



MARTHA JANETH PRIETO GUEVARA

METABOLISMO ENERGÉTICO EM HÍBRIDO
DE *Pseudoplatystoma reticulatum* x
Leiarius marmoratus

LAVRAS - MG

2014

MARTHA JANETH PRIETO GUEVARA

METABOLISMO ENERGÉTICO EM HÍBRIDO DE
Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de não ruminantes, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dra. Priscila Vieira e Rosa

Coorientador

Dr. Daniel Okamura

LAVRAS - MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Prieto Guevara, Martha Janeth.

Metabolismo energético em híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* X *Leiarius marmoratus* / Martha Janeth Prieto Guevara.

– Lavras : UFLA, 2014.

186 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Priscila Vieira e Rosa.

Bibliografia.

1. Peixes. 2. Histologia hepática. 3. Glicogênio. 4. Glicose. 5. Ácidos graxos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 639.37

MARTHA JANETH PRIETO GUEVARA

METABOLISMO ENERGÉTICO EM HÍBRIDO DE
Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de não ruminantes, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 03 de fevereiro de 2014.

Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas	UFLA
Dr. Daniel Okamura	UFLA
Dr. Dalton José Carneiro	UNESP
Dra. Paula Adriane Perez Ribeiro	UFMG

Dra. Priscila Vieira e Rosa
Orientadora

LAVRAS - MG

2014

A Deus por todas suas bênçãos na minha vida e por me permitir alcançar em família mais um sonho. A Yamid meu esposo maravilhoso, total parceiro neste projeto de vida, por toda a dedicação, ajuda e incentivo constante. Aos meus filhos Jorge Enrique e Gabriella pela alegria diária recebida e pelo tempo que os privei da minha companhia para fazer este trabalho. Aos meus pais Maria Helena e Enrique pelo apoio incondicional em todos os aspectos, pelo incentivo, pelo carinho e paciência com que aguardam nosso regresso. A minha irmã Lena pelo apoio incondicional se apropriando com excelência dos meus assuntos. A meus sogros pelo apoio e paciência. A minha mãe pelos ensinamentos desde criança.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS, por iluminar e estar sempre comigo durante todos os dias de minha vida.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade concedida para a realização deste curso.

À Universidade de Córdoba, pela oportunidade concedida e apoio financeiro para a realização deste projeto.

Ao Ministério das Relações Exteriores e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo apoio via programa Estudante Convênio de Pós-Graduação – PEC-PG.

À Fundação para o futuro de Colômbia - COLFUTURO pelo apoio financeiro para realizar os meus estudos fora da Colômbia.

À Profa. Dra. Priscila Vieira e Rosa, pela orientação e grande amizade, a minha profunda gratidão.

Ao pesquisador Dr. Daniel Okamura, pela co-orientação e ajuda no experimento e análises dos dados.

Aos alunos e pesquisadores do Laboratório de Fisiologia do Parasitismo da UFLA, em especial ao Prof. Dr. Mário Lúcio Resende, Pedro Ribeiro e Deila Magna dos Santos por possibilitar a leitura das análises, pela prontidão e disposição de todas as horas.

Ao Prof. Dr. Mário César Guerreiro do Departamento de Química- DQI, pela ajuda e acompanhamento durante a realização das análises cromatográficas; em especial à Dra. Lidiany Mendonça Zacaroni técnica administrativa do DQI, pelo aprendizado, ajuda, paciência e dedicação nessa fase.

Ao Prof. Dr. Tadayuki Yanagi Júnior, do Departamento de Engenharia – DEG, pela colaboração ao disponibilizar a sala de pós-graduação durante meus estudos; em especial à Secretária Greice Oliveira do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Sistemas pela disposição.

Aos colegas do Núcleo de Estudos em Aquicultura, Tamira Maria Orlando, Raquel Pereira, Leandro Santos Costa, Diego Vicente, Natália Murad, Edgar Rodrigues,

Aline Vilela e Rodrigo Santana, pela colaboração; em especial aos amigos Angélica Alves e Felipe Guedes de Araujo pela disposição, dicas e apoio nas análises.

Aos funcionários da Estação de Piscicultura da UFLA, Eleci Pereira e José Roberto pela contribuição, amizade e pela preciosa colaboração em campo.

Aos funcionários do Laboratório de Pesquisa Animal/Zootecnia, Leandro Antônio Carvalho, Márcio Nogueira, José Virgílio e Eliana dos Santos.

Ao funcionário Carlos Henrique de Souza da Secretaria de Pós-graduação; a Joelma Xavier dos Santos e Keila Cristina de Oliveira, da Secretaria do DZO; pela prontidão e disposição em todas as horas.

Ao meu amigo o Mestre Renan Rosa Paulino pelo longo tempo de trabalho conjunto pela colaboração e companheirismo antes e durante o experimento, e na fase de laboratório, pelos momentos de descontração na execução do projeto.

À amiga Mayara Bertoldo pela valiosa ajuda com a língua portuguesa, e pelo carinho e dedicação.

A todos os colegas de pós-graduação, pela convivência, a eles o meu carinho e gratidão, em especial, Felipe Guedes de Araújo, Jéssica Santana dos Reis, Lívia Geraldi e Priscila Barros, pela disposição e dicas nas análises; à colega e amiga Isabel Lopez pela ajuda, apoio e o grande carinho dispensado a mim e aos meus filhos nos diferentes momentos deste trabalho. Aos amigos Chary – Manuel pela amizade, apoio e convívio.

Ao meu esposo Yamid Fabián pelo amor, incentivo, companheirismo, apoio, ajuda constante, parceria e dedicação em cada fase do trabalho, e por ficar ao meu lado nos momentos difíceis, nos momentos em que chorei e nos momentos em que perdi a paciência, e pelos momentos de alegria, que fez questão de dividir comigo, e pelos momentos que com muita esperança, pensou junto comigo no nosso futuro.

Aos meus pais e irmãs por acreditarem e me apoiarem com entusiasmo neste projeto e nas minhas decisões. À minha mãe Maria Helena que me ajudou a realizar paralelamente outros objetivos. À minha irmã Lena pelo carinho e apoio constante durante estes quatro anos. Aos meus filhos Jorge Enrique e Gabriella pelos momentos de alegria, paciência, tolerância, colaboração e aprendizado. À minha tia Nazareth por acreditar em mim e me ajudar com prontidão. Aos meus sogros por sempre estarem dispostos, pelo carinho e ajuda.

Ao Prof. Dr. Luis David Solis Murgas, pela afetuosa acolhida na nossa chegada, pela ajuda e disposição em todo momento, e pelo carinho prodigado a minha família em Lavras durante o ano 2010.

Aos meus amigos e padrinhos Luciana – Oseias, Olga – Guilherme, Juliana – Marcos, Ana Paula – Cezar e seus filhos por nos acolher com tanto carinho, e pelos momentos de alegria, amizade e convívio.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada a todos!

RESUMO GERAL

O presente estudo teve como objetivo avaliar a influência dos níveis de amido e diferentes fontes de óleos nas dietas sobre o metabolismo energético em híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*. O experimento foi realizado no laboratório de metabolismo de peixes da Universidade Federal de Lavras. Foram utilizados 520 juvenis do híbrido, com peso médio de 82,87g, mantidos em caixas de 100L, em sistema de recirculação, a uma temperatura média de $27,8 \pm 0,3^\circ\text{C}$. Delineamento experimental inteiramente ao acaso com oito tratamentos em esquema fatorial 2×4 (dois níveis de amido de milho 5 e 25% e quatro fontes de óleo linhaça, oliva, milho e peixe). Cada tratamento foi fornecido a 5 caixas, totalizando 40 parcelas. Realizou-se uma coleta nos 60 dias de experimento e foram determinadas as concentrações de proteína, glicose e de triglicerídeos no soro, músculo e fígado; o perfil de lipoproteínas séricas e perfil de ácidos graxos no fígado e músculo, a magnitude de vacuolização e porcentagem de deposição de lipídeos e glicogênio, e o índice hepatossomático (IHS). As concentrações de proteína e triglicerídeos no fígado apresentaram efeito independente dos níveis de amido e fontes de óleo ($P < 0,05$). As concentrações de proteína no músculo, glicose e triglicerídeos no soro apresentaram efeito da interação significativa ($P < 0,05$) entre os níveis de amido e as fontes de óleo na dieta ($P < 0,05$). A glicose muscular foi afetada pelas fontes de óleo na dieta ($P < 0,05$). O IHS foi maior com 25% de amido ($P < 0,05$). A interação entre os diferentes níveis de amido e fontes de óleo na dieta interferiram na deposição de lipídeos e glicogênio, assim como na estrutura do parênquima hepático ($p < 0,05$). A concentração de triglicerídeos, HDL, LDL e VLDL no soro foi influenciada pela interação entre os níveis de amido e as fontes de óleo na dieta ($P < 0,05$). A interação entre níveis de amido e fontes de óleo teve efeito sobre o total de SFA, MUFA, PUFA, HUFA, e na relação n3/n6 no fígado e músculo ($P < 0,05$). A composição de ácidos graxos no fígado e no músculo foi significativamente afetada pelas dietas ($P < 0,05$). Conclui-se que níveis de amido, fontes de óleo e sua interação, bem como a relação n3/n6 afetam a glicose sérica, o metabolismo energético do híbrido, o perfil das lipoproteínas séricas e a proporção entre n3/n6 da dieta alteram a histologia hepática. O perfil de ácidos graxos e a relação n3/n6 da dieta não se refletiram na sua totalidade no perfil do fígado e músculo do híbrido, sendo que o DHA foi preservado no músculo.

Palavras-chave: Ácidos graxos. Histologia hepática. Glicogênio. Glicose. Triglicerídeos. Perfil lipoproteico. Perfil lipídico. Peixes.

GENERAL ABSTRACT

The present study aimed at evaluating the influence of the levels of amide and different sources of oils in diets over the energetic metabolism in *Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus* hybrid. The experiment was conducted in the fish metabolism laboratory of the Universidade Federal de Lavras. We used 520 hybrid juveniles, with an average weight of 82.87 g, maintained in boxes of 100 L, in a circulation system, at an average temperature of $27.8 \pm 0.3^\circ\text{C}$. The experimental design was completely randomized with eight treatments in a 2x4 factorial scheme (two levels of maize amid – 5 and 25% - and four oil sources – linseed, olive, maize and fish). Each treatment was provided to 5 boxes, totalizing 40 plots. We collected once in 60 experimental days and determined the concentrations of protein, glucose and triglycerides in serum, muscle and liver; the serum lipoprotein profile and fatty acid profile in the muscle and liver, the magnitude of vacuolation and percentage of lipid and glycogen deposition, and the hepatossomatic index (HIS). The protein and triglyceride concentrations in the liver presented effect independent on the levels of amide and oil sources ($P < 0.05$). The protein concentrations in the muscle and amide and triglyceride concentrations in the serum presented a significant interaction effect ($P < 0.05$) between the levels of amide and the oil sources in the diet. The muscular glucose was affected by the sources of oil in the diet ($P < 0.05$). The HIS was higher with 25% of amide ($P < 0.05$). The interaction between the different amide and oil source levels in the diet interfered on lipid and glycogen deposition, as well as on the structure of the hepatic parenchyma ($P < 0.05$). The concentration of triglycerides, HDL, LDL and VLDL in the serum were influenced by the interaction between the levels of amide and the sources of oil in the diet ($P < 0.05$). The interaction between the levels of amide and the oil sources affected the total number of SFA, MUFA, PUFA, HUFA, and the n3/n6 relation in the liver and muscle ($P < 0.05$). The composition of fatty acids in the liver and muscle was significantly affected by the diets ($P < 0.05$). We conclude that the levels of amide, the oil sources and the interaction between both, as well as the n3/n6 relation affected serum glucose, the energetic metabolism of the hybrid, serum lipoprotein profile, and the proportion between n3/n6 altered hepatic histology. The fatty acid profile and the n3/n6 relation in the diet did not reflect, in its totality, in the hybrid's liver and muscle profile, being that the DHA was preserved in the muscle.

Keywords: Fatty acids. Hepatic histology. Glycogen. Glucose. Triglycerides. Lipoprotein profile. Lipid profile. Fish.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

- Figura 1 Ilustração do *Pseudoplatystoma reticulatum* 17
- Figura 2 *Leiarius marmoratus* 17
- Figura 3 Híbrido ♀ *Pseudoplatystoma reticulatum* x ♂ *Leiarius marmoratus* 18
- Figura 4 Vias de biossíntese de C20 e C22 HUFA através de precursores C18 n-3, C18 n-6 e C18 n-9. Δ5, Δ6, Δ6 *, Δ9, Δ12, Δ15, dessaturases de ácidos graxos; alonga, alongases de ácidos graxos; encurta, encurtamento de cadeia 24

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

- Figura 1 Parênquima hepático do híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* (40x). A. Parênquima hepático uniforme com presença de escassas gotículas lipídicas (Sudam III). B. Presença de múltiplas gotículas lipídicas laranja (Sudam III). C. Depósitos de glicogênio, zonas dentro das células com sombras rosa intenso (PAS positiva). D. Parênquima hepático com escassos depósitos de glicogênio no citoplasma (PAS).1 88
- Figura 2. Parênquima hepático do híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* (40x) (H&E). A. Estrutura histológica considerada para ser normal sem vacuolização; B. Hepatócitos de forma regular com núcleos grandes e alguns vacúolos no citoplasma que não perturbam o tamanho celular; C. Hepatócitos contêm um conteúdo claro, opticamente vazio formando espaços intracitoplasmáticos microvesiculares, vacúolos numerosos e de diversos tamanhos; D. Os hepatócitos são preenchidos com conteúdo claro, opticamente vazio, que puxa o núcleo na periferia da célula e dá uma aparência macrovesicular.2 89

LISTA DE TABELAS

PRIMEIRA PARTE

Tabela 1	Perfil de ácidos graxos de cadeia longa de alguns óleos de interesse (valores em %)	29
----------	---	----

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1

Tabela 1	Formulação das dietas experimentais.	75
Tabela 2	Composição proximal das dietas experimentais em % de matéria seca.	76
Tabela 3	Composição de lipídeo e de ácidos graxos (% de ácidos graxos totais) das dietas experimentais ^a .	77
Tabela 4	Deposição de proteína no soro, fígado e músculo do híbrido de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i> alimentados com diferentes fontes energéticas (média ± EP, n=5) ^a .	80
Tabela 5	Concentração de glicose no soro, fígado e músculo do híbrido de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i> alimentados com diferentes fontes energéticas (média ± EP, n=5) ^a .	83
Tabela 6	Concentração de triglicerídeos no soro, fígado e músculo do híbrido de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i> alimentados com diferentes fontes energéticas (média ± EP, n=5) ^a .	85

Tabela 7	Índice Hepatosomático (IHS) do híbrido de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i> alimentados com diferentes fontes energéticas (média ± EP, n=5) ^a	86
Tabela 8	Histologia hepática do híbrido de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i> alimentados com diferentes fontes energéticas (média ± EP, n=5) ^{a9}	87

ARTIGO 2

Tabela 1	Formulação das dietas experimentais.....	117
Tabela 2	Composição proximal das dietas experimentais em % de matéria seca 11.....	118
Tabela 3	Composição de lipídeo e de ácidos graxos (% de ácidos graxos totais) das dietas experimentais s ^a	118
Tabela 4	Parâmetros sanguíneos: Triglicerídeos (TAG), Colesterol (COL), HDL, LDL, VLDL do híbrido de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i> alimentados com diferentes fontes energéticas (média ± EP, n=5) [*]	122
Tabela 5	Perfil lipídico do fígado do híbrido de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i> alimentados com com diferentes fontes energéticas (média ± EP, n=5) [*]	127
Tabela 6	Perfil lipídico do músculo do híbrido de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i> alimentados com diferentes fontes energéticas (média ± EP, n=5) [*]	132

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AG	Ácidos graxos
AGE	Ácidos graxos essenciais
ARA	Ácido araquidônico
CHO	Carboidrato
DHA	Ácido docosaenoico
EPA	Ácido eicosapentaenoico
GLUT	Transportador de glicose sódio/independente
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
HUFA	Ácidos graxos altamente insaturados
IHS	Índice hepatossomático
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
MUFA	Ácidos graxos monoinsaturados
NS	Não significativo
OL	Óleo de linhaça
OM	Óleo de milho
OO	Óleo de oliva
OP	Óleo de peixe
OV	Óleo vegetal
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptors
PUFA	Ácidos graxos poli-insaturados
SFA	Ácidos graxos saturados
SREBP	Sterol regulatory element binding proteins
TAG	Triacilglicerol ou Triglicerídeos
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
ω	Ômega

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO 15
2	REFERENCIAL TEÓRICO 17
2.1	Cachandiá (<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i>)... 17
2.2	Carboidratos na nutrição e metabolismo de peixes 19
2.3	Lipídeos na nutrição e metabolismo de peixes 22
2.4	Importância fisiológica dos ácidos graxos polinsaturados 26
2.5	Fontes de ácidos graxos em dietas para peixes 28
2.6	Parâmetros séricos na nutrição de peixes 30
2.7	O fígado e sua importância na nutrição de peixes 36
2.8	O perfil lipídico e valor nutricional dos peixes 44
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS 52
	REFERÊNCIAS 53
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS 69
	ARTIGO 1 Parâmetros metabólicos e histologia hepática do híbrido de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i> alimentados com diferentes fontes energéticas 69
	ARTIGO 2 Perfis das lipoproteínas séricas e de ácidos graxos em híbrido de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i> alimentados com diferentes fontes energéticas 110
	ANEXOS 170

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O cachandiá é originário do cruzamento entre a cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e o jandiá do norte (*Leiarius marmoratus*), espécies carnívora e onívora, respectivamente. Por se tratar de um novo híbrido ultimamente cultivado em pisciculturas, que em condições de produção apresenta melhor desempenho em relação aos puros, tem importância para a piscicultura brasileira. Precisa ser mais bem conhecida em aspectos básicos, com ênfase nas exigências nutricionais e adaptação aos altos níveis de carboidratos para seu adequado manejo e cultivo.

Ao ter em foco a urgência de reduzir a utilização de farinha e óleo de peixe, na última década, um grande esforço foi direcionado para o desenvolvimento de soluções sustentáveis na formulação de dietas para peixes, e diferentes estratégias vêm sendo testadas. São exemplos dessas estratégias, a utilização de óleos de origem vegetal em substituição ao óleo de peixe, o uso de fontes alternativas de proteínas, aumento na inclusão de carboidratos e a utilização de rações de elevada densidade energética.

Em presença de uma proporção adequada de energia não protéica na dieta, advinda de carboidratos ou lipídeos, e dependendo do hábito alimentar da espécie, espera-se que os aminoácidos obtidos a partir das proteínas dietéticas sejam desviados das rotas de gliconeogênese e oxidação e sejam utilizados para síntese de tecido muscular, visto que a proteína é um nutriente que eleva o custo da dieta.

Ao contrário do que geralmente se observa para os vertebrados terrestres, para a maioria das espécies de peixes os carboidratos não representam a fonte energética predominante na dieta. No entanto, este nutriente é utilizado com relativo sucesso, sobretudo no cultivo de espécies onívoras, ao ser considerado uma excelente fonte de energia e carbono. Além do baixo custo, com propriedades benéficas para a agregação e estabilidade dos pellets. Todavia, seu uso na nutrição de espécies carnívoras requer maior cautela em função das limitações inerentes ao aproveitamento deste nutriente, e

também em função do número escasso de informações sobre os efeitos dos carboidratos na fisiologia desses animais.

A redução do uso de farinha de peixe (FP) nas formulações de dieta tem como principal desvantagem a modificação da concentração final de ácidos graxos altamente insaturados da série n3 (HUFA) nos filés que serão comercializados. O pescado de uma forma geral é considerado a principal fonte dos ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosaexaenóico (DHA) para os humanos, portanto, existe uma grande preocupação em assegurar que os peixes cultivados cheguem aos consumidores com o valor nutricional esperado.

Além disso, é geralmente aceito que, se as exigências de ácidos graxos essenciais forem cumpridas, uma parcela significativa de óleo de peixe (OP) da dieta pode ser substituída por fontes alternativas de lipídeos, sem afetar significativamente o crescimento. No entanto, a ausência de efeitos negativos em parâmetros como desempenho e sobrevivência não são suficientes para inferir sobre a real condição fisiológica, uma vez que alguns ácidos graxos de cadeia longa poli-insaturados podem atuar como sinalizadores celulares, alterando o metabolismo. A proporção elevada de ácidos graxos n6 e n9 em detrimento dos n3, característica da maioria das fontes de óleo vegetal, é apontada como fonte de alteração metabólica em mamíferos e em peixes.

A maioria dos estudos publicados até o momento aponta para a viabilidade de uma substituição total ou parcial do óleo de peixe por óleos de origem vegetal; assim como a inclusão de maiores níveis de carboidratos para carnívoros. Entretanto, vários parâmetros relevantes para o metabolismo e fisiologia dos peixes ainda precisam ser investigados. Ressalvo que a possibilidade de interações sinérgicas entre estes ingredientes não foi considerada.

Tendo em vista uma melhor compreensão de como este tipo de formulação afeta o metabolismo dos peixes e sua qualidade nutricional, o presente trabalho apresenta como objetivo avaliar o efeito da inclusão de amido e fontes de óleo sobre o metabolismo em híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*. Com isso pretende-se alcançar um consenso entre a produção, o bem-estar e a qualidade final dos peixes comercializados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cachandiá (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*)

O “cachandiá” (Figura 1) é um híbrido do cruzamento entre a fêmea do cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) (Figura 1) e o macho do jandiá do norte (*Leiarius marmoratus*) (Figura 2), espécie carnívora e onívora respectivamente, o qual vem sendo produzido em algumas regiões do Brasil (CAMPOS, 2010; HASHIMOTO et al., 2012; PORTO-FORESTI et al., 2013).



Figura 1 Ilustração do *Pseudoplatystoma reticulatum*

Fonte: (MonsterFishKeepers, 2010)



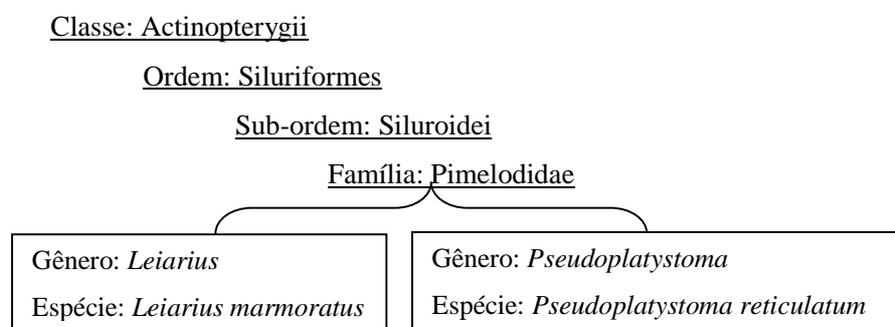
Figura 2 *Leiarius marmoratus*

Fonte: (WetWebMedia, 2011)



Figura 3 Híbrido ♀ *Pseudoplatystoma reticulatum* x ♂ *Leiarius marmoratus*

Ambas as espécies são animais da ordem Siluriformes, que incluem peixes cuja principal característica externa é a inexistência de escamas pelo corpo, revestidos apenas de pele espessa ou coberto por placas ósseas. São pertencentes à mesma família, Pimelodidae, porém são de gêneros diferentes. Abaixo se encontra ilustrada a classificação sistemática destas espécies, de acordo com Ferraris Júnior (2007):



Devido à dificuldade na produção de juvenis de cachara, produtores e pesquisadores têm realizado a hibridação dessa espécie. O cachara é cruzado com o jandiá do norte com o intuito de facilitar a produção destes animais. O produto deste cruzamento são animais mais vorazes que os juvenis de cachara puro e os híbridos intragênero, o que facilita o fornecimento de alimento nas fases iniciais, que é o maior

limitante na produção de juvenis de cachara, reduzindo também o problema com canibalismo (CAMPOS, 2010).

As espécies *Pseudoplatystoma reticulatum* e *Leiarius marmoratus* possuem pequena incompatibilidade genética, e semelhança numérica e morfológica dos cromossomos. Segundo Mateo, Delgado e López (2008), através de estudos morfométricos do cachandiá e seus progenitores, esse híbrido expressa boa parte das conformações corpóreas de seu progenitor, o *P. reticulatum*, espécie considerada de maior demanda comercial.

Bartley, Rana e Immink (2000) postulam que a hibridação interespecífica é vista como uma técnica para explorar o vigor híbrido ou a heterose das espécies progenitoras. Resende et al. (2010) complementam, afirmando que é uma forma de obter características desejáveis na primeira geração após o acasalamento, sem necessitar de um longo programa de melhoramento genético. Nesta perspectiva Prado et al. (2012) atesta que estas características podem significar maior ganho em peso em um menor período de tempo, aumento de tolerâncias ambientais e resistência às condições de cultivo.

Os híbridos vêm sendo cultivados em pisciculturas no lugar das espécies puras; segundo os produtores de alevinos, isto se deve ao fato de esses animais serem mais dóceis, aprenderem a se alimentar mais facilmente e possivelmente apresentarem taxa de crescimento mais elevada (CREPALDI et al., 2006). Existem poucos estudos sobre a viabilidade de híbridos intergenéricos de bagres na aquicultura brasileira e não há dados estatísticos disponíveis relativos à sua produção. No entanto, a comercialização desses híbridos tem crescido rapidamente (HASHIMOTO et al., 2012).

Pouco se sabe de que forma o metabolismo dessa espécie se comporta, visto que se trata de um híbrido recente, sendo necessários, portanto, mais estudos que objetivam avaliar o metabolismo do cachandiá.

2.2 Carboidratos na nutrição e metabolismo de peixes

De acordo com Krogdahl, Hemre e Mommsen (2005), espécies de peixes diferem em sua capacidade de digerir carboidratos. Essa variabilidade pode ser reflexo

de diferenças anatômicas e funcionais do trato gastrointestinal e órgãos associados entre peixes onívoros ou carnívoros (Dabrowski; Guderley, 2002); presença e quantidade apropriada de enzimas digestivas; complexidade molecular, origem, grau de gelatinização e o nível do carboidrato na dieta (KROGDAHL; HEMRE; MOMMSEN, 2005). De acordo com Stone (2003) a redução na digestibilidade dos carboidratos, quando seus níveis aumentam na dieta, pode ser o resultado de uma sobrecarga nas enzimas digestivas, que se tornaram saturadas com o substrato.

Peixes carnívoros apresentam nitidamente uma menor capacidade de absorção de glicose nos enterócitos em relação aos peixes onívoros e herbívoros (BAKKE-MCKELLEP et al., 2000). Isso ocorre devido à menor presença de transportadores SGLT-1 no intestino destes animais (COLLIE; FERRARIS, 1995).

