 0% n-3 representing the negative control. The fish were fed three times a day (8:30 am, 12:30 pm, and 4:30 pm) during the entire experimental period (45 days). Five fish from each experimental unit were collected at the end of the experiment for hematological analyses, including total number of erythrocytes, hematocrit percentage, hemoglobin and glucose concentration, and differential leukocyte count. The hemoglobin concentration was significantly lower in females than in males. Higher numbers of circulating eosinophils were observed in fish fed 0.30% and 1.20% n-3 PUFA. Although no significant differences were observed in several parameters, the results demonstrate that the health of the animals was not affected by the addition of n-3 PUFA in the diet.

Keywords: Aquaculture, Clupeidae, fatty acids, nutrition, hematology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - A-F: Células sanguíneas de sardinha-verdadeira, *Sardinella brasiliensis*. A: neutrófilo (n). B: eosinófilo (e), monócito (m) e trombócito (t). C: linfócito (l). d: monócito (m). E: trombócitos (t). F: mostrando dois monócitos (m), um neutrófilo (n) e um trombócito.....25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulação e composição das dietas experimentais (expressa na % da matéria seca)	23
Tabela 2 – Parâmetros hematológicos (média ± desvio padrão) da sardinha-verdadeira (<i>Sardinella brasiliensis</i>) após a adição total de PUFA n-3 nas concentrações 0,0%, 0,30%, 0,60%, 0,90% e 1,20% da fração lipídica da dieta	27
Tabela 3 – Análise da glicose (média ± desvio padrão) através do plasma da sardinha-verdadeira (<i>Sardinella brasiliensis</i>) após a adição total de PUFA n-3 nas concentrações 0,0%, 0,30%, 0,60%, 0,90% e 1,20% da fração lipídica da dieta	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	12
1.1	BREVE PANORAMA DA AQUICULTURA ATUAL	12
1.2	ASPECTOS GERAIS SOBRE A SARDINHA-VERDADEIRA.....	12
1.3	IMPORTÂNCIA COMERCIAL DA SARDINHA-VERDADEIRA	13
1.4	ÁCIDOS GRAXOS	14
1.5	HEMATOLOGIA DE PEIXES.....	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL	17
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	17
3	ARTIGO	18
	Parâmetros hematológicos de sardinha-verdadeira (<i>Sardinella brasiliensis</i> Steinachner, 1879) alimentada com diferentes concentrações de ácidos graxos na dieta.....	18
	INTRODUÇÃO.....	20
	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
	RESULTADOS.....	25
	DISCUSSÃO.....	28
	AGRADECIMENTOS.....	30
	REFERÊNCIAS.....	30
4	REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL	33

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 BREVE PANORAMA DA AQUICULTURA ATUAL

A aquicultura tem crescido mundialmente de forma considerável nos últimos anos, passando de uma produção de menos de um milhão de toneladas no início de 1950 para aproximadamente 122,6 milhões de toneladas em 2020, incluindo o cultivo de algas e animais aquáticos, segundo dados mais recentes da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2022).

A atividade vem se desenvolvendo mais rapidamente em relação a todas as outras do setor de produtos de origem animal. Em 2020, o aumento da produção aquícola elevou o consumo de alimentos provenientes do meio aquático para 20,2 kg per capita, mais que o dobro da taxa de consumo em relação ao ano de 1970 (FAO, 2022). Fornecendo atualmente 50% dos peixes consumidos mundialmente, estima-se que até 2030 a aquicultura seja a maior fonte de pescado a nível global (FAZIO, 2019).

Apesar de possuir uma área litorânea de 8,5 mil km e clima favorável para o desenvolvimento sustentável da aquicultura marinha (DAVIES et al., 2019), atualmente no Brasil o cultivo de peixes de água doce é evidentemente mais desenvolvido, sendo a tilápia o peixe mais produzido, representando 60,6% da piscicultura brasileira (PEIXE BR, 2020).

O cultivo de espécies marinhas que apresentam elevado potencial aquícola tem sido estudado ao longo dos anos, mas ainda se mostra instável (CAVALLI, 2012), tendo como entraves aspectos ligados a nutrição animal, mão de obra qualificada, surgimento de doenças e questões relacionadas ao licenciamento ambiental (LISBOA et al., 2020). No entanto, é possível observar o surgimento de iniciativas relacionadas ao cultivo de bijupirá (*Rachycentron canadum*), garoupa (*Epinephelus marginatus*) e sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*), por exemplo.

1.2 ASPECTOS GERAIS SOBRE A SARDINHA-VERDADEIRA

A sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis* Steinachner, 1879) é um peixe marinho de pequeno porte pertencente a família Clupeidae, que ocorre principalmente entre o Cabo de São Tomé, estado do Rio de Janeiro (22 °S), e o Cabo de Santa Marta, estado de Santa Catarina (29 °S) (JABLONSKI, 2007).

A espécie possui corpo lateralmente comprimido, escamoso e prateado, tendo o costume de viver em grandes cardumes que habitam regiões próximas a costa, podendo adentrar em estuários e baías (IBAMA, 2011).

O ciclo de vida da sardinha-verdadeira dura em média três anos, sendo considerado curto. Tem como principais características altas taxas de fecundidade e mortalidade naturais e rápido crescimento (CERGOLE; VALENTINI, 1994).

A desova da espécie é a parcelada, onde cada fêmea coloca entre 30.000 e 40.000 ovócitos por vez (ISAAC-NAHUM et al., 1988), esses eclodem aproximadamente 19h após a fecundação estando a temperatura de 24 °C (MATSUURA, 1998).

A alimentação de larvas e juvenis de *S. brasiliensis* em ambiente natural é constituída por náuplios de copépodos, ovos de invertebrados, diatomáceas, dinoflagelados e copépodos adultos (KURTZ; MATSUURA, 2001). Já durante sua fase adulta, a sardinha-verdadeira é considerada uma espécie onívora, alimentando-se principalmente de fitoplâncton durante os meses de inverno e zooplâncton nas estações do outono e primavera, alimentos ricos em ácidos graxos da série n-3 (SCHNEIDER; SCHWINGEL, 1999).

1.3 IMPORTÂNCIA COMERCIAL DA SARDINHA-VERDADEIRA

No Brasil, a sardinha possui grande importância comercial, sendo seus juvenis capturados através da pesca principalmente para servirem de isca viva para a captura do atum, o que mantém a cadeia do processamento industrial de conservas do pescado em funcionamento, e para serem utilizadas como produto principal em indústrias cujo foco é a produção de sardinha em lata (IBAMA, 2011).

No entanto, devido a sobrepesca e aos efeitos ambientais, a captura da sardinha-verdadeira vem entrando em declínio nos últimos 40 anos (MPA, 2012). Segundo a Resolução SMAC No 073 de 19 de agosto de 2022, que dispõe sobre a divulgação da lista das espécies nativas da fauna ameaçadas de extinção que ocorrem na cidade do Rio de Janeiro, a espécie se encontra atualmente ameaçada de extinção (RIO DE JANEIRO, 2022).

