

## Uso do selênio na dieta de matrinxã, *Brycon cephalus*.

### *Use of selenium in matrinxã feed, Brycon cephalus.*

MONTEIRO, D. A.<sup>1</sup>; RANTIN, F. T.<sup>2</sup>; KALININ, A. L.<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Bióloga e Mestre em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal de São Carlos/UFSCar.

<sup>2</sup>Professores. Doutores da Universidade Federal de São Carlos/UFSCar. Departamento de Ciências Fisiológicas. Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparativa

\*Endereço para correspondência: [akalinin@power.ufscar.br](mailto:akalinin@power.ufscar.br)

### RESUMO

O selênio é um micronutriente essencial na nutrição humana e animal, incluindo os peixes. É um componente mineral constituinte de muitas enzimas que apresentam uma grande variedade de funções, particularmente, a de proteção antioxidante contra danos celulares. O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da inclusão de selênio (Se) na dieta em matrinxã, *Brycon cephalus*. Os peixes foram alimentados durante 60 dias com dietas contendo 1,5 mg de Se/kg de ração (grupo 1,5 Se) ou com uma ração livre de Se (grupo 0 Se). A atividade da glutathione peroxidase (GPx) nos eritrócitos, os níveis de glutathione reduzida (GSH) e de hemoglobina (Hb) no sangue e o crescimento dos peixes foram analisados. O grupo 1,5 Se exibiu aumentos significativos na atividade da GPx, nos níveis de GSH e Hb e no crescimento, quando comparados com o controle. Esses resultados sugerem que a suplementação da dieta com Se é importante, especialmente, para um melhor crescimento e proteção celular contra o estresse oxidativo, com o aumento das defesas antioxidantes.

Palavras-chave: antioxidante, micronutriente, glutathione peroxidase; glutathione reduzida.

### SUMMARY

Selenium is an essential micronutrient for human and animal nutrition, including fish. It is a mineral component of many enzymes that have a wide range of functions, particularly as an antioxidant protection against cell damage. The aim of this work was to determine the effects of dietary selenium (Se) intake in matrinxã, *Brycon cephalus*. Fish were fed during 60 days with diets containing 1.5 mg of Se/kg ration (group 1.5 Se) or Se-free ration (group 0 Se). Glutathione peroxidase activity in the erythrocytes, reduced glutathione (GSH) and hemoglobin (Hb) levels in blood, and growth performance were evaluated. Group 1.5 Se showed significant increases in GPx activity, GSH and Hb levels and growth compared to control group. These results suggest that dietary selenium supplementation is important, particularly for growth performance and cell protection against oxidative stress by increasing antioxidant defenses.

Keywords: antioxidant, micronutrient, glutathione peroxidase; reduced glutathione.

## INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da piscicultura no Brasil e o uso de sistemas de produção cada vez mais intensivos têm forçado os fabricantes de alimentos para peixes a elaborar rações nutricionalmente completas, de alta digestibilidade, utilizando para isso formulações de custo mínimo e garantindo o balanceamento de todos os nutrientes essenciais à nutrição dos peixes. Micronutrientes, como vitaminas e minerais, são essenciais para o crescimento normal, reprodução e saúde dos peixes (KIM et al., 2003). No entanto, as exigências vitamínicas e minerais das espécies de peixes tropicais cultiváveis não se encontram precisamente determinadas. As recomendações adotadas para a formulação de rações para peixes tropicais se baseiam em valores médios disponíveis na literatura especializada (NRC, 1993) que, em sua maioria, se referem a estudos realizados com peixes de ambiente temperado. Assim, as formulações das rações comercializadas no Brasil podem não atender às exigências nutricionais de espécies nacionais. Adicionalmente, a utilização de xenobióticos nos tanques de alevinagem para profilaxia, eliminação de ectoparasitas e para o combate a larvas de insetos predadoras de peixes é uma prática comum (FIGUEIREDO e SENHORINI, 1990; SILVA et al., 1993; SHEPHERD e BROMAGE, 1995; BURGESS et al., 1998), que seria agravada pela utilização de uma dieta inadequada. A exposição a xenobióticos é uma das principais causas do estresse oxidativo devido ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) nos organismos expostos (SILVA et al., 1999; AHMAD et al., 2000; VAN DER OOST et al., 2003). As ERO estão implicadas na etiologia de um grande número de alterações degenerativas, lesões teciduais, aumento da suscetibilidade a agentes infecciosos e patologias e estão envolvidas nos mecanismos de toxicidade de xenobióticos (HALLIWELL, 1996; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1989;

BRAY, 2000; LE MOULLAC e HAFFNER, 2000; LIVINGSTONE, 2001). Dessa forma, a utilização de agentes antioxidantes como o Se pode permitir que os animais superem, de maneira saudável e sem danos, as condições adversas à que estão frequentemente sujeitos, resistindo aos manejos.

O selênio (Se) é um micronutriente essencial na nutrição humana e animal, incluindo os peixes (WATANABE et al., 1997). É um antioxidante mineral constituinte de várias selenoproteínas que contêm um ou mais resíduos de selenocisteína em seus sítios ativos (BERRY et al., 1991; LEUNG, 1998). Possui três níveis de atividade biológica: 1) concentrações-traço são requeridas para o crescimento e desenvolvimento normais; 2) concentrações moderadas que podem ser estocadas para manutenção das funções homeostáticas; e 3) concentrações elevadas que podem resultar em efeitos tóxicos (HAMILTON, 2004). Assim, o Se pode ser tanto um elemento essencial quanto tóxico, dependendo da concentração.

O Se é co-fator e parte integrante da enzima glutatona peroxidase (GPx) (ROTRUCK et al., 1973) e, por essa razão, protege o tecido celular contra o estresse oxidativo, atuando na desintoxicação do peróxido de hidrogênio e de hidroperóxidos de lipídios, oriundos do ataque das ERO (SIES, 1986; STOREY, 1996; NORDBERG e ARNER, 2001). O Se apresenta versatilidade na capacidade de oxi-redução no centro ativo da enzima GPx, uma característica fundamental para sua ação na eliminação de peróxidos (ARTEEL e SIES, 2001). O nível de atividade desta enzima pode ser indicativo do suprimento de selênio no organismo (WATANABE et al., 1997). A GPx catalisa as reações de desintoxicação de peróxidos às custas da oxidação da glutatona reduzida (GSH), substrato específico e imprescindível para manutenção dessa atividade (LIEBLER e

REED, 1997). Assim tanto o Se quanto o tripeptídeo GSH são fundamentais para a atuação da GPx e seus níveis são capazes de regular a atividade.

O Se também atua como parte integrante da enzima 5'-iodotironina deiodinase tipo I, que converte o hormônio T<sub>4</sub> (tetraiodotironina) em uma forma mais ativa, o T<sub>3</sub> (triiodotironina) (McDONALD et al., 2002). A baixa ingestão de selênio altera a função tireoideana, diminuindo os níveis de T<sub>3</sub> e aumentando os de T<sub>4</sub> (ARTHUR, 1997), o que, conseqüentemente, altera muitos aspectos do metabolismo celular.