Segundo Ahearn et al. (1992), os transportadores de glicose apresentam características variáveis ao longo do trato intestinal. A afinidade destes pela glicose parece aumentar da parte proximal para a distal do intestino, sendo que os cecos pilóricos apresentam a menor afinidade. Por outro lado, segundo Bakke-Mckellep et al. (2000), a maior taxa de absorção de nutrientes ocorre nos cecos pilóricos, onde se observa um declínio da região proximal para a região distal do intestino.

São dois os transportadores de membrana responsáveis pela absorção de glicose no intestino de peixes, o SGLT1, que realiza o transporte de glicose do quimo para o citosol e o GLUT2, transportador responsável pela condução do citosol para a corrente sanguínea (AHEARN et al., 1992; KROGDAHL; HEMRE; MOMMSEN, 2005; TEROVA et al., 2009).

D-glicose e D-galactose são absorvidas pelo mesmo transportador presente na membrana intestinal, o SGLT1, o qual é eletrogênico e dependente de energia e de Na^+ (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2011). D-Glicose, em trutas arco-íris, é transportado ativamente para dentro do enterócito pelo SGLT1 e do enterócito para a corrente sanguínea através do GLUT2 (AHEARN et al., 1992; KROGDAHL; HEMRE; MOMMSEN, 2005).

GLUT-2 é o principal transportador de glicose nos hepatócitos e nas células β das ilhotas pancreáticas em mamíferos. Outra de suas características é a sua capacidade de transportar tanto D-frutose quanto D-glicose (TEROVA et al., 2009). A frutose

também é absorvida em peixes, porém, um suposto transportador facilitado, tal como o GLUT5 em outros vertebrados, não foi identificado em peixes (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2011).

Os carboidratos são as fontes de menor custo para o fornecimento de energia na dieta dos animais domésticos. No entanto, sua utilização pelos peixes é diferente e permanece obscura. Não existe exigência de carboidratos em dietas para peixes. Porém, sua inclusão em níveis adequados pode assegurar melhor eficiência na utilização de outros nutrientes e contribuir no processo de extrusão da dieta, além de ser uma fonte energética abundante e barata em relação aos lipídeos e proteínas (Krogdahl; HEMRE; MOMMSEN, 2005).

As indústrias de dieta utilizam carboidratos em níveis acima de 19%, com o intuito de se obter a extrusão, processo onde ocorre a expansão do amido, reduzindo a densidade dos pellets e proporcionando uma dieta com maior fluabilidade. Este fator é considerado muitas vezes pelos produtores como um parâmetro de qualidade da dieta. Porém, esse alto nível de carboidratos pode provocar danos na fisiologia do animal em peixes carnívoros, que apresentam, dependendo da espécie, intolerância à glicose e limitada capacidade de metabolização.

Peixes alimentados em níveis adequados de carboidratos tiveram melhor desempenho que aqueles tratados com dietas ausentes desse nutriente (HEMRE(Hemre; MOMMSEN; KROGDAHL, 2002), onde o nível adequado depende do hábito alimentar e da espécie. Por outro lado, peixes mantidos com dietas contendo altos níveis de carboidratos apresentaram um quadro de hiperglicemia pós-prandial prolongado (ENES et al., 2009). Devido a este quadro, os peixes, principalmente os carnívoros, são considerados intolerantes à glicose quando comparados aos mamíferos.

Diferentes hipóteses têm sido levantadas para explicar essa baixa utilização de carboidratos pelos peixes. Porém, uma base fisiológica que explique a aparente intolerância de glicose não foi totalmente esclarecida.

As hipóteses incluem: o maior efeito dos aminoácidos que a glicose da dieta na secreção de insulina (Mommssen; Plisetskaya, 1991); número relativamente baixo de receptores de insulina no músculo de peixes, comparado a ratos (PÁRRIZAS et al., 1994); limitada capacidade de fosforilação da glicose no tecido muscular, requisito

indispensável para qualquer outra utilização metabólica da glicose (COWEY; WALTON, 1989); ausência de transportadores de glicose no músculo de peixe (WRIGHT; LAND, 1998); e inadequada regulação da homeostase da glicose atribuída ao desequilíbrio entre a glicólise e gliconeogênese hepática (PANSERAT et al., 2001).

A adição de carboidrato na dieta estimula a biossíntese de lipídeos (HEMRE; MOMMSEN; KROGDAHL, 2002). Os carboidratos induzem a biossíntese de equivalente redutor através da indução das desidrogenases da via pentose fosfato. Portanto, a glicose dietética é catabolizada, entre outras vias, pela via das pentoses fosfato, produzindo o NADPH necessário para a síntese de lipídeos. Em peixes, o fígado é o principal local para a lipogênese. Portanto, de modo geral, os carboidratos podem controlar essa via (HEMRE; MOMMSEN; KROGDAHL, 2002).

Outro aspecto relevante na nutrição é o potencial dos carboidratos como poupador de proteína (BUREAU; KAUSHIK; CHO, 2002). Segundo Wilson (1994), um nível adequado de carboidrato na dieta reduz o catabolismo de proteínas e lipídeos para fins energéticos, além de fornecer intermediários metabólicos para a síntese de outros compostos biologicamente importantes.

Os peixes dependem principalmente de proteína na dieta como fonte primária de energia, diferente dos animais terrestres. Segundo Hopher (1989) os peixes utilizam facilmente proteína como fonte de energia, através do catabolismo de aminoácidos, processo que também está relacionado à síntese protéica. Porém a proteína dietética é o item mais caro entre os macro-nutrientes e contribui significativamente para o custo da dieta. O que se deseja, portanto, é que esse nutriente seja utilizado para a síntese muscular, ou seja, crescimento, em vez de ser direcionado para o fornecimento de energia da dieta.

De acordo com Wilson (1994), as espécies onívoras e herbívoras geralmente toleram maiores níveis de carboidratos que as espécies carnívoras, pois utilizam o carboidrato como fonte energética de forma mais eficiente. Já os peixes carnívoros aproveitam os lipídeos melhor que carboidratos, devido aos fatores morfológicos e fisiológicos destes animais.

2.3 Lipídeos na nutrição e metabolismo de peixes

Os lipídeos biológicos constituem um grupo de compostos que, apesar de quimicamente diferentes entre si, exibem como característica definidora e comum insolubilidade total ou parcial em água (NELSON; COX; TILLBERRY, 2002). Devido a isso, os lipídeos corporais encontram-se presentes em diferentes compartimentos. Entre esses compartimentos podem estar associados à membrana, como gotículas de triglicéridos nos adipócitos, ou ainda sendo transportados no plasma associados a proteínas (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2008).

Em muitos organismos, gorduras e óleos são as principais formas de armazenamento de energia. Fosfolipídeos e esteróis são os principais elementos estruturais de membranas biológicas. Outros lipídeos têm papéis cruciais como cofatores enzimáticos, transportadores de elétrons, pigmentos que absorvem radiação luminosa, âncoras hidrofóbicas, agentes emulsificantes, hormônios e mensageiros intracelulares (NELSON; COX; TILLBERRY, 2002).

Em termos de função, os lipídeos são fonte de energia e fonte de ácidos graxos essenciais, esses podem ser divididos em dois grupos: (1) lipídeos polares, que inclui os fosfolipídeos que desempenham predominantemente papel estrutural; (2) lipídeos neutros, que inclui os triglicéridos (TAG ou triglicéridos), que apresentam funções primárias como fonte de energia, mas também desempenha papel de componente celular (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2011).

Os ácidos graxos $n3$ também atuam diretamente ou indiretamente principalmente via eicosanoides como sinalizadores intracelulares e atuam coordenadamente estimulando a oxidação e inibindo síntese de lipídeos (ANDRADE; CARMO, 2006).

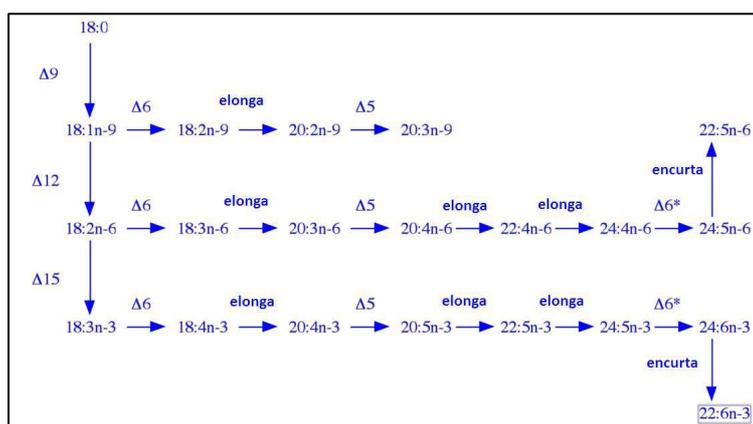
Os vertebrados, incluindo os peixes, não conseguem realizar a síntese dos ácidos graxos linoleicos (18:2 $n6$) e linolênicos (18:3 $n3$) *de novo*, devido à ausência de dessaturases específicas, o que torna esses ácidos graxos essenciais. Estes devem ser fornecidos na dieta para evitar deficiências nutricionais, o que resulta em patologias, parada do crescimento e da reprodução animal, e

eventuais mortes (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2011; TOCHER, 2003).

Apesar dos ácidos graxos linoleicos e linolênicos não participarem de uma específica rota metabólica, eles são necessários para que sejam convertidos em HUFA, como o ARA (20:4n6), EPA (20:5n3) e DHA (22:6n3) (Figura 4). As espécies de peixes apresentam variada capacidade de converter C18 PUFA em HUFA. Nas espécies que não realizam essa conversão, como alguns peixes marinhos de água fria, o fornecimento na dieta de ARA, EPA e DHA se fazem necessários (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2011).

Figura

Fonte:



(Tocher, 2003)

Nota: A dessaturase $\Delta 9$ é encontrada em todos os animais e plantas, enquanto que as dessaturases $\Delta 12$ e $\Delta 15$ são geralmente encontrados somente em plantas

Peixes alimentados com dietas contendo diferentes fontes de ácidos graxos podem apresentar várias adaptações no metabolismo de lipídeos, de acordo com a fonte fornecida. Além de interferir no metabolismo lipídico, os ácidos graxos desempenham outras inúmeras funções metabólicas, inclusive no metabolismo de carboidratos.

Estudos têm demonstrado que a atividade de enzimas lipogênicas hepáticas é modificada pela substituição total ou parcial do óleo de peixe por óleos vegetais na dieta.

4

Vias de biossíntese de

Entre elas o ácido graxo sintetase (FAS), diretamente responsável pela produção de ácidos graxos, a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e também a enzima málica (EM), as quais são fornecedoras de NADPH, essenciais para a atividade FAS, estão incluídos nesse contexto (MENOYO et al., 2004).

Madsen, Petersen e Kristiansen (2005) demonstraram que os n-3 HUFAs, que possuem quatro ou mais insaturações, diminuem a deposição de lipídeos e suprimem o desenvolvimento da obesidade em ratos. Nos peixes, observou-se que os n3 HUFAs foram capazes de reduzir o desenvolvimento de células de gordura e acúmulo de lipídeos em pré-adipócitos cultivados (TODORČEVIĆ (et al., 2008). Reduziu também o teor de gordura no tecido adiposo branco de salmão do Atlântico, além de aumentar a atividade β -oxidativa, quando comparados aos peixes alimentados com óleos de origem vegetal (TODORČEVIĆ et al., 2009). Em *Oncorhynchus mykiss*, *Salmo salar*, *Piaractus mesopotamicus* e *Oreochromis niloticus* uma dieta rica em n3 HUFA diminui a atividade da EM e G6PD (ALVAREZ et al., 2000; MENOYO et al., 2003; RIBEIRO et al., 2008; RIBEIRO et al., 2013).

Os PUFAs estão envolvidos na síntese e regulação de diversos processos metabólicos. Em mamíferos, os ácidos graxos n3 atuam como sinalizadores intracelulares, suprimindo a expressão de genes envolvidos na lipogênese, e induzindo a transcrição de genes envolvidos na oxidação lipídica (GRIMM et al., 2002).

Em peixes, o EPA e o DHA parecem inibir a lipogênese em *Oncorhynchus mykiss* e em *Salmo salar* (ALVAREZ et al., 2000; MENOYO et al., 2006). A lipogênese em *Oreochromis niloticus* também é influenciada pela composição lipídica da dieta (RIBEIRO et al., 2008). Já em ratos dislipidêmicos e resistentes à insulina, tratados com óleo de peixe, tiveram diminuição dos níveis de lipídeos no plasma e normalização da homeostase da glicose (D'ALESSANDRO; CHICCO; LOMBARDO, 2008). Outros estudos com ratos demonstraram que a oxidação da glicose e a síntese de lipídeos a partir deste substrato podem sofrer alterações mediante o uso de dietas contendo AG n3 (LONDERO, 2008).

Escassos são os trabalhos encontrados que avaliam a interação entre lipídeos e carboidratos em dietas de peixes. Existe, portanto, a necessidade de mais pesquisas que

procurem elucidar de que forma as diferentes fontes de óleo podem influenciar no metabolismo energético desses animais.

2.4 Importância fisiológica dos ácidos graxos polinsaturados

Os lipídeos, especialmente os ácidos graxos, são importantes fontes de energia para o organismo, independente de ser PUFA (TOCHER, 2003). A energia é gerada na forma de ATP via β -oxidação mitocondrial. Uma exceção ocorre junto à molécula de DHA, a qual tende a ser conservada, ou seja, não oxidada para geração de energia, por não ser um substrato adequado para a β -oxidação mitocondrial (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002). De acordo com Bell et al. (2001), existem evidências crescentes de que MUFA e SFA são substratos preferenciais para β -oxidação mitocondrial em salmonídeos.

Os PUFAs não são utilizados prioritariamente com a função de armazenar energia. É sugerido que eles atuem nos parâmetros fisiológicos através do seu impacto sobre a fluidez da membrana celular, e através da produção de eicosanóides. Mudanças na fluidez da membrana são importantes na adaptação hidrostática aos processos de mudança ambiental. Em baixas temperaturas, o organismo se adapta com o acréscimo na quantidade de PUFA na membrana celular, aumentando assim, a sua fluidez e por consequente diminuindo a temperatura de congelamento. Portanto, o PUFA atua como agente anticongelante da membrana celular (Brett; MÜLLER-Navarra, 1997; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2011).

Os eicosanóides são uma classe de compostos bioquímicos, associados a uma ampla variedade de processos fisiológicos (BRETT; MÜLLER-NAVARRA, 1997). Eles incluem as prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos, leucotrienos e lipoxinas, oriundos dos ácidos graxos altamente insaturados (HUFA). São compostos altamente bioativos, com atuação

autócrina. Não são armazenados e têm um tempo de meia-vida extremamente curto. São produzidos em pequenas quantidades em quase todos os tecidos (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2008). Possuem uma vasta gama de ações fisiológicas, que atua, por exemplo, nos processos de coagulação sanguínea, resposta imune, resposta inflamatória, tônus cardiovascular, função renal, função neural e reprodução (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002).

Na formação dos eicosanóides, a rota seguida pelo ARA e EPA é basicamente a mesma. Porém, o tromboxano formado a partir do ARA (denominado TXA₂) é um potente vasoconstritor e promove um aumento da agregação plaquetária. Enquanto o tromboxano formado pelo EPA (denominado TXA₃) atua como vasodilatador, diminuindo a agregação plaquetária. (SCHMITZ; ECKER, 2008).

Os ácidos graxos da série ômega-3 atuam também, como sinalizadores intracelulares. Suprimem a expressão de genes envolvidos na lipogênese e induzem a transcrição de genes envolvidos na oxidação lipídica e termogênese (GRIMM et al., 2002).

Os PUFAs influenciam a atividade de vários fatores de transcrição gênica, como PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptors*), LXR (*liver X receptors*) e SREBP (*sterol regulatory element binding proteins*), que são reguladores críticos dos genes envolvidos no processo de homeostase lipídica (MARTINEZ-RUBIO et al., 2013; SAMPATH; NTAMBI, 2005). Estes são fundamentais na manutenção do funcionamento do sistema nervoso central, modulando, entre outros fatores, a atividade visual, a maturação sensorial e o neurodesenvolvimento mental (DAS, 2003). Diminuem os níveis de ácidos graxos livres ao proteger o sistema cardíaco contra doenças cardiovasculares (D’ALESSANDRO; CHICCO; LOMBARDO, 2008), através de sua atuação na regulação da lipólise, nas lipoproteínas sanguíneas e nos níveis de colesterol circulante.

2.5 Fontes de ácidos graxos em dietas para peixes

A composição de ácidos graxos da dieta afeta o metabolismo dos peixes, influenciando o crescimento, a composição corporal, o perfil de ácidos graxos e o transporte de lipídeos através das lipoproteínas plasmáticas. A quantidade de energia das dietas de peixes, vinda dos lipídeos, induz a uma melhoria na conversão alimentar e um aumento no ganho de peso. Entretanto, as fontes de óleos utilizadas nas formulações das dietas influenciam as variações no conteúdo de lipídeos nos tecidos e acarretam mudanças nas concentrações de lipoproteínas plasmáticas, triglicerídeos e colesterol sérico (FERREIRA, 2008).

A rápida expansão da aquicultura nos últimos anos e o aumento na utilização de dietas formuladas produziram um volume considerável de pesquisas sobre exigências de lipídeos na dieta de peixes. A maior parte desses trabalhos aborda a utilização de ácidos graxos essenciais e fosfolipídeos por peixes juvenis e adultos, ao utilizar o crescimento e a sobrevivência como principais parâmetros indicadores da qualidade da dieta. O alto índice de sobrevivência e a manutenção do crescimento geralmente indicam que a dieta satisfaz as exigências mínimas nutricionais da espécie alimentada. No entanto, a sobrevivência e o crescimento podem ser insuficientes para inferir sobre a real condição fisiológica dos peixes (MAITA, 2007).

Os diferentes tipos de óleos apresentam variadas composições de ácidos graxos. Esses podem ser divididos em óleos vegetais, como milho, linhaça e oliva, ou óleos animais, como o óleo de peixe. Os óleos vegetais são encontrados no mercado a um preço acessível, quando comparados ao óleo animal. Além disso, apresentam uma maior estabilidade de oxidação, preservando-se por um período maior.

O óleo de peixe representa uma fonte rica em HUFA, como EPA e DHA, enquanto que a maioria dos óleos vegetais é rica em ácidos graxos

insaturados com 18 carbonos, como o α -linolênico (C18:3n3), o linoleico (C18:2n6) e oléico (C18:1n9). Porém são fontes pobres de n-3 HUFA (Nasopoulou; Zabetakis, 2012). Esses ácidos graxos com 18 carbonos são nutricionalmente essenciais, pois são precursores dos HUFAs como EPA, DHA e ARA.

A semente de linhaça possui uma variação aproximada de 32 a 38% de óleo, denominado popularmente de óleo de linhaça, o qual apresenta em média elevado teor do ácido α -linolênico (44,6 a 51,5%) e constitui uma das maiores fontes desse ácido graxo (VISENTAINER, 2003).

O óleo de oliva é obtido através do processamento da azeitona, fruto advindo da oliveira. Estudos indicam que esse óleo desempenha um papel positivo na prevenção de determinadas doenças, especialmente doenças coronárias. O principal ácido graxo que o compõe é o ácido oléico (C18:1n9), que contém valores de 55 a 83% (BOSKOU, 2002).

Ao contrário da maioria dos outros óleos vegetais, o óleo de milho é obtido a partir de sementes (grãos) que contêm apenas de 3 a 5% de óleo. Em geral, o óleo de milho apresenta baixos níveis de ácidos graxos saturados (< 15%), níveis relativamente baixos de ácido linolênico (C 18:3n3) e elevado teor de ácido linoleico (C18:2n6) (MOREAU, 2002).

A Tabela 1 apresenta alguns óleos comerciais utilizados também na elaboração de dietas para nutrição animal e sua composição aproximada em ácidos graxos de cadeia longa.

Tabela 1 Perfil de ácidos graxos de cadeia longa de alguns óleos de interesse (valores em %)

FONTES COMERCIAIS	ÁCIDOS GRAXOS						
	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:4	C20:5	C22:6
Óleo de linhaça ¹	2,5	19,0	24,1	47,4	0,31	nd	nd
Óleo de oliva ²	2,6	76,9	7,5	0,6	nd	nd	nd

Óleo de milho ³	4,0	24,00	44,4	1,96	1,0	nd	nd
Óleo de peixe ⁴	10,28	17,34	1,86	2,54	nd	8,66	8,9

nd – não determinado; Dados expressos em porcentagem (%) de ácidos graxos

¹(Kochhar, 2002); ²(Brasil. AGÊNCIA NACIONAL DA VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1999); ³(Moreau, 2002); ⁴(Chee et al., 1990).

2.6 Parâmetros séricos na nutrição de peixes

A análise de sangue é crucial em muitos campos de pesquisa ictiológica e na piscicultura. A medição de parâmetros bioquímicos séricos pode ser útil como uma ferramenta de diagnóstico em nutrição de peixes com o intuito de identificar o seu metabolismo, os efeitos da dieta em órgãos-alvo, a condição fisiológica, o estado geral de saúde e realizar avaliações diagnósticas com fins preventivos.

Os parâmetros sanguíneos apresentam mudanças com a idade ou tamanho dos peixes. Análises de constituintes séricos e parâmetros bioquímicos no plasma são úteis principalmente para detecção e diagnóstico do equilíbrio metabólico sob condições de cultivo (PAVLIDIS et al., 2007). Índices da química do sangue, incluindo as enzimas, nutrientes e metabolitos são utilizados para medir as respostas de diversos fatores (ÇELIK, 2004). Geralmente os biomarcadores sanguíneos como glicose, triglicéridos, proteína total, lipoproteínas e ureia são utilizados para avaliar a fisiologia dos animais (KAVITHA et al., 2012).

A concentração de proteínas está altamente relacionada com o estado nutricional e a qualidade do alimento. A redução nos valores de proteínas totais e albumina sérica pode ter uma implicação significativa sobre as atividades fisiológicas, e pode ser vital em imunossupressão dos peixes, aquela que pode ter um forte impacto negativo sobre o desempenho posterior (GBORE et al., 2010). No mesmo sentido, a diminuição do nível de proteína pode ser devido à

sua degradação e também à sua possível utilização para efeitos metabólicos (KAVITHA et al., 2012).

A glicose também é um índice importante, seus níveis no plasma podem apresentar variações intraespecíficas, como consequência do estresse, estado nutricional, estado reprodutivo, tamanho, idade, peso e temperatura ambiental. Carboidratos são a principal fonte de energia em muitos organismos, e sua reserva é utilizada para atender a demanda de energia em condições de estresse. O aumento ou diminuição do nível de glicose no plasma indica uma resposta ao estresse provocado por diversos fatores relativos ao metabolismo ou fisiologia do animal, ao gerar quebra de carboidratos ou alta utilização da glicose para efeitos metabólicos (KAVITHA et al., 2012).

Nos peixes o controle da glicose não é mantido sob uma faixa estreita como nos mamíferos. Este fato pode ser facilmente ilustrado pela glicemia persistente nos testes de tolerância à glicose. Ela é capaz de iniciar e manter uma resposta insulínica, no entanto, alguns aminoácidos, especialmente arginina, são secretagogos mais potentes do hormônio (Hemre; Mommsen; Krogdahl, 2002). A magnitude da resposta insulínica varia com a espécie e, geralmente, está bem abaixo do observado em mamíferos, onde a glicose provavelmente não é o mais importante estimulador da liberação de insulina (ENES et al., 2011). A hiperglicemia persistente observada em peixes carnívoros, alimentados com dietas ricas em carboidratos, relativa à baixa secreção de insulina e receptores, sugere um estado de resistência à insulina comparável ao observado em humanos com diabetes do tipo II (PLAGNES-JUAN et al., 2008).

A associação entre glicemia cronicamente elevada e altos níveis de insulina resulta em acúmulo excessivo de gordura no fígado de roedores e humanos. A hiperlipidemia e especialmente a hipertrigliceridemia também contribuem para o influxo de lipoproteínas e de ácidos graxos livres para o fígado, resultando em uma condição patológica denominada doença do fígado

gorduroso não-alcoólica (Kajikawa et al., 2009; Levene; Goldin, 2012). O aumento do teor energético da dieta, nos peixes, induz melhoria da conversão alimentar e maior ganho de peso. No entanto, isso determina um aumento significativo no conteúdo do tecido adiposo e desafio nas lipoproteínas, triglicerídeos e colesterol do plasma (FERREIRA et al., 2011).

As lipoproteínas dos animais funcionam como grandes operadoras de lipídeos e outros compostos hidrofóbicos (ÇELIK, 2004). Sua função é tanto manter solúveis seus componentes lipídicos no plasma, como promover um eficiente mecanismo de transporte de lipídeos entre os tecidos (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2010). Nos vertebrados, após a refeição e digestão de lipídeos, ácidos graxos, monoacilgliceróis e glicerol são produzidos e se difundem para as células de absorção do intestino. Os triglicerídeos são reagrupados no retículo endoplasmático liso, combinados com fosfolipídeos, apo-lipoproteínas e colesterol para formar os quilomicrons. Subsequentemente, estes nutrientes são transportados através da parede do intestino para o sangue, ou para a linfa sendo encontrados na circulação (ELIASON et al., 2010).

Em seres humanos, cerca de 80% destes quilomicrons entram no sistema linfático para distribuição nos tecidos, o restante entra na veia porta hepática. Em contraste, os detalhes da absorção e transporte de lipídeos em peixes não são bem compreendidos, sugere-se que o plasma seja o principal transportador de lipídeos. Em truta arco-íris alimentadas, por exemplo, o plasma transporta três vezes mais lipídeos do que em ratos alimentados (BABIN; VERNIER, 1989). Os lipídeos dietéticos são absorvidos com eficiência em peixes, e são provavelmente, na maioria, absorvidos como ácidos graxos livres e como quilomicrons, embora a sua rota de transporte para o fígado não seja totalmente elucidada (ELIASON et al., 2010).

As lipoproteínas sintetizadas no fígado estão associadas com os locais de armazenamento de lipídeos presentes nos peixes. Quando o metabolismo animal

experimenta um fluxo de energia acima de suas necessidades, este excesso é armazenado em depósitos lipídicos do tecido. De um modo logístico, a formação de depósitos depende do transporte de lipídeos ingeridos ou sintetizados de novo, para os tecidos periféricos. Estes são transportados como parte constitutiva das lipoproteínas, e finalmente, os ácidos graxos são liberados pela ação da lipoproteína lipase (LPL) para o metabolismo do tecido (FERREIRA et al., 2011).