Diante desse panorama, a aquicultura entra como uma boa alternativa para atender a demanda da indústria de maneira sustentável, evitando a exploração demasiada da espécie através de cultivos aquícolas (NAYLOR et al., 2009).

Nos últimos anos novas tecnologias de criação vêm sendo desenvolvidas para a sardinha-verdadeira, comprovando a possibilidade de desenvolvimento da espécie em cativeiro a partir de resultados animadores, incluindo sua reprodução (CERQUEIRA et al., 2020).

Desde 2009 o Laboratório de Piscicultura Marinha - LAPMAR, pertencente a Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, juntamente a Univali, Cepsul e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, vem desenvolvendo o Projeto intitulado ISCA-VIVA.

O objetivo da iniciativa é obter uma metodologia eficiente em cativeiro para maturação, desova e larvicultura da *S. brasiliensis*, visando cultivar juvenis de sardinha que sirvam como isca-viva para a pesca do atum, minimizando assim os impactos gerados pela sobrepesca (LAPMAR, 2022).

1.4 ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos fazem parte da classe mais simples de lipídios (FRACALOSSO; CYRINO, 2012), sendo importantes na nutrição dos peixes por terem como papel principal funções relacionadas a produção de energia e equilíbrio homeostático, além de serem componentes estruturais das membranas celulares e precursores de hormônios e outros compostos biologicamente ativos (GLENCROSS, 2009). São ácidos carboxílicos constituídos por um grupo hidrofílico ligado a uma cadeia de hidrocarboneto (LENINGER et al., 1993), podendo variar em comprimento (número de carbono que constituem a cadeia, geralmente entre 4 e 36), grau de insaturação e posição das duplas ligações, sendo suas propriedades físicas influenciadas por esses parâmetros (FRACALOSSO; CYRINO, 2012).

Ácidos graxos poli-insaturados (PUFA, do inglês polyunsaturated fatty acid) possuem duas ou mais ligações insaturadas, sendo representados pelo ácido linoléico (LOA, 18:2 n-6) e pelo ácido α -linolênico (α -LNA, 18:3n-3). A resposta do organismo ao metabolismo dos ácidos graxos da série n-3 é diretamente influenciada pelo conteúdo de ácidos graxos da série n-6 e vice-versa (BLANCHARD et al, 2008), sendo assim, é importante que os animais tenham PUFA da série n-3 e n-6 em proporções adequadas.

O cultivo em cativeiro tem a vantagem de possuir maior controle sobre a criação dos peixes, que crescem sob condições mais estáveis e são alimentados com

dietas balanceadas, de forma que a quantidade de lipídeos pode ser alterada para aumentar a qualidade do valor nutricional da espécie (HUNTER, 2000).

Em estudo realizado por Bandarra et al. (2018) foi possível obter sardinhas com maior concentração total de PUFA n-3, sendo alimentadas com ração comercial por um ano, tendo estas quase o dobro de lipídeos totais em seu músculo quando comparadas a sardinhas selvagens, capturadas em ambiente natural.

1.5 HEMATOLOGIA DE PEIXES

A hematologia é uma ciência que se dedica ao estudo dos elementos sanguíneos, decodificando seus componentes e analisando as diferentes células presentes em busca de padrões alterados que indiquem possíveis patologias (RANZANI-PAIVA et al., 2013). A exposição dos animais a alterações em seu ambiente, tanto natural como controlado, ou em sua alimentação acarreta uma série de alterações em seus constituintes sanguíneos (LIZAMA et al., 2020).

Dessa forma, o uso de análises hematológicas em peixes se mostra como uma importante ferramenta de avaliação da saúde do animal (RANZANI-PAIVA et al., 2013), servindo para detectar doenças e encontrar respostas após experimentos, sejam estes ligados ao uso de novas terapias que ajudem a combater enfermidades, qualidade da água, contaminantes ou novas dietas nutricionais (FAZIO, 2019).

Peixes possuem em sua composição sanguínea figurada eritrócitos, células em maior quantidade na circulação e responsáveis principalmente pelo transporte de oxigênio e gás carbônico, leucócitos, células que possuem como função principal a defesa do organismo participando de sua resposta imunológica (DIAS et al., 2009), e trombócitos, que participam da defesa orgânica do organismo e, em alguns peixes, realizam fagocitose (TAVARES-DIAS et al., 2007).

Dentro do grupo dos leucócitos existem ainda diferentes linhagens celulares com diversas funções, podendo ser caracterizadas por sua granulação ou pela falta dela, características tintoriais, citoquímicas e morfológicas (DIAS et al., 2009).

Os linfócitos são os menores e mais abundantes leucócitos na maioria dos peixes, responsáveis pela imunidade humoral e celular do organismo, reconhecimento de antígenos e pela montagem da resposta imune (YOSHINAGA et al., 1994).

Os monócitos são considerados os principais fagócitos dos peixes, migram dos vasos sanguíneos para o foco inflamatório durante processos infecciosos ou induzidos artificialmente, destruindo patógenos (RANZANI-PAIVA et al.,2013).

Neutrófilos são as principais células responsáveis pela defesa do organismo dos peixes, envolvidas desde os estágios iniciais de inflamação, realizam a fagocitose de agentes infecciosos (RANZANI-PAIVA et al.,2013).

Eosinófilos e basófilos costumam ser encontrados em baixa frequência no sangue dos peixes. As funções específicas dessas células ainda não estão bem elucidadas (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004), mas evidências apontam para sua participação em processos de defesa do organismo contra infestações parasitárias (RANZANI-PAIVA et al.,2013).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar os parâmetros hematológicos da sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) sob diferentes concentrações de ácidos graxos na dieta como monitoramento de saúde animal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar as células do sangue circulante da sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*).
- Avaliar as células do sangue circulante da sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) alimentada com diferentes concentrações de ácidos graxos na dieta.
- Analisar o percentual de hematócrito, a contagem diferencial de leucócitos, a concentração de hemoglobina e de glicose da sardinha verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) alimentada com diferentes concentrações de ácidos graxos na dieta.

3 ARTIGO

Parâmetros hematológicos de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis* Steinachner, 1879) alimentada com diferentes concentrações de ácidos graxos na dieta

Danielly Santos¹, Fernanda Scheuer², Ana Paula de Souza¹, Elenice Martins Brasil¹, Gracienne Gomes Santos¹, Domickson Silva Costa¹, Caio Magnotti², Vinicius Ronzani Cerqueira², Maurício Laterça Martins¹

¹AQUOS-Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Rod. Admar Gonzaga 1346, 88034-001, Florianópolis, SC, Brasil.

²LAPMAR-Laboratório de Piscicultura Marins, UFSC, SC, Brasil.