O Se ainda apresenta um papel ativo no sistema imunológico (HUGHES, 2000), sendo importante para o crescimento e para assegurar um metabolismo adequado, além de melhorar a contagem de espermatozoides e apresentar efeito cárdio-protetor (REILLY, 1998).

Tanto os sinais de deficiência quanto os efeitos tóxicos do excesso de Se incluem redução do crescimento, letargia, diminuição das funções hepáticas, diminuição do peso do fígado, diminuição na performance reprodutiva, catarata, diminuição dos níveis de hemoglobina e aumento na incidência de câncer, entre outros (COMBS e COMBS, 1986; FOSTER e SUMAR, 1995; PATTERSON e LEVANDER, 1997; GANTHER, 1999).

O selênio está presente em vários ingredientes e diversos compostos são considerados fontes de suplementação desse mineral. O selenito e o selenato são fontes inorgânicas de selênio, enquanto que o selenometionina, o selenocistina e o selenocisteína são compostos orgânicos. As farinhas de peixe e os produtos marinhos utilizados como ingredientes em rações para peixes são fontes de selênio, mas somente as dietas contendo acima de 15% de farinha de peixe apresentam concentrações adequadas de Se, não necessitando de suplementação. No entanto, rações formuladas predominantemente com produtos de origem vegetal necessitam de

suplementação com Se (WANG e LOVELL, 1997), uma vez que a concentração varia muito em alimentos vegetais, estando diretamente relacionada à quantidade de Se presente no solo.

Muito pouco se conhece sobre a suplementação de antioxidantes na dieta de peixes, especialmente do Se e seus efeitos sobre o sistema antioxidante de defesa celular. Dessa maneira, o objetivo com este trabalho foi avaliar a influência da inclusão de selênio na dieta sobre o comportamento e o crescimento de matrinxã e as respostas de suas defesas antioxidantes, como a glutathiona peroxidase (GPx) e a glutathiona reduzida (GSH).

## MATERIAL E MÉTODOS

### Animais

Os alevinos de matrinxã (*Brycon cephalus*) foram cedidos pela Piscicultura Águas Claras (Mococa-SP), onde foram mantidos, para crescimento, em reservatórios artificiais, abertos e livres de poluição aquática. Os peixes foram transportados para o Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparativa do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos. Os alevinos, com peso de 5 a 7 g, ficaram estocados em densidades de até 100 peixes por tanque (1000 L). MARQUES et al. (2004) concluíram que a densidade de estocagem de 96 alevinos/m<sup>3</sup> é a mais indicada para a espécie nessa faixa de peso, uma vez que nessa densidade obtiveram os melhores valores de biomassa total, conversão alimentar, ganho e uniformidade de peso dos matrinxãs, sem alterações nos parâmetros de sobrevivência. Os peixes ficaram em dois tanques de 1000 L com circulação de água sem cloro, termostatizada (24 ± 2°C), com aeração constante e sob fotoperíodo natural (~12h:12h). Os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados e se mantiveram aproximadamente constantes: pH 6,7 - 7,5; DO<sub>2</sub> 6,0 - 7,5 mg/L; dureza

25 - 30 mg/L (como CaCO<sub>3</sub>); alcalinidade 9,5 - 10,2 mg/L (como CaCO<sub>3</sub>) e condutividade 65 - 72 µS/cm.

### Delineamento Experimental

Os animais permaneceram em dois tanques de 1000 L, nas condições de aclimação descritas anteriormente, ao longo de 60 dias. Durante o período, os peixes foram alimentados com dois tipos de ração peletizada, fornecidas até saciedade aparente, pelo menos três vezes ao dia.

Foram formuladas duas dietas isocalóricas (3.069 Kcal de Energia Digestível por quilograma de ração), com 35% de proteína: ração livre de selênio e ração contendo 1,5 mg Se/kg (Tabelas 1 e 2), de maneira a serem obtidos os seguintes grupos experimentais:

- 0 Se: animais alimentados com ração contendo 0 mg de Se/kg, durante 60 dias (n = 50).
- 1,5 Se: animais alimentados com ração contendo 1,5 mg de Se/kg, durante 60 dias (n = 50).

Tabela 1. Composição percentual e química das dietas utilizadas no experimento com variação de níveis de selênio.

Ingredientes	Dietas Experimentais	
	Níveis de selênio nas dietas (mg/kg de peso seco)	
	0	1,5
Farinha de peixe 60%	10,00	10,00
Farelo de soja 46%	54,00	54,00
Farelo de trigo	20,00	20,00
Milho	11,50	11,50
Alginato	0,20	0,20
Calcário 38% cálcio	1,50	1,50
Fosfato bicálcico	0,82	0,82
Cloreto de sódio	0,10	0,10
Vitamina C 35%	0,10	0,10
BHT 99%	0,02	0,02
Óleo de soja	1,68	1,68
Supl vitam/mineral <sup>(1)</sup>	0,50	0,50
Selenito de sódio <sup>(2)</sup>	0,00	0,00845
Total	100,00	100,00

<sup>1</sup>Suplemento Vitamínico e Mineral: níveis de garantia por kg de premix (*Suprevit – SUPREMAIS*): ácido fólico 1.200 mg; pantotenato de cálcio 12.000 mg; vit B<sub>1</sub> 4.800 mg; vit. B<sub>2</sub> 4.800 mcg; vit B<sub>6</sub> 4.800 mg; vit. B<sub>12</sub> 4.800 mg; niacina 24.000 mg; vit. A 1.200.000 UI; vit. K 2.400 mg; vit D<sub>3</sub> 200.000 UI; vit C 48.000 mg; vit. E 12.000 mg; cobalto 2 mg; cobre 600 mg; ferro 10.000 mg; iodo 20 mg; manganês 4.000 mg; zinco 6.000 mg.

<sup>2</sup>Selenito de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) - 0,18% ativo.

Tabela 2. Análise bromatológica das dietas utilizadas no experimento com variação de níveis de selênio.

Composição bromatológica		
Proteína bruta (%)	35,91	35,77
Matéria seca (%)	96,89	96,67
Extrato etéreo (%)	4,12	4,10
Cinzas (%)	8,60	8,42
Fibra bruta (%)	7,11	7,57
Selênio (mg/kg) <sup>(1)</sup>	0,0024	1,32

<sup>1</sup>Níveis de selênio nas rações prontas, obtidos por espectrometria de absorção atômica de acordo com a técnica descrita por WELZ et al (1992) e ROSA et al. (2002).

Poston et al. (1976) mostraram que a suplementação de selênio na dieta de *Salmo salar* por 30 dias foi suficiente para reverter a alta incidência de mortalidade em relação aos animais que receberam dieta livre de selênio. A suplementação com 1,5 mg de Se/kg ração foi escolhida com base nos dados disponíveis na literatura, os quais relatam que a ingestão prolongada acima de 3 mg de Se/kg de dieta em truta arco-íris é tóxica e prejudicial para seu desenvolvimento e saúde (HILTON et al., 1980). Além disso, outros estudos mostraram que dietas contendo concentrações de Se menores que 3 mg/kg raramente produzem efeitos adversos em peixes e outros animais (MAIER e KNIGHT, 1994; USDOJ, 1998; DeFOREST et al., 1999). Dessa forma, a metade da menor dose de selênio identificada como prejudicial foi utilizada no presente trabalho para evitar os efeitos tóxicos do mineral.