Os intervalos de densidade de cada classe de lipoproteína e a distribuição de seus lipídeos e apo-lipoproteínas geralmente se assemelham aos observados em mamíferos. Lipoproteínas de peixe são classificadas de forma semelhante para os mamíferos, tais como: lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteínas de densidade intermédia (IDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL). Estas diferem na composição lipídica e protéica, no tamanho, na densidade e sítio de origem (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2010).

A VLDL é uma grande transportadora de lipídeos em peixes, principalmente do triacilglicerol, a partir do fígado para os tecidos periféricos, onde são degradados pela lipase lipoprotéica como em outros vertebrados. Em muitas espécies, quando excede o aumento na lipogênese e deposição no fígado em relação à síntese e secreção de VLDL para exportação, pode ocorrer o fígado gorduroso. A prevalência de fígados gordurosos em peixes tem sido associada ao nível de lipídeos na dieta. Deste modo informações sobre o transporte dos lipídeos (triglicerídeos) para fora do fígado, através do soro como VLDL, têm implicações para o entendimento do desenvolvimento do fígado gorduroso (NANTON; McNIVEN; LALL, 2006). Assim a caracterização das lipoproteínas no plasma, classes de lipídeos e ácidos graxos em peixes fornece uma visão mais aprofundada do metabolismo lipídico.

A composição de lipoproteínas no plasma é afetada pela constituição de ácidos graxos na dieta em diferentes graus (TORSTENSEN; FRØYLAND; LIE, 2004). Os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa n3, tais como o ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosaenoico (DHA) são especialmente importantes na regulação da lipogênese hepática e metabolismo das lipoproteínas. Segundo Jordal, Lie e Torstensen (2007), no salmão do atlântico a substituição de óleo de peixe por óleo vegetal na dieta afeta os níveis de LDL, aumenta os depósitos de triglicérides no fígado e diminui os níveis de lipídeos no plasma, possivelmente pela diminuição da síntese de VLDL.

As LDLs contêm muito menos triacilglicerol que suas precursoras VLDLs, têm alta concentração de colesterol e ésteres de colesterol. É conhecido que as LDLs são as principais transportadoras de colesterol no sentido de ter potencial de tecidos atero-gênico, enquanto que o HDL transporta o colesterol dos tecidos periféricos para o fígado. Portanto, a fração de LDL é o fator central na formação de aterosclerose. Assim, o colesterol da dieta pode afetar a sua distribuição entre as frações de lipoproteínas plasmáticas (DENG et al., 2010; McNAMARA, 2000).

O colesterol presente nos vertebrados tem várias funções metabólicas. É componente estrutural de todas as membranas celulares, modulando sua fluidez, portanto é importante para o crescimento e diferenciação celular. Além disso, é o único precursor de ácidos biliares endógenos, hormônios esteróides e vitamina D (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2010). O colesterol é um nutriente dietético essencial para o bom crescimento e sobrevivência elevada de crustáceos (Holme; Southgate; Zeng, 2007). Já os peixes não requerem uma fonte dietética de colesterol, principalmente devido ao fato dos vertebrados poderem sintetizar o colesterol a partir do acetato (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2011).

Nos peixes, os níveis de colesterol total no plasma são um bom indicador, pois estão significativamente relacionados com o estado nutricional e

metabólico. Seus níveis no plasma podem ser alterados por outros nutrientes na dieta, tais como: a fonte protéica (ENDO (Endo et al., 2003) e a composição de ácidos graxos (ELIASON et al., 2010; JORDAL; LIE; TORSTENSEN, 2007; MESSINA et al., 2013).

Os triglicerídeos são quantitativamente a classe mais importante de gordura na dieta. A sua influência nos níveis de lipídeos plasmáticos é determinada pela natureza química de seus ácidos graxos constituintes. A presença ou ausência de ligações duplas, seu número e localização (n6 – n3), e a configuração cis ou trans dos ácidos graxos insaturados são as características estruturais mais importantes que influenciam as lipoproteínas plasmáticas (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2010; KJÆR et al., 2009).

Gorduras saturadas estão associadas a níveis plasmáticos altos de colesterol total e colesterol LDL, os quais são diminuídos com gorduras monossaturadas, que por sua vez podem incrementar o colesterol HDL. A dieta rica em ácidos graxos monoinsaturados (n9) e poli-insaturados (n3), também chamada dieta mediterrânea, está associada à diminuição do colesterol total e do LDL. Os ácidos graxos poli-insaturados (n6) diminuem colesterol LDL e HDL e os (n3) tem pouco efeito nas lipoproteínas LDL e HDL (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2010). Segundo Kjær et al. (2009), em peixes, os lipídeos mobilizados são transportados, principalmente esterificados em triglicerídeos, na maioria em HDL e menos em LDL.

Sob condições normais, o lipídio absorvido pelo fígado é submetido à oxidação ou é transportado por lipoproteínas secretadas na circulação. A secreção de lipídio a partir do fígado é crucial para impedir sua deposição no referido órgão. Assim, as medições de amostras de sangue (triglicerídeos e colesterol) podem ser usadas como um teste rápido para determinar a condição do fígado dos peixes (Lu et al., 2013).

Diante de tais colocações é importante ressaltar que em peixes pouco se sabe sobre como diferentes fontes de ácidos graxos e dieta rica em lipídeos afetam a secreção de lipoproteínas hepáticas. As informações sobre a secreção e transporte de lipídeos têm implicações importantes para a compreensão do metabolismo e lipogênese no fígado, que podem resultar em patologias hepáticas, e posteriormente, diminuir a secreção de lipoproteínas.

2.7 O fígado e sua importância na nutrição de peixes

O fígado de peixe se apresenta como em outros vertebrados, como um órgão chave, o qual controla muitas funções vitais e tem papel importante na fisiologia do animal. É um órgão de grande tamanho, sempre bem desenvolvido nos teleósteos, e seu peso equivale a 2% do peso total do indivíduo (Álvarez-Díaz et al., 2009). A cor hepática varia de acordo com os hábitos alimentares, muitas vezes mostram tons marrons ou avermelhados em peixes carnívoros, marrom claro em herbívoros, e tons esbranquiçado ou amarelado pode indicar fígado gorduroso (CANO; Florenciano; Albors, 2010).

As suas funções são similares a dos vertebrados superiores. É um órgão com muitas atividades metabólicas e qualquer avaliação de seu status funcional depende da habilidade para realizar uma função metabólica específica (Guillaume et al., 2004). Nos peixes este órgão pode se comportar como o complexo hepatopâncreas, isso devido a esta última estrutura estar no interior do parênquima hepático, ao redor da veia porta, característica essa que o distingue dos mamíferos (Álvarez-Díaz et al., 2009). Assim, o fígado realiza tanto funções hepáticas quanto pancreáticas. É o órgão metabolizador por excelência de todas as substâncias que nele chegam por via sanguínea, portanto, este órgão serve como referência histológica, paramétrica e funcional, para a análise da atividade

ou dano tecidual causado por fatores ambientais, nutricionais, entre outros (AMARAL et al., 2002).

O uso do fígado como órgão indicador do estado nutricional e fisiológico em peixes é bem conhecido (Bolla; Nicolaisen; Amin, 2011; Bombonato et al., 2007). Nos teleósteos é um órgão multifuncional responsável pelo metabolismo dos nutrientes; ao tempo que produz a bÍlis, participa na digestão e absorção de lipÍdeos, participa na produção de colesterol e pigmentos biliares, na produção da vitelogenina durante o crescimento gonadal e desintoxicação de compostos estranhos, entre outras funções (FLORES-LOPES; MALABARBA, 2007).

A maioria dos efeitos regulatórios da utilização e metabolização dos nutrientes, inicialmente ocorre no fígado, assim consequentemente afeta uma cascata de outros eventos em outros tecidos e órgãos (ENES et al., 2009). De tal modo, a deterioração da estrutura e função hepática pode afetar a homeostase e levar à morte do organismo, pois desempenha um papel central na regulação do metabolismo em resposta ao status nutricional, e proporciona aos demais órgãos e tecidos uma mistura adequada de nutrientes (Torres; González; Peña, 2010).

Em alguns peixes, o fígado pode atingir tamanho considerável, armazenando compostos energéticos (lipÍdeos e glicogênio). O incremento na deposição de lipÍdeos no fígado de peixes em cultivo indica desequilÍbrio nutricional das dietas (Bolla; Nicolaisen; Amin, 2011; Bombardelli et al., 2010; Kowalska et al., 2010; Tan et al., 2009b; Tocher, 2003). A VLDL é responsável pelo transporte de lipÍdeos do fígado para outros tecidos, o que pode diminuir o acúmulo de lipÍdeos nesse órgão (GRACIANO et al., 2010).

As modificações no fígado referentes a mudanças de peso e volume, relativos às reservas energéticas, são avaliadas usando o Índice Hepatossomático (IHS) (CHATZIFOTIS et al., 2010; CROUSE et al., 2013; SCHULZ et al., 2005). Este parâmetro costuma ser também um indicador da condição do peixe,

ao ser empregado para expressar a dinâmica no uso da energia endógena do organismo através do fígado (GATTA et al., 2011; GÜROY et al., 2013; NAGEL et al., 2012). O aumento na concentração de energia incrementa os valores do IHS (ABIMORAD; CARNEIRO; URBINATI, 2007) e o rápido declínio nesse índice pode indicar um estado de déficit de energia e nutrientes (Booth; MOSES; ALLAN, 2013).

Por ser multifuncional o fígado serve como referente histológico para a análise do efeito da dieta e do ambiente na estrutura do parênquima hepático. Entre as alterações relevantes sofridas neste órgão, em resposta de uma fonte de estresse metabólico no organismo, pode-se salientar a vacuolização de hepatócitos, o aumento na deposição de lipídeos, a depleção ou aumento na reserva de glicogênio, inflamação, aumento do volume celular e nuclear, alteração dos vasos sinusoidais, presença de neoplasma, agregação de macrófagos, vacuolização nuclear, deformação dos contornos nuclear e celular, degeneração nuclear e citoplasmática, entre outros (CABALLERO et al., 2004; FIGUEIREDO-SILVA et al., 2005; GATTA et al., 2011; KOWALSKA et al. 2010; LANGIANO, 2006; NUÑEZ et al., 2008; RAMIREZ et al., 2009; RIOS et al., 2007).

Em peixes, este órgão é o principal local para a lipogênese. Portanto, de modo geral, essa via pode ser controlada pelos carboidratos (HEMRE; MOMMSEN; KROGDAHL, 2002) e lipídeos (Teoh; Turchini; Ng, 2011); (Torstensen; Tocher, 2010); TURCHINI et al., 2011) contidos na dieta. Quando os carboidratos estão ausentes na dieta, os peixes os sintetizam a partir de substratos como proteínas e lipídeos via gliconeogênese. No entanto, a sua inclusão adequada em dietas práticas proporciona uma fonte de energia, que permite que os aminoácidos sejam destinados para o crescimento de tecido muscular (Booth; Moses; Allan, 2013).

Já os lipídeos são uma fonte imediata de energia para os peixes, por ser facilmente digeridos e ter valor calórico maior do que os carboidratos.

Dietas ricas em gordura podem ter efeitos favoráveis sobre o crescimento, em virtude do efeito poupador de proteína. Contudo, dietas ricas em gordura frequentemente levam a sua deposição excessiva no fígado de alguns peixes. Em relação a isso (Lu et al., 2013), asseguram que lesões ultraestruturais de organelas em hepatócitos ocorrem após a ingestão de uma dieta rica em gordura; já que diminuem significativamente as taxas de secreção de triglicerídeos hepáticos e lipoproteína plasmática (VLDL), em comparação aos peixes alimentados com dieta controle.

Em geral um baixo nível de transporte de lipídeos para fora do fígado, elevado consumo dos mesmos e alterações do seu transporte induzem a patologias como fígado gorduroso (DU et al., 2008; Du et al., 2006; GAYLORD; GATLIN III, 2000; LU et al., 2013); deficiência estrutural de mitocôndrias, núcleo e retículo endoplasmático de hepatócitos (LU et al., 2013); ou à deposição indesejada de lipídeos em outros tecidos. O fígado gorduroso é frequentemente considerado como negativo, pois representa a energia desperdiçada ou simplesmente não utilizada e depositada nos tecidos (HANSEN et al., 2008).

A fisiologia dos peixes pode ser afetada pela condição de fígado gorduroso (CABALLERO et al., 2004). Portanto é necessário maior conhecimento sobre estes mecanismos (LU et al., 2013). Os níveis de lipídeos e carboidratos devem estar em concentrações adequadas para não sobrecarregar a atividade do fígado e do pâncreas, e não resultem na acumulação de gordura visceral (ABIMORAD; CARNEIRO; URBINATI, 2007).

Além dos parâmetros de crescimento, é cada vez mais importante avaliar os efeitos da substituição do óleo de peixe sobre a deposição de gordura e histopatologia hepática. Óleos vegetais são uma alternativa aceita para essa

mudança nas rações aquáticas. A falta de ácidos graxos poliinsaturados (n³ PUFA) de cadeia longa (\geq C20) em óleos vegetais é uma grande insatisfação (CODABACCUS et al., 2011). Assim, é importante estabelecer os efeitos das diferentes fontes de óleos vegetais da dieta sobre o metabolismo e a fisiologia das espécies alvo.

Nesta perspectiva, Figueiredo-Silva et al. (2005) ao trabalharem com robalo e truta atestam que a substituição do 50% de óleo de peixe por óleo de soja não tem efeito sobre o acúmulo de lipídeos hepáticos, nem no grau de vacuolização nas seções de fígado observadas nas duas espécies. Izquierdo et al. (2003) complementa que o óleo de soja pode substituir parcialmente o óleo de peixe, sem comprometer o crescimento e eficiência na alimentação, além de ser uma rica fonte de vitamina E (um antioxidante natural) e um óleo isento de colesterol.

Muitas espécies de peixes de água doce têm a capacidade de transformar um determinado ácido graxo em seu correspondente de cadeia mais longa com muita eficiência. Esse fato permite que na elaboração de rações seja feita a inclusão de óleos vegetais, desde que estes contenham quantidades adequadas de ácido α -linolênico, que pode ser convertido em EPA e DHA pelo sistema enzimático do peixe (Martino et al., 2002). Para os peixes tropicais e, especialmente para as espécies onívoras, geralmente não se inclui óleo de peixe devido à baixa exigência em n³ (PEZZATO; BARROS; FURUYA, 2009).

Nos peixes, usar altos níveis de óleo vegetal como fonte de lipídeos tem sido associado ao aumento nos depósitos de triglicerídeos hepáticos, diminuição dos níveis de lipídeos plasmáticos devido à redução na síntese de VLDL (JORDAL; LIE; TORSTENSEN, 2007). Estes também são associados a degenerações na estrutura histológica do tecido hepático (CABALLERO et al., 2002; CABALLERO et al., 2004; KOWALSKA et al., 2011a; WASSEF;

WAHBY; SAKR, 2007) bem como o acúmulo dos vacúolos lipídicos nos hepatócitos (CABALLERO et al., 2004; KOWALSKA et al., 2011b).

Os estudos sobre os efeitos da substituição do óleo de peixe por fontes de origem vegetal podem proporcionar informações sobre o metabolismo e a qualidade da dieta, podem ser usados também, como indicador do estado nutricional do peixe (FIGUEIREDO-SILVA et al., 2005).

Nesta perspectiva Wassef, Wahby e Sakr (2007), ao trabalharem a substituição de 60% de óleo de peixe por óleo de soja, linhaça, algodão ou girasol na alimentação de *Sparus aurata*, atestam que o fígado dos organismos alimentados com óleos vegetais mostrou hepatócitos levemente inchados devido ao acúmulo de gotículas de óleo no citoplasma, além de apresentar núcleos e organelas deslocados para a periferia da célula. Os autores estabelecem igualmente que os peixes alimentados com a dieta contendo apenas óleo de peixe apresentam saúde e morfologia hepática semelhante àqueles do mesmo tamanho encontrados na natureza.

No mesmo sentido, Kowalska et al. (2011a) afirmam que o uso de óleo de linhaça resultou em um baixo teor de ácido palmítico e elevado teor de ácido linolênico na alimentação, essa composição da dieta esteve ligada a alterações patológicas no fígado tais como: núcleos hepatocelulares significativamente maiores nos peixes alimentados com óleo vegetal e inúmeros e grandes vacúolos lipídicos e gotículas de gordura visíveis nos hepatócitos. No entanto uma elevada taxa de mortalidade ou baixo crescimento nos peixes é frequentemente associado à ocorrência de fígado gorduroso (LU et al., 2013).

Portanto, o uso de fontes de óleo de origem vegetal deve ser cuidadosamente estudado e adotado, não só para fornecer lipídeos no nível correto, como também oferecer o equilíbrio adequado de ácidos graxos essenciais ao crescimento ideal. Além disso, deve manter o estado nutricional e da fisiologia normal dos peixes.

Na função e estrutura do fígado incidem também os carboidratos. Sua inclusão está diretamente relacionada às reservas de glicogênio do órgão. Essa reserva tem importância especial no fígado para a manutenção dos níveis de glicose pós-prandial no sangue e no músculo estriado a fim de suportar a função contrátil (Hemre; Mommsen; Krogdahl, 2002). Os peixes mantêm as reservas de glicogênio elevadas como estratégia metabólica visando à sobrevivência frente às mudanças (SILVA; MASSARO, 2006).

Alguns peixes, no entanto, demonstram adaptação à dieta de carboidratos e uma capacidade de poupar a proteína a fim de repor tecidos e promover o crescimento. Tradicionalmente, as espécies como carpa, tilápia e catfish são alimentadas com rações práticas que contêm quantidades apreciáveis de amido provenientes de ingredientes derivados de cereais e leguminosas (Harmon; Bolinger; Rodnick, 2011; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2011). Essas espécies onívoras são eficientes em utilizar carboidratos e produzir as enzimas para a degradação e metabolismo pós-absorção de açúcares hexoses. A partir disso libera-se a energia e ocorre a síntese e armazenamento de glicogênio em ambos os tecidos músculo e fígado.

Já para espécies carnívoras de importância econômica, é válido destacar que apesar da demanda crescente para a inclusão de novos ingredientes derivados de plantas, para aqueles que fornecem tanto amido como proteínas, existe a preocupação de legumes, leguminosas e cereais terem efeitos adversos sobre alguns peixes após a ingestão durante longo tempo; resultando na deposição de glicogênio no fígado, que causa problemas histopatológicos e insuficiência metabólica desse órgão (RUSSELL et al., 2001).

Mudanças significativas na morfologia hepática e aumento na deposição de glicogênio e lipídeos do fígado foram reportadas por Russell et al. (2001), ao alimentarem *Dicentrarchus labrax*, com dietas contendo farinha de ervilha em comparação ao controle que foi alimentado com amido de milho como fonte de

carboidratos. Os autores acrescentam a proporção hepática de lipídio: glicogênio pode ser influenciado pelo metabolismo pós-absorção de diferentes níveis de carboidratos da dieta.

Alguns peixes preservam os estoques de glicogênio metabolizando quantidades significativas de lipídeos, assim alterações como vacuolização dos hepatócitos e depleção de glicogênio podem ser interpretadas como respostas ao estresse nutricional (OLIVEIRA et al., 2010). Em relação a isso, Kowalska (a et al. (2010) asseguram que graus de vacuolização dos hepatócitos foram observados em peixes alimentados com dieta suplementada exclusivamente com óleos vegetais. Caballero et al. (2002) consideram que histologicamente a acumulação de gotículas lipídicas foi observada dentro dos hepatócitos de trutas alimentadas com dietas complementadas com óleos vegetais.

Segundo Li et al. (2013) a proporção ótima de carboidratos/lipídeos na dieta é importante para maximizar o uso de carboidratos, já que o desequilíbrio nas fontes de energia não-proteína e/ou seus níveis de inclusão pode ter um efeito direto sobre o fígado. Os autores acrescentam que para *Megalobrama amblycephala* o teor de lipídeos no fígado mostrou pouca diferença entre tratamentos, enquanto o teor de glicogênio aumentou significativamente com o aumento na proporção de carboidratos/lipídeos.

Alimentando *Ctenopharyngodon idella*, Gao et al. (2010) registraram aumento no valor do índice hepatossomático e lipídeos no fígado ao diminuir a proporção de carboidratos/lipídeos dietários. Os autores afirmam que a utilização de lipídeos e carboidratos na dieta é moderada na espécie e o peixe tem maior capacidade de usar lipídeos em comparação com carboidrato. Tan et al. (2009a) acrescentam que os níveis de carboidratos na dieta afetam significativamente o conteúdo de lipídeos no hepatopâncreas de *Carassius auratus*, além de outros parâmetros como desempenho, atividade da enzima piruvato quinase e conteúdo geral de lipídeos no peixe inteiro.

Em face do exposto, é necessário considerar que o fígado precisa ser analisado, pois desempenha papel fundamental no metabolismo e regulação de lipídeos e carboidratos, uma vez que sofre alterações nos parâmetros e morfologia que ocorrem em algumas condições nutricionais específicas. Assim, o monitoramento das alterações hepáticas e histológicas desse órgão é uma forma altamente sensível e precisa para avaliação dos efeitos dos nutrientes da dieta no metabolismo do animal.

2.8 O perfil lipídico e valor nutricional dos peixes

Entre as espécies de peixes, os sítios de deposição lipídica têm importância relativa e variam notavelmente. Os principais locais de deposição lipídica são o fígado, tecido adiposo perivisceral, gônadas e músculo como verdadeira parte comestível (BANDARRA et al., 2006; BELL et al., 2010; BORQUEZ et al., 2011; GAO et al., 2012; MESSINA et al., 2013; NORAMBUENA et al., 2013). Lipídeos alimentares desempenham um papel importante, não só como fontes potenciais de energia, ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis, mas também por terem funções fisiológicas importantes; sua composição de ácidos graxos pode influenciar significativamente a composição de ácidos graxos musculares e hepática, bem como a qualidade da carne (LUO et al., 2008).

As mudanças de lipídeos nos tecidos não se refletem da mesma forma para suas diferentes classes. A concentração de fosfolipídeos se mantém quase constante, enquanto os lipídeos neutros ou triglicerídeos estão fortemente influenciados pela composição de ácidos graxos da dieta (FIGUEIREDO-SILVA et al., 2005). Assim, a composição de ácidos graxos dos teleósteos é afetada pela constituição de ácidos graxos da dieta em diferentes graus (BELL et

et al., 2002; BELL et al., 2010; GÜROY et al., 2013; Teoh; Turchini; Ng, 2011; XU et al., 2010).

Devido à complexidade dos mecanismos pelos quais as fontes de lipídeos e carboidratos, por si só, podem afetar o transporte e metabolismo lipídico dos peixes, e em virtude da variedade de fontes de lipídeos e níveis de carboidratos a serem usados nas dietas, é necessário concentrar-se especificamente nas consequências da sua inclusão. Portanto, é importante avaliar o perfil lipídico com ênfase nos ácidos graxos nos tecidos chave de deposição: no fígado como órgão metabólico por excelência e no músculo branco, como tecido de importância metabólica e parte comestível comercial.

Dietas com alta energia são amplamente utilizadas para peixes cultivados em sistemas intensivos, uma vez que os lipídeos representam a fonte mais concentrada de energia (cerca de 9 kcal/g, quase duas vezes o fornecido por ambos os carboidratos e proteínas). No entanto, tais dietas induzem maior deposição de gordura nos tecidos (BANDARRA et al., 2006). Deste modo, a proporção ótima de carboidratos/lipídeos na dieta é importante para maximizar o uso de carboidratos, já que o desequilíbrio nas fontes de energia não-protéica e/ou seus níveis de inclusão podem ter um efeito direto sobre a composição corporal (LI et al., 2013).

O grau de retenção ou o catabolismo de ácidos graxos é dependente do tipo de ácido graxo, seu nível dietético e do tipo de tecido. Os ácidos graxos não essenciais são prontamente catabolizados, enquanto que os essenciais são mantidos em grau crescente com a sua diminuição de níveis dietéticos (TORSTENSEN; FRØYLAND; LIE, 2004).

Entre as alternativas para substituir o óleo de peixe da dieta, na piscicultura, está a inclusão de óleos vegetais como linhaça, milho, oliva, palma, canola, entre outros. Diversos trabalhos em variadas espécies de peixes de

interesse comercial relatam os efeitos da substituição parcial ou total do óleo de peixe por óleos vegetais nos tecidos alvo, quando incluídos na dieta.

Em salmão do atlântico alimentados com inclusão de óleo de peixe e óleos vegetais, diferenças na composição dos ácidos graxos foram refletidas no músculo branco, músculo vermelho, miosepto branco muscular e gordura visceral, sendo os mioseptos as maiores áreas de armazenamento lipídico (adipócitos) no músculo vermelho e branco (NANTON et al., 2007). Em perca, em contraste com a composição do músculo, somente o tecido hepático foi afetado pelas dietas enriquecidas com óleos vegetais, estes mostraram aumento significativo no conteúdo lipídico, que indica uma diminuição da utilização de lipídeos em comparação com peixes alimentados com dieta enriquecida com óleo de peixe (SCHULZ et al., 2005).

Em tilápia, a substituição de 50% de óleo de peixe por óleo de palma, linhaça ou soja como alternativa na dieta teve influência no perfil lipídico. O filé das tilápias alimentadas com a mistura de óleo de peixe e palma resultou em maiores proporções de EPA, DHA, n3/n6 e melhoria na sua qualidade (NG et al., 2013). Em *Oreochromis niloticus* a lipogênese é influenciada pela composição lipídica da dieta, o que reflete na composição química muscular, ao evidenciar maior deposição lipídica nos peixes alimentados com dietas ricas em ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados n6 (RIBEIRO et al., 2008).

Em salmão do atlântico a composição de ácidos graxos no músculo foi correlacionada com a porcentagem de inclusão de óleo de palma (OP) na dieta; as concentrações de 16:00, 18:1 (n9), 18:2 (n6), o total de ácidos graxos saturados e monossaturados aumentaram linearmente com o incremento de OP dietético. Além disso, a concentração de ácido eicosapentaenoico (20:5n3) foi reduzido significativamente com o aumento dos níveis de OP dietético, mas a concentração de ácido docosaexaenoico (22:6n3) foi significativamente reduzida apenas nos peixes alimentados com 100% de OP. Alterações similares induzidas

pela dieta foram observadas na composição de ácidos graxos no fígado dos exemplares (BELL et al., 2002).