RESUMO

A sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) é uma espécie de peixe marinho, pertencente a família Clupeidae, que possui altos teores de ácidos graxos da série n-3, o que traz inúmeros benefícios para a saúde humana de quem a consome. Além disso, a espécie é de grande importância para a pesca comercial das regiões Sul e Sudeste do Brasil, encontrando-se atualmente ameaçada de extinção por conta da sobrepesca. Diante desse panorama, a aquicultura entra como uma boa alternativa para atender a demanda da indústria de maneira sustentável, evitando a exploração demasiada da espécie através de cultivos aquícolas. Atualmente, o foco das pesquisas está em avaliar as exigências nutricionais da espécie, para que possam ser atendidas através de dietas comerciais. Os parâmetros hematológicos são importante ferramenta para verificar a saúde de peixes em condições de cultivo, no entanto, segundo a literatura especializada, nada tem sido observado sobre a descrição das células sanguíneas da sardinha-verdadeira. Sendo assim, o presente estudo objetivou avaliar a inserção de diferentes níveis de inclusão de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA n-3) na dieta de sardinha-verdadeira, sobre os parâmetros hematológicos. Os peixes foram provenientes de desovas naturais utilizando os reprodutores já aclimatados no LAPMAR, divididos em 15 unidades experimentais para que os efeitos da dieta fossem avaliados em triplicata. Os níveis de total PUFA n-3 na ração foram de: 0; 0,3; 0,6; 0,9 ou 1,2% da fração lipídica da dieta. Os valores utilizados representam a porcentagem total de PUFA n-3 da fração lipídica da dieta, sendo que 0% de n-3 representa o controle negativo. Os peixes foram alimentados três vezes ao dia (8h30min, 12h30min e 16h30min) durante todo o período experimental (45 dias). Cinco peixes de cada unidade experimental foram coletados ao fim do experimento para as análises hematológicas, incluindo número total de eritrócitos, percentual de hematócrito, concentração de hemoglobina e de glicose e contagem diferencial de leucócitos. A concentração de hemoglobina foi significativamente menor nas fêmeas do que nos machos. Maiores números de eosinófilos circulantes foram observados nos peixes alimentados com 0,30% e 1,20% de PUFA n-3. Embora não tenham sido observadas diferenças significativas em diversos parâmetros, os resultados demonstram que a saúde dos animais não foi afetada pela adição de PUFA n-3 na dieta.

Palavras-chave: Aquicultura, Clupeidae, alimentação, hematologia.

INTRODUÇÃO

A sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis* Steinachner, 1879) é um peixe marinho de pequeno porte pertencente a família Clupeidae, que ocorre principalmente entre o Cabo de São Tomé, estado do Rio de Janeiro (22 °S), e o Cabo de Santa Marta, estado de Santa Catarina (29 °S) (JABLONSKI, 2007).

Sendo de grande importância para a pesca comercial das regiões Sul e Sudeste do Brasil, a captura da sardinha-verdadeira vem entrando em declínio nos últimos 40 anos por causa da sobrepesca, segundo dados do boletim estatístico do Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA, 2012). Segundo a Resolução SMAC No 073 de 19 de agosto de 2022, que dispõe sobre a divulgação da lista das espécies nativas da fauna ameaçadas de extinção que ocorrem na cidade do Rio de Janeiro, a espécie se encontra atualmente ameaçada de extinção (RIO DE JANEIRO, 2022).

Diante desse panorama, a aquicultura entra como uma boa alternativa para atender a demanda da indústria de maneira sustentável, evitando a exploração demasiada da espécie através de cultivos aquícolas. Desde 2009, tecnologias de criação vem sendo desenvolvidas para a sardinha-verdadeira, comprovando a possibilidade de melhora do pacote tecnológico da espécie em cativeiro a partir de resultados animadores, incluindo sua reprodução (CERQUEIRA et al., 2020).

Atualmente, o foco das pesquisas está em avaliar as exigências nutricionais da espécie, uma vez que esta possui altos teores de ácidos graxos poli-insaturados da série n-3 (PUFA n-3), o que traz inúmeros benefícios para a saúde humana de quem a consome (LEE et al., 2009). Além disso, ácidos graxos são também de grande importância para a nutrição de peixes, tendo como papel principal funções relacionadas a produção de energia e equilíbrio homeostático, além de serem componentes estruturais das membranas celulares e precursores de hormônios e outros compostos biologicamente ativos (GLENCROSS, 2009).

Por ser uma espécie onívora, em seu ambiente natural a sardinha se alimenta principalmente de fitoplâncton e zooplâncton, alimentos ricos em PUFA n-3 (SCHNEIDER; SCHWINGEL, 1999). Quando em cativeiro, o óleo de peixe é utilizado como fonte de ácidos graxos poli-insaturados nas rações ofertadas para peixes marinhos, embora seu preço elevado e a escassez no mercado não o tornem a melhor opção.

Ainda assim, o cultivo em cativeiro tem a vantagem de possuir maior controle sobre a criação dos peixes, que crescem sob condições mais estáveis e são alimentados com dietas balanceadas, de forma que a quantidade de ácidos graxos pode ser alterada para aumentar a qualidade do valor nutricional da espécie (HUNTER, 2000).

Em estudo realizado por Bandarra e colaboradores (2018) foi possível obter sardinhas com maior concentração total de PUFA n-3, sendo alimentadas com ração comercial por um ano, tendo estas quase o dobro de lipídeos totais em seu músculo quando comparadas a sardinhas selvagens, capturadas em ambiente natural. Sendo assim, estudos voltados para o cultivo de peixes em cativeiro necessitam de ferramentas que auxiliem no monitoramento da saúde animal, como a hematologia, por exemplo.

A hematologia é uma ciência que se dedica ao estudo dos elementos do sangue, decodificando seus componentes e analisando as diferentes células sanguíneas em busca de padrões alterados que indiquem possíveis patologias (PAIVA et al., 2013). A exposição dos animais a alterações em seu ambiente, tanto natural como controlado, ou em sua alimentação acarretará uma série de alterações em seus constituintes sanguíneos (LIZAMA et al., 2020).

Dessa forma, o uso de análises hematológicas em peixes é uma importante ferramenta de avaliação da saúde do animal (TAVARES-DIAS et al., 2009), servindo para detectar doenças e encontrar respostas após experimentos, sejam estes ligados ao uso de novas terapias que ajudem a combater enfermidades, qualidade da água ou novas dietas nutricionais (FAZIO, 2019).