A escolha da concentração de 1,5 mg de Se visou assegurar que o nível escolhido não produziria um efeito tóxico ao mesmo tempo em que seria consideravelmente superior àqueles utilizados nas rações industriais brasileiras destinadas à alimentação de peixes (cerca de 0,2 mg Se/kg), que contêm níveis nutricionais recomendados para espécies não-nativas. Cabe ressaltar que os alevinos de matrinxã apresentam bom aproveitamento de ingredientes de origem animal e vegetal, sendo a farinha de peixe o ingrediente mais digestível seguido do farelo de trigo (SALLUM et al., 2002).

### Coleta de Amostras

Ao final do período experimental, os peixes foram coletados e uma amostra de sangue foi obtida por meio de punção da veia caudal, com o auxílio de seringas heparinizadas, sendo então imediatamente sacrificados por secção medular. O sangue foi centrifugado a 12.000 rpm durante 15 min a 4 °C para a obtenção dos eritrócitos, que foram lavados de acordo com os

procedimentos descritos posteriormente. Não foi utilizado qualquer tipo de anestésico durante a coleta pelo fato de essas drogas causarem alterações na atividade de enzimas antioxidantes, como a GPx (WDZIECZAK et al., 1982).

O peso e o comprimento total dos animais e o peso de seus fígados foram medidos, sendo o índice hepático-somático [IHS = (peso do fígado/peso do peixe) x (100)] calculado após a biometria.

### Preparação do hemolisado

Após a remoção do plasma por centrifugação, os eritrócitos foram lavados três vezes com solução salina (NaCl 1%) e os hemolisados foram obtidos a partir da adição de três volumes de tampão TRIS-HCl 20 mM pH 8,0 e posterior centrifugação a 12.000 rpm durante 15 min a 4 °C (WILHELM-FILHO, 1996). O sobrenadante foi utilizado para as análises enzimáticas da GPx.

### Determinação de hemoglobina total (Hb)

Na determinação de hemoglobina total, 10 µL de sangue foram adicionados a 2 mL de solução de Drabkin (0,5 g de KCN, 1,4 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 2,0 g de K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] para 1 L de água destilada q.s.p.). A leitura do produto resultante foi realizada em λ = 540 nm (DRABKIN, 1948) e o cálculo da concentração foi realizado a partir de uma curva-padrão feita com padrão de hemoglobina da Labtest (MG, Brasil).

### Determinação da atividade da glutathione peroxidase (GPx)

A atividade da GPx Se-dependente foi analisada de acordo com procedimento descrito por HAFEMAN et al. (1974). A GPx degrada H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na presença de GSH, depletando-a. A atividade da GPx é medida indiretamente pela diminuição da quantidade de GSH, avaliada pela reação da GSH com o ácido 5,5'-ditiobis-2-

nitrobenzóico (DTNB). A reação da GSH com o DTNB gera o ácido 2-nitro-5-mercaptop-benzóico (TNB) de coloração amarela, cuja leitura é realizada em  $\lambda = 412$  nm. A mistura, contendo tampão fosfato de sódio 80 mM (pH 7,0), EDTA 80 mM, 1mM de  $\text{NaN}_3$ , 0,4 mM de GSH, 0,25 mM de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e alíquota do extrato enzimático, foi incubada a 37 °C. Após 3 min, uma alíquota dessa mistura foi removida e tratada com reagente de precipitação (1,67 g de ácido metafosfórico glacial, 0,2 g de EDTA e 30 g de NaCl para 100 mL de água destilada q.s.p.). A GSH, nesse filtrado livre de proteína, foi determinada utilizando-se 0,4 M de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e 1 mM de DTNB em citrato trissódico 1%. Um branco foi simultaneamente conduzido com as amostras, uma vez que ocorre oxidação não-enzimática da GSH pelo  $\text{H}_2\text{O}_2$  durante a incubação. Uma unidade da GPx foi definida como a quantidade de enzima que consome 1 $\mu$ g de GSH por minuto (LATHA e PARI, 2004).

#### **Determinação do conteúdo de glutathiona reduzida (GSH)**

A concentração de GSH no sangue foi medida de acordo com Beutler et al. (1963), por meio do reativo de Ellman (ácido 5,5'-ditio di-2-nitrobenzoico - DTNB em citrato trissódico 1%). Amostras de sangue, imediatamente após a coleta, foram tratadas com TCA 30% na razão 1:3 e centrifugadas a 5.000 rpm durante 15 min a 4 °C, para precipitar as proteínas, e os sobrenadantes foram usados para análise do conteúdo de GSH, conforme adaptado por Wilhelm-Filho et al. (2005). A GSH reage com o reagente de Ellman, produzindo uma solução de cor amarelada, lida em espectrofotômetro em  $\lambda = 412$  nm. O coeficiente de extinção molar da GSH, nessas condições, foi utilizado no cálculo da concentração da GSH (mM).

#### **Tratamento Estatístico dos Dados.**

Os valores de todas as determinações foram expressos em média  $\pm$  S.D (desvio-padrão da média) e somente diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância foram consideradas. O teste-t de Student não-pareado ou seu correspondente não-paramétrico Mann-Whitney foram aplicados, de acordo com os critérios de normalidade e homogeneidade, para verificar a ocorrência de possíveis diferenças significativas entre cada tipo de arraçoamento (GraphPad InStat v. 3.00, GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

#### **RESULTADOS**

O comportamento dos grupos experimentais começou a diferir após 15 dias de arraçoamento. Os peixes alimentados com ração suplementada com 1,5 mg Se/kg apresentaram o padrão de natação em círculo típico da espécie, não subindo à superfície para se alimentar e consumindo a ração oferecida quase totalmente. Diferentemente, os peixes que receberam dieta sem selênio não exibiram o padrão natatório em círculo, característico de matrinxã, subindo constantemente à superfície em busca de alimento, sendo uma quantidade maior de ração era observada no fundo do tanque após os períodos de arraçoamento.

A suplementação com Se pareceu induzir um padrão de coloração mais clara nos peixes, enquanto o grupo com dieta sem selênio mostrou-se mais escuro e mais agitado.