Em *Salmo salar* o perfil de ácidos graxos no músculo acompanhou o perfil de seis dietas experimentais com diferentes porcentagens crescentes de inclusão de óleo de colza (RO) em substituição ao óleo de peixe (FO). Os ácidos 18:1n9, 18:2n6 e 18:3n3 aumentaram, enquanto a 22:1n11, 16:00, 20:5n3, 22:6n3 e a proporção n3/n6 diminuíram nos peixes alimentados com 100% de RO, quando comparados com 100% de FO. No fígado destes peixes a composição de ácidos graxos foi menos afetada pela composição da dieta em relação ao músculo. O fígado teve níveis mais elevados de 22:6n3 e total de n3 independentemente da dieta, no entanto, diminuindo a partir da dieta 100% FO, para os grupos 100% RO (TORSTENSEN; FRØYLAND; LIE, 2004).

Em *Sander lucioperca* a alimentação com dieta suplementada com dois óleos diversos em quatro diferentes misturas: linhaça e amendoim (LO/PO), peixe e amendoim (FO/PO), peixe e linhaça (FO/LO), peixe e soja (FO/SO) em quantidades de 40 e 100 g kg⁻¹ de dieta, respectivamente, teve incidência no teor de lipídeos e perfil de ácidos graxos nos tecidos. Elevado teor de óleo de linhaça causou uma redução significativa no teor de lipídeos e um aumento na proteína das vísceras; a quantidade de ácidos graxos poli-insaturados n6 foi significativamente mais alta no peixe inteiro, vísceras, filé e fígado no grupo alimentado com LO/PO; o índice n3/n6 nos filés incrementou significativamente ao alimentar com FO/SO; a quantidade de ácido eicosapentaenoico no fígado e no filé foi significativamente mais elevada no grupo alimentado com FO/SO. E o conteúdo de ácido docosaenoico foi semelhante em todos os grupos (KOWALSKA et al., 2010).

Na mesma espécie de perca a suplementação com óleos vegetais (linhaça (LO) e amendoim (PO)) na alimentação baixou o teor de ácidos EPA e DHA nos filés em relação a aqueles alimentados com óleo de peixe (FO). O

perfil de ácidos graxos das rações experimentais teve um impacto significativo em todos os grupos de ácido graxos analisados nos filés (SFA, MUFA e PUFA), a porcentagem de PUFA e SFA foi maior do que em peixe inteiro, enquanto MUFA foi menor. O nível relativo de PUFA nos filés aumentou com LO. Nos filés, o teor de n6 com os óleos vegetais foi semelhante e significativamente mais elevado em comparação ao FO. O menor teor de n3 no grupo PO influenciou o valor significativamente mais baixo do índice n3/n6 da carne deste peixe (KOWALSKA et al., 2011a).

Em bacalhau a composição global de ácidos graxos apresentou efeito significativo sobre o teor final de n3 PUFA de acordo com a alternativa utilizada na sua alimentação. O óleo de peixe e quatro diferentes óleos vegetais foram selecionados e testados por sua composição extrema de ácidos graxos: óleo de palma, óleo de oliva, óleo de girassol e óleo de linhaça. Foi mostrado que a disponibilidade na dieta de ácidos graxos monoinsaturados e saturados podem ter uma forma de "efeito poupador de n3" e pode diminuir o catabolismo de n3 PUFA, e resultar em uma maior taxa de deposição nos filés de peixe desses ácidos graxos benéficos na promoção da saúde (TURCHINI et al., 2011).

Em *Pelteobagrus fulvidraco* foi estudado o efeito da relação de ácido linolênico (LNA)/ácido linoleico (LA) da dieta no perfil de ácidos graxos hepáticos. Seis dietas com proporções de 0,35-14,64 com níveis crescentes de LNA (0 a 5 %) em detrimento de óleo de milho foram fornecidas durante sete semanas. As relações influenciaram expressivamente o índice hepatossomático e o perfil de ácidos graxos hepático refletiu as composições dietéticas. O EPA e DHA aumentaram com o acréscimo da relação LNA/LA, o que sugere que o bagre amarelo poderia alongar e dessaturar LNA e LA aos seus produtos finais correspondentes (AA, EPA e DHA), como consequência, os ácidos graxos n6 diminuiram e o total de AG n3 e n3/n6 aumentou com as razões dietéticas de LNA/LA (TAN et al., 2009b).

Na espécie de água doce *Pangasius nasutus* foram testadas quatro dietas experimentais isoprotéicas e isoenergéticas formuladas com óleo de peixe (FO), óleo de soja (SBO), óleo de palma cru (CPO) e óleo de linhaça (LO) respectivamente como as fontes de lipídeos. As dietas foram administradas até a saciedade aparente duas vezes ao dia durante 12 semanas. O perfil de ácidos graxos de músculo e fígado dos peixes de todos os tratamentos refletiu em espelho a composição da dieta, e os principais ácidos graxos registrados foram 18:3n3 e 18:2n6 nos tecidos dos peixes alimentados com LO e SBO respectivamente (ASDARI; Aliyu-Paiko; Hashim, 2011).

Em três famílias de *Salmo salar* estudou-se os efeitos de dietas formuladas com redução de farinha de peixe (FM) e conteúdo de 100% de óleo de peixe (FO) ou 100 % de uma mistura de óleos vegetais (VO) (canola, palma e óleo de camelina em uma proporção de 5/3/2). Composições de ácidos graxos da carne foram afetados principalmente pela dieta, embora alguns ácidos graxos menores também tivessem sido influenciados pelo grupo genético. Os peixes alimentados com VO apresentaram n3 PUFA reduzido em aproximadamente 65%, em relação aos peixes alimentados com FO. Os programas de melhoramento genético poderiam selecionar para os peixes que retiveram mais n3 PUFA em sua carne, especialmente quando alimentados com dietas de baixa concentração desses ácidos graxos (BELL et al., 2010).

A qualidade, localização, distribuição, importância quantitativa e composição das gorduras são aspectos que influenciam fortemente: o valor nutricional, as propriedades organolépticas, o rendimento de transformação e a vida útil de prateleira dos produtos da pesca. A possibilidade de se alterar o perfil de ácidos graxos em favor de uma maior relação n3/n6 e, conseqüentemente, agregar valor nutricional e econômico a algumas espécies de peixes é sem dúvida, uma alternativa a ser explorada (RIBEIRO, 2007).

Essa informação é útil para ajudar os consumidores na escolha de peixes com base em seus valores nutricionais, além de complementar a informação piscícola. Atualmente o mercado consumidor procura alimentos com menor teor de gordura e melhor perfil de ácidos graxos. E isso pode ser manipulado pelas fontes de óleo utilizadas nas formulações da dieta produzindo pescados com menor deposição lipídica e perfil de ácidos graxos desejáveis (FERREIRA, 2008).

Do ponto de vista nutricional, pesquisas vêm sendo realizadas a fim de substituir óleo de peixe por óleos vegetais, com o intuito de alcançar melhores proporções de n3/n6 no músculo do peixe (MARTINO et al., 2002). Dessa forma, potencializa-se o valor nutricional para a saúde humana, já que os ácidos graxos altamente insaturados proporcionam diversos benefícios, como prevenção de doenças e, portanto, deve ter seu consumo aumentado (Souza; Anido; Tognon, 2007).

A substituição do óleo de peixe com os óleos vegetais pode causar um decréscimo no valor de EPA e DHA nos tecidos dos peixes e, conseqüentemente, do seu estado fisiológico, isto também pode alterar o seu valor nutricional, o que é relevante para o consumidor (Turchini; Torstensen; Ng, 2009). No entanto, tem sido demonstrado que alguns peixes de água doce têm uma capacidade inata para sintetizar EPA e DHA a partir de precursores com 18 átomos de carbono (Tan et al., 2009b). No mesmo sentido, tem se mostrado que ácidos graxos monossaturados e ácidos graxos saturados em menor medida podem ter um efeito "poupador de omega -3". Assim, uma disponibilidade abundante de MUFA e AGS dietética pode diminuir o catabolismo de n3 PUFA e resultar em uma maior taxa de deposição desses ácidos graxos nos filés de peixe que promovem a saúde (TURCHINI et al., 2011).

Tomando em consideração que a composição lipídica do músculo do peixe geralmente reflete a formulação das suas dietas, é um desafio incluir nutrientes dietéticos de promoção à fisiologia. Estes podem se transformar em produtos com efeitos benéficos para a saúde humana. Dentro do contexto da substituição de óleo de peixe em aquicultura, a modificação de ácidos graxos e maximização na deposição de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa n3 (EPA e DHA) estão atraindo cada vez mais interesse. Não existe informação disponível sobre como a composição lipídica em cachandiá é influenciada pelos ácidos graxos alimentares. Assim, mediante a determinação da composição lipídica pode-se inferir sobre a capacidade da espécie para usar diversas fontes lipídicas e a deposição de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa n3 nos tecidos.

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

As pesquisas com PUFAs aumentaram de forma expressiva nos últimos anos, visto a gama de funções metabólicas influenciadas por estes compostos. A complexidade do metabolismo dos lipídeos é a causa pela qual os ácidos graxos continuam sendo um dos nutrientes menos compreendidos na produção aquícola. Hoje em dia, ademais das suas funções clássicas, os estudos estão focados no papel dos AGE como reguladores do metabolismo celular e fisiologia animal, e sua importância para a saúde e crescimento dos peixes é inquestionável.

Ultimamente há uma preocupação por parte dos nutricionistas em utilizar fontes de lipídeos mais sustentáveis, como os óleos de origem vegetal, para compor as dietas aquícolas, principalmente para espécies tropicais onívoras. No entanto, os efeitos de tais substituições devem ser investigados com cautela, e se faz necessário um conhecimento mais profundo sobre as alterações no metabolismo e na fisiologia do peixe.

Porém, os trabalhos em peixes avaliando o efeito dessa classe de ácidos graxos no aproveitamento de carboidratos e suas implicações na histologia e parâmetros hepáticos, perfil de lipoproteínas plasmáticas, composição bromatológica e perfil lipídico em músculo e fígado são quase nulos no híbrido cachandiá.

Alguns aspectos básicos da nutrição foram abordados neste trabalho e espera-se que eles sirvam de ponto de partida para outros estudos sobre a interação entre ácidos graxos e carboidratos na nutrição e metabolismo dos peixes.

REFERÊNCIAS

- ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J.; URBINATI, E. C. Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Research**, London, v. 38, n. 1, p. 36-44, Jan. 2007.
- AHEARN, G. A. et al. Kinetic heterogeneity of Na-D-glucose cotransport in teleost gastrointestinal tract. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 263, n. 5, p. R1018-R1023, Nov. 1992.
- ÁLVAREZ-DÍAZ, A. et al. **Fisiología animal aplicada**. Medellín: Universidad de Antioquia, 2009.
- ALVAREZ, M. J. et al. Short-term modulation of lipogenesis by macronutrients in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 84, n. 5, p. 619-628, Nov. 2000.
- AMARAL, A. F. et al. Autometallography and metallothionein immunohistochemistry in hepatocytes of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) after exposure to cadmium and depuration treatment. **Biomarkers**, London, v. 7, n. 6, p. 491-500, Nov./Dec. 2002.
- ANDRADE, P. M.; CARMO, M. G. T. Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanóides, inflamação e imunidade. **Revista Mn-Metabólica**, São Paulo, v. 8, n. 3, p. -143, July/Sept. 2006.
- ASDARI, R.; ALIYU-PAIKO, M.; HASHIM, R. Effects of different dietary lipid sources in the diet for *Pangasius nasutus* (Bleeker, 1863) juveniles on growth performance, feed efficiency, body indices and muscle and liver fatty acid compositions. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 17, n. 4, p. E883-E891, Aug. 2011.
- BABIN, P. J.; VERNIER, J. M. Plasma lipoproteins in fish. **Journal of Lipid Research**, Rockville, v. 30, n. 4, p. 467-89, Apr. 1989.

BAKKE-MCKELLEP, A. M. et al. Absorption of glucose, amino acids, and dipeptides by the intestines of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Fish Physiology and Biochemistry**, The Netherlands, v. 22, n. 1, p. 33-44, Jan. 2000.

BANDARRA, N. M. et al. Effect of dietary conjugated linoleic acid on muscle, liver and visceral lipid deposition in rainbow trout juveniles (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 254, n. 1-4, p. 496-505, Apr. 2006.

BARTLEY, D. M.; RANA, K.; IMMINK, A. J. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, New York, v. 10, n. 3, p. 325-337, Sept. 2000.

BELL, J. G. et al. Growth, flesh adiposity and fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) families with contrasting flesh adiposity: effects of replacement of dietary fish oil with vegetable oils. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 306, n. 1-4, p. 225-232, Aug. 2010.

BELL, J. G. et al. Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 131, n. 5, p. 1535-1543, May 2001.

BELL, J. G. et al. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 132, n. 2, p. 222-230, Feb. 2002.

BOLLA, S.; NICOLAISEN, O.; AMIN, A. Liver alterations induced by long term feeding on commercial diets in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) females. Histological and biochemical aspects. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 312, n. 1-4, p. 117-125, Feb. 2011.

BOMBARDELLI, R. A. et al. Níveis de energia digestível sobre os desempenhos reprodutivo e zootécnico e a deposição de lipídeos nos hepatócitos de machos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 941-949, May 2010.

BOMBONATO, M. T. S. et al. Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus*. **Acta Scientiarum: biological sciences**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 81-85, Feb. 2007.

BOOTH, M. A.; MOSES, M. D.; ALLAN, G. L. Utilisation of carbohydrate by yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 376-379, n. 1, p. 151-161, Feb. 2013.

BORQUEZ, A. S. et al. Incorporation of whole lupin, *lupinus albus*, seed meal in commercial extruded diets for rainbow trout, *oncorhynchus mykiss*: effect on growth performance, nutrient digestibility, and muscle fatty acid composition. **Journal of the World Aquaculture Society**, Oxford, v. 42, n. 2, p. 209-221, Apr. 2011.

BOSKOU, D. Olive oil. In: GUNSTONE, F. D. (Org.). **Vegetable oils in food technology: composition, properties, and uses**. Oxford: John Wiley & Sons, 2002. Cap. 9, p. 244-273.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC N° 482 de 23 de setembro de 1999. Aprova regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais. **Diário Oficial da União**, Brasília, 13 out. 1999.

BRETT, M.; MÜLLER-NAVARRA, D. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 38, n. 3, p. 483-499, Dec. 1997.

BUREAU, D. P.; KAUSHIK, S. J.; CHO, C. Y. Bioenergetics. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Org.). **Fish Nutrition**. 3 ed. New York: Academic Press, 2002. Cap. 1, p. 1-59.

BURDGE, G. C.; CALDER, P. C. α -linolenic acid metabolism in adult humans: the effects of gender and age conversion to longer-chain polyunsaturated fatty acids. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 107, n. 6, p. 426-439, June 2005.

CABALLERO, M. J. et al. Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus aurata* L., caused by short- or long-term feeding with vegetable oils. Recovery of normal morphology after feeding fish oil as the sole lipid source. **Journal of Fish Diseases**, London, v. 27, n. 9, p. 531-541, Sept. 2004.

CABALLERO, M. J. et al. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 214, n. 1-4, p. 253-271, Nov. 2002.

CAMPOS, J. L. O cultivo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans* Spix & Agassiz, 1829) e outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. de C. (Org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, 2010. Cap. 12, p. 335-361.

CANO, J. C.; FLORENCIANO, A.; ALBORS, O. L. **Estômago, hígado, bazo y páncreas de los peces**. Múrcia: [s.n], 2010. Disponível em: <<http://www.um.es/anatvet/Documentos/Curso-Peces/pdfs/Estomago%20higado%20intestino%20bazo%20pancreas%20de%20los%20peces.pdf>>. Acesso em: 04 out. 2013.

CELIK, E. S. Blood chemistry (Electrolytes, Lipoproteins and Enzymes) values of black scorpion fish (*Scorpaena porcus* Linneaus, 1758) in the dardanelles, turkey. **Journal of Biological Sciences**, New York, v. 4, n. 6, p. 716-719, June 2004.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Biochemistry lippincott's illustrated reviews the point**. IIBaltimore: Wolters Kluwer Health, 2008.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica ilustrada**. 4 ed. Porto Alegre: ArtMed, 2010.

CHATZIFOTIS, S. et al. Effect of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and serum metabolites of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 307, n. 1-2, p. 65-70, Sept. 2010.

CHEE, K. et al. Fatty acid content of marine oil capsules. **Lipids**, Champaign, v. 25, n. 9, p. 523-528, Sept. 1990.

CODABACCUS, B. M. et al. An extended feeding history with a stearidonic acid enriched diet from parr to smolt increases n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids biosynthesis in white muscle and liver of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 322-323, n. 1, p.65-73, Dec. 2011.

COLLIE, N. L.; FERRARIS, R. P. Chapter 9 nutrient fluxes and regulation in fish intestine. In: HOCHACHKA, P. W.; MOMMSEN, T. P. (Org.). **Biochemistry and molecular biology of fishes**: volume 4. Vancouver: Elsevier, 1995. p. 221-239.

COWEY, C. B.; WALTON, M. J. Intermediary metabolism. In: HALVER, J. E. (Org.). **Fish nutrition**: volume 2. Washington: Academic Press, 1989. p.1-29.

CREPALDI, D. V. et al. O surubim na aquacultura do Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 30, n.3-4, p. 150-158, jul.dez. 2006.

CROUSE, C. C. et al. Use of alternative lipids and finishing feeds to improve nutritional value and food safety of hybrid striped bass. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 408–409, n. 1, p. 58-69, Sept. 2013.

DABROWSKI, K.; GUDERLEY, H. Intermediary Metabolism. In: HALVER, J. E. e HARDY, R. W. (Orgs.). **Fish Nutrition**. 3. New York: Academic Press, 2002. cap. 6, p.309-365.

D'ALESSANDRO, M. E.; CHICCO, A.; LOMBARDO, Y. B. Dietary fish oil reverses lipotoxicity, altered glucose metabolism, and nPKC ϵ translocation in the heart of dyslipemic insulin-resistant rats. **Metabolism**, Boston, v. 57, n. 7, p. 911-919, July 2008.

DAS, U. N. Long-chain polyunsaturated fatty acids in the growth and development of the brain and memory. **Nutrition**, Burbank, v. 19, n. 1, p. 62-65, Jan. 2003.

DENG, J. et al. Interactive effects of dietary cholesterol and protein sources on growth performance and cholesterol metabolism of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 16, n. 4, p. 419-429, Aug. 2010.

DU, Z. Y. et al. Biochemical hepatic alterations and body lipid composition in the herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed high-fat diets. **British Journal of Nutrition**, Oxford, v. 95, n. 5, p. 905-915, May 2006.

DU, Z. Y. et al. Utilization of different dietary lipid sources at high level in herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*): mechanism related to hepatic fatty acid oxidation. **Aquaculture Nutrition**, London, v. 14, p. 77-92, Feb. 2008.

ELIASON, E. J. et al. The effect of hepatic passage on postprandial plasma lipid profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after a single meal. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 16, n. 5, p. 536-543, Oct. 2010.

ENDO, H. et al. Enzyme sensor system for determination of total cholesterol in fish plasma. **Fisheries Science**, London, v. 69, n. 6, p. 1194-1199, Dec. 2003.

ENES, P. et al. Insulin and IGF-I response to a glucose load in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 315, n. 3–4, p. 321-326, 2011.

ENES, P. et al. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, The Netherlands, v. 35, n. 3, p. 519-539, Aug. 2009.

FERRARIS JUNIOR, C. J. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. **Zootaxa**, Auckland, v. 1418, p.1-618, Mar. 2007.

FERREIRA, M. W. **Fontes de óleo da dieta na composição do músculo, lipoproteínas plasmáticas, imunidade inata e resistência de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus* L. 1757)**. 2008. 57 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

FERREIRA, M. W. et al. Influence of dietary oil sources on muscle composition and plasma lipoprotein concentrations in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, London, v. 42, n. 1, p. 24-33, Feb. 2011.

FIGUEIREDO-SILVA, A. et al. Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, n. 2, p. 147-155, Apr. 2005.

FLORES-LOPES, F.; MALABARBA, L. R. Alterações histopatológicas observadas no fígado do lambari *Astyanax jacuhiensis* (Cope, 1894) (Teleostei, Characidae) sob influência de efluentes petroquímicos. **Biociências**, Porto Alegre, v. 15, n. 2, p. 166-172, jul. 2007.

GAO, W. et al. Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth performance, body composition, nutrient utilization and hepatic enzymes activities of herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 16, n. 3, p. 327-333, June 2010.

GAO, J. et al. Effects of dietary palm oil supplements with oxidized and non-oxidized fish oil on growth performances and fatty acid compositions of juvenile Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 324-325, n. 1, p. 97-103, 2012.

GATTA, P. P. et al. Growth, feed utilization and liver histology of juvenile common sole (*Solea solea* L.) fed isoenergetic diets with increasing protein levels. **Aquaculture Research**, London, v. 42, n. 3, p. 313-321, Feb. 2011.

- GAYLORD, T. G.; GATLIN III, D. M. Dietary lipid level but not l-carnitine affects growth performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* ♀×*M. saxatilis* ♂). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 190, n. 3–4, p. 237-246, Nov. 2000.
- GBORE, F. et al. Growth performance, haematology and serum biochemistry of African catfish (*Clarias gariepinus*) fingerlings fed graded levels of dietary fumonisin B1. **Mycotoxin Research**, New York, v. 26, n. 4, p. 221-227, Nov. 2010.
- GRACIANO, T. S. et al. Desempenho e morfologia hepática de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas suplementadas com metionina e colina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.7, p.737-743, Jul. 2010.
- GRIMM, H. et al. Regulatory potential of n-3 fatty acids in immunological and inflammatory processes. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 87, p.S59-S67, Jan. 2002.
- GUILLAUME, J. et al. Síntesis y movilización del glucógeno. In: BLANCO, A. S. (Org.). **Nutrición y alimentación de peces y crustáceos**. Madrid: Mundi-Prensa, 2004. p.177.
- GÜROY, B. et al. Effect of autoclaved Ulva meal on growth performance, nutrient utilization and fatty acid profile of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture International**, New York, v. 21, n. 3, p. 605-615, June 2013.
- HANSEN, J. Ø. et al. Apparent digestion and apparent retention of lipid and fatty acids in Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed increasing dietary lipid levels. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 284, n. 1-4, p. 159-166, Nov. 2008.
- HARMON, K. J.; BOLINGER, M. T.; RODNICK, K. J. Carbohydrate energy reserves and effects of food deprivation in male and female rainbow trout. **Comparative Biochemistry and Physiology A: molecular & integrative physiology**, New York, v. 158, n. 4, p. 423-431, Apr. 2011.
- HASHIMOTO, D. T. et al. Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. **Reviews in Aquaculture**, Weinheim, v. 4, n. 2, p. 108-118, June 2012.
- HEMRE, G. I.; MOMMSEN, T. P.; KROGDAHL, A. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 175-194, Sept. 2002.

HEPHER, B. Principles of fish nutrition. In: SHILO, M.; SARIG, S. (Org.). **Fish culture in warm water systems: problems and trends**. Boca Raton: CRC Press, 1989. p. 121-141.

HOLME, M. H.; SOUTHGATE, P. C.; ZENG, C. Survivor, development and growth response of mud crab, *Scylla serrata*, megalopae feed semi-purified diets containing various fish oil: corn oil ratios. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 269, n. 1-4, p. 427-435, Sept. 2007.

IZQUIERDO, M. S. et al. Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 9, n. 6, p. 397-407, Dec. 2003.

JORDAL, A. E. O.; LIE, Ø.; TORSTENSEN, B. E. Complete replacement of dietary fish oil with a vegetable oil blend affect liver lipid and plasma lipoprotein levels in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, n. 2, p. 114-130, Apr. 2007.

KAJIKAWA, S. et al. Highly purified eicosapentaenoic acid prevents the progression of hepatic steatosis by repressing monounsaturated fatty acid synthesis in high-fat/high-sucrose diet-fed mice. **Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids**, Boston, v. 80, n. 4, p.2 29-238, Apr. 2009.

KAVITHA, C. et al. Toxicity of Moringa oleifera seed extract on some hematological and biochemical profiles in a freshwater fish, *Cyprinus carpio*. **Experimental and Toxicologic Pathology**, Hannover, v. 64, n. 7-8, p. 681-687, Nov. 2012.

KJÆR, M. A. et al. Characterisation of lipid transport in Atlantic cod (*Gadus morhua*) when fasted and fed high or low fat diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 288, n. 3-4, p. 325-336, Mar. 2009.

KOCHHAR, S. P. Sesame, rice-bran and flaxseed oils. In: GUNSTONE, F. D. (Org.). **Vegetable oils in food technology: composition, properties, and uses**. London: John Wiley & Sons, 2002. Cap. 11, p. 297-320.

KROGDAHL, A.; HEMRE, G. I.; MOMMSEN, T. P. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, n. 2, p. 103-122, Apr. 2005.

KOWALSKA, A. et al. Effect of different dietary lipid levels on growth performance, slaughter yield, chemical composition, and histology of liver and

intestine of pikeperch, *Sander lucioperca*. **Czech Journal of Animal Science**, Keilová, v. 56, n. 3, p. 136-149, 2011b.

KOWALSKA, A. et al. Impact of diets with vegetable oils on the growth, histological structure of internal organs, biochemical blood parameters, and proximate composition of pikeperch *Sander lucioperca* (L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 301, n. 1-4, p. 69-77, Mar. 2010.

KOWALSKA, A. et al. Substituting vegetable oil for fish oil in pikeperch diets: the impact on growth, internal organ histology, blood biochemical parameters, and proximate composition. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 17, n. 2, p.E148-E163, 2011a.

LANGIANO, V. D. C. **Toxicidade do Roundup® e seus efeitos para o peixe neotropical *Prochilodus lineatus***. 2006. 63 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
LEVENE, A. P.; GOLDIN, R. D. The epidemiology, pathogenesis and histopathology of fatty liver disease. **Histopathology**, Oxford, v. 61, n. 2, p. 141-152, Aug. 2012.

LI, X. F. et al. Effects of dietary carbohydrate/lipid ratios on growth performance, body composition and glucose metabolism of fingerling blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 19, n. 5, p. 701-708, Oct. 2013.

LONDERO, L. G. **Efeitos de ácidos graxos poli-insaturados sobre parâmetros do metabolismo intermediário de ratos Wistar**. 2008. 139 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas-Bioquímica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

LU, K.-L. et al. Hepatic triacylglycerol secretion, lipid transport and tissue lipid uptake in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fed high-fat diet. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 408-409, n. 1, p. 160-168, Sept. 2013.

LUO, Z. et al. Effects of dietary fatty acid composition on muscle composition and hepatic fatty acid profile in juvenile *Synechogobius hasta*. **Journal of Applied Ichthyology**, Oxford, v. 24, n. 1, p. 116-119, Feb. 2008.