Trabalhos já realizados com a sardinha-verdadeira possuem foco principalmente na pesca (CASTELLO, 2006), ecologia (SCHNEIDER; SCHWINGEL, 2010) e biologia (BRAGA, 1987), não havendo ainda pesquisas relacionadas a sua análise sanguínea em condições de cultivo. Sendo assim, este estudo objetivou analisar os parâmetros hematológicos da sardinha verdadeira alimentada com diferentes níveis de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA n-3) na dieta.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Delineamento experimental

O experimento conduzido no Laboratório de Piscicultura Marinha – LAPMAR, pertencente a Universidade Federal de Santa Catarina, localizado na cidade de Florianópolis, estado de Santa Catarina, teve como principal intuito fazer testes dose-resposta com diferentes níveis de inclusão de total PUFA n-3 a dieta de exemplares de sardinha-verdadeira. Os peixes foram provenientes de desovas naturais, utilizando os reprodutores já aclimatados no LAPMAR, seguindo os procedimentos descritos por Cerqueira et al. (2017).

Quanto a estrutura necessária para a realização do experimento, foram utilizados 5 sistemas de recirculação de água independentes com vazão de 1 L min^{-1} , cada um acoplado a três tanques de 500 L, totalizando 15 tanques. Cada sistema possuía uma caixa equalizadora de 100 L, tendo um conjunto motobomba, aquecedor acoplado com termostato, lâmpada ultravioleta (UV) e mídia biológica (bioballs).

A temperatura da água foi mantida em 25°C e cada unidade experimental manteve aeração constante, com fotoperíodo natural. Os tanques permaneceram constantemente cobertos por tela para evitar a entrada de possíveis predadores (as aves da região costumam atacar os peixes).

A densidade inicial por unidade experimental foi de 25 peixes com peso médio de 60 g e uma biomassa de 1,5 kg em $0,5 \text{ m}^3$ de água.

Os espécimes de sardinha foram alimentados três vezes por dia (8h30min, 12h30min e 16h30min) durante todo o período experimental (45 dias) com 4% da biomassa, resultando em 0,06 kg ração/tanque/dia até a conclusão do experimento.

Diariamente foram mensurados os parâmetros de qualidade de água: salinidade (refratômetro portátil), oxigênio dissolvido (OD), temperatura (oxímetro Alfakit AT-150) e pH (pHmetro portátil). Os valores médios encontrados no monitoramento foram OD $5,8 \pm 0,4 \text{ mg L}$ e temperatura $23,2 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$. Restos de alimento e fezes foram retirados sempre que necessário através de sifonamento de fundo.

2. Formulação da dieta

A dieta experimental foi formulada com base nas exigências do peixe leite (*Chanos chanos*) e tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (NRC, 2011), exceto a proteína, que foi determinada em estudo com juvenis de sardinha-verdadeira por Sterzelecki et al. (2017), sendo isoenergética (4300 kcal) e isoprotéica (40%).

Uma vez que não existe exigência descrita na literatura para sardinha verdadeira, usou-se como base a relação ideal de n-3:n-6 de 2:1 utilizada para o peixe leite (*Chanos chanos*) (NRC, 2011), de forma que as dietas experimentais continham entre 10-15% de lipídio e foram formuladas para conter cinco níveis de inclusão de total de PUFA n-3, utilizando óleo de fígado de bacalhau como fonte de n-3 e óleo de milho como fonte de n-6. Os níveis de total de PUFA n-3 na dieta foram de: 0; 0,3; 0,6; 0,9 ou 1,2% da fração lipídica da dieta, como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 - Formulação e composição das dietas experimentais (expressa na % da matéria seca).

Ingredientes	Total PUFA n-3				
	0%	0,30%	0,60%	0,90%	1,20%
Farelo de Soja	38,97 mg. g ⁻¹				
Milho	18,63 mg. g ⁻¹				
Farinha de Visceras	21,55 mg. g ⁻¹				
Quirera de Arroz	15 mg. g ⁻¹				
Óleo de milho	5,09 mg. g ⁻¹	4,12 mg. g ⁻¹	2,79 mg. g ⁻¹	1,22 mg. g ⁻¹	0 mg. g ⁻¹
Óleo de fig. de Bacalhau	0 mg. g ⁻¹	0,86 mg. g ⁻¹	2,36 mg. g ⁻¹	3,9 mg. g ⁻¹	5,4 mg. g ⁻¹
Premix	0,42 mg. g ⁻¹				
Fosfato Bicálcico	0,35 mg. g ⁻¹				
Composição (% MS)					
Energia Bruta	4381				
Energia Digestível	3400				
Proteína Bruta	36,42				
Proteína Digestível	31,44				
Lipídios	10,66				
Matéria Seca	6429,00				

* Premix vitamínico e mineral (10 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, 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 kg-1): fosfato bicálcico 130 g, cloreto de potássio 120 g, cloreto de sódio 130 g, sulfato de magnésio 620 g.

Os valores utilizados representam a % total de PUFA n-3 da fração lipídica da dieta, sendo que 0% n-3 representa o controle negativo. Para todas as dietas, o aumento dos níveis total de PUFA n-3 e, conseqüentemente, n-6 causou um aumento nos níveis de PUFA e uma queda nos níveis de MUFA. As misturas foram então peletizadas e secas em estufa a 50 °C durante 6 horas, sendo posteriormente quebradas e peneiradas em 0,8 mm. Todas as dietas foram identificadas com nome e cor (0% = laranja; 0,3% = verde; 0,6% = rosa; 0,9% = azul e 1,2% = roxo) e armazenadas a -20 °C em sacos plásticos até a utilização.

3. Análise hematológica

Para as análises hematológicas foram utilizados 5 peixes de cada unidade experimental, anestesiados com solução de eugenol (75 mg L⁻¹) para punção sanguínea do vaso caudal com seringa de 3 mL contendo solução de anticoagulante, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA 3%) Ranzani-Paiva et al. (2013), totalizando 15 peixes por tratamento.

A análise de glicose foi realizada a partir de um *pool* das amostras de plasma provenientes do sangue de peixes da mesma unidade experimental, sendo utilizado 1 ml do reagente para 10 microlitros da amostra, de acordo com as instruções de uso contidas no kit "GLICOSE Liquiform", da Labtest.

Uma alíquota do sangue foi utilizada para determinar o hematócrito pelo método do microhematócrito (GOLDENFARB et al., 1971), e a análise da concentração de hemoglobina foi realizada pelo método da cianometahemoglobina, conforme Ranzani-Paiva et al. (2013).

Uma alíquota foi utilizada para a determinação da contagem total de eritrócitos, sendo realizada em câmara de Neubauer com diluição de 1:200 em solução de DACIE. As contagens totais e diferenciais de leucócitos foram determinadas pelo método indireto, a partir de extensões sanguíneas feitas em duplicata e coradas com May-Grünwald-Giemsa-Wright, segundo Ranzani-Paiva et al., (2013).