Os peixes que receberam dieta livre de selênio exibiram canibalismo após 50 dias de arraçoamento, comportamento ausente no grupo suplementado com selênio. A biometria dos animais evidenciou que os peixes arraçados com dieta contendo 1,5 mg Se/kg apresentaram valores significativamente maiores de peso corpóreo, comprimento total, peso do fígado e ganho de peso em relação aos

peixes que receberam a dieta sem Se. Entretanto, nenhuma diferença foi observada nos valores do IHS entre os dois

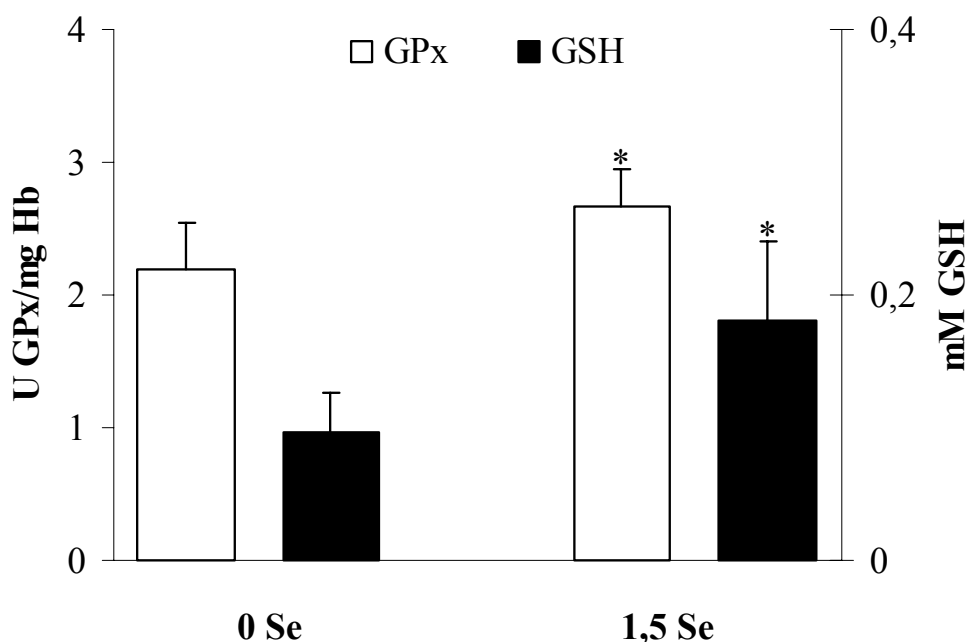
tipos de tratamento. Os peixes do grupo 1,5 Se também apresentaram maiores níveis de hemoglobina (Tabela 3).

Tabela 3. Comprimento total, peso do animal, peso do fígado, ganho de peso, HIS, hemoglobina total e presença ou não de canibalismo nos matrinxãs que receberam 0 Se ou 1,5 mg Se/kg na dieta. Valores são média  $\pm$  D.P.M.

	Tipo de dieta	
	0 Se	1,5 Se
Comprimento total (cm)	13,36 $\pm$ 0,85	14,77 $\pm$ 0,93*
Peso do animal (g)	27,81 $\pm$ 5,62	34,30 $\pm$ 3,62*
Peso do fígado (g)	0,28 $\pm$ 0,03	0,38 $\pm$ 0,12*
Ganho de peso (g)	14,56 $\pm$ 5,60	22,33 $\pm$ 5,30*
HIS (%)	0,986 $\pm$ 0,18	1,05 $\pm$ 0,22
Hb (g/dL)	6,77 $\pm$ 2,14	8,85 $\pm$ 1,17*
Canibalismo	+++	ausente

\* Indica diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos 0 Se e 1,5 Se.

Os peixes que receberam dieta suplementada com 1,5 mg Se/kg apresentaram uma maior atividade da GPx e níveis mais elevados de GSH em relação àqueles que não receberam Se na dieta (Figura 1).



## DISCUSSÃO

Em animais, a quantidade de selênio necessária para causar toxicidade depende da fonte de selênio, do tipo de dieta, do ambiente, bem como da própria espécie (FOSTER e SUMAR, 1995). São descritos três tipos clínicos de intoxicação por

selênio em animais. 1) selenose aguda, caracterizada pela exposição a altas doses de selênio dentro de um curto período de tempo, com sinais severos de toxicidade que são manifestados rapidamente; 2) selenose sub-aguda, descrita como

resultado de uma exposição a grandes doses de selênio por um longo período de tempo, resultando em manifestações de sinais neurológicos como ataxia e falência do sistema respiratório; 3) a selenose crônica, caracterizada pela exposição a níveis moderados de selênio por períodos de semanas ou meses, sendo que os maiores sinais de selenose crônica são lesões dérmicas, podendo haver também anorexia, com acentuada perda de peso (COMBS e COMBS, 1986).

O requerimento mínimo de selênio para peixes depende muito do nível de vitamina E na dieta, uma vez que há um sinergismo entre eles, e esse requerimento varia entre 0,2 a 0,5 mg/kg de dieta (WATANABE et al., 1997). A deficiência de Se, tanto em animais como em humanos, leva a várias anormalidades que incluem a diminuição de crescimento, diminuição da atividade da GPx hepática, degeneração muscular, perda de apetite, mortalidade, letargia, infertilidade, entre outros (GATLIN e WILSON, 1984; WATANABE et al., 1997).

No presente trabalho, não foram evidenciados sintomas de selenose nos matrinxãs arraçoados com 1,5 mg de Se, demonstrando que essa concentração não foi tóxica durante os 60 dias de tratamento. Por outro lado, os animais que receberam dieta suplementada com selênio mostraram um melhor crescimento em relação àqueles que receberam dieta sem selênio, apresentando um padrão natatório atípico para a espécie, canibalismo após 50 dias de arraçoamento e alteração na coloração. Os resultados obtidos evidenciaram melhor desempenho em peso total e do fígado, comprimento e ganho de peso para os matrinxãs alimentados com dietas contendo 1,5 mg Se/kg.

O canibalismo é freqüente em algumas espécies de peixes como *Brycon* ssp, especialmente em piscicultura, sendo incapazes de escapar da predação via migração ou segregação de habitat. O canibalismo é um fenômeno complexo que envolve tanto fatores intrínsecos

(genéticos) quanto populacionais e ambientais (temperatura, fotoperíodo, dieta, densidade de estocagem, entre outros) (BARAS e JOBLING, 2002).

Smith e Reay (1991) observaram uma correlação negativa entre a disponibilidade das fontes de alimento e o impacto do canibalismo. Qualquer restrição alimentar (quantitativa, temporal e espacial) pode desencadear ou aumentar o canibalismo como resultado tanto da escassez alimentar como do crescimento diferenciado (KESTEMONT e BARAS, 2001). Assim, o canibalismo exibido pelos matrinxãs que receberam dieta sem selênio pode ser decorrente de um baixo "status" energético, até porque esse mineral regula a ação dos hormônios tireoideanos que, por sua vez, influenciam a utilização dos nutrientes e o crescimento dos peixes (MacKENZIE et al., 1998). Em mamíferos, a alteração na disponibilidade dos hormônios tireoideanos influencia os comportamentos de agressividade (DENICOFF et al. 1990; DODMAN et al., 1995). No entanto, não há dados na literatura sobre esse aspecto em peixes, mas a hipótese não pode ser descartada.