MADSEN, L.; PETERSEN, R. K.; KRISTIANSEN, K. Regulation of adipocyte differentiation and function by polyunsaturated fatty acids. **Biochimica et Biophysica Acta: molecular basis of disease**, Amsterdam, v. 1740, n. 2, p. 266-286, May 2005.

MAITA, M. Fish health assessment. In: NAKAGAWA, H.; SATO, M.; GATLIN III, D. M. (Org.). **Dietary supplements for the health and quality of cultured fish**. Cambridge: CAB International, 2007. p.10 - 34.

MATEO, F. J.; DELGADO, N.; LÓPEZ, H. Caracterización morfométrica del híbrido Yaque pintado (*Pseudoplatystoma Fasciatum x Leiarius Marmoratus*) y sus progenitores (Siluriformes: Pimelodidae). **Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias**, Maracay, v. 49, n. 1, p. 47-60, June 2008.

MARTINEZ-RUBIO, L. et al. Effect of dietary digestible energy content on expression of genes of lipid metabolism and LC-PUFA biosynthesis in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 384–387, n. 1, p.94-103, Mar. 2013.

MARTINO, R. C. et al. Performance and fatty acid composition of surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) fed diets with animal and plant lipids. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 209, n. 1-4, p. 233-246, June 2002.

MCNAMARA, D. J. Dietary cholesterol and atherosclerosis. **Biochimica et Biophysica Acta**, London, v. 1529, p. 310-320, Sept. 2000.

MENOYO, D. et al. Adaptation of lipid metabolism, tissue composition and flesh quality in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) to the replacement of dietary fish oil by linseed and soyabean oils. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 92, n. 1, p. 41-52, July 2004.

MENOYO, D. et al. Dietary fat type affects lipid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) and differentially regulates glucose transporter GLUT4 expression in muscle. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, n. 1, p. 294-304, Nov. 2006.

MENOYO, D. et al. Growth, digestibility and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 225, n. 1–4, p. 295-307, July 2003.

MESSINA, M. et al. Lipid composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) fed diets containing wheat gluten and legume meals as substitutes for fish meal. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 376–379, n. 1, p. 6-14, Feb. 2013.

MOMMSEN, T. P.; PLISETSKAYA, E. M. Insulin in fishes and agnathans: history, structure, and metabolic regulation. **Reviews in Aquatic Sciences**, Boca Raton, v. 4, p. 225-259, Apr. 1991.

MONSTERFISHKEEPERS. My new addition: reticulated tiger shovelnose (*Pseudoplatystoma reticulatum*). Tucson: [s.n], 2010. Disponível em: <[http://www.monsterfishkeepers.com/forums/showthread.php?370843-My-new-addition-Reticulated-Tiger-shovelnose-\(Pseudoplatystoma-reticulatum\)](http://www.monsterfishkeepers.com/forums/showthread.php?370843-My-new-addition-Reticulated-Tiger-shovelnose-(Pseudoplatystoma-reticulatum))>. Acesso em: Nov. 2013.

MOREAU, R. A. Corn oil. In: GUNSTONE, F. D. (Org.). **Vegetable oils in food technology: composition, properties, and uses**. London: John Wiley & Sons, 2002. Cap. 10, p. 278-52.

NAGEL, F. et al. Nutritional evaluation of rapeseed protein isolate as fish meal substitute for juvenile turbot (*Psetta maxima* L.): impact on growth performance, body composition, nutrient digestibility and blood physiology. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 356–357, n. 1, p. 357-364, Aug. 2012.

NANTON, D. A. et al. Muscle lipid storage pattern, composition, and adipocyte distribution in different parts of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed fish oil and vegetable oil. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 265, n. 1–4, p. 230-243, May 2007.

NANTON, D. A.; MCNIVEN, M. A.; LALL, S. P. Serum lipoproteins in haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, n. 5, p. 363-371, Oct. 2006.

NASOPOULOU, C.; ZABETAKIS, I. Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. A review. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 47, n. 2, p. 217-224, July 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington: The National Academic Press, 2011.

NELSON, D. L.; COX, M. M.; TILLBERRY, S. **Lehninger principles of biochemistry**. New York: Worth, 2002. 1 CD ROM.

NG, W.-K. et al. Effects of dietary fish and vegetable oils on the growth, tissue fatty acid composition, oxidative stability and vitamin E content of red hybrid tilapia and efficacy of using fish oil finishing diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 372–375, n. 1, p. 97-110, Jan. 2013.

- NORAMBUENA, F. et al. Dietary modulation of arachidonic acid metabolism in senegalese sole (*Solea Senegalensis*) broodstock reared in captivity. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 372–375, n. 1, p. 80-88, Jan. 2013.
- NUÑEZ, J. et al. Induced breeding and larval rearing of Surubí, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), from the Bolivian Amazon. **Aquaculture Research**, London, v. 39, n. 7, p. 764-776, May 2008.
- OLIVEIRA, R. H. F. D. et al. O extrato de maracujá sobre a morfometria de hepatócitos da tilápia do Nilo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 12, p. 2562-2567, Dec. 2010.
- PANSERAT, S. et al. Hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression is not repressed by dietary carbohydrates in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **The Journal of Experimental Biology**, Edinburgh, v. 204, n. 2, p. 359-365, Jan. 2001.
- PÁRRIZAS, M. et al. Up-regulation of insulin binding in fish skeletal muscle by high insulin levels. **Regulatory Peptides**, Oulu, v. 53, n. 3, p. 211-222, Oct. 1994.
- PAULINO, R. R. **Inclusão de lipídeos e carboidratos em dietas de cachadiaz (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*)**. 2013. 78 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- PAVLIDIS, M. et al. Blood cell profile of six Mediterranean mariculture fish species. **Journal of Applied Ichthyology**, Neu Wulmstorf, v. 23, n. 1, p. 70-73, Feb. 2007.
- PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; FURUYA, W. M. Valor nutritivo dos alimentos utilizados na formulação de rações para peixes tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, nesp., p. 43-51, July 2009.
- PLAGNES-JUAN, E. et al. Insulin regulates the expression of several metabolism-related genes in the liver and primary hepatocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **The Journal of Experimental Biology**, Edinburgh, v. 211, n. 15, p. 2510-2518, Aug. 2008.
- PORTO-FORESTI, F. et al. Genetic markers for the identification of hybrids among catfish species of the family Pimelodidae. **Journal of Applied Ichthyology**, Oxford, v. 29, n. 3, p. 643-647, June 2013.

- PRADO, F. D. D. et al. Cytogenetic characterization of F1, F2 and backcross hybrids of the Neotropical catfish species *Pseudoplatystoma corruscans* and *Pseudoplatystoma reticulatum* (Pimelodidae, Siluriformes). **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 57-64, Feb. 2012.
- RAJABIPOUR, F. et al. Comparison of serum enzyme activity in great sturgeon, *Huso huso*, cultured in brackish and freshwater earth ponds in Iran. **Comparative Clinical Pathology**, New York, v. 19, n. 3, p. 301-305, June 2010.
- RAMÍREZ, D. W. et al. Toxicidad aguda y lesiones histopatológicas en cachama blanca (*Piaractus brachyomus*) expuestas a la mezcla de herbicida roundup® más surfactante cosmoflux® 411f. **Revista MVZ Córdoba**, Montería, v. 14, n. 1, p. 1563-1575, Jan./Apr. 2009.
- RESENDE, E. K. et al. **Melhoramento animal no Brasil: uma visão crítica espécies aquáticas**. Brasília [s.n], 2010. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/24561/1/5.pdf>>. Acesso em: 03/03/2013.
- RIBEIRO, P. A. P. **Efeito de fontes de ácidos graxos na dieta e da redução da temperatura sobre o metabolismo lipídico de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*)**. 2007. 162 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- RIBEIRO, P. A. P. et al. Efeito do uso de óleo na dieta sobre a lipogênese e o perfil lipídico de tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 8, p.1331-1337, Aug. 2008.
- RIBEIRO, P. A. P. et al. Parâmetros metabólicos de pacus alimentados com diferentes fontes de óleo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 8, p. 1035-1042, Aug. 2013.
- RIOS, F. S. et al. Liver histopathology and accumulation of melano-macrophage centres in *Hoplias malabaricus* after long-term food deprivation and re-feeding. **Journal of Fish Biology**, London, v. 71, n. 5, p. 1393-1406, Nov. 2007.
- RUSSELL, P. M. et al. Influence of dietary starch source on liver morphology in juvenile cultured European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture Research**, London, v. 32,1, p. S306-S314, Dec. 2001.

SAMPATH, H.; NTAMBI, J. M. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 25, n. 1, p. 317-340, July 2005.

SARGENT, J. R.; TOCHER, D. R.; BELL, J. G. The lipids. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Org.). **Fish nutrition**. New York: Academic Press, 2002. Cap. 4, p. 182-259.

SCHMITZ, G.; ECKER, J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 47, n. 2, p. 147-155, Mar. 2008.

SCHULZ, C. et al. Effects of varying dietary fatty acid profile on growth performance, fatty acid, body and tissue composition of juvenile pike perch (*Sander lucioperca*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, n. 6, p. 403-413, Dec. 2005.

SILVA, C. A. da; MASSARO, M. Influência da sazonalidade na mobilização das reservas de glicogênio do peixe elétrico *Gymnotus carapo* Miller, 1966 (Osteichthyes, Gymnotidae). **Zoociências**, Juiz de Fora, v. 8, n. 1, p. 61-66, Apr. 2006.

SOUZA, S. M. G.; ANIDO, R. J. V.; TOGNON, F. C. Ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 na nutrição de peixes fontes e relações. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 6, n. 1, p. 63-71, Oct. 2007.

STONE, D. A. J. Dietary carbohydrate utilization by fish. **Reviews in Fisheries Science**, Groton, v. 11, n. 4, p. 337-369, Oct. 2003.

TAN, Q. et al. Effect of high dietary starch levels on the growth performance, blood chemistry and body composition of gibel carp (*Carassius auratus* var. gibelio). **Aquaculture Research**, London, v. 40, n. 9, p. 1011-1018, June 2009a.

TAN, X.-Y. et al. Effect of dietary linolenic acid/linoleic acid ratio on growth performance, hepatic fatty acid profiles and intermediary metabolism of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 296, n. 1-2, p. 96-101, Nov. 2009b.

TEOH, C.-Y.; TURCHINI, G. M.; NG, W.-K. Erratum to “Genetically improved farmed Nile tilapia and red hybrid tilapia showed differences in fatty acid metabolism when fed diets with added fish oil or a vegetable oil blend”. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 316, n. 1-4, p. 144-154, June 2011.

TEROVA, G. et al. In vivo regulation of GLUT2 mRNA in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in response to acute and chronic hypoxia. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: biochemistry and molecular biology**, New York, v. 152, n. 4, p. 306-316, Abr. 2009.

TOCHER, D. R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Reviews in Fisheries Science**, Groton, v. 11, n. 2, p. 107-184, Apr. 2003.

TODORČEVIĆ, M. et al. Changes in fatty acids metabolism during differentiation of Atlantic salmon preadipocytes; Effects of n-3 and n-9 fatty acids. **Biochimica et Biophysica Acta: molecular and cell biology of lipids**, Amsterdam, v. 1781, n. 6-7, p. 326-335, June 2008.

TORRES R, G. A.; GONZÁLEZ, P. S.; PEÑA, S. E. Descripción anatómica, histológica y ultraestructural de la branquia e hígado de tilapia (*Oreochromis niloticus*). **International Journal of Morphology**, Temuco, v. 28, n. 3, p. 703-712, Sept. 2010.

TORSTENSEN, B. E.; FRØYLAND, L.; LIE, Ø. Replacing dietary fish oil with increasing levels of rapeseed oil and olive oil: effects on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) tissue and lipoprotein lipid composition and lipogenic enzyme activities. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 10, n. 3, p. 175-192, June 2004.

TORSTENSEN, B. E.; TOCHER, D. R. The effects of fish oil replacement on lipid metabolism of fish. In: TURCHINI, G. M.; NG, W. K.; TOCHER, D. R. (Org.). **Oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds**. Boca Ratón CRC Press, 2010. p. 405-438.

TURCHINI, G. M. et al. Fish oil replacement with different vegetable oils in Murray cod: Evidence of an "omega-3 sparing effect" by other dietary fatty acids. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 315, n. 3-4, p. 250-259, May 2011.

TURCHINI, G. M.; TORSTENSEN, B. E.; NG, W.-K. Fish oil replacement in finfish nutrition. **Reviews in Aquaculture**, Weinheim, v.1, n.1, p.10-57, Mar. 2009.

VEGUSDAL, A. et al. Effect of 18:1n-9, 20:5n-3, and 22:6n-3 on lipid accumulation and secretion by atlantic salmon hepatocytes. **Lipids**, Champaign, v. 40, n. 5, p. 477-486, May 2005.

VISENTAINER, J. V. **Composição de ácidos graxos e quantificação dos ácidos graxos LNA, EPA e DHA no tecido muscular de tilápias**

(*Oreochromis niloticus*), submetidas a diferentes tratamentos com óleo de linhaça. 2003. 192 p. Tese Doutorado (Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

XU, H. et al. Effects of dietary arachidonic acid on growth performance, survival, immune response and tissue fatty acid composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 307, n. 1-2, p. 75-82, Sept. 2010.

WASSEF, E. A.; WAHBY, O. M.; SAKR, E. M. Effect of dietary vegetable oils on health and liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*) growers. **Aquaculture Research**, London, v. 38, n. 8, p. 852-861, June 2007.

WETWEBMEDIA. **Shovelnoses, pictus, tigers and more, the antennae catfishes, family pimelodidae.** San Diego: [s.n], 2011. Disponível em: <<http://www.wetwebmedia.com/fwswebindex/Catfish%20PIX/Pimelodid%20PIX/Leiarius%20marmoratus.jpg>>. Acesso em: 15 nov. 2013.

WILSON, R. P. Utilization of dietary carbohydrate by fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 124, n. 1-4, p. 67-80, July 1994.

WRIGHT, P. A.; LAND, M. A. Urea production and transport in teleost fishes. **Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology**, New York, v. 119, n. 1, p. 47-54, Jan. 1998.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

Artigo 1 **Parâmetros metabólicos e histologia hepática do híbrido de**
Pseudoplatystoma reticulatum x *Leiarius marmoratus*
alimentados com diferentes fontes energéticas

Artigo normalizado de acordo com as normas para submissão do periódico

Aquaculture

1 **Parâmetros metabólicos e histologia hepática do híbrido de**
2 ***Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus* alimentados com**
3 **diferentes fontes energéticas**

4
5 Martha Janeth Prieto-Guevara ^{a,b}, Renan R. Paulino ^a, Daniel Okamura ^a,
6 Yamid F. Hernández-Julio ^c, Priscila V. e Rosa ^a.

7
8 ^a Universidade Federal de Lavras, Departamento de Zootecnia, PO Box
9 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

10 ^b Centro de investigación piscícola – CINPIC, Departamento de Ciencias
11 Acuícolas, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia.

12 ^c Universidade Federal de Lavras, Departamento de Engenharia, PO Box
13 3037, CEP 37200-000, Lavras MG, Brasil.

14
15

16 **RESUMO**

17

18 O presente estudo teve como objetivo avaliar a influência dos níveis
19 de amido e diferentes fontes de óleos nas dietas sobre os parâmetros
20 metabólicos e histologia hepática em híbrido de *Pseudoplatystoma*
21 *reticulatum x Leiarius marmoratus*. O experimento foi realizado no
22 laboratório de metabolismo de peixes da Universidade Federal de Lavras
23 (UFLA), com duração de 60 dias. Foram utilizados 520 juvenis do
24 híbrido, com peso médio de 82,87g, mantidos em caixas de 100L, em
25 sistema de recirculação, a uma temperatura média de 27,8±0,3°C.
26 Delineamento experimental inteiramente ao acaso com oito tratamentos
27 em esquema fatorial 2x4 (dois níveis de amido de milho 5 e 25% e
28 quatro fontes de óleo linhaça, oliva, milho e peixe). Cada tratamento foi
29 fornecido a 5 caixas, totalizando 40 parcelas. Realizou-se coleta aos 60
30 dias de experimento. Foram determinadas as concentrações de proteína,
31 glicose e triglicerídeos no soro, músculo e fígado; a magnitude de
32 vacuolização e porcentagem de deposição de lipídeos e glicogênio; e
33 índice hepatossomático (IHS). As concentrações de proteína e
34 triglicerídeos no fígado apresentaram efeito independente dos níveis de
35 amido e fontes de óleo (P<0,05). As concentrações de proteína no
36 músculo, glicose e triglicerídeos no soro apresentaram efeito da interação
37 significativa (P<0,05) entre os níveis de amido e as fontes de óleo na
38 dieta (P<0,05). As concentrações de proteína sérica, glicose hepática e
39 triglicerídeos muscular não apresentaram efeito dos níveis de amido nem

1 das fontes de óleo nas dietas ($P>0,05$). A glicose muscular foi afetada
2 pelas fontes de óleo na dieta ($P<0,05$). O IHS foi maior com 25% de
3 amido ao ser influenciado ($P<0,05$) pelos níveis de amido. A interação
4 entre os diferentes níveis de amido e fontes de óleo empregados na dieta
5 interferiram na deposição das reservas, lipídeos e glicogênio, assim
6 como na estrutura do parênquima hepático ($p<0,05$). Conclui-se que as
7 diferentes fontes de óleo e níveis de amido afetam o metabolismo do
8 híbrido. A relação n3/n6 é importante para o metabolismo e a eficiência
9 no uso das diferentes fontes de óleo vai depender desta relação. O
10 híbrido tem a capacidade de metabolizar altos níveis de amido sem
11 alterar a glicemia hepática, no entanto estes níveis demandam um
12 esforço metabólico que afeta diretamente a estrutura do parênquima
13 hepático e o IHS. Dietas com altos níveis de PUFAs e baixa
14 concentração de ácidos graxos saturados promove acumulação de
15 lipídeos hepáticos.

16

17 Palavras chave: Ácidos graxos, Proteína, Glicose, Triglicerídeos,
18 Glicogênio, Vacuolização, Peixes.

19

20 Abreviações: AG: ácidos graxos; SFA: ácidos graxos saturados;
21 MUFA: ácidos graxos monosaturados; PUFA: ácidos graxos
22 poliinsaturados; HUFA: ácidos graxos altamente poliinsaturados; IHS:
23 índice hepatossomático; OV: óleo vegetal; LO: óleo de linhaça; CO:
24 óleo de milho; OO: óleo de oliva; FO: óleo de peixe; EPA: ácido
25 eicosapentaenoico; DHA: ácido docosaheptaenoico; TAG:
26 triglicerídeos; CHO: carboidrato.

27

28 Permanent address: Centro de investigación piscícola – CINPIC,
29 Departamento de Ciencias Acuáticas, Universidad de Córdoba, Carrera 6
30 No. 76-103, Montería, Colombia, Código Postal: 230002, Tel.: + 55 35
31 84289205 +57 4 7909806.

32 E-mail address: mjprietoguevara@yahoo.com

33

34

35 1. Introdução

36

37 O Cachandiá é originário do cruzamento entre a fêmea do cachara
38 (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e o macho do jandiá (*Leiarius*
39 *marmoratus*), espécies carnívora e onívora, respectivamente, que

1 pertencem à família pimelodidae (Porto-Foresti et al., 2013). Este híbrido
2 geralmente apresenta melhor desempenho em relação aos puros,
3 aumento de tolerâncias ambientais e resistência às condições de cultivo
4 (Hashimoto et al., 2012). Devido ao seu alto desempenho e excelente
5 valor de mercado, seu cultivo em produção intensiva em algumas regiões
6 brasileiras tem se intensificado. Para atender a este aumento na produção
7 faz-se necessário um maior conhecimento sobre a nutrição desta espécie.

8 Carboidratos incluídos em níveis adequados em dietas para peixes
9 podem assegurar uma melhor eficiência na utilização de outros
10 nutrientes, além de ser uma fonte energética abundante e de baixo custo
11 em relação aos lipídeos e as proteínas (Krogdahl; Hemre; Mommsen,
12 2005). As espécies onívoras e herbívoras geralmente toleram maiores
13 níveis de carboidratos que as espécies carnívoras (Wilson, 1994). Por se
14 tratar de um híbrido originado entre o cruzamento de um peixe carnívoro
15 e onívoro, não se sabe de que forma estes animais se adaptam a
16 diferentes níveis de amido na dieta.

17 Peixes alimentados com dietas contendo diferentes fontes de ácidos
18 graxos podem apresentar várias adaptações no metabolismo de lipídeos.
19 Além disso, os ácidos graxos desempenham inúmeras funções
20 metabólicas, inclusive no metabolismo de carboidratos. Escassos são os
21 trabalhos encontrados que avaliam a interação entre lipídeos e
22 carboidratos em dietas de peixes.

23 Nos peixes, os altos níveis de óleo vegetal na dieta têm sido
24 associados ao aumento de triglicerídeos hepáticos (Jordal; Lie;
25 Torstensen, 2007). Estes também são associados a degenerações na
26 estrutura histológica do tecido hepático (Caballero et al., 2004; Caballero
27 et al., 2002; Kowalska et al., 2011a; Wassef; Wahby; Sakr, 2007), bem
28 como o acúmulo dos vacúolos lipídicos nos hepatócitos (Caballero et al.,
29 2004; Kowalska et al., 2011b).

30 O fígado é juntamente com o músculo o local de reserva de
31 glicogênio. Essa reserva tem importância especial para a manutenção dos
32 níveis de glicose pós-prandial no sangue e no músculo estriado, a fim de
33 suportar a função contrátil (Hemre; Mommsen; Krogdahl, 2002). Os
34 peixes mantêm as reservas de glicogênio elevadas como estratégia
35 metabólica visando à sobrevivência frente às mudanças (Silva; Massaro,
36 2006).

37 O fígado é o órgão que metaboliza quase todas as substâncias que
38 nele chegam por via sanguínea, portanto, serve como referência

1 histológica, paramétrica e funcional, para a análise da atividade ou dano
2 tecidular causado por fatores nutricionais (Amaral et al., 2002). A
3 maioria dos efeitos regulatórios da utilização e metabolização dos
4 nutrientes, inicialmente ocorre no fígado, assim conseqüentemente afeta
5 uma cascata de outros eventos em outros tecidos e órgãos (Enes et al.,
6 2009).

7 Análises de parâmetros bioquímicos no soro, fígado e músculo são
8 úteis principalmente para detecção e diagnóstico do equilíbrio
9 metabólico (Pavlidis et al., 2007). Geralmente os biomarcadores glicose,
10 triglicerídeos, e proteína total, entre outros, são utilizados para avaliar a
11 fisiologia dos animais (Kavitha et al., 2012; Lu et al., 2013).

12 Deste modo, o presente estudo teve como objetivo avaliar a
13 influência dos níveis de amido e de fontes de óleos em dietas sobre os
14 parâmetros metabólicos e histologia hepática do híbrido Cachandiá
15 (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*).

16

17

18 **2. Material e métodos**

19

20 **2.1. Instalações e delineamento experimental**

21

22 O experimento, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais
23 da UFLA (protocolo nº 028/12), foi realizado na Estação de Piscicultura,
24 do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Lavras –
25 UFLA, MG, Brasil. Esse foi conduzido em um sistema com recirculação
26 de água, provido com 40 caixas circulares de fibra de vidro, com
27 capacidade total 100 litros cada. Este sistema é composto por bomba
28 elétrica, biofiltro, filtro de areia e filtro ultravioleta. O fluxo na estrutura
29 permite três renovações totais de água a cada hora nas caixas. A
30 temperatura da água ($27,8 \pm 0,3$ °C) e foto período (12 h luz: 12 h escuro)
31 foram controlados no sistema e laboratório. Os valores de oxigênio
32 dissolvido (DO_2) ($3,6 \pm 0,5$ mg/L), e pH ($7,1 \pm 0,3$ mg/L) foram mantidos
33 dentro da faixa ótima para a espécie.

34 Adotou-se um Delineamento experimental Inteiramente
35 Casualizado, com oito tratamentos em esquema fatorial 2x4 (dois níveis
36 de amido de milho 5 e 25% e quatro fontes de óleo linhaça, oliva, milho
37 e peixe). Cada dieta foi fornecida a cinco caixas, totalizando 40 parcelas.
38 Cada parcela foi constituída por 13 peixes. Um total de 520 juvenis do

1 híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* com
2 peso médio inicial de 82,87g ± 25,36g, distribuídos aleatoriamente nas
3 parcelas, foram mantidos nesse laboratório por 80 dias, sendo 20 dias de
4 adaptação ao sistema e ao manejo, e 60 dias de fornecimento das
5 diferentes dietas experimentais. Os juvenis foram alimentados duas vezes
6 ao dia, às 8:00 e às 17:00 horas, e as caixas foram limpas após cada
7 alimentação, para coleta dos restos de dieta e retirada das excretas. A
8 quantidade fornecida foi ajustada diariamente, conforme a saciedade dos
9 juvenis.

10

11 2.2. Dietas experimentais

12

13 Foram formuladas oito dietas experimentais para serem isoprotéicas e
14 isoenergéticas com 42% de proteína bruta e 4055 kcal/kg de energia bruta.
15 Os óleos utilizados foram o óleo de linhaça (LO; rico em 18:3n3), óleo de
16 milho (CO; rico em 18:2n6), óleo de oliva (OO; rico em 18:1n9) e óleo de
17 peixe (FO, rico em EPA e DHA) (Tabela 1). As dietas foram processadas
18 e peletizadas no Laboratório de Nutrição do Departamento de Zootecnia
19 da UFLA. A composição centesimal das dietas experimentais está
20 apresentada na Tabela 2. A composição de ácidos graxos das dietas
21 experimentais está apresentada na Tabela 3. A dieta FO teve a maior
22 quantidade de EPA (20:5n3), DHA (22:6n3) e razão n3/n6. O maior
23 conteúdo de SFA foi registrado na dieta FO, o maior conteúdo de MUFA
24 na dieta OO e o maior conteúdo de PUFA na dieta LO.

1

Tabela 1
Formulação das dietas experimentais.