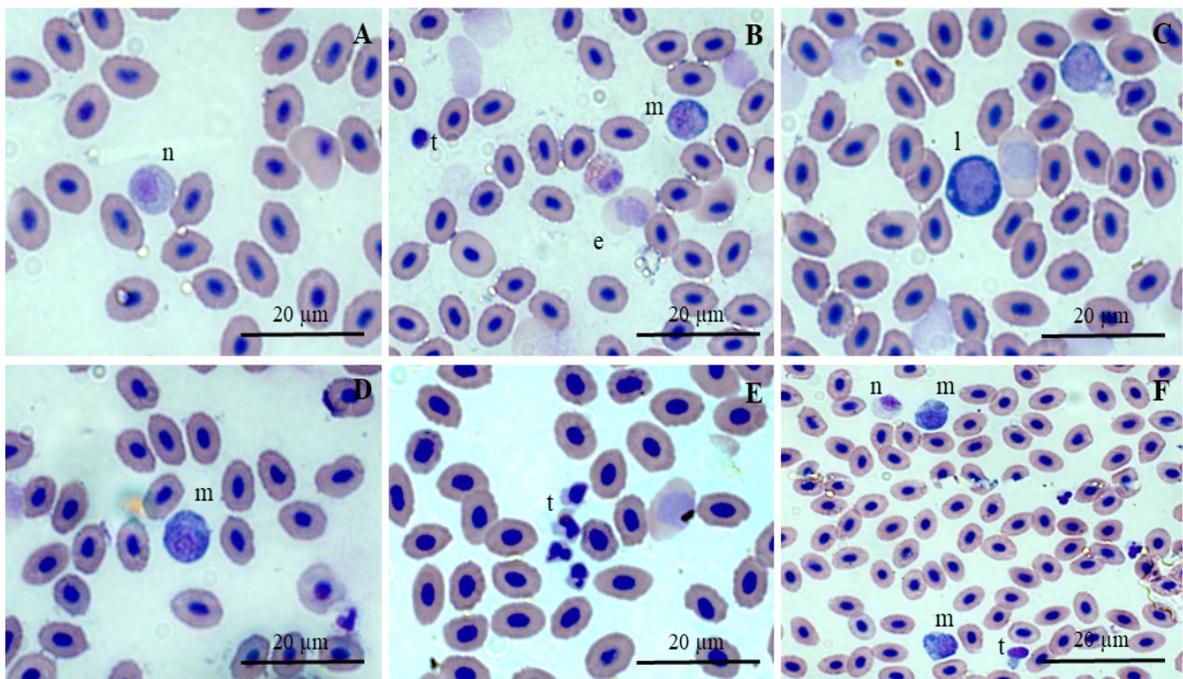
4. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk, para avaliar sua normalidade, e ao teste de Levene, para avaliar a homocedasticidade das variâncias. Com a confirmação dos pré-requisitos, os dados foram então submetidos a Análise de Variância (ANOVA). O teste de Duncan foi aplicado nos casos em que diferenças entre os tratamentos foram observadas, para verificação dos valores encontrados. O programa utilizado para a todas as análises estatísticas realizadas foi o software STATISTICA 10.0 e o nível de significância aplicado foi o de 95% ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Durante as contagens totais e diferenciais de leucócitos, as células da sardinha-verdadeira foram observadas nas extensões sanguíneas e identificadas como: monócitos, neutrófilos, linfócitos, trombócitos e eosinófilos, conforme apresentando na Figura 1 A-F, havendo aparente ausência de basófilos.

Figura 1 A-F: Células sanguíneas de sardinha-verdadeira, *Sardinella brasiliensis*. A: neutrófilo (n). B: eosinófilo (e), monócito (m) e trombócito (t). C: linfócito (l). d: monócito (m). E: trombócitos (t). F: mostrando dois monócitos (m), um neutrófilo (n) e um trombócito (t).



Os parâmetros hematológicos analisados após uso de diferentes concentrações de ácidos graxos na dieta da sardinha-verdadeira podem ser observados na Tabela 2. As concentrações de eosinófilos (E) apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, havendo maiores quantidades de eosinófilos nas dietas contendo a concentração de ácidos graxos em 0,30% e 1,20%. Em contrapartida, os animais alimentados com a dieta contendo concentrações de 0,60% e 0,90% de ácidos graxos tiveram menor número de eosinófilos. As sardinhas pertencentes ao grupo controle, com 0% de PUFA n-3 adicionado a dieta, apresentaram eosinófilos em quantidade estatisticamente igual aos demais tratamentos. Se tratando de eosinófilos, diferenças significativas entre interação tratamento x sexo não foram observadas.

A concentração de hemoglobina (Hb) no sangue da *S. brasiliensis* apresentou diferença significativa entre a interação tratamento x sexo. O grupo de fêmeas alimentadas com a dieta contendo 0,60% de ácidos graxos obteve concentrações significativamente mais baixas de hemoglobina do que os machos do mesmo tratamento. Já os machos alimentados com a dieta contendo 0,90% de ácidos graxos mostraram concentrações de hemoglobina estatisticamente iguais aos das fêmeas do grupo de 0,60%, mas significativamente mais baixas do que as fêmeas do seu próprio grupo de tratamento, que apresentaram concentrações mais altas. Os demais tratamentos não apresentaram diferença significativa entre a interação tratamento x sexo.

Os demais parâmetros hematológicos analisados, que incluem número total de eritrócitos (RBC), percentual de hematócrito (Ht), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (HCM), trombócitos (T), leucócitos totais (LT) e contagem diferencial de leucócitos (linfócitos, monócitos e neutrófilos), não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos aplicados e nem diferença significativa entre a interação tratamento x sexo.

Tabela 2 - Parâmetros hematológicos (média \pm desvio padrão) da sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) após a adição total de PUFA n-3 nas concentrações 0,0%, 0,30%, 0,60%, 0,90% e 1,20% da fração lipídica da dieta.