No presente estudo, observou-se que os matrinxãs que receberam dieta sem Se apresentaram uma menor ingestão alimentar em comparação àqueles que receberam dieta suplementada com 1,5 mg Se/kg de ração, embora esse parâmetro não tenha sido quantificado, mas somente inferido pela sobra de ração no fundo do tanque. De Pedro et al. (1995) encontraram uma redução concomitante da ingestão alimentar e dos níveis plasmáticos de T<sub>3</sub> em peixe dourado, *Carassius auratus*, indicando que a tireóide pode influenciar também o comportamento alimentar dos peixes. Em galinhas, os efeitos da ausência de selênio e de sua suplementação sobre os níveis dos hormônios tireoideanos estão envolvidos na seleção de alimento, por influenciarem a sensibilidade ao sabor do mesmo (ZUBERBUEHLER et al., 2006). Nesse estudo, a diminuição dos níveis de T<sub>3</sub> causada pela deficiência de selênio pode



ter tornado as galinhas mais sensíveis ao sabor do alimento, de forma que desenvolvessem aversão à dieta com baixos níveis de selênio. Em ratos com hipotireoidismo, alguns estudos também mostraram uma alteração na preferência por determinados sabores e no paladar desses animais (BROSVIC et al., 1992; GORDON et al., 1992).

O efeito geral dos hormônios tireoideanos consiste em ativar a transcrição nuclear de um grande número de genes. Por conseguinte, um grande número de enzimas, proteínas estruturais, proteínas transportadoras, dentre outros componentes, são sintetizados em praticamente todas as células do organismo. O resultado consiste em aumento generalizado da atividade funcional do organismo como um todo (GUYTON e HALL, 2002). Em peixes teleósteos esses efeitos são similares, mesmos com as diferenças na estrutura da glândula tireóide em relação aos mamíferos. Além disso, apesar do fator liberador de TSH hipotalâmico não ser conhecido em peixes, os hormônios tireoideanos comprovadamente participam do desenvolvimento ontogenético e da reprodução (YAMANO, 2005).

Os matrinxãs, na ausência de Se na dieta, exibiram ainda uma coloração diferente daqueles que receberam ração suplementada com Se, o que pode ser decorrente das alterações nos hormônios tireoideanos que são responsáveis pela pigmentação da pele e pelos padrões de coloração nos peixes (HUANG et al., 1998; JESUS et al., 1998). Adicionalmente, o comportamento natatório típico para matrinxã foi alterado na ausência de Se na dieta e os peixes exibiram baixa velocidade de natação, movimentos aleatórios, sendo a natação em círculo abolida. POSTON e COMBS (1979) verificaram que a dieta deficiente desse mineral, oferecida por 26 semanas, causou letargia, perda de apetite, redução no tônus muscular e mortalidade em salmão-do-atlântico (*Salmo salar*),

havendo uma melhora no crescimento, quando a dieta foi suplementada com 0,15 mg de Se/kg de ração.

Os animais arraçoados com dieta sem selênio exibiram níveis mais baixos de atividade da GPx em relação àqueles que receberam dieta suplementada com 1,5 mg Se/kg. Níveis reduzidos de selênio, nas células e nos tecidos, têm como consequência atividade e/ou concentrações menores da enzima antioxidante GPx, resultando em maior suscetibilidade das células e do organismo aos danos oxidativos induzidos pelas espécies reativas ao oxigênio (SCIENZKA et al., 1997).

LORENTZEN et al. (1994), estudando o salmão-do-atlântico (*Salmo salar*), mostraram que tanto o Se proveniente do selenito de sódio como o Se proveniente da Se-metionina, em níveis de 1 ou 2 mg de Se/kg de dieta, se comportam igualmente na promoção do crescimento e na manutenção da atividade da GPx. BELL e COWEY (1989) avaliaram a disponibilidade de selênio de diferentes fontes como Se-metionina, Se-cistina, selenito de sódio e farinha de peixe para *Salmo salar* e obtiveram coeficientes de disponibilidade de 92%, 53%, 64% e 47%, respectivamente. Estes autores não encontraram diferença significativa na atividade da GPx do fígado e do plasma para estas diferentes fontes. Entretanto, a concentração de selênio no plasma foi maior quando utilizou a Se-metionina.

Em estudos, também com o salmão-do-atlântico, BELL e COWEY (1987) descreveram o selênio como o principal fator no mecanismo de proteção celular contra as injúrias oxidativas e mencionaram queda nos valores do hematócrito e aumento na taxa hemolítica quando os tecidos apresentavam diminuição nas concentrações de Se e vitamina E. Nesse sentido, foi observado em nosso trabalho um aumento nos níveis de hemoglobina nos animais que receberam dieta suplementada com 1,5 mg Se/kg. Os mesmos autores observaram,

ainda, áreas de vacuolização no tecido pancreático e diminuição da atividade da glutathiona peroxidase no fígado. Não encontraram diferença significativa entre os tratamentos para ganho de peso, mas os níveis de vitamina E e de Se no fígado e plasma foram significativamente menores na deficiência de selênio.

Segundo Poston et al. (1976), Bell et al. (1986) e Bell e Cowen (1987), o *S. salar*, quando alimentado com dieta deficiente em selênio, demonstrou um crescimento lento, uma baixa atividade da GPx, redução do hematócrito e ataxia. HILTON et al. (1980) estudaram os sintomas da deficiência de selênio em truta arco-íris, *O. mykiss*, e encontraram reduzida taxa de crescimento, decréscimo da eficiência alimentar e diminuição na atividade da GPx. Gatlin e Wilson (1984) observaram decréscimo no crescimento, baixa eficiência alimentar e reduzida atividade da GPx no bagre *Ictalurus punctatus*.

Paripatananont e Lovell (1997) administraram dietas purificadas a *I. punctatus* e observaram que a absorção de selênio a partir da Se-metionina foi de 91% e a partir do selenito de sódio foi de 63%. Wang e Lovell (1997) compararam a disponibilidade de Se, o ganho de peso, a atividade da GPx e a concentração do mineral no tecido em relação à fonte desse mineral (Se-metionina, da Se-levedura e do selenito de sódio) em *I. punctatus*. Os autores citados encontraram valores de disponibilidade de 336% para o Se-metionina e Se-levedura e 269% para o selenito de sódio. Já para a atividade da GPx, determinaram valores de 147 e 149%, respectivamente, para as fontes orgânicas e inorgânicas. Para a concentração de Se no fígado, encontraram valores de 197 e 184% e, para a concentração muscular, valores de 478 e 453%, respectivamente, para as fontes orgânicas e inorgânicas.

Bell e Cowey (1989) compararam a digestibilidade e a biodisponibilidade do selênio em dietas com selenito, Se-metionina e Se-cisteína em salmão-do-

atlântico e verificaram que a Se-metionina é mais digestível que as outras fontes de Se. Entretanto, a razão GPx:Se indicou que o selenito e a Se-cisteína são melhores fontes para a GPx plasmática que a Se-metionina.