Ingredientes	5% Amido				25% Amido			
	LO ^b	CO	OO	FO	LO	CO	OO	FO
Farinha de peixe ^a	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Gelatina	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Ovoalbumina	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
Farelo de soja	11,17	11,17	11,17	11,17	11,17	11,17	11,17	11,17
Óleo de linhaça (AG ω3)	11,00	-	-	-	2,20	-	-	-
Óleo de milho (AG ω6)	-	11,00	-	-	-	2,20	-	-
Óleo de oliva (AG ω9)	-	-	11,00	-	-	-	2,20	-
Óleo de peixe (AG EPA/DHA)	-	-	-	11,00	-	-	-	2,20
Amido de milho ^c	5,00	5,00	5,00	5,00	25,00	25,00	25,00	25,00
Fosfato bicálcico	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Mix vitamínico e mineral ^b	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
BHT	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Celulose	7,80	7,80	7,80	7,80	4,00	4,00	4,00	4,00
Caulim	9,00	9,00	9,00	9,00	1,60	1,60	1,60	1,60
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100

^a Farinha de resíduo da indústria de filetagem de salmão. ^b Composição do suplemento mineral e vitamínico (quantidade / kg): 1.500 UI de vitamina A; 15 mg de vitamina B2; 1000 UI de vitamina B3; 1000 UI de vitamina B12; 25 mg de vitamina E; 120 mg de vitamina PP; 2000 mg de colina; 80 mg de pantotenato de cálcio; 2 mg de ácido fólico; 170 mg de BHT; 80 mg de Mn.; 24 mg de Fe; 50 mg de Zn; 8 mg de Cu; 3 mg de I; 0,10 mg de Se. ^c Amido de milho cru.

2

Tabela 2

Composição proximal das dietas experimentais em % de matéria seca

	5% Amido				25% Amido			
	LO ^b	CO	OO	FO	LO	CO	OO	FO
Proteína bruta	44,44	45,6 1	43,9 4	44,0 0	45,5 8	45,3 2	44,1 3	44,9 8
Energia bruta	4767	4815	4812	4848	4617	4691	4682	4680
Extrato etéreo	18,42	18,8 8	18,1 3	20,0 5	9,54	9,03	9,91	9,47
Cinzas	17,61	17,8 6	17,9 6	18,1 8	11,7 5	11,6 3	11,9 2	11,8 5
Matéria seca	92,49	92,2 3	92,4 4	95,1 5	92,5 6	90,8 6	90,7 2	93,7 5
Relação EB:PB ^a	10,73	10,5 6	10,9 5	11,0 2	10,1 3	10,3 5	10,6 1	10,4 1

^aTaxa Energia bruta/Proteína bruta. ^b LO: Óleo de linhaça; CO: Óleo de Milho; OO: Óleo de Oliva; FO: Óleo de Peixe.

1
2**Tabela 3**Composição de lipídeo e de ácidos graxos (% de ácidos graxos totais) das dietas experimentais ^a

Ácido graxo	5% Amido				25% Amido			
	LO ^b	CO	OO	FO	LO	CO	OO	FO
C14:0	1,3	1,3	1,2	6,3	2,8	3,0	2,6	5,0
C16:0	10,1	13,8	14,6	17,6	15,8	18,2	16,9	18,1
C16:1	1,4	1,5	2,0	6,5	2,9	2,7	2,8	4,6
C18:0	4,8	3,0	3,8	3,99	5,37	4,63	4,45	4,46
C18:1n9	17,0	25,7	49,2	12,0	17,8	20,1	31,3	14,1
	5	2	2	0	4	3	1	1
C18:2n6	12,1	30,8	8,67	5,74	12,0	18,4	8,35	8,20
	7	0			7	6		
C18:3n6	0,05	ND ^c	ND	0,18	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	32,6	1,0	0,91	0,99	16,4	1,42	1,06	1,46
	4				6			
C20:3n6	0,73	ND	ND	0,22	ND	1,66	ND	ND
C20:5n3	2,20	2,22	2,26	14,4	4,56	4,32	4,06	8,82
				6				
C22:6n3	2,71	2,76	2,88	9,90	5,76	5,41	5,09	8,03
SFA ^d	16,2	18,1	19,6	28,0	24,1	25,9	23,9	27,5
	8	9	4	1		2	6	6
MUFA ^e	18,50	27,26	51,28	18,55	20,81	22,91	34,16	18,74
PUFA ^f	50,5	36,7	14,3	31,4	38,8	31,2	18,5	26,5
	0	8	2	9	5	5	6	1
HUFA ^g	4,90	4,98	5,14	24,3	10,3	9,73	9,15	16,8
				6	2			5
n6 ^h	12,9	30,8	8,67	6,14	12,0	20,1	8,35	8,2
	5				7	2		
n3 ⁱ	37,5	5,98	6,05	25,3	26,7	11,1	10,2	18,3
	5			5	8	5	1	1
n3/n6	2,89	0,19	0,69	4,12	2,21	0,55	1,22	2,23
n3/n9	2,20	0,23	0,12	2,11	1,50	0,55	0,32	1,29
DHA/EP								
A ^j	1,23	1,24	1,27	0,68	1,26	1,25	1,25	0,91

^a Valores apresentados como medias de tres repetições. ^b LO, Óleo de

linhaça; CO, Óleo de milho; OO, Óleo de oliva; FO, Óleo de peixe. ^c ND: não detectado. ^d SFA: total de ácidos graxos saturados. ^e MUFA: total de ácidos graxos monosaturados. ^f PUFA: total de ácidos graxos poliinsaturados (2 ou mais insaturações). ^g HUFA: total de ácidos graxos altamente insaturados (5 ou mais insaturações). ^h n3: total de ácidos graxos poliinsaturados n3. ⁱ n-6: total de ácidos graxos poliinsaturados n6. ^j DHA/EPA = 22:6n3/20:5n3.

1

2

3

2.3. Amostragem

4

5 No final dos 60 dias os peixes foram mantidos em jejum por 24 h, e
6 posteriormente, dois peixes por caixa aleatoriamente foram sedados com
7 benzocaína, em uma concentração de 300 mg.L⁻¹ (Ross; Ross, 2008) e
8 sacrificados. Dos peixes foram coletados o sangue, fígado e duas amostras
9 de músculo branco direito. Essas amostras de tecido hepático e músculo
10 branco foram dispostos em tubos eppendorf. Todo o material foi
11 armazenado a -80°C para posteriores análises histológicas e de
12 metabolitos. O peso do fígado e peso de cada peixe foram aferidos

13

14

2.4. Histologia hepática

15

16 As análises histológicas tiveram como foco o estudo de distúrbios
17 metabólicos que levam ao acúmulo de lipídeos (esteatose), água e/ou
18 glicogênio no fígado dos peixes. Cada amostra de fígado foi congelada em
19 nitrogênio líquido, usando talco como crioprotetor, a amostra foi
20 posicionada em um eppendorf, soltando-o em nitrogênio líquido por 1min e
21 armazenado a -80 °C. Seções congeladas de 10 µm de espessura foram
22 cortadas em criostato (1850 CM de Leica Microsystems GmbH, Wetzlar,
23 Alemanha) e coradas com hematoxilina e eosina (H & E), ácido periódico
24 de Schiff (PAS) e Sudão III.

25 Seções foram observadas e fotografadas (40 x) sob um microscópio
26 biológico (Olympus CX31, Miami, EUA) com uma câmera digital
27 colorida (Olympus SC30, Miami, EUA) usando o software
28 AnalySISgetIT (Olympus image), definida manualmente para garantir os
29 mesmos parâmetros de exposição, intensidade de luz e equilíbrio do
30 branco. Imagens foram salvas como TIFF (RGB – Red, Green, Blue
31 método) sem perda de formato (sem compressão) e analisados com um
32 programa de processamento de imagem de Java de domínio público

1 (ImageJ 1.45m; Rasband W., National Institute of Health, USA).

2 A porcentagem de lipídeos e glicogênio foi estimada como a
3 distribuição da infiltração de gotículas de gordura ou glicogênio dentro
4 das células, como a análise morfométrica da subárea marcada, tendo como
5 medida padrão a área total do tecido na fotografia (79,074.867 μm^2). A
6 magnitude de vacuolização hepatocelular foi determinada em células
7 localizadas dentro da área, como subárea marcada com conteúdo
8 opticamente vazio (enchimento citoplasmático de forma clara, formando
9 espaços microvesiculares). Se essas mudanças não estavam presentes, os
10 fígados foram considerados para ser normais.

11

12 2.5 Parâmetros do soro, fígado e músculo

13

14 As amostras de sangue foram coletadas da veia caudal 24h após a
15 última alimentação com seringas contendo 4% de EDTA. Foram
16 centrifugadas (3000 g/10 min) e o soro foi separado e armazenado a -80
17 °C. O conteúdo de proteína solúvel total foi determinado pelo método de
18 (Bradford, 1976), utilizando soluções padrão de diferentes concentrações
19 de albumina sérica bovina (ASB), e mensurada em leitor de microplacas
20 (filtro de 595nm, a 25°C por 5 minutos).

21 Os tecidos de fígado e músculo branco foram homogeneizados
22 através de maceração nos tubos eppendorf em água ultra pura (Milli-Q),
23 com auxílio de um bastão de vidro sob banho de gelo, realizada na
24 respectiva proporção de 1:3 e 1:2 (peso/volume). Após a maceração, as
25 amostras foram levadas ao banho gelado ultrassônico (USC 700,
26 UNIQUE, Brasil) por 10 minutos, posteriormente centrifugadas (13500 g
27 /5 min /4°C). Tal procedimento foi repetido por três vezes. O homogenato
28 dos sobrenadantes foi utilizado para analisar a concentração da proteína
29 total, da glicose e dos triglicerídeos.

30 O conteúdo de proteína solúvel total foi expressa em miligramas (mg)
31 de proteína por grama de tecido ou em miligramas (mg/mL) de proteína
32 solúvel sérica. Foi determinada pelo método de (Bradford, 1976),
33 utilizando soluções padrão de diferentes concentrações de albumina sérica
34 bovina (ASB), e mensurada em leitor de microplacas (filtro de 595nm, a
35 25°C por 5 minutos). Amostras de soro e extrato foram diluídas, quantas
36 vezes o necessário, para estar na faixa do padrão. Foram usados Kit
37 Labtest para a quantificação de glicose (GLICOSE HK Linqiform, Cat.
38 85) e triglicerídeos (TRIGLICÉRIDES Linqiform, Cat. 87). Todas as

1 amostras foram mensuradas por triplicata em leitor 96-well plate
2 spectrophotometer (Multiskan GO, Thermo Scientific, USA). A
3 concentração foi expressa em mg/dL.

4

5 2.6. Análises estatísticas

6

7 Todos os dados obtidos foram apresentados como médias \pm erro
8 padrão ($n = 5$). As comparações foram feitas entre os tratamentos por
9 meio de análise de variância a uma via (ANOVA), a um nível de
10 significância de 0,05, após confirmação da normalidade e homogeneidade
11 da variância. Onde foram detectadas diferenças significativas pela
12 ANOVA, os dados foram submetidos ao teste de comparações múltiplas
13 de Student-Newman-Keuls. Todas as análises estatísticas foram
14 computadas usando o software SAEG 9.1 -Sistema para Análises
15 Estatísticas e Genéticas, proposto por (Euclides, 1997).

16

17 3. Resultados

18

19 3.1. Parâmetros metabólicos

20

21 A concentração de proteína no soro não foi influenciada pelos níveis
22 de amido ou pelas fontes de óleo da dieta ($P > 0,05$) (Tabela 4). Entretanto,
23 a concentração de proteína no fígado foi influenciada pelos níveis de
24 amido e das fontes de óleo. As maiores concentrações de proteína
25 hepática se registraram nas dietas com 5% de amido, e na dieta contendo
26 óleo de peixe ($P < 0,05$) (Tabela 4).

27

Tabela 4

Deposição de proteína no soro, fígado e músculo do híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* alimentados com diferentes fontes energéticas (média \pm EP, $n=5$)^a.

Óleo/Amid o	Proteína				Média
	LO ^b n3	CO n6	OO n9	FO EPA/DHA	
	Soro (mg/mL)				
5	27,16 \pm 2,04	30,1 \pm 1,91	28,86 \pm 2,02	29,27 \pm 2,33	28,84 \pm 0,98

25	29,7 ± 1,1	27,32 ± 1,19	27,49 ± 0,94	27,31 ± 1,26	27,96 ± 0,57
Média	28,43 ± 1,17	28,71 ± 1,16	28,17 ± 1,07	28,29 ± 1,29	
Fígado (mg/g)					Média
5	93,38 ± 8,26	79,7 ± 8,28	104,27 ± 8,27	129,48 ± 2,44	101,71 ± 5,35 ^A
25	88,82 ± 6,23	78,24 ± 4,1	71,38 ± 4,25	111,33 ± 4,36	87,44 ± 4,11 ^B
Média	91,1 ± 4,94 ^b	78,97 ± 4,36	87,83 ± 7,02 ^b	120,4 ± 3,83 ^a	
Músculo (mg/g)					Média
5	60,49 ± 3,13 ^{Az}	49,61 ± 7,17 ^{Ba}	56,11 ± 2,64 ^{Aa}	57,39 ± 3,78 ^{Aa}	55,9 ± 2,27
25	48,12 ± 1,77 ^{Bb}	60,85 ± 4,26 ^{Aa}	43,53 ± 2,27 ^{Bb}	52,62 ± 2,08 ^{Aab}	51,28 ± 1,94
Média	54,3 ± 2,67	55,23 ± 4,36	49,82 ± 2,66	55,01 ± 2,18	

^a Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância. 5% e 25% referem-se aos níveis de amido da dieta.

^b LO, Óleo de Linhaça; CO, Óleo de Milho; OO, Óleo de Oliva; FO, Óleo de Peixe.

1

2

No músculo a concentração de proteína foi influenciada pela interação entre os níveis de amido e as fontes de óleo na dieta ($P < 0,05$). Nas dietas com 5% de amido a deposição de proteína muscular foi igual para todas as fontes de óleo ($P > 0,05$); no entanto a maior deposição proteica com diferença significativa ($p < 0,05$) se apresenta com 25% de amido suplementado com óleo de milho (Tabela 4).

8

A concentração de glicose sérica foi influenciada pela interação entre os níveis de amido e fontes de óleo na dieta ($P < 0,05$). A maior concentração foi registrada nas dietas suplementadas com óleo de linhaça contendo 25% de amido ($P < 0,05$). O menor valor significativo ($p < 0,05$) de glicose sérica foi observado na dieta suplementada com óleo de peixe e 25% de amido (Tabela 5).

14

Não houve efeito do nível do amido, ou da fonte de óleo na

1 concentração de glicose no fígado ($P > 0,05$) (Tabela 5). A concentração de
2 glicose no músculo apresentou efeito da fonte de óleo ($p < 0,05$); a maior
3 concentração de glicose foi registrada nas dietas suplementadas com óleo
4 de linhaça.

5
6 A concentração de triglicerídeos no soro foi influenciada pela
7 interação entre os níveis de amido na dieta e as diferentes fontes de óleo
8 ($P < 0,05$). As maiores concentrações de triglicerídeos séricos se registram
9 nas nos animais alimentados com dietas contendo óleos vegetais sem
10 diferença significativa entre eles ($p > 0,05$), a menor concentração foi
11 observada no soro dos peixes alimentados com as dietas suplementadas
12 com óleo de peixe com diferença significativa para as demais ($p < 0,05$)
13 (Tabela 6).

1

Tabela 5

Concentração de glicose no soro, fígado e músculo do híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* alimentados com diferentes fontes energéticas (média \pm EP, n=5)^a.

Glicose					
Óleo/Ami do	LO ^b n3	CO n6	OO n9	FO EPA/DHA	
Soro (mg/dL)					Média
5	75,7 \pm 4,14 ^{Ba}	61,33 \pm 8,33 ^{Aa}	63,74 \pm 7,94 ^{Aa}	62,08 \pm 4,13 ^{Aa}	65,71 \pm 3,25
25	102,24 \pm 3,9 ^{Aa}	75,63 \pm 9,85 ^{Ab}	59,89 \pm 6,45 ^{Ac}	54,15 \pm 5,73 ^{Ac}	72,98 \pm 5,3
Média	88,97 \pm 5,17	68,48 \pm 6,53	61,82 \pm 4,87	58,11 \pm 3,58	
Fígado (mg/g)					Média
5	25,5 \pm 2,17	26,44 \pm 1,03	24,43 \pm 1,46	24,33 \pm 1,43	25,17 \pm 0,75
25	24,62 \pm 1,91	23,75 \pm 2,59	24,07 \pm 2,81	24,25 \pm 2,06	24,17 \pm 1,09
Média	25,06 \pm 1,37	25,1 \pm 1,39	24,25 \pm 1,5	24,29 \pm 1,18	
Músculo (mg/g)					Média
5	1,24 \pm 0,08	1,06 \pm 0,08	1,15 \pm 0,03	1,13 \pm 0,05	1,15 \pm 0,03
25	1,27 \pm 0,02	1,06 \pm 0,08	1,27 \pm 0,09	1,11 \pm 0,02	1,18 \pm 0,04
Média	1,26 \pm 0,04 ^a	1,06 \pm 0,05 ^c	1,21 \pm 0,05 ^{ab}	1,12 \pm 0,03 ^{bc}	

^a Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância. 5% e 25% referem-se aos níveis de amido da dieta.

^b LO, Óleo de Linhaça; CO, Óleo de Milho; OO, Óleo de Oliva; FO, Óleo de Peixe.

2

3

1 No fígado apresentou efeito independente dos níveis de amido e das
2 fontes de óleo sobre a concentração de triglicerídeos. As menores
3 concentrações de triglicerídeos se registraram nos animais alimentados
4 com dietas suplementadas com óleo de peixe e óleo de oliva com
5 diferença significativa ($P < 0,05$) com as dietas contendo óleo de linhaça e
6 óleo de milho. A menor concentração de triglicerídeos se registrou nos
7 animais alimentados com dietas com 25% de amido ($P < 0,05$) (Tabela 6).
8 No músculo não se registrou efeito significativo ($p > 0,05$) dos níveis
9 de amido nem das fontes de óleo da dieta na concentração de
10 triglicerídeos presentes (Tabela 6).

1

Tabela 6

Concentração de triglicerídeos no soro, fígado e músculo do híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* alimentados com diferentes fontes energéticas (média ± EP, n=5)^a

Triglicerídeos					
Óleo/Amido	LO ^b n3	CO n6	OO n9	FO EPA/DHA	
Soro (mg/dL)					Média
5	164,48 ± 17,36 ^{Aa}	141,15 ± 6,92 ^{Aa}	149,87 ± 9,49 ^{Aa}	69,62 ± 5,73 ^{Ab}	131,28 ± 9,76
25	106,62 ± 10,36 ^{Ba}	103,11 ± 12,75 ^{Ba}	98,1 ± 4,02 ^{Ba}	68,13 ± 3,59 ^{Ab}	93,99 ± 5,29
Média	135,55 ± 13,56	122,13 ± 9,33	123,98 ± 9,9	68,87 ± 3,2	
Fígado (mg/g)					Média
5	21,08 ± 1,97	17,31 ± 0,59	15,39 ± 1,59	14,69 ± 0,42	17,12 ± 0,83 ^A
25	13,14 ± 1,99	13,36 ± 1,43	12,31 ± 0,58	9,89 ± 0,78	12,17 ± 0,68 ^B
Média	17,11 ± 1,87 ^a	15,33 ± 0,98 ^{ab}	13,85 ± 0,95 ^{bc}	12,29 ± 0,9 ^c	
Músculo (mg/g)					Média
5	1,1 ± 0,04	1,07 ± 0,12	0,95 ± 0,08	0,82 ± 0,11	0,98 ± 0,05
25	0,84 ± 0,06	1,07 ± 0,1	0,94 ± 0,1	1,01 ± 0,12	0,96 ± 0,05
Média	0,97 ± 0,06	1,07 ± 0,08	0,94 ± 0,06	0,91 ± 0,08	

^aMédias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância. 5% e 25% referem-se aos níveis de amido da dieta.

^b LO, Óleo de Linhaça; CO, Óleo de Milho; OO, Óleo de Oliva; FO, Óleo de Peixe.

2

1 3.2 Índice hepatossomático

2 O IHS foi influenciado pelos níveis de amido nas dietas. Este
3 parâmetro foi maior quando os níveis de amido na dieta foram de 25% de
4 amido ($P < 0,05$) (Tabela 7).

5

Tabela 7

Índice Hepatossomático (IHS) do híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* alimentados com diferentes fontes energéticas (média \pm EP, $n=5$)^a.

Fontes de óleo	IHS		Ganho de Peso (g)	
	5% Amido	25% Amido	5% Amido	25% Amido
Linhaça-n3	1,24 \pm 0,08	1,48 \pm 0,17	129,23 \pm 0,19	136,04 \pm 0,14
Milho-n6	1,27 \pm 0,11	1,42 \pm 0,27	107,15 \pm 0,27	89,93 \pm 0,13
Oliva-n9	1,24 \pm 0,21	1,44 \pm 0,32	58,40 \pm 0,18	96,07 \pm 0,22
Peixe - EPA/DHA	1,29 \pm 0,05	1,34 \pm 0,10	107,91 \pm 0,16	125,07 \pm 0,21
Médias ^a	1,26 ^B	1,42 ^A		

^a Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e medias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância. 5% e 25% referem-se aos níveis de amidos da dieta. *Ganho de peso médio final dos animais com cada dieta experimental.

6

7 3.3. Histologia hepática

8

9 Os diferentes níveis de amido e fontes de óleo empregados na dieta
10 interferiram na deposição das reservas, lipídeos e glicogênio, assim como
11 na estrutura do parênquima hepático. Gotículas de gordura foram
12 observadas no citoplasma dos hepatócitos em todos os grupos de
13 alimentação. A deposição de lipídeos no fígado apresentou efeito do nível
14 de amido, fonte de óleo e sua interação (Tabela 8).

1

Tabela 8

Histologia hepática do híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* alimentados com diferentes fontes energéticas (média ± EP, n=5)^a

Óleo/Ami do	LO n3	CO n6	OO n9	FO EPA/DHA	
Lipídeos					Média
5	2,64 ± 0,3 ^{Bab}	2,36 ± 0,3 ^{Bab}	3,21 ± 0,24 ^{Aa}	1,39 ± 0,18 ^{Ab}	2,4 ± 0,19
25	4,41 ± 0,63 ^{Ab}	5,76 ± 0,82 ^{Aa}	1,7 ± 0,27 ^{Bc}	2,22 ± 0,18 ^{Ac}	3,52 ± 0,45
Média	3,52 ± 0,44	4,06 ± 0,7	2,45 ± 0,31	1,8 ± 0,18	
Glicogênio					Média
5	20,11 ± 2,07 ^{Aab}	16,1 ± 2,98 ^{Aab}	21,07 ± 0,19 ^{Aa}	13,7 ± 1,00 ^{Ab}	17,74 ± 1,14
25	3,14 ± 0,52 ^{Bc}	11,55 ± 2,09 ^{Bb}	7,55 ± 0,84 ^{Bb}	16,66 ± 1,95 ^{Aa}	9,72 ± 1,34
Média	11,62 ± 3	13,82 ± 1,88	14,31 ± 2,35	15,18 ± 1,14	
Vacuolização					Média
5	15,11 ± 1,3 ^{Ba}	15,11 ± 1,71 ^{Aa}	4,76 ± 0,61 ^{Bb}	17,36 ± 1,64 ^{Aa}	13,09 ± 1,29
25	23,29 ± 2,55 ^{Aa}	18,49 ± 1,94 ^{Aab}	14,84 ± 1,43 ^{Ab}	18,11 ± 2,05 ^{Aab}	18,68 ± 1,16
Média	19,2 ± 1,92	16,8 ± 1,34	9,8 ± 1,83	17,73 ± 1,24	

^a Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e medias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância. 5% e 25% referem-se aos níveis de amido da dieta

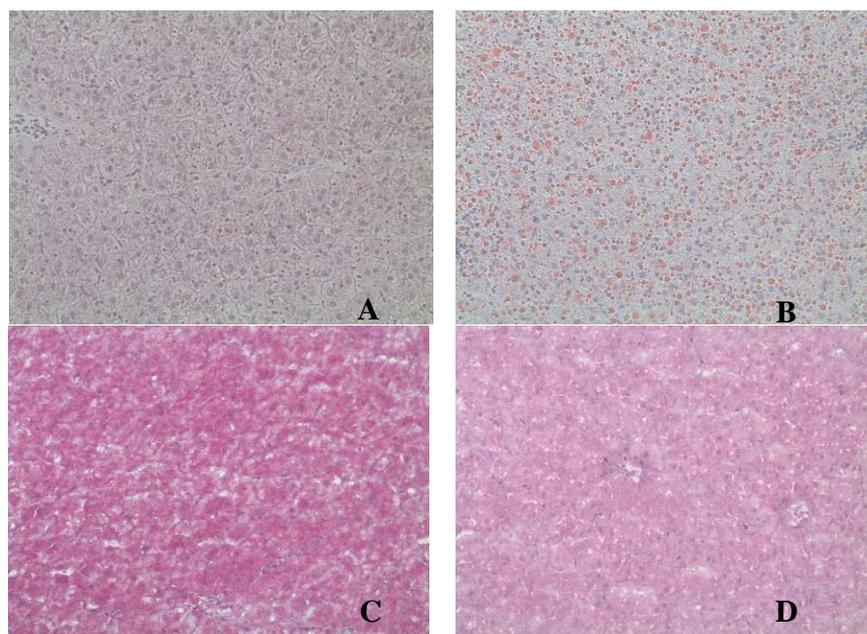
2

3 Quanto maior o nível de amido na dieta, maior a deposição de
4 lipídeos nas diferentes fontes de óleo (p<0,05), a exceção da dieta
5 suplementada com óleo de oliva, na qual se observa uma diminuição
6 significativa (p<0,05) na deposição dos lipídeos (Tabela 8). Na dieta
7 contendo óleo de oliva a 25% de amido as alterações histológicas não
8 foram muito proeminentes, os fígados destes peixes apresentaram uma
9 estrutura a ser considerada normal, com ausência ou com presença de

1 escassas gotículas lipídicas intracitoplasmáticas nos hepatócitos (Figura 1,
2 A).

3 A deposição de lipídeos não teve diferença significativa ($p>0,05$)
4 entre os níveis de amido com as dietas suplementadas com óleo de peixe.
5 A maior deposição lipídica se apresentou na dieta suplementada com óleo
6 de milho e 25% de amido (Tabela 8), os fígados destes peixes exibiram
7 abundantes gotas lipídicas laranja, intracitoplasmáticas, de diversos
8 tamanhos nos hepatócitos (Figura 1, B).