Tratamentos	Sexo	Parâmetros											
		RBC ($\times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$)	T ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	LT ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	L ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	M ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	N ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	E ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	Ht (%)	Hb (g.dL ⁻¹)	VCM (fL)	HCM (g.dL ⁻¹)	CHCM (g.dL ⁻¹)
0%	Macho	3,03 \pm 0,50	31,04 \pm 9,67	302,92 \pm 49,80	249,94 \pm 62,07	4,23 \pm 2,08	1,71 \pm 2,08	47,04 \pm 13,50 ^{ab}	39,00 \pm 6,29	10,79 \pm 1,61 ^{xy}	129,93 \pm 20,05	35,85 \pm 3,81	28,03 \pm 4,42
	Fêmea	3,18 \pm 0,60	23,29 \pm 13,18	318,62 \pm 49,77	274,50 \pm 64,60	4,83 \pm 3,13	1,14 \pm 1,31	38,20 \pm 11,24 ^{ab}	42,83 \pm 6,35	11,57 \pm 1,62 ^{xy}	139,85 \pm 40,99	36,85 \pm 4,77	27,54 \pm 5,42
0,30%	Macho	2,82 \pm 0,60	22,67 \pm 8,85	282,08 \pm 59,51	229,85 \pm 42,95	4,37 \pm 2,93	1,41 \pm 1,78	46,50 \pm 41,16 ^a	35,58 \pm 4,34	10,56 \pm 1,86 ^{xy}	128,72 \pm 18,35	37,88 \pm 5,14	29,51 \pm 1,94
	Fêmea	3,44 \pm 0,90	28,34 \pm 19,59	343,71 \pm 90,50	257,87 \pm 70,94	9,31 \pm 5,93	6,11 \pm 9,61	70,43 \pm 67,10 ^a	41,36 \pm 4,52	11,75 \pm 1,20 ^{xy}	126,03 \pm 28,26	35,83 \pm 7,76	28,48 \pm 1,80
0,60%	Macho	2,85 \pm 0,31	12,28 \pm 5,93	284,43 \pm 31,33	243,04 \pm 25,56	4,43 \pm 3,70	4,98 \pm 3,51	32,18 \pm 11,78 ^b	40,38 \pm 5,37	12,77 \pm 1,22 ^{xy}	142,51 \pm 16,91	40,53 \pm 3,97	28,56 \pm 2,05
	Fêmea	3,21 \pm 0,71	14,34 \pm 9,72	321,38 \pm 71,40	289,80 \pm 66,93	3,28 \pm 4,11	2,60 \pm 3,63	25,71 \pm 5,46 ^b	42,13 \pm 7,98	1,56 \pm 1,65 ^x	133,03 \pm 23,99	40,43 \pm 5,64	30,68 \pm 3,74
0,90%	Macho	3,11 \pm 0,44	22,02 \pm 9,00	310,79 \pm 44,22	269,18 \pm 54,54	6,41 \pm 5,18	5,80 \pm 4,54	29,56 \pm 15,66 ^b	43,64 \pm 8,24	9,97 \pm 1,39 ^x	143,98 \pm 39,01	40,41 \pm 4,78	29,29 \pm 5,91
	Fêmea	3,14 \pm 1,23	32,51 \pm 3,61	314,38 \pm 123,40	271,04 \pm 131,68	4,83 \pm 5,60	3,95 \pm 3,96	34,56 \pm 20,17 ^b	41,88 \pm 4,87	11,48 \pm 2,15 ^y	144,95 \pm 43,82	33,06 \pm 5,20	23,95 \pm 5,31
1,20%	Macho	2,78 \pm 0,69	20,75 \pm 6,20	277,95 \pm 68,50	218,21 \pm 68,24	3,50 \pm 3,16	4,64 \pm 4,44	51,60 \pm 15,67 ^a	37,70 \pm 4,45	10,60 \pm 1,54 ^{xy}	143,88 \pm 42,63	39,06 \pm 5,19	28,58 \pm 6,12
	Fêmea	3,24 \pm 0,12	27,4 \pm 10,41	324,25 \pm 12,37	251,25 \pm 7,30	5,61 \pm 3,22	1,60 \pm 2,23	65,81 \pm 10,53 ^a	42,25 \pm 7,42	11,61 \pm 0,18 ^{xy}	130,83 \pm 27,89	36,76 \pm 0,84	28,68 \pm 5,47
<i>p</i> ácidos graxos		0,992	0,220	0,992	0,728	0,433	0,510	0,006	0,512	0,537	0,797	0,349	0,592
<i>p</i> sexo		0,088	0,252	0,087	0,150	0,398	0,636	0,341	0,095	0,336	0,757	0,149	0,471
<i>p</i> interação		0,843	0,283	0,845	0,956	0,307	0,288	0,287	0,613	0,032	0,942	0,407	0,446

*Letras minúsculas (a,b) representam diferença significativa entre os tratamentos;

**Letras minúsculas (x,y) representam diferença significativa entre a interação (tratamento x sexo)

Legenda dos parâmetros: (RBC) Eritrócitos; (T) Trombócito; (LT) Leucócitos totais; (L) Linfócito; (M) Monócito; (N) Neutrófilo; (E) Eosinófilo; (Ht) Hematócrito; (Hb) Hemoglobina; (VCM) Volume Corpuscular Médio; (HCM) Hemoglobina Corpuscular Média; (CHCM) Concentração de hemoglobina corpuscular média.

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos pela análise da glicose dos exemplares de sardinha-verdadeira após a adição das diferentes concentrações de PUFA n-3 na dieta. Estatisticamente, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos utilizados no experimento.

Tabela 3 – Análise da glicose (média \pm desvio padrão) através do plasma da sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) após a adição total de PUFA n-3 nas concentrações 0,0%, 0,30%, 0,60%, 0,90% e 1,20% da fração lipídica da dieta.

Tratamento	0%	0,3%	0,6%	0,9%	1,2%
Glicose (mg/dL)	0,26 \pm 0,02	3,23 \pm 0,03	0,22 \pm 0,01	0,25 \pm 0,03	0,24 \pm 0,04

DISCUSSÃO

A espécie *S. brasiliensis* possui grande importância para a pesca comercial das regiões Sul e Sudeste do Brasil, correndo risco de extinção por conta da sobrepesca. Dessa forma, estudos voltados para o cultivo da espécie em cativeiro são de grande importância, contribuindo para manutenção da saúde dos animais e de seu monitoramento em condições de cultivo. Uma das ferramentas de verificação de saúde animal são os parâmetros hematológicos, no entanto, segundo a literatura especializada, nada tem sido observado sobre as células sanguíneas da *S. brasiliensis*, sendo o presente estudo inédito.

Dentre todos os parâmetros hematológicos analisados, apenas a concentração de eosinófilos apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos utilizados no atual estudo. Embora a função dessas células ainda não esteja bem esclarecida, de acordo com a literatura existente, evidências apontam para a participação de eosinófilos em processos de defesa do organismo de peixes contra infestações parasitárias e infecções por patógenos (PAIVA et al., 2013).

Em estudo realizado com a espécie *Micropterus salmoides*, Subhadra et al. (2006) tinham como um de seus objetivos avaliar os parâmetros hematológicos da espécie a partir do uso de dietas contendo diferentes concentrações e tipos de lipídeos. O resultado apresentou um número maior de linfócitos no sangue dos animais alimentados com dietas contendo mais que 4% de ácidos graxos n-3, o que

não ocorreu no presente estudo, visto que a concentração de linfócitos não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Em contrapartida, em experimento que visava avaliar o valor nutritivo de porcos alimentados com ração enriquecida com óleo de peixe em proporção de 8%, rico em PUFA n-3, constatou-se um aumento significativo na contagem de eosinófilos dos animais quando comparado ao grupo controle (KOMPRDA et al., 2020). Embora o presente estudo tenha demonstrado maior concentração de eosinófilos das sardinhas alimentadas com dietas contendo 0,3% e 1,2% de adição total de PUFA n-3, este aumento foi comparado com as dietas contendo 0,6% e 0,9% de adição de ácidos graxos n-3 e não quando comparado ao grupo controle, uma vez que este não apresentou diferença significativa quando comparado aos demais grupos, não havendo claramente uma associação do aumento de eosinófilos com a adição de PUFA n-3 a dieta.