O aumento significativo da atividade da GPx nos eritrócitos dos peixes do grupo 1,5 Se pode ser decorrente da maior expressão da enzima em virtude de uma maior disponibilidade de Se (ALLAN et al., 1999; ZHANG et al., 2000). Alguns estudos indicam que a suplementação com selênio pode aumentar o nível de expressão do gene da GPx (ALLAN et al., 1999; ZHANG et al., 2000). Em fígado de ratos, houve uma drástica redução nos níveis de mRNA da GPx-1 durante a deficiência de Se causada por dieta com aproximadamente 10% dos níveis de Se recomendados (SACHDEV e SUNDE, 2001).

WISE e TOMASSO (1993) mostraram que em *I. punctatus* alimentados com ração contendo 0,8 mg Se/kg (4 vezes o nível de Se recomendado para a espécie, de acordo com o NRC) houve um aumento significativo na atividade da GPx hepática em relação aos animais controle, alimentados com ração contendo 0,2 mg Se/kg. Além disso, os níveis de atividade da GPx hepática nos exemplares que tiveram suas dietas com níveis recomendados de Se (0,2 mg) foram similares àqueles encontrados nos animais com dieta livre de Se. Em truta arco-íris, a homeostase da GPx plasmática foi mantida com dietas contendo selênio em concentrações acima de 1,25 µg/g, tendo sido observada toxicidade na concentração de 13 µg/g de ração (HAMILTON, 2004). Outro fator que pode ter contribuído para o aumento da atividade da GPx nos peixes do grupo 1,5 Se foi o aumento dos níveis sanguíneos de GSH em relação ao controle. A glutathiona é reconhecida como substrato tanto para as GSH-transferases quanto para as GSH-peroxidases, enzimas que catalizam as reações de desintoxicação de compostos xenobióticos e da

antioxidação das ERO (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1989). A concentração tissular de GSH pode ser regulada pela dieta e pelo estado nutricional (VANNUCHI et al., 1997). Isso foi inicialmente demonstrado em estudos onde a concentração hepática de GSH era baixa durante períodos de jejum em ratos alimentados com dietas com baixos teores de proteína ou dietas deficientes em aminoácidos sulfurados. A concentração de GSH aumentou quando os animais foram realimentados ou quando receberam dietas suplementadas com aminoácidos sulfurosos.

Outro aspecto interessante na regulação da concentração tissular de GSH é a influência do estado nutricional nas enzimas de sua síntese. O estado nutricional pode influenciar as concentrações tissulares de GSH, afetando o mecanismo de captação da GSH extracelular para tecidos extra-hepáticos, via  $\gamma$ -glutamil transpeptidase ( $\gamma$ -GT), e o transporte plasmático de aminoácidos para dentro dos tecidos (BRAY e TAYLOR, 1993).

O selênio aumenta a disponibilidade de GSH, um dos mais abundantes antioxidantes, auxiliando a prevenção da peroxidação lipídica responsável por danos celulares (HSU e GUO, 2002; SARADA et al., 2002). Em ratos, foi demonstrado que a proteção do fígado e do rim, conferida pelo

selênio, resulta do aumento da capacidade antioxidante da célula, que é evidenciado pela elevação no conteúdo de GSH (OTHMAN e EL-MISSIRY, 1998).

A manutenção da concentração de GSH pelo selênio ainda não é um processo bem esclarecido. VIDAL et al (2005) sugerem que o selênio pode manter os níveis de GSH por indução de uma retroalimentação que aumente os níveis de equivalentes redutores como o NADPH ou a síntese de GSH.

O tratamento oral com selênio na concentração de 200  $\mu$ g/kg induziu, em ratos, um aumento significativo do conteúdo de tióis totais (-SH), concomitantemente à uma redução da peroxidação lipídica no plasma, fígado, rins e testículos (EL-DEMERDASH, 2004). De acordo com DIMITROV et al. (1987) apud EL-DEMERDASH (2004), o selênio é importante no metabolismo de aminoácidos sulfurosos, como a metionina e a cisteína, precursores da síntese de GSH. A biossíntese da glutatona é determinada principalmente pela concentração dos aminoácidos precursores e compete com a síntese protéica pelos aminoácidos disponíveis (ROEHRS et al., 2004). Em linhagens de células Hep G2 de hepatoma humano, 1  $\mu$ M de selenito de sódio na cultura tende a aumentar a concentração de GSH intracelular (HELMY et al., 2000).

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que a concentração de 1,5 mg de Se/kg de ração, proveniente do selenito de sódio, não foi tóxica após 60 dias de arraçoamento para alevinos de matrinxã, uma vez que não causou nenhum dos efeitos característicos de selenose descritos na literatura. Além disso, mostraram o efeito benéfico do selênio, melhorando o

crescimento, evitando o canibalismo, aumentando as defesas antioxidantes como a GPx e a GSH e os níveis de Hb. Dessa forma, suplementações da dieta constituem-se uma estratégia importante para a manutenção da saúde dos peixes em situações de cultivo, podendo ser o selênio usado como uma ferramenta útil por parte dos piscicultores.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Piscicultura Águas Claras (Mococa-SP) pela doação dos exemplares de matrinxãs, à Indústria

Supremais Produtos Bioquímicos Ltda., pela concessão do selenito de sódio e à CAPES, pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, I.; HAMID, T.; FATIMA, M.; CHAND, H.S.; JAIN, S.K.; ATHAR, M.; RAISUDDIN, S. Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1519, p. 37-48, 2000.
- ALLAN, C.B.; LACOURCIERE, G.M.; STADTMAN, T. Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 9, p. 1-16, 1999.
- ARTEEL, G.E.; SIES, H. The biochemistry of selenium and glutathione system. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, v. 10, p. 153-158, 2001.
- ARTHUR, J.R. Selenium biochemistry and function. In: FISCHER, P.W.F.; L'ABBÉ, M.R.; COCKELL, K.A.; GIBSON, R.S. **Trace elements in man and animals**. Canada: Research Press, 1997. p. 1-5.
- BARAS, E.; JOBLING, M. Dynamics of intracohort cannibalism in culture fish. **Aquaculture Res.**, v. 33, p. 461- 479, 2002.
- BELL, J. G.; COWEY, C. B. Digestibility and bioavailability of dietary selenium from fishmeal, selenite, selenomethionine and selenocystine in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 81, p. 61-68, 1989.
- BELL, J. G.; COWEY, C. B. Some effects of selenium deficiency on enzyme activities and indices of tissue peroxidation in Atlantic salmon parr (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 65, p. 43-54, 1987.
- BELL, J.G.; PIRIE, B.J.; ADRON, J.W.; COWEY, C.B. Some effects of selenium deficiency on glutathione peroxidase (E.C.1.11.1.9) activity and tissue pathology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Br. J. Nutr.**, v. 55, p. 305-311, 1986.
- BERRY, M.J.; BANU, L.; CHEN, Y.; MANDEL, S.J.; KIEFFER, J.D.; HARNEY, J.W.; LARSEN, P.R. Recognition of UGA as a selenocysteine codon in Type I deiodinase requires sequences in the 3' untranslated region. **Nature**, v. 353, p. 273-276, 1991.
- BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B.M. Improved method for the determination of blood glutathione. **J. Lab. Clin. Méd.**, v. 61, p. 882-888, 1963.
- BRAY, T.M. Dietary antioxidants and assessment of oxidative stress. **Nutrition**, v. 16, p. 578-581, 2000.
- BRAY, T.M.; TAYLOR, C.G. Tissue glutathione, nutrition and oxidative stress. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 71, p. 746-751, 1993.
- BROSVIC, G.M.; DOTY, R.L.; ROWE, M.M.; HARRON, A.; KOLODIY, N. Influences of hypothyroidism on the taste detection performance of rats – a signal detection analysis. **Behav. Neurosci.**, v. 106, p. 992-998, 1992.
- BURGES, P.; BAILEY, M.; EXELL, A. **A-Z of tropical fish: diseases e health problems**. New York: Howell Book House, 1998. 392p.
- COMBS, G.F.; COMBS, S.B. **The role of selenium in nutrition**. New York: Academic Press, 1986. 532 p.
- DeFOREST, D.K.; BRIX, K.V.; ADAMS, W.J. Critical review of proposed residue-based selenium toxicity thresholds for freshwater fish. **Hum. Ecol. Risk Ass.**, v. 5, p. 1187-1228, 1999.
- DENICOFF, K.D.; JOFFE, R.T.; LAKSHMANAN, M.C.; ROBBINS, J.; RUBINOW, D.R. Neuropsychiatric