9 Em geral, os hepatócitos mostraram depósitos de glicogênio
10 abundantes (Figura 1, C). A sua deposição no fígado teve efeito da
11 interação entre o nível de amido e a fonte de óleo na dieta. Para as dietas
12 suplementadas com óleo vegetal, com o aumento de amido na dieta
13 diminuiu a deposição de glicogênio significativamente ($p<0,05$). A menor
14 deposição de glicogênio se observou na dieta com nível de 25% de amido
15 e suplementação com óleo de linhaça ($p<0,05$) (Tabela 8, Figura 1, D).
16

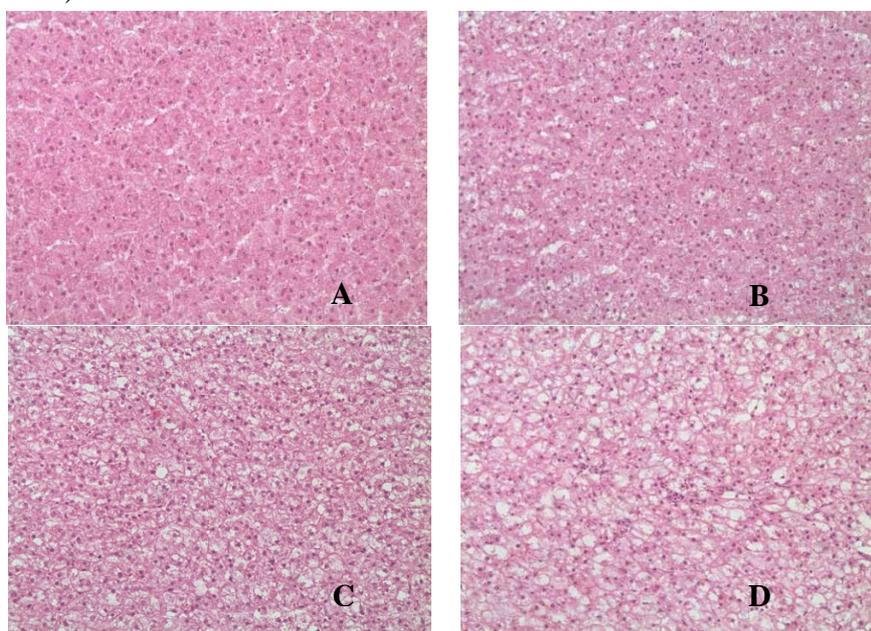


17 Figura 1 Parênquima hepático do híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius*
18 *marmoratus* (40x). A. Parênquima hepático uniforme com presença de escassas gotículas
19 lipídicas (Sudam III). B. Presença de múltiplas gotículas lipídicas laranja (Sudam III). C.
20 Depósitos de glicogênio, zonas dentro das células com sombras rosa intenso (PAS positiva). D.
21 Parênquima hepático com escassos depósitos de glicogênio no citoplasma (PAS).

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11

A vacuolização observada nas células do parênquima hepático foi alterada pela interação das diferentes fontes de óleo e dos níveis de amido nas dietas (Tabela 8, Figura 2, A-D). Com o incremento no nível de amido de modo geral se observa uma maior vacuolização, principalmente com as fontes óleo de linhaça e óleo de oliva ($p < 0,05$) (Tabela 8).

Na dieta contendo óleo de oliva a 5% de amido as alterações histológicas não foram muito proeminentes, os fígados destes peixes apresentaram uma estrutura a ser considerada normal, com ausência de vacúolos no citoplasma ou com leve vacuolização nos hepatócitos (Fig. 2 A e B).



12
13
14
15
16
17
18
19

Figura 2. Parênquima hepático do híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* (40x) (H&E). A. Estrutura histológica considerada para ser normal sem vacuolização; B. Hepatócitos de forma regular com núcleos grandes e alguns vacúolos no citoplasma que não perturbam o tamanho celular; C. Hepatócitos contêm um conteúdo claro, opticamente vazio formando espaços intracitoplasmáticos microvesiculares, vacúolos numerosos e de diversos tamanhos; D. Os hepatócitos são preenchidos com conteúdo claro, opticamente vazio, que puxa o núcleo na periferia da célula e dá uma aparência macrovesicular.

20
21
22

Na mesma dieta a 25% de amido cordões hepáticos não eram muito nítidos e o fígado mostrou alta vacuolização (Fig. 2 C; Tabela 8). Na dieta contendo óleo de linhaça e 25% de amido os fígados mostraram severa

1 vacuolização, as maiorias dos hepatócitos mostram polarização do núcleo,
2 disposição de forma irregular e com cordões hepáticos obscuros e em
3 estenose (Fig. 2 D).

4 4. Discussão

5
6
7 Os resultados do presente estudo indicam claramente que as
8 diferentes fontes de óleo e os níveis de amido nas dietas interferiram
9 sobre o metabolismo do híbrido. Soro, fígado e músculo refletem as
10 alterações físicas e químicas ocorridas no organismo, indicando o estado
11 metabólico e fisiológico geral. Por conseguinte, as medições dos
12 parâmetros bioquímicos nestes tecidos são comumente utilizadas como
13 ferramentas de diagnóstico em monitoramento biológico. Essas medições
14 permitem que as alterações fisiopatológicas atribuíveis à nutrição sejam
15 detectadas (Kavitha et al., 2012; Levene; Goldin, 2012; Pavlidis et al.,
16 2007).

17 Neste estudo, a concentração de proteína total no soro não apresentou
18 efeito das dietas. Isso é esperado, e pode ser explicado, pelo *turnover* da
19 proteína na manutenção dos aminoácidos circulantes no soro durante o
20 período de jejum, o qual foi superior a oito horas antes da coleta das
21 amostras. O nível de proteína hepática nesse estudo esteve sob forte
22 influência dos níveis de amido e fontes de óleo. Houve resultado
23 significativo para as médias, entre 5% e 25% de amido, sendo maior a
24 5%. Este resultado pode ser explicado pela maior quantidade de óleo
25 incluído neste nível de amido. A dieta com óleo de peixe aumentou
26 significativamente a concentração de proteína total no fígado.

27 Este efeito permite estabelecer que o aumento no nível de óleo na
28 dieta permitiu ao híbrido utilizar eficientemente esse nutriente como fonte
29 energética, e sugere a menor ocorrência de catabolismo de aminoácidos
30 para serem utilizados como fonte de energia. Os lipídeos proporcionaram
31 um efeito poupador de proteína, visto que as dietas foram isoenergéticas e
32 o aumento da inclusão de amido na dieta é acompanhado por uma
33 diminuição dos níveis de lipídeos. Resultados semelhantes foram
34 encontrados em *Sebastes schlegeli* et (Lee; Jeon; Lee, 2002), catfish
35 *Pseudobagrus fulvidraco* (Kim; Lee, 2005) e em carpa
36 *Ctenopharyngodon idella* (Du et al., 2005). Estes autores observaram
37 também maior efeito dos lipídeos que do amido para poupar proteína.

38 A presença de óleo de peixe na dieta influenciou a concentração de

1 proteína total. Esse efeito deve-se a maior presença de SFA com esta
2 fonte de óleo, e foi mais acentuado no fígado do que no músculo. Neste
3 primeiro órgão se observa maior deposição de proteína total sob o efeito
4 do óleo de peixe, conseqüentemente isso se vê refletido em parte no
5 músculo. Assim, a suplementação com óleo de peixe na dieta aumenta a
6 deposição de proteína, principalmente hepática. As outras fontes de óleo
7 vegetais avaliadas reduziram a deposição de proteína hepática. Quanto à
8 deposição de proteína muscular observou-se efeito de interação entre
9 nível de amido e fonte de óleo, este resultado permite estabelecer que
10 independente da fonte de óleo, em baixo nível de amido, não há diferença
11 na deposição de proteína muscular. Já com 25% de amido na dieta houve
12 maior deposição quando suplementada com óleo de milho e óleo de
13 peixe. No entanto, independente do nível de amido, o uso de óleo de
14 peixe nas dieta promoveu em geral maior deposição de proteína muscular,
15 e supre assim o efeito do nível de amido da dieta.

16 O óleo de milho melhora a eficiência do amido para a deposição de
17 proteína no músculo. Este resultado permite inferir que o Híbrido pode
18 usar essa fonte para energia por outros mecanismos; no entanto, o óleo de
19 peixe mantém seu efeito de deposição de proteína no fígado e por
20 consequência como reflexo, mantém-se essa deposição no músculo.
21 Assim os óleos de milho e peixe tem um efeito de deposição proteica no
22 músculo ao serem substituídos pelo amido. Manter pequenas quantidades
23 na dieta de óleo de milho ou óleo de peixe melhorou a eficiência do
24 amido quando presente em altos níveis.

25 O efeito desta interação entre o óleo de milho e o alto nível de amido,
26 sobre a deposição de proteína no músculo, está relacionado ao aumento
27 na proporção n³/n⁶ na dieta. Nessa dieta há uma maior contribuição do n³
28 vindo do óleo de peixe residual presente na farinha de peixe da dieta
29 basal, o qual é proporcionalmente maior quando se reduz a quantidade de
30 óleo na dieta. Assim a relação de n³/n⁶ é 1:2 (0,55 – Tabela 3), e está
31 mais próxima ao ideal de 1:6 citado para humanos pela FAO/OMS.
32 Quando se aumentou os teores de amido na dieta, os níveis de inclusão de
33 óleo de milho diminuíram. Isso favoreceu o aumento da relação n³/n⁶. O
34 aumento da relação n³/n⁶ poderia promover, portanto, a queda na
35 atividade de lipogênese. Resultados semelhantes foram encontrados em
36 *gilthead sea bream* (Bandarra et al., 2011) e salmão do atlântico (Menoyo
37 et al., 2003), onde as diferentes relações de n³/n⁶ interferiram
38 efetivamente na atividade das enzimas lipogênicas (EM e G6PD). Dessa

1 forma, a relação n3/n6 reduz a atividade das enzimas lipogênicas,
2 aumentando possivelmente a β -oxidação de ácidos graxos, e reduzindo a
3 oxidação de aminoácidos, que podem ser utilizados para síntese proteica.

4 A fonte de carboidrato na dieta, o nível de inclusão e o equilíbrio
5 entre os macro-nutrientes influencia em elevado grau o metabolismo da
6 glicose em peixes (Hemre; Mommsen; Krogdahl, 2002). Os peixes,
7 principalmente os carnívoros, apresentam limitada capacidade de utilizar
8 o carboidrato da dieta como fonte energética (Enes et al., 2009). Pelo fato
9 do Cachandiá (*Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus*)
10 tratar-se de um híbrido entre espécies de hábitos alimentares diferentes,
11 carnívoro e onívoro, não se sabe ao certo de que forma esse animal utiliza
12 o amido.

13 Altas concentrações de amido associadas com o óleo de linhaça na
14 dieta tiveram efeito que se refletiu no incremento da glicemia sérica do
15 híbrido. No fígado não se observou efeito do nível do amido, nem da
16 fonte de óleo na concentração de glicose. Esse resultado indica que o
17 híbrido tem a capacidade de metabolizar adequadamente maiores níveis
18 de amido independente da fonte de óleo. Nesse contexto, (Li et al., 2013)
19 afirmam que o alto teor de carboidratos na dieta promove a glicólise e
20 lipogênese em *Megalobrama amblycephala*, mas não induz
21 hiperglicemia. A glicemia no músculo apresenta efeito só da fonte de
22 óleo. Assim o músculo mostrou menor eficiência para regular a glicemia,
23 e sua concentração é maior e reflete a concentração de glicose sérica,
24 portanto isso pode indicar que o excesso de glicose sérica foi depositado
25 no músculo.

26 A concentração de glicose sérica e muscular teve maior efeito dos
27 ácidos graxos poliinsaturados da dieta. É possível que a glicemia elevada
28 no soro pela interação entre o óleo de linhaça e o nível de 25% de amido
29 esteja relacionada a presença dos AG C18:0 e C18:3n3, os dois ácidos
30 graxos individuais mais abundantes fornecidos nessa dieta (Tabela 3). Da
31 mesma forma, (Almáida-Pagán et al., 2007) observaram maior taxa de
32 oxidação de 18:2 n-6 em hepatócitos de peixes alimentados com óleo de
33 linhaça, do que em alimentados com uma dieta à base de óleo de peixe.
34 Foi previamente estabelecido que os ácidos graxos dietários fornecidos
35 em excesso são mais usados ativamente para β -oxidação e produção de
36 energia (Bell et al., 2004; Bell et al., 2003; Turchini; Francis, 2009; Wu;
37 Chen, 2012).

38 Nas espécies de peixes de água doce é bem documentada a

1 capacidade de alongar e dessaturar AG com C18. No entanto, existem
2 diferenças nas competências funcionais das alongasses de diferentes
3 espécies de peixes, as quais podem contribuir para as diferentes
4 capacidades das espécies em termos de síntese de HUFAs (Agaba et al.,
5 2005). Além disso a expressão gênica das dessaturases e alongasses está
6 sob regulação dietética e ambiental (Codabaccus et al., 2011).

7 Diante do exposto, estes ácidos graxos C18:0 e C18:3n3
8 possivelmente foram usados como fonte energética pelo híbrido, e
9 portanto aumentou a glicose circulante. Uma possível explicação pode
10 descrever esse resultado. O híbrido tem dificuldade para alongar e
11 dessaturar esse precursor, e, portanto, a glicemia permanece alta. Em
12 relação a isso (Turchini; Francis, 2009), reportam que em trutas
13 alimentadas com a dieta de óleo de linhaça, a maioria do AG 18:3n3
14 dietético foi acumulado (58,1%), uma grande proporção foi oxidado
15 (29,5%) e uma quantidade limitada (12,4%) era bioconvertido em
16 homólogos de cadeia longa mais insaturada.

17 O soro é o primeiro a responder ao efeito da dieta na glicemia,
18 seguido pelo fígado e o último tecido a responder é o músculo (Harmon;
19 Bolinger; Rodnick, 2011; Hemre; Mommsen; Krogdahl, 2002; Hu et al.,
20 2007). Assim o híbrido mostra ter a capacidade de metabolizar bem o
21 amido, pois apesar dos carboidratos estarem na corrente sanguínea e
22 terem o efeito apresentado no soro, o fígado do animal conseguiu
23 processar o amido sem alterar a glicemia nesse órgão.

24 Valores dos níveis metabólicos de triglicerídeos nos peixes são
25 considerados caracteres diagnósticos importantes, também são
26 considerados como o maior índice do estado fisiológico dos teleósteos
27 (Tolussi et al., 2010). Em geral, animais alimentados com dietas com
28 elevado nível de lipídeos e carboidratos apresentam um aumento no nível
29 de triglicerídeos nos tecidos corporais e plasma (Lu et al., 2013). Com as
30 dietas mais ricas em óleo, um acréscimo significativo nos triglicerídeos é
31 visto no soro e fígado do híbrido.

32 O híbrido teve uma resposta de deposição energética quando a fonte
33 de energia foi de origem lipídica, possivelmente o amido é uma fonte de
34 rápida combustão, e o lipídio é mais preservado no híbrido. Assim, o
35 híbrido poderia ter maior habilidade para o uso do amido, quando
36 comparado aos lipídeos como fonte energética. Similarmente, em juvenis
37 de sargo (*Megalobrama amblycephala*) alimentados durante 8 semanas
38 com três dietas contendo 5%, 10% e 15% de gordura, o conteúdo de

1 triglicerídeos no fígado do grupo de alto teor de gordura foi
2 significativamente maior (Lu et al., 2013b).

3 Nesta perspectiva (Gao et al., 2010) trabalhando com
4 *Ctenopharyngodon idella* reportaram que os níveis de triglicerídeos no
5 soro cresceram linearmente com a diminuição da relação de
6 carboidratos:lipídeos na dieta, e que a espécie tem uma capacidade
7 moderada para a utilização de lipídeos e carboidratos. Nesse mesmo
8 sentido (Hu et al., 2007) relataram que em *Sparus latus*, os níveis de
9 triglicerídeos diminuíram linearmente quando aumentou na dieta a
10 relação carboidrato:lipídeos.

11 No soro a concentração de triglicerídeos foi afetada pela interação
12 entre o nível de amido e a fonte de óleo. Com as diferentes fontes de óleo
13 vegetal na medida em que aumenta a sua porcentagem na dieta aumenta o
14 nível de triglicerídeos circulante no soro. Já com o óleo de peixe se
15 apresenta um efeito diferente, essa fonte de óleo na dieta permite manter
16 estável a concentração de triglicerídeos circulante no soro apesar do seu
17 acréscimo na dieta. Tal efeito foi observado também por (Ferreira et al.,
18 2011) em *Oreochromis niloticus*. No soro, assim como no fígado, houve
19 igualmente efeito do óleo de peixe, sendo que a concentração de
20 triglicerídeos foi significativamente a menor. Esse resultado permite
21 inferir que a relação n3/n6 presente nesta fonte, somado ao efeito do n3
22 residual da farinha de peixe da dieta basal, podem ser responsáveis pelas
23 menores concentrações de triglicerídeos registradas, sendo que o EPA e o
24 DHA presentes inibem a síntese de triglicerídeos.

25 Em relação a isso, (Vegusdal et al., 2005) estabeleceram que dietas
26 contendo óleo de peixe reduzem a secreção de TAG nos hepatócitos de
27 salmão do atlântico, e que o AG 20:5n3 media esse efeito. Estes autores
28 demonstram que o 20:5n3, e não 22:6n3, inibe a secreção de TAG em
29 hepatócitos de salmão. Da mesma forma, (Kjær et al., 2008) afirmam que
30 os PUFAs, EPA e DHA, possuem diferentes propriedades
31 hipolipídicas, inibem a síntese e secreção de TAG, e reduzem a
32 secreção de lipoproteínas (VLDL) ricas em TAG em salmão do atlântico,
33 como o fazem em humanos. Em consonância com essa postura, (Lu et al.,
34 2013) reportam que a secreção de TAG foi inibida devido aos percentuais
35 elevados de DHA e EPA nos fígados de *Megalobrama amblycephalado*,
36 quando alimentados com alto teor de gordura.

37 No mesmo sentido, as baixas concentrações de triglicerídeos
38 hepáticos registradas no híbrido quando se usou óleo de oliva podem estar

1 associadas com uma adequada relação n3/n9. Essa diminuição poderia ser
2 consequência do efeito conjugado entre o óleo de oliva e o óleo de peixe
3 residual presente na dieta basal. O óleo de oliva como fonte de óleo
4 específica na dieta pode produzir severos sintomas patológicos no fígado
5 como observado em *Dicentrarchus labrax* (Parpoura; Alexis, 2001), e
6 grandes quantidades de 18:1 n9 foram incorporados diretamente em
7 lipídeos do tecido de *Perca fluviatilis* que foram alimentados com óleo de
8 oliva na dieta (Xu; Kestemont, 2002). No entanto, o óleo de oliva
9 relacionado a porcentagens de óleo de peixe tem um efeito positivo na
10 diminuição de triglicerídeos, já que adquire as características da dieta
11 mediterrânea, rica em ácidos graxos monoinsaturados e de ácidos graxos
12 n3, com o consequente efeito positivo no controle do colesterol e dos
13 triglicerídeos (Champe; Harvey; Ferrier, 2010; Mourente; Good; Bell,
14 2005; Vegusdal et al., 2005).

15 As maiores concentrações de triglicerídeos hepáticos, registradas na
16 dieta suplementada com óleo de linhaça, permitem inferir uma baixa
17 capacidade do organismo para alongar e dessaturar com eficiência o
18 precursor (C18 PUFA - 18:3n3) em seus derivados HUFAs. Os óleos
19 vegetais, especialmente aqueles ricos em 18:3n3, aumentam o processo de
20 alongação e dessaturação dos ácidos graxos, tanto a nível molecular
21 quanto enzimático (Tocher et al., 2002; Zheng et al., 2005).

22 A capacidade do peixe para compensar as diferenças de composição
23 do óleo é um fator muito importante, a fim de se adaptar a substituição do
24 óleo de peixe. Embora os peixes não possam sintetizar C18 PUFA de
25 novo, eles podem, em maior ou menor extensão, dependendo das
26 espécies, converter PUFA da dieta para os seus homólogos insaturados de
27 cadeia mais longa (Almáida-Pagán et al., 2007; Martino et al., 2002a).
28 Em peixes, o fígado apresenta-se como o principal local para o
29 alongamento e dessaturação de AG (Sargent; Tocher; Bell, 2002), e o uso
30 de altos níveis de óleo vegetal tem sido associado ao aumento nos
31 depósitos de triglicerídeos hepáticos (Jordal; Lie; Torstensen, 2007).
32 Desse modo, pode se pensar que a energia disponível do óleo de linhaça
33 não é bem usada pelo híbrido, e se tem grande disponibilidade de
34 triglicerídeos vindos desse precursor acumulado no fígado.

35 Um indicador para expressar a dinâmica no uso da energia endógena
36 do organismo através do fígado costuma ser o índice hepatossomático
37 (Gatta et al., 2011; Güroy et al., 2013; Nagel et al., 2012). O aumento na
38 concentração de energia aumenta os valores (Abimorad; Carneiro;

1 Urbinati, 2007; Kowalska et al., 2011a), e o declínio pode indicar um
2 estado de déficit de energia e nutrientes (Booth; Moses; Allan, 2013). O
3 metabolismo de óleos vegetais na alimentação de peixes podem
4 influenciar os valores do IHS, já que são ricos em ácidos graxos C18
5 (Kowalska et al., 2011a; Piedecausa et al., 2007). O maior IHS foi
6 observado nas dietas com maiores níveis de amido. Várias outras espécies
7 de peixes, como sargo *Megalobrama amblycephala* (Li et al., 2013),
8 *Sparus sarba* (Leung; Woo, 2012), *Puntius gonionotustruta* (Mohanta et
9 al., 2009) e robalo (Pérez-Jiménez et al., 2007) alimentados com dietas
10 ricas em carboidratos também apresentam maior IHS e deposição de
11 glicogênio hepático. No entanto, em outra pesquisa com *Dicentrarchus*
12 *labrax* (Parpoura; Alexis, 2001), e robalo (Peres; Oliva-Teles, 2002), o
13 aumento do IHS foi associado com a maior deposição lipídica hepática.

14 Tem sido demonstrado que as reservas glicogênicas nos peixes são
15 extremamente importantes, estando envolvidas em primeiro momento, no
16 ajuste metabólico e no ciclo desenvolvimento/manutenção de funções
17 orgânicas (Silva; Massaro, 2006). Quando se analisa a deposição de
18 glicogênio no fígado se observa que a dieta com 25% de amido e óleo de
19 linhaça apresentou a menor deposição com diferença significativa.
20 Portanto, se pode inferir que a glicemia circulante pode ser também
21 produto da quebra do glicogênio. Assim, observa-se um efeito conjunto
22 desses ácidos graxos. O C18:3n3 estimulou a glicogenólise e o C18:0
23 proporcionou energia através da β -oxidação acumulando, deste modo, a
24 concentração de glicose circulante observada no soro.

25 Nesta dieta, a presença de C18:3n3 no óleo de linhaça pode estar
26 alterando a glicogenólise ou inibindo a gliconeogênese. É válido destacar
27 que com alto conteúdo de amido (25%) o híbrido possivelmente quebrou
28 o glicogênio, o que gerou aumento na glicemia sérica. Essa fonte
29 energética circulante por rotatividade pode retornar ao fígado, e o excesso
30 poderia ser utilizado na formação de maior quantidade de lipídeos
31 hepáticos (lipogênese), como observado nos resultados (tabela 8). Já com
32 5% de amido o híbrido usou possivelmente a glicogênese para construir
33 depósitos de glicogênio de reserva no fígado, promovendo seu depósito
34 neste nível, e simultâneo diminuiu a formação dos depósitos de lipídeos
35 (tabela 8).

36 O depósito de glicogênio no nível de 25% de amido foi maior com as
37 dietas contendo óleo de peixe, esse resultado apresentou a interação entre
38 o nível de amido e a fonte de óleo, e está relacionada com a concentração

1 da glicose sérica. Isso indica que o organismo consegue dar um destino a
2 glicose circulante gerando maior glicogênio hepático, como visto na
3 tabela 8. A deposição de lipídeos no fígado aumentou com o maior nível
4 de amido nas dietas, com exceção da dieta com óleo de oliva, na qual se
5 observa uma diminuição significativa na deposição. A grande quantidade
6 de glicose gerada a partir do amido nas dietas com nível de 25% pode ter
7 sido encaminhada para síntese de triglicerídeos, e sua posterior deposição
8 no fígado, incrementando as reservas de lipídeos.

9 Nas dietas contendo óleo de peixe a deposição de lipídeos não teve
10 diferença significativa ao aumentar o nível de amido. Esse resultado está
11 de acordo com os resultados obtidos para triglicerídeos hepáticos e tem
12 relação com o efeito do n3 presente na dieta. Nela o EPA e o DHA
13 presentes podem ser responsáveis pelas menores concentrações de
14 lipídeos registradas, ao inibir a síntese de triglicerídeos hepáticos, tal
15 como discutido anteriormente. Além disso, o óleo de peixe atua
16 favorecendo a oxidação lipídica, através da ação do PPAR (*peroxisome*
17 *proliferator-activated receptors*), e desacelerando a expressão de genes
18 envolvidos na lipogênese, via supressão da expressão gênica e da
19 translocação nuclear dos SREBP (*sterol regulatory element binding*
20 *proteins*) (Andrade; Carmo, 2006). Ambos os triglicerídeos e colesterol
21 são elevados após a alteração da estrutura do fígado, sugerindo que eles
22 poderiam ser usados como uma ferramenta de diagnóstico comum para
23 insuficiência hepática devido ao acúmulo de lipídeos (Lu et al., 2013). O
24 acúmulo de gotículas lipídicas em fígados de peixes alimentados com
25 dietas de origem vegetal pode ser devido à preferência de ácidos graxos
26 específicos como fontes de energia, resultando em armazenamento de
27 ácidos graxos excedentes em gotículas lipídicas (Mourente; Good; Bell,
28 2005).

29 A concentração de n3 na dieta influenciou na deposição lipídica
30 especialmente naquelas suplementadas com óleo de oliva. A menor
31 deposição registrada na dieta com o óleo de oliva em 25% de amido pode
32 obedecer ao efeito da dieta mediterrânea gerada entre a associação de o
33 óleo de oliva com o óleo de peixe residual da farinha, semelhante ao
34 efeito de redução de triglicerídeos hepáticos discutido anteriormente.
35 Assim, a redução na proporção de óleo na dieta, ao aumentar o nível de
36 amido, pode ter favorecido uma adequada relação n3/n9.