Sabe-se também que eosinófilos são células mais sensíveis ao ambiente, tendo uma maior variação em sua concentração a partir de estímulos aos quais os animais são expostos, como apontam estudos que apresentam números mais expressivos de eosinófilos no sangue de peixes durante o verão em comparação ao inverno (CHEN; LUO, 2022), ou ainda quando os animais são expostos a estímulos intensos quando comparado a condições normais (HOSOKI et al., 2012). Neste caso, é interessante ressaltar que o experimento ocorreu entre novembro e dezembro, meses com temperatura mais elevada no Brasil, o que pode ter influenciado no aumento de eosinófilos no sangue das sardinhas. Além disso, pode estar relacionado com algum tipo de resposta imunológica do eosinófilo as diferentes concentrações de ácidos graxos na dieta, o que poderia ser considerado um estímulo não usual.

Por outro lado, nem sempre uma grande quantidade de eosinófilos indica uma resposta imunológica a algum patógeno ou situação adversa a que o animal foi submetido, como é o caso do *Megalancistrus acuelatus*, que possui uma alta concentração de eosinófilos naturalmente (RANZANI-PAIVA; EIRAS, 1992). Pode-se supor então que este também é o caso da composição sanguínea da sardinha-verdadeira, sendo normal para a espécie possuir uma quantidade maior de eosinófilos em sua contagem diferencial de leucócitos.

A hemoglobina é uma proteína que tem como função principal o transporte de oxigênio por todo o organismo, além de atuar no transporte de gás carbônico e outros nutrientes (BERNARD et al., 2000). Quanto à concentração de hemoglobina (Hb) no

sangue da *S. brasiliensis* ter apresentado menor valor nas fêmeas, pode haver relação com o fato dos peixes já terem atingido a maturidade sexual, mas não há de fato resultados conclusivos a respeito deste parâmetro.

Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que a adição total de PUFA n-3 nas concentrações 0,0%, 0,30%, 0,60%, 0,90% e 1,20% da fração lipídica da dieta da sardinha-verdadeira não influenciaram negativamente a saúde dos animais e seus parâmetros hematológicos, uma vez que não houve diferenças significativas dos tratamentos em relação ao grupo controle (0,0% de PUFA n-3 adicionado a dieta).

Levando em consideração a importância da *Sardinella brasiliensis* como isca viva e seu atual risco de extinção causado pela sobrepesca, além do presente estudo ser o primeiro a ser realizado com ênfase na análise sanguínea da espécie, mais estudos voltados para a hematologia da sardinha-verdadeira precisam ser realizados para que conclusões mais satisfatórias possam ser obtidas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 306635/2018-6) pelo auxílio financeiro e bolsa de Produtividade em Pesquisa à M.L. Martins e bolsa de Iniciação Científica à A.P. Souza; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas de Doutorado à F. Scheuer, bolsa de Mestrado à D.S. Costa e à FAPESC pela bolsa de Doutorado à G.G. Santos.

REFERÊNCIAS

BANDARRA N. M.; MARCELO A.; CORDEIRO A. R.; POUSÃO-FERREIRA P. Sardine (*Sardina pilchardus*) lipid composition: Does it change after one year in captivity? **Food Chemistry**, v. 244, p. 408–413, 2018.

BRAGA F. M. D. S. Estudo da diversidade de *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879), na área entre Macaé (22°23'S) e Ilha de Santa Catarina (27°35'S): 1. Crescimento de dimensões corporais. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 4, p. 235-250, 1987.

BERNARD J.; LEVY J.P.; VARET B.; CLAUVEL J.P.; RAIN J.D.; SULTAN Y. **Hematologia**. 9° Ed. Rio de Janeiro, Medsi. 2000.

CASTELLO J. P. Síntese sobre distribuição, abundância, potencial pesqueiro e biologia da sardinha verdadeira (*Sardinella brasiliensis*). Avaliação do Potencial Sustentável de Recursos Vivos na Zona Econômica Exclusiva MMA. **REVIZEE Análise/Refinamento dos Dados Pretéritos Sobre Prospecção Pesqueira**, p. 12, 2006.

CERGOLE M. C. Avaliação do estoque da sardinha-verdadeira, *sardinella brasiliensis*, da costa sudeste do Brasil, período 1977 a 1990. 1993. **Tese (Doutorado)** – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1993

CERQUEIRA V.R.; STERZELECKI, F.; BALOI, M.; MAGNOTTI, C.; CIPRIANO, F. S.; MANZONI, G. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 3 ed. Santa Maria: Editora da UFSM, p. 57-72, 2020.

CHEN H.; LUO D.. Application of haematology parameters for health management in fish farms. **Reviews In Aquaculture**, p. 1-34, 2022.

FAZIO F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. **Aquaculture**, v. 500, p. 237-242, 2019.

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

GOLDENFARB, P. B., BOWYER, F. P., HALL, E., BROSIUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: The microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, 56, 35–39, 1971.

HOSOKI K.; NAKAMURA A.; NAGAO M.; HIRAGUCHI Y.; TANIDA H.; TOKUDA R.; WADA H.; NOBORI T.; SUGA S.; FUJISAWA T. *Staphylococcus aureus* directly activates eosinophils via platelet-activating factor receptor. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 92, n. 2, p. 333-341, 2012.

HUNTER B.J., ROBERTS D.C.K. Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. **Nutr Res**; 20: 1047-58, 2000.

JABLONSKI S. The Brazilian sardine. Is there any room for modelling? **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, 2: 86-93 p. 2007.

KOMPRDA T.; JÖZL M.; MATEJOVIČOVÁ M.; LEVÁ L.; PIECHOWICZOVÁ M.; NEDOMOVÁ Š.; POPELKOVA V.; VYMAZALOVÁ P. Effect of High Dietary Level (8%) of Fish Oil on Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acid n-3 Content in Pig Tissues and Plasma Biochemical Parameters. **Animals**, v. 10, n. 9, p. 1657, 2020.

LEE J. H.; O'KEEFE J. H.; LAVIE C.J.; HARRIS W.S.. Omega-3 fatty acids: cardiovascular benefits, sources and sustainability. **Nature Reviews Cardiology**, v. 6, n. 12, p. 753-758, 2009.

LIZAMA M.; CAGNI G.; ZAVASKI F. Análise histórica sobre a hematologia em peixes no Brasil: estudo quali/quantitativo. **Enciclopédia Biosfera**, v. 17, n. 34, 2020.

MPA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura. **Aquicultura**, M. D. P. E.: 128 p, 2012.

RANZANI-PAIVA M. J.T.; PÁDUA S.B.; TAVARES-DIAS M.; Egami M.I. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Maringá: Eduem, 135 p, 2013.