manifestations of altered thyroid state. **Am. J. Psychiatry**, v. 147, p. 94-99, 1990.

De PEDRO, N.; GANCEDO, B.; ALONSO-GOMEZ, A.L.; DELGADO, M.J.; ALONSO-BEDATE, M. CRF effect on thyroid function is not mediated by feeding behavior in goldfish. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 51, p. 885-890, 1995.

DODMAN, N.H.; MERTENS, P.A.; ARONSON, L.P. Aggression in two hypothyroid dogs, behavior case of the month. **J. Am. Vet. Méd. Assoc.**, v. 207, p. 1168-1171, 1995.

DRABKIN, D.L. The standardization of hemoglobin measurement. **Am. J. Med. Sci.**, v. 215, p. 110-111, 1948.

EL-DEMERDASH, F.M. Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. **J. Trace Med. Biol.**, v. 18, p. 113-121, 2004.

FIGUEIREDO, G.M.; SENHORIN, J.A. Influência de biocidas no desenvolvimento de carpa comum (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) e sobre o zooplâncton, durante o período de larvicultura. **Bol. Tec. Cepta.**, v. 31, p. 5-21, 1990.

FOSTER, L.H.; SUMAR, S. Selenium in the environment, food and health. **Nutrit. Food Sci.**, v. 5, p. 17-23, 1995.

GANTHER, H.E. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase. **Carcinogenesis**, v. 20, p. 1657-1666, 1999.

GATLIN, D. M.; WILSON, R. P. Dietary selenium requirement of fingerling catfish. **J. Nutr.**, v. 114, p. 627-633, 1984.

GORDON, B.H.; WONG, G.Y.; LIU, J.; RIVLIN, R.S. Abnormal taste preference for saccharin in hypothyroid rats. **Physiol. Behav.**, v. 52, p. 385-388, 1992.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 973 p.

HAFEMAN, D.G.; SUNDE, R.A.; HOEKSTRA, W.G. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. **J. Nutr.**, v. 104, p. 580-587, 1974.

HALLIWEL, B. Oxidative stress nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutrition antioxidant intake in humans. **Free. Rad. Res.**, v. 25, p. 25-57, 1996.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 2. ed. Oxford: Clarendon Press, 1989. 469 p.

HAMILTON, S.J. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. **Sci. Total Environ.**, v. 326, p. 1-31, 2004.

HELMY, M.H.; ISMAIL, S.S.; FAYED, H.; EL-BASSIOUNI, E.A. Effect of selenium supplementation on the activities of glutathione metabolizing enzymes in human hepatoma Hep G2 cell line. **Toxicol.**, v. 144, p. 57-61, 2000.

HILTON, J.W.; HODSON, P.V.; SLINGER, S.J. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **J. Nutr.**, v. 110, p. 2527-2535, 1980.

HSU, P.C.; GUO, Y.L. Antioxidant nutrients and lead toxicity. **Toxicol.**, v. 180, p. 33-44, 2002.

HUANG, L.; MIWA, S.; BENGTON, D.A.; SPECKER, J.L. Effect of triiodothyronine on stomach formation and pigmentation in larval striped bass (*Morene saxatilis*). **J. Exp. Zool.**, v. 280, p. 231-237, 1998.

HUGHES, D.A. Dietary antioxidants and human immune function. **Nutrit. Bull.**, v. 25, p. 35-41, 2000.

JESUS, E. G.; TOLEDO, J.D.; SIMPAS, M.S. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 112, p. 10-16, 1998.

KESTEMONT, P.; BARAS, E. Environmental factors and feed intake in fish. In: HOULIHAN, D.F.; BOUJARD, T; JOBLING,

M. **Food intake in fish**. Oxford: Blackwell Science, 2001. p. 131-156.

KIM, K.W.K.; WANG, X.; CHOI, S.M.; PARK, G.J.; KOO, J.W.; BAI, S.C. No synergistic effects by the dietary supplementation of ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopheryl acetate and selenium on the growth performance and challenge test of *Edwardsiella tarda* in fingerling Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture Res.**, v. 34, p. 1053-1058, 2003.

LATHA, M.; PARI, L. Effect of an aqueous extract of *Scoparia dulcis* on blood glucose, plasma insulin and some polyol pathway enzymes in experimental rat diabetes. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 37, p. 577-586, 2004.

LE MOULLAC, G.; HAFFNER, P. Environmental factors affecting immune responses in crustacea. **Aquaculture**, v. 191, p. 121-131, 2000.

LEUNG, F.Y. Trace elements that act as antioxidants in parenteral micronutrition. **J. Nutr. Biochem.**, v. 9, p. 304-307, 1998.

LIEBLER, D.C.; REED, D.J. Free-radical defense and repair mechanisms. In: WALLACE, K.B. (Ed.). **Free Radical Toxicology**. USA: Taylor e Francis, 1997. p. 141-171.

LIVINGSTONE, D.R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 42, p. 656-666, 2001.

LORENTZEN, M.; MAAGE, A.; JULSHAMN, K. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 121, p. 359-367, 1994.

McDONALD, P.; EDWARDS R.A.; GREENHALGH, J.F.D. **Animal nutrition**. 6. ed. Pearson:Edinburgh, 2002. 693 p.

MacKENZIE, D.S.; VANPUTTE, C.M.; LEINER, K.A. Nutrient regulation of endocrine function in fish. **Aquaculture**, v. 161, p. 3-25, 1998.

MAIER, K.J.; KNIGHT, A.W. Ecotoxicology of selenium in freshwater systems. **Rev. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 134, p. 31-48, 1994.

MARQUES, N.R.; HAYASHIL, C.; FURUYA, W.M.; SOARES, C.M. Influência da densidade de estocagem no cultivo de alevinos de matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em condições experimentais. **Maringá**, v. 26, p. 55-59, 2004.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academy Press, 1993. 114 p.

NORDBERG, J.; ARNER, E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radic. Biol. Med.**, v.31, p. 1287-1312, 2001.

OTHMAN, A.I.; EL-MISSIRY, M.A. Role of selenium against lead toxicity in male rats. **J. Biochem. Mol. Toxicol.**, v. 12, p. 345-349, 1998.

PARIPATANANONT, T.; LOVELL, R. T. Comparative net absorption of chelated and inorganic trace minerals in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) diets. **J. World Aquacult. Soc.**, v. 28, p. 62-67, 1997.

PATTERSON, B.H.; LEVANDER, O.A. Naturally occurring selenium compounds in cancer chemoprevention trials: a workshop summary. **Cancer Epidem. Biomar. Prev.**, v. 6, p. 63-69, 1997.

POSTON, H.A.; COMBS Jr, G.F.; LEIBOVITZ, L. Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*): Gross, histological and biochemical deficiency signs. **J. Nutr.**, v. 106, p. 892-904, 1976.

POSTON, H. A.; COMBS, G.F. Interrelationships between requirements for dietary selenium, vitamin E, and L-ascorbic acid by Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed a semipurified diet. **Fish Health News**, v. 4, p. 6-7, 1979.

REILLY, C. Selenium: a new entrant into the functional food arena. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 9, p. 114-118, 1998.

- ROEHR, R.; GUECHEVA, T.N.; SAFFI, J.; HENRIQUES, J.A.P. Alvos redox-sensíveis nas cascatas de sinalização. In: SALVADOR, M.; HENRIQUES, J.A.P. **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. Canoas: ULBRA, 2004. p. 161-184.
- ROTRUCK, J.T.; POPE, A.L.; GANTHER, H.E.; SWANSON, A.B.; HAFEMAN, D.G.; HOEKSTRA, W.G. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. **Science**, v. 179, p. 588-90, 1973.
- SACHDEV, S.W.; SUNDE, R.A. Selenium regulation of transcript abundance and translational efficiency of glutathione peroxidase-1 and -4 in rat liver. **Biochem. J.**, v. 357, p. 851-858, 2001.
- SALLUM, W.B.; BERTECHINI, A.G.; CANTELMO, O.A.; PEZZATO, L.E.; LOGATO, P.R.V. Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo de ingredientes de ração para o matrinhã (*Brycon cephalus*, GUNTHER 1869) (Teleostei, Characidae). **Cienc. Agrotec.**, v. 26, p. 174-181, 2002.
- SARADA, S.K.; SAIRAM, M.; DIPTI, P.; ANJU, B.; PAULINE, T.; KAIN, A.K.; SHARMA, S.K.; BAGAWAT, S.; ILAVAZHAGAN, G.; KUMAR, D. Role of selenium in reducing hypoxia-induced oxidative stress: an in vivo study. **Biomed. Pharmacother.**, v. 56, p. 173-178, 2002.
- SCIESZKA, M.; DANICH, A.; MACHALSKI, M.; DROZDZ, M. Plasma selenium concentration in patients with stomach and colon cancer in the Upper Silesia. **Neoplasma**, v. 44, p. 395-397, 1997.
- SHEPHERD, C.J.; BROMAGE, N.R. **Intensive farming**. UK: BSP Professional Books, 1995. 400 p.
- SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, v. 25, p. 1058-1071, 1986.
- SILVA, A.M.M.; NOVELLI, E.L.B.; FASCINELLI, M.L.; ALMEIDA, J.A. Impact of an environmentally realistic intake of water contaminants and superoxide formation on tissues of rats. **Environ. Poll.**, v. 105, p. 243-249, 1999.
- SILVA, H.C.; GUILHERME MEDINA, H.; FANTA, E.; BACILA, M. Sublethal effects of the organophosphate Folidol 600 (methyl parathion) on *Callichthys callichthys* (Pisces: Teleostei). **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 105C, p. 197-201, 1993.
- SMITH, C.; REAY, P. Cannibalism in teleost fishes. **Rev. Fish Biol. Fish.**, v. 1, p. 41-64, 1991.
- STOREY, K. B. Oxidative stress: animal adaptation in nature. **Braz. J. Med. Res.**, v. 29, p. 1715-1733, 1996.
- USDOI - US DEPARTMENT OF THE INTERIOR. **Guidelines for interpretation of the biological effects of selected constituents in biota, water, and sediment. (National irrigation water quality program information report n. 3)**. Denver: CO, 1998. 198 p.
- VAN DERROOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, v. 13, p. 57-149, 2003.
- VANNUCHI, H.; JORDAO-JUNIOR, A.A.; IGLESIAS, A.C.; MORANDI, M.V.; CHIARELLO, P.G. Effect of different dietary levels of vitamin E on lipid peroxidation in rats. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 47, p. 34-37, 1997.
- VIDAL, D.; BAY, S.M.; SCHLENK, D. Effects of dietary selenomethionine on larval rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 49, p. 71-75, 2005.
- WANG, C.; LOVELL, R. T. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v. 152, p. 223-234, 1997.
- WATANABE, T.; KIRON, V.; DATOH, S. Trace minerals in fish nutrition. **Aquaculture**, v. 151, p. 185-207, 1997.

WDZIECZAK, J.; ZALESNA, G.; WUJEC, E.; PERES, G. Comparative studies on superoxide dismutase, catalase and peroxidase levels in erythrocytes and livers of different freshwater and marine fish species. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 73B, p. 361-365, 1982.

WILHELM-FILHO, D.; TORRES, M.A.; ZANIBONI-FILHO, E.; PEDROSA, R.C. Effect of different oxygen tensions on weight gain, feed conversion, and antioxidant status in piapara, *Leporinus elongatus* (Valenciennes, 1847). **Aquaculture**, v. 244, p. 349-357, 2005.

WILHELM-FILHO, D. Fish antioxidant defenses. A - comparative approach. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 29, p. 1735-1742, 1996.

WISE, D. J.; TOMASSO, J. R. Effects of dietary selenium and vitamin E on red blood cell peroxidation, glutathione peroxidase activity, and macrophage superoxide anion production in channel catfish. **J. Aquatic Ani. Health**, v. 5, p. 177-182, 1993.

YAMANO, K. The role of thyroid hormone in fish development with reference to aquaculture. **JARQ**, v. 39, p. 161-168, 2005.

ZHANG, Z.; MIYATAKE, S.; SAIKI, M.; ASAHI, M.; YUKAWA, H.; TODA, H.; KIKUCHI, H.; YOSHIMURA, S.I.; HASHIMOTO, N. Selenium and glutathione peroxidase mRNA in rat glioma. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 73, p. 67-76, 2000.

ZUBERBUEHLER, C.A.; MESSIKOMMER, R.E.; ARNOLD, M.M.; FORRER, R.S.; WENK, C. Effects of selenium depletion and selenium repletion by choice feeding on selenium status of young and old laying hens. **Physiol. Behav.**, v. 87, p. 430-440, 2006.