RANZANI-PAIVA M. J.T; EIRAS A.C. Células sanguíneas e contagem diferencial de leucócitos de 13 espécies de teleósteos do Rio Paraná – PR. **7º Simpósio Brasileiro de Aquicultura, 2º Encontro Brasileiro de Patologia de Organismos Aquáticos**, Peruíbe, p. 173-182, 1992.

RIO DE JANEIRO. Resolução nº 073, de 19 de agosto de 2022. **Dispõe sobre a divulgação da Lista das Espécies Nativas da Fauna Ameaçadas de Extinção que ocorrem na Cidade do Rio de Janeiro e dá outras providências**. Rio de Janeiro: Prefeitura, 2022.

SCHNEIDER F.; SCHWINGEL P. R. Estudo preliminar da ecologia trófica da *Sardinella brasiliensis* na costa sudeste do Brasil. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 3, n. 1, 2010.

SUBHADRA B.; LOCHMANN R.; RAWLES S.; CHEN R.. Effect of dietary lipid source on the growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Aquaculture**, v. 255, n. 1-4, p. 210-222, 2006.

TAVARES-DIAS M.; ISHIKAWA M. M.; MARTINS M. L.; SATAKE F.; HISANO H.; PÁDUA S. B.; JERÔNIMO G. T.; SÁ A. R. S.. Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo. In: SARAN N. A.; MARIANO W. S.; SORIA S. F. P. **Tópicos especiais em saúde e criação animal**. São Carlos: Pedro e João Editores, p. 43-80, 2009.

4 REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

CAVALLI R. O. Com excelentes condições ambientais, piscicultura marinha carece de investimento. **Visão Agrícola**, v. 11, n. 19, p. 18-23, 2012.

CERGOLE M. C.; VALENTINI H. Growth and mortality estimates of *Sardinella brasiliensis* in the southeastern Brazilian Bight. **Boletim do Instituto Oceanográfico**, v. 42, n. 1-2, p. 113-127, 1994.

CERQUEIRA V.R.; STERZELECKI F.; BALOI M.; MAGNOTTI C.; CIPRIANO F. S.; MANZONI G. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 3 ed. Santa Maria: Editora da UFSM, p. 57-72, 2020.

DAVIES I. P.; CARRANZA V.; FROEHLICH H. E.; GENTRY R. R.; KAREIVA P.; HALPERN B. S. Governance of marine aquaculture: pitfalls, potential, and pathways forward. **Marine Policy**, v. 104, p. 29-36, 2019.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2022**. Towards Blue Transformation. Rome: FAO, 2022.

FAZIO F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. **Aquaculture**, v. 500, p. 237-242, 2019.

FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. Florianópolis: Aquabio, 2013.

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

HUNTER B.J.; ROBERTS D. Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. **Nutrition Research**; 20: 1047-1058, 2000.

IBAMA. **Plano de Gestão para o uso sustentável de Sardinha-Verdadeira, *Sardinella brasiliensis*, no Brasil**. Brasília: IBAMA, 2011.

ISAAC-NAHUM V. J.; CARDOSO R. de D.; SERVO G.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI C. L. del B.. Aspects of the spawning biology of the Brazilian sardine, *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879), (Clupeidae). **Journal of Fish Biology**, v. 32, n. 3, p. 383-396, 1988.

JABLONSKI S. The Brazilian sardine. Is there any room for modelling? **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, 2: 86-93 p. 2007.

LAPMAR. **Projeto Isca-Viva**. Disponível em: <https://lapmar.ufsc.br/projetos/depesquisa/projeto-isca-viva/>. Acesso em: 21 nov. 2022.

LISBOA V.; ELOY H. R. F.; CATTER K. M.; VIDIGAL R. C. A. B.; SOUZA R. L. M.; MATIAS J. F. N. Piscicultura marinha brasileira: desafios e perspectivas do seu desenvolvimento no estado do ceará. **Sistemas & Gestão**, v. 15, n. 2, p. 113-122, 2020.

LIZAMA M.; CAGNI G.; ZAVASKI F. Análise Histórica sobre a hematologia de peixes no Brasil: estudo quali/quantitativo. **Enciclopédia Biosfera**, v. 17, n. 34, 2020.
MARTINS A. M. D.; CAPPATO L. P.; PACHECO S.; GODOY R. L. O. SARDINHAS: importância nutricional e econômica para o Brasil. **Semioses**, p. 51-59, 2016.

MATSUURA Y. Brazilian sardine (*Sardinella brasiliensis*) spawning in the southeast Brazilian Bight over the period 1976-1993. **Revista Brasileira de Oceanografia**, v. 46, n. 1, p. 33-43, 1998.

MPA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura. **Aquicultura**, 128 p, 2012.

PEIXE BR. **Anuário 2022 Peixe BR da Piscicultura**. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>. Acesso em: 29 nov. 2022.

RANZANI-PAIVA M. J.T.; PÁDUA S.B.; TAVARES-DIAS M.; Egami M.I. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Maringá: Eduem, 2013.

RIO DE JANEIRO. Resolução nº 073, de 19 de agosto de 2022. **Dispõe sobre a divulgação da Lista das Espécies Nativas da Fauna Ameaçadas de Extinção que ocorrem na Cidade do Rio de Janeiro e dá outras providências**. Rio de Janeiro: Prefeitura, 2022.

SCHNEIDER F.; SCHWINGEL P. R. Estudo preliminar da ecologia trófica da *Sardinella brasiliensis* na costa sudeste do Brasil. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**; v. 3, n. 1, 2010.

SEAFOOD. **FAO/Sofia 2022: produção global da aquicultura cresce e capturas caem**. Disponível em: <https://www.seafoodbrasil.com.br/fao-sofia-2022-producao-global-da-aquicultura-cresce-e-capturas-caem>. Acesso em: 1 jul. 2022.

TAVARES-DIAS M.; ISHIKAWA M. M.; MARTINS M. L.; SATAKE F.; HISANO H.; PÁDUA S. B.; JERÔNIMO G. T.; SÁ A. R. S.. Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo. In: SARAN N. A.; MARIANO W. S.; SORIA S. F. P. **Tópicos especiais em saúde e criação animal**. São Carlos: Pedro e João Editores, p. 43-80, 2009.

TAVARES-DIAS M.; MORAES F. R. **Hematologia de Peixes Teleósteos**. Ribeirão Preto: Marcos Tavares-Dias, 2004.

TAVARES-DIAS M.; ONO E. A.; PILARSKI F.; MORAES F. R. Can thrombocytes participate in the removal of cellular debris in the blood circulation of teleost fish? A cytochemical study and ultrastructural analysis. **Journal Of Applied Ichthyology**, v. 23, n. 6, p. 709-712, 2007.

YOSHINAGA K.; OKAMOTO N.; KURATA O.; IKEDA Y. Individual Variations of Natural Killer Activity of Rainbow Trout Leucocytes against IPN Virus-Infected and Uninfected RTG-2 Cells. **Fish Pathology**, v. 29, n. 1, p. 1-4, 1994.