37 O aumento no nível de amido aumentou a deposição de lipídeos no
38 fígado para as dietas contendo óleo de linhaça e óleo de milho. Estas

1 fontes de óleo conduzem a uma maior deposição de triglicerídeos
2 hepáticos no híbrido como referido anteriormente. As maiores
3 concentrações de triglicerídeos hepáticos, e por consequência de lipídeos
4 registrada nas dietas suplementadas com óleo de linhaça e milho,
5 permitem inferir uma baixa capacidade do organismo para alongar e
6 dessaturar com eficiência o precursor (C18 PUFA - 18:3n3 e 18:2n6) em
7 seus derivados HUFA, ou seja, 20:5n3, C20:4n6 e C22:6n3. Os óleos
8 vegetais, especialmente aqueles ricos em 18:3n3, aumentam o processo de
9 alongação e dessaturação dos ácidos graxos, tanto a nível molecular
10 quanto enzimático (Tocher et al., 2002; Zheng et al., 2005). Desse modo
11 pode se pensar que a energia disponível do óleo de linhaça e milho não é
12 bem usada pelo híbrido, e assim se tem grande disponibilidade de
13 triglicerídeos vindos desse precursor acumulado no fígado.

14 O nível de lipídeos e a deficiência de alguns ácidos graxos em
15 alimentos para peixes têm um efeito sobre o grau de vacuolização dos
16 hepatócitos e, conseqüentemente, afeta o tamanho dessas células
17 (Caballero et al., 2002; Kowalska et al., 2011b; Kowalska et al., 2010). A
18 vacuolização observada no parênquima hepático apresentou efeito do
19 nível de amido, fonte de óleo e sua interação. Em geral com o aumento no
20 nível de amido (25%) se observa uma maior vacuolização ($p < 0,05$),
21 principalmente com as fontes óleo de linhaça e óleo de oliva. O maior
22 grau de vacuolização registrado com alto nível de amido, possivelmente
23 obedece ao maior custo ou dificuldade metabólica no fígado, exigida para
24 metabolizar a contribuição de amido vindo da dieta, esse nível do
25 nutriente pode ter promovido um maior desafio e portanto a vacuolização
26 estaria representando essa adaptação ou modulação do parênquima
27 hepático para o uso desse carboidrato.

28 Quando se tem maior concentração de óleo sendo metabolizado no
29 fígado (5% amido) se observa uma relação da vacuolização com as fontes
30 de lipídeos, assim ao ter mais proporção de lipídeos na dieta houve uma
31 redução na vacuolização. A proporção de óleo é a maior fonte energética
32 nessas dietas, e a resposta na vacuolização acompanha cada fonte de óleo.
33 Quando se aumenta a proporção do amido para 25% se reduz a proporção
34 de lipídeos na dieta, e se observa uma resposta do fígado ao carboidrato,
35 se adverte a influencia do amido refletido no grau de vacuolização o qual
36 aumenta, e se nota uma interação com as fontes de óleo.

37 A maior vacuolização verificada nas dietas contendo óleo de linhaça
38 a 25% pode estar relacionada a pobre capacidade do híbrido em usar esta

1 fonte de óleo. Como descrito anteriormente se observa limitada
2 habilidade para alongar e dessaturar o precursor, por consequência o
3 Cahandiá metabolicamente vai gerar reservas de lipídeos, ou de
4 glicogênio dependendo do nível de amido na dieta. Assim essa fonte
5 energética está alterando o metabolismo, e o esforço do fígado é refletido
6 no IHS e na vacuolização. Alterar a fonte lipídica em alimentos pode
7 afetar o metabolismo lipídico, tal como referido em *Dicentrarchus labrax*
8 ao alimentar com óleo de soja, oliva e colza que resultou em alterações
9 histológicas no fígado (Caballero et al., 2002; Parpoura; Alexis, 2001).
10 Estas alterações podem ser ligadas a óleos vegetais que são difíceis de
11 assimilar, somado a um déficit de ácidos graxos essenciais e/ou a inibição
12 da síntese de HUFA (Parpoura; Alexis, 2001).

13 No contexto, a dieta suplementada com óleo de oliva reduziu a
14 vacuolização provavelmente em resposta a alta concentração do ácido
15 graxo C18:1n9, o qual é referido como inibidor do desempenho geral
16 citado por (Xu; Kestemont, 2002). Estes autores mencionam queda no
17 crescimento, conversão alimentar e em todos os parâmetros de
18 desempenho, o qual os autores referem a um menor consumo como
19 responsável, e não patologia hepática.

20 Existe uma relação da vacuolização com o índice hepatossomático.
21 Os maiores valores foram observados no nível de 25% de amido,
22 igualmente o maior grau de vacuolização. Assim os valores do IHS estão
23 acompanhando a vacuolização. Isso está relacionado à reserva conjunta
24 de lipídeos e glicogênio no fígado, somado a dinâmica no uso da energia
25 através do fígado, tal como referido para outras espécies nos estudos
26 realizados por (Abimorad; Carneiro; Urbinati, 2007), (Piedecausa et al.,
27 2007), (Kowalska et al., 2011a), (Li et al., 2013), (Leung; Woo, 2012),
28 (Mohanta et al., 2009), (Peres; Oliva-Teles, 2002).

29 Além disso, este índice está relacionado a atividade metabólica deste
30 órgão. Maior atividade metabólica evidencia maior volume dos
31 hepatócitos, sem que seja necessariamente observada maior deposição de
32 reservas (lipídeos ou glicogênio). Isso porque o IHS responde com a
33 maior proporção de energia que está recebendo o fígado para ser
34 processada, seja como reserva, ou para síntese de outros compostos,
35 dentre outras funções metabólicas.

36 A relação n3/n6 é importante para o metabolismo no híbrido, e a
37 eficiência no uso das diferentes fontes de óleo vai depender desta relação.
38 O híbrido pode apresentar exigência de ácidos graxos da série ômega 3

1 semelhante a peixes carnívoros, e sua capacidade de alongar e dessaturar
2 precursores presentes nos óleos vegetais provavelmente vai depender da
3 presença de HUFAs na dieta. Nas dietas não variou a quantidade de
4 HUFA presente, no entanto houve variação na proporção com as
5 diferentes fontes de óleo apresentado-se efeito sobre o metabolismo do
6 híbrido.

7

8 **5. Conclusão**

9

10 Nas condições em que se desenvolveu o presente estudo, conclui-se
11 que níveis de amido, fontes de óleo e sua interação, bem como a relação
12 n3/n6 afetam a glicose sérica, o metabolismo energético do híbrido, e a
13 proporção entre n3/n6 da dieta alteram a histologia hepática.

14

15 **Agradecimentos**

16

17 Os autores agradecem a DZO-UFLA, CAPES (PEC-PG), CNPq,
18 FAPEMIG, COLFUTURO, UNICORDOBA.

19

20

21 **Referências**

22

23 Abimorad, E.G., Carneiro, D.J., Urbinati, E.C., 2007. Growth and
24 metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887)
25 juveniles fed diets containing different protein, lipid and
26 carbohydrate levels. *Aquacult Res.* 38, 36-44.
27 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01621.x>

28 Agaba, M.K., Tocher, D.R., Zheng, X., Dickson, C.A., Dick, J.R., Teale,
29 A.J., 2005. Cloning and functional characterisation of
30 polyunsaturated fatty acid elongases of marine and freshwater
31 teleost fish. *Comp Biochem Physiol B: Biochem Molecular Biol.*
32 142, 342-352.
33 [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S10964959050019](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096495905001995)
34 [95](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096495905001995)

35 Almáida-Pagán, P.F., Hernández, M.D., García García, B., Madrid, J.A.,
36 De Costa, J., Mendiola, P., 2007. Effects of total replacement of fish
37 oil by vegetable oils on n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid
38 desaturation and elongation in sharpsnout seabream (*Diplodus*

- 1 puntazzo) hepatocytes and enterocytes. *Aquaculture*. 272, 589-598.
2 [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486070083](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004484860700837X)
3 7X
- 4 Amaral, A.F., Alvarado, N., Marigomez, I., Cunha, R., Hylland, K.,
5 Soto, M., 2002. Autometallography and metallothionein
6 immunohistochemistry in hepatocytes of turbot (*Scophthalmus*
7 *maximus* L.) after exposure to cadmium and depuration treatment.
8 *Biomarkers*. 7, 491-500.
9 [http://www.azoresbioportal.angra.uac.pt/files/publicacoes_Amaral2](http://www.azoresbioportal.angra.uac.pt/files/publicacoes_Amaral2002.pdf)
10 002.pdf
- 11 Andrade, P.M.M., Carmo, M.G.T., 2006. Ácidos graxos n-3: um link
12 entre eicosanóides, inflamação e imunidade. *Rev Mn-Metab*. 8, 135-
13 143.
14 [http://laszlo.ind.br/admin/artigos/arquivos/PrisciladeMatto%20Mach](http://laszlo.ind.br/admin/artigos/arquivos/PrisciladeMatto%20MachadoAndradeMNMetab%C3%83%C2%B3licav8n3.pdf)
15 adoAndradeMNMetab%C3%83%C2%B3licav8n3.pdf
- 16 Bandarra, N.M., Rema, P., Batista, I., Pousão-Ferreira, P., Valente,
17 L.M.P., Batista, S.M.G., Ozório, R.O.A., 2011. Effects of dietary
18 n-3/n-6 ratio on lipid metabolism of gilthead seabream (*Sparus*
19 *aurata*). *Eur J Lipid Sci Technol*. 113, 1332-1341.
20 <http://dx.doi.org/10.1002/ejlt.201100087>
- 21 Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D., Sargent, J., 2004. Replacement
22 of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil: Modification
23 of flesh fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*)
24 using a fish oil finishing diet. *Lipids*. 39, 223-232.
25 <http://dx.doi.org/10.1007/s11745-004-1223-5>
- 26 Bell, J.G., Tocher, D.R., Henderson, R.J., Dick, J.R., Crampton, V.O.,
27 2003. Altered Fatty Acid Compositions in Atlantic Salmon (*Salmo*
28 *salar*) Fed Diets Containing Linseed and Rapeseed Oils Can Be
29 Partially Restored by a Subsequent Fish Oil Finishing Diet. *J Nutr*.
30 133, 2793-2801. <http://jn.nutrition.org/content/133/9/2793.abstract>
- 31 Booth, M.A., Moses, M.D., Allan, G.L., 2013. Utilisation of
32 carbohydrate by yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. *Aquaculture*.
33 376-379, 151-161.
34 [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486120070](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848612007004)
35 04
- 36 Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation
37 of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-
38 dye binding. *Anal Biochem*. 72, 248-254.

- 1 <http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/lab-bioq->
2 [gen/archivos/Bradford%201976.pdf](http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/lab-bioq-gen/archivos/Bradford%201976.pdf)
- 3 Caballero, M.J., Izquierdo, M.S., Kjorsvik, E., Fernandez, A.J.,
4 Rosenlund, G., 2004. Histological alterations in the liver of sea
5 bream, *Sparus aurata* L., caused by short- or long-term feeding with
6 vegetable oils. Recovery of normal morphology after feeding fish oil
7 as the sole lipid source. *J Fish Dis.* 27, 531-541.
8 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2761.2004.00572.x>
- 9 Caballero, M.J., Obach, A., Rosenlund, G., Montero, D., Gisvold, M.,
10 Izquierdo, M.S., 2002. Impact of different dietary lipid sources on
11 growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and
12 histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture.* 214,
13 253-271. [http://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486\(01\)00852-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486(01)00852-3)
- 14 Codabaccus, B.M., Bridle, A.R., Nichols, P.D., Carter, C.G., 2011. An
15 extended feeding history with a stearidonic acid enriched diet from
16 parr to smolt increases n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids
17 biosynthesis in white muscle and liver of Atlantic salmon (*Salmo*
18 *salar* L.). *Aquaculture.* 322–323, 65-73.
19 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486110072>
20 [28](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486110072)
- 21 Champe, P.C., Harvey, R.A., Ferrier, D.R., 2010. *Bioquímica Ilustrada.*,
22 4 ed. ed. ArtMed, Porto Alegre.
- 23 Du, Z.Y., Liu, Y.J., Tian, L.X., Wang, J.T., Wang, Y., Liang, G.Y.,
24 2005. Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and
25 body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon*
26 *idella*). *Aquaculture Nutr.* 11, 139-146.
27 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00333.x>
- 28 Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S., Oliva-Teles, A., 2009. Nutritional
29 regulation of hepatic glucose metabolism in fish. *Fish Physiol*
30 *Biochem.* 35, 519-539. [http://dx.doi.org/10.1007/s10695-008-9259-](http://dx.doi.org/10.1007/s10695-008-9259-5)
31 [5](http://dx.doi.org/10.1007/s10695-008-9259-5)
- 32 Euclides, R.F., 1997. *Manual de utilização do programa SAEG -*
33 *Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas.* UFV, Viçosa.
- 34 Ferreira, M.W., de Araujo, F.G., Costa, D.V., Rosa, P.V., Figueiredo,
35 H.C.P., Murgas, L.D.S., 2011. Influence of Dietary Oil Sources on
36 Muscle Composition and Plasma Lipoprotein Concentrations in Nile
37 Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *J World Aquacult Soc.* 42, 24-33.
38 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00440.x>

- 1 Gao, W., Liu, Y.J., Tian, L.X., Mai, K.S., Liang, G.Y., Yang, H.J., Huai,
2 M.Y., Luo, W.J., 2010. Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios
3 on growth performance, body composition, nutrient utilization and
4 hepatic enzymes activities of herbivorous grass carp
5 (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutr.* 16, 327-333.
6 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00668.x>
- 7 Gatta, P.P., Parma, L., Guarniero, I., Mandrioli, L., Sirri, R., Fontanillas,
8 R., Bonaldo, A., 2011. Growth, feed utilization and liver histology
9 of juvenile common sole (*Solea solea* L.) fed isoenergetic diets with
10 increasing protein levels. *Aquacult Res.* 42, 313-321.
11 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02622.x>
- 12 Güroy, B., Ergün, S., Merrifield, D., Güroy, D., 2013. Effect of
13 autoclaved *Ulva* meal on growth performance, nutrient utilization
14 and fatty acid profile of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*.
15 *Aquacult Int.* 21, 605-615. [http://dx.doi.org/10.1007/s10499-012-](http://dx.doi.org/10.1007/s10499-012-9592-7)
16 [9592-7](http://dx.doi.org/10.1007/s10499-012-9592-7)
- 17 Harmon, K.J., Bolinger, M.T., Rodnick, K.J., 2011. Carbohydrate energy
18 reserves and effects of food deprivation in male and female rainbow
19 trout. *Comp Biochem Physiol A: Mol Integ Physiol.* 158, 423-431.
20 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.11.017>
- 21 Hashimoto, D.T., Senhorini, J.A., Foresti, F., Porto-Foresti, F., 2012.
22 Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic
23 resources for sustainable use. *Rev Aquaculture.* 4, 108-118.
24 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-5131.2012.01067.x>
- 25 Hemre, G.I., Mommsen, T.P., Kroghdahl, A., 2002. Carbohydrates in fish
26 nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic
27 enzymes. *Aquaculture Nutr.* 8, 175-194.
28 <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2095.2002.00200.x>
- 29 Hu, Y.H., Liu, Y.J., Tian, L.X., Yang, H.J., Liang, G.Y., Gao, W., 2007.
30 Optimal dietary carbohydrate to lipid ratio for juvenile yellowfin
31 seabream (*Sparus latus*). *Aquaculture Nutr.* 13, 291-297.
32 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00476.x>
- 33 Jordal, A.E.O., Lie, Ø., Torstensen, B.E., 2007. Complete replacement of
34 dietary fish oil with a vegetable oil blend affect liver lipid and
35 plasma lipoprotein levels in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.).
36 *Aquaculture Nutr.* 13, 114-130. [http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-](http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00455.x)
37 [2095.2007.00455.x](http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00455.x)
- 38 Kavitha, C., Ramesh, M., Kumaran, S.S., Lakshmi, S.A., 2012. Toxicity

- 1 of *Moringa oleifera* seed extract on some hematological and
2 biochemical profiles in a freshwater fish, *Cyprinus carpio*. *Exp*
3 *Toxicol Pathol.* 64, 681-687.
4 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S09402993110000>
5 [29](#)
- 6 Kim, L.O., Lee, S.-M., 2005. Effects of the dietary protein and lipid
7 levels on growth and body composition of bagrid catfish,
8 *Pseudobagrus fulvidraco*. *Aquaculture.* 243, 323-329.
9 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486040061>
10 [80](#)
- 11 Kjær, M.A., Vegusdal, A., Gjøen, T., Rustan, A.C., Todorčević, M.,
12 Ruyter, B., 2008. Effect of rapeseed oil and dietary n-3 fatty acids
13 on triacylglycerol synthesis and secretion in Atlantic salmon
14 hepatocytes. *BBA-Mol Cell Biol L.* 1781, 112-122.
15 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S13881981070023>
16 [63](#)
- 17 Kowalska, A., Zakes, Z., Jankowska, B., Siwicki, A., 2010. Impact of
18 diets with vegetable oils on the growth, histological structure of
19 internal organs, biochemical blood parameters, and proximate
20 composition of pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Aquaculture.* 301,
21 69-77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.01.028>
- 22 Kowalska, A., Zakeš, Z., Jankowska, B., Demska-Zakeš, K., 2011a.
23 Effect of different dietary lipid levels on growth performance,
24 slaughter yield, chemical composition, and histology of liver and
25 intestine of pikeperch, *Sander lucioperca*. *Czech J. Anim. Sci.* 56,
26 136-149. <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/36598.pdf>
- 27 Kowalska, A., Zakeš, Z., Jankowska, B., Siwicki, A., 2011b.
28 Substituting vegetable oil for fish oil in pikeperch diets: the impact
29 on growth, internal organ histology, blood biochemical parameters,
30 and proximate composition. *Aquaculture Nutr.* 17, e148-e163.
31 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00744.x>
- 32 Krogdahl, A., Hemre, G.I., Mommsen, T.P., 2005. Carbohydrates in fish
33 nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture*
34 *Nutr.* 11, 103-122. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365->
35 [2095.2004.00327.x](#)
- 36 Kumar, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Sagar, V., Sinha, A., Baruah, K., 2009.
37 Modulation of key metabolic enzyme of *Labeo rohita* (Hamilton)
38 juvenile: effect of dietary starch type, protein level and exogenous

- 1 α -amylase in the diet. *Fish Physiol Biochem.* 35, 301-315.
2 <http://dx.doi.org/10.1007/s10695-008-9213-6>
- 3 Lee, S.-M., Jeon, I.G., Lee, J.Y., 2002. Effects of digestible protein and
4 lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body
5 composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture.*
6 211, 227-239.
7 [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486010088](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848601008808)
8 08
- 9 Leung, L.Y., Woo, N.S., 2012. Influence of dietary carbohydrate level
10 on endocrine status and hepatic carbohydrate metabolism in the
11 marine fish *Sparus sarba*. *Fish Physiol Biochem.* 38, 543-554.
12 <http://dx.doi.org/10.1007/s10695-011-9534-8>
- 13 Levene, A.P., Goldin, R.D., 2012. The epidemiology, pathogenesis and
14 histopathology of fatty liver disease. *Histopathology.* 61, 141-152.
15 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2559.2011.04145.x>
- 16 Li, X.F., Wang, Y., Liu, W.B., Jiang, G.Z., Zhu, J., 2013. Effects of
17 dietary carbohydrate/lipid ratios on growth performance, body
18 composition and glucose metabolism of fingerling blunt snout
19 bream *Megalobrama amblycephala*. *Aquaculture Nutr.* 19, 701-708.
20 <http://dx.doi.org/10.1111/anu.12017>
- 21 Lu, K.-L., Xu, W.-N., Li, X.-F., Liu, W.-B., Wang, L.-N., Zhang, C.-N.,
22 2013a. Hepatic triacylglycerol secretion, lipid transport and tissue
23 lipid uptake in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fed
24 high-fat diet. *Aquaculture.* 408-409, 160-168.
25 [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486130027](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848613002767)
26 67
- 27 Lu, K.-l., Xu, W.-n., Li, J.-y., Li, X.-f., Huang, G.-q., Liu, W.-b., 2013b.
28 Alterations of liver histology and blood biochemistry in blunt snout
29 bream *Megalobrama amblycephala* fed high-fat diets. *Fish Sci.* 79,
30 661-671. <http://dx.doi.org/10.1007/s12562-013-0635-4>
- 31 Martino, R.C., Cyrino, J.E.P., Portz, L., Trugo, L.C., 2002. Performance
32 and fatty acid composition of surubim (*Pseudoplatystoma*
33 *coruscans*) fed diets with animal and plant lipids. *Aquaculture.* 209,
34 233-246. [http://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486\(01\)00847-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486(01)00847-x)
- 35 Menoyo, D., Lopez-Bote, C.J., Bautista, J.M., Obach, A., 2003. Growth,
36 digestibility and fatty acid utilization in large Atlantic salmon
37 (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids.
38 *Aquaculture.* 225, 295-307.

- 1 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486030029>
2 [77](#)
- 3 Mohanta, K.N., Mohanty, S.N., Jena, J., Sahu, N.P., Patro, B., 2009.
4 Carbohydrate level in the diet of silver barb, *Puntius gonionotus*
5 (Bleeker) fingerlings: effect on growth, nutrient utilization and
6 whole body composition. *Aquacult Res.* 40, 927-937.
7 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02186.x>
- 8 Mourente, G., Good, J.E., Bell, J.G., 2005. Partial substitution of fish oil
9 with rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass
10 (*Dicentrarchus labrax* L.): effects on flesh fatty acid composition,
11 plasma prostaglandins E2 and F2 α , immune function and
12 effectiveness of a fish oil finishing diet. *Aquaculture Nutr.* 11, 25-
13 40. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00320.x>
- 14 Nagel, F., von Danwitz, A., Tusche, K., Kroeckel, S., van Bussel, C.G.J.,
15 Schlachter, M., Adem, H., Tressel, R.-P., Schulz, C., 2012.
16 Nutritional evaluation of rapeseed protein isolate as fish meal
17 substitute for juvenile turbot (*Psetta maxima* L.) — Impact on
18 growth performance, body composition, nutrient digestibility and
19 blood physiology. *Aquaculture.* 356–357, 357-364.
20 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486120028>
21 [40](#)
- 22 Parpoura, A.R., Alexis, M., 2001. Effects of different dietary oils in sea
23 bass (*Dicentrarchus labrax*) nutrition. *Aquacult Int.* 9, 463-476.
24 <http://dx.doi.org/10.1023/A%3A1020590701325>
- 25 Pavlidis, M., Fütter, W.C., Katharios, P., Divanach, P., 2007. Blood cell
26 profile of six Mediterranean mariculture fish species. *J Appl*
27 *Ichthyol.* 23, 70-73. [http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-
28 \[0426.2006.00771.x\]\(#\)](http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-)
- 29 Peres, H., Oliva-Teles, A., 2002. Utilization of raw and gelatinized
30 starch by European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles.
31 *Aquaculture.* 205, 287-299.
32 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486010068>
33 [22](#)
- 34 Pérez-Jiménez, A., Guedes, M.J., Morales, A.E., Oliva-Teles, A., 2007.
35 Metabolic responses to short starvation and refeeding in
36 *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture.*
37 265, 325-335.
38 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486070010>

- 1 32
2 Piedecausa, M.A., Mazón, M.J., García García, B., Hernández, M.D.,
3 2007. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the
4 diets of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture*.
5 263, 211-219. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.09.039>
6 Porto-Foresti, F., Hashimoto, D.T., Prado, F.D., Senhorini, J.A., Foresti,
7 F., 2013. Genetic markers for the identification of hybrids among
8 catfish species of the family Pimelodidae. *J Appl Ichth.* 29, 643-647.
9 <http://dx.doi.org/10.1111/jai.12092>
10 Ross, L.G., Ross, B., 2008. *Anaesthetic and Sedative Techniques for*
11 *Aquatic Animals*. 3rd ed. Wiley-Blackwell, Oxford.
12 Sargent, J.R., Tocher, D.R., Bell, J.G., 2002. The Lipids. in: Halver, J.E.,
13 Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*. Academic Press, New York, pp.
14 182-259.
15 Silva, C.A., Massaro, M., 2006. Influência da sazonalidade na
16 mobilização das reservas de glicogênio do peixe elétrico *Gymnotus*
17 *carapo* Miller, 1966 (Osteichthyes, Gymnotidae). *Zoociências*. 8, 61-
18 66.
19 [http://www.editoraufjf.com.br/revista/index.php/zoociencias/article/](http://www.editoraufjf.com.br/revista/index.php/zoociencias/article/view/151)
20 [view/151](http://www.editoraufjf.com.br/revista/index.php/zoociencias/article/view/151)
21 Tocher, D., Fonseca-Madrigal, J., Bell, J.G., Dick, J., Henderson, R.J.,
22 Sargent, J., 2002. Effects of diets containing linseed oil on fatty acid
23 desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes
24 in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiol Biochem.* 26, 157-
25 170. <http://dx.doi.org/10.1023/A%3A1025416731014>
26 Tolussi, C.E., Hilsdorf, A.W.S., Caneppele, D., Moreira, R.G., 2010.
27 The effects of stocking density in physiological parameters and
28 growth of the endangered teleost species piabanha, *Brycon insignis*
29 (Steindachner, 1877). *Aquaculture*. 310, 221-228.
30 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486100068>
31 85
32 Turchini, G.M., Francis, D.S., 2009. Fatty acid metabolism
33 (desaturation, elongation and beta-oxidation) in rainbow trout fed
34 fish oil- or linseed oil-based diets. *Br J Nutr.* 102, 69-81.
35 <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114508137874>
36 Vegusdal, A., Gjøen, T., Berge, R.K., Thomassen, M.S., Ruyter, B.,
37 2005. Effect of 18:1n-9, 20:5n-3, and 22:6n-3 on lipid
38 accumulation and secretion by atlantic salmon hepatocytes. *Lipids*.

- 1 40, 477-486. <http://dx.doi.org/10.1007/s11745-005-1407-z>
- 2 Wassef, E.A., Wahby, O.M., Sakr, E.M., 2007. Effect of dietary
3 vegetable oils on health and liver histology of gilthead seabream
4 (*Sparus aurata*) growers. *Aquacult Res.* 38, 852-861.
5 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01738.x>
- 6 Wilson, R.P., 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish.
7 *Aquaculture.* 124, 67-80. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(94)90363-8)
8 [8486\(94\)90363-8](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(94)90363-8)
- 9 Wu, F.-C., Chen, H.-Y., 2012. Effects of dietary linolenic acid to linoleic
10 acid ratio on growth, tissue fatty acid profile and immune response
11 of the juvenile grouper *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture.* 324-
12 325, 111-117.
13 [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00448486110084](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848611008465)
14 [65](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848611008465)
- 15 Xu, X., Kestemont, P., 2002. Lipid metabolism and FA composition in
16 tissues of Eurasian perch *Perca fluviatilis* as influenced by dietary
17 fats. *Lipids.* 37, 297-304. [http://dx.doi.org/10.1007/s11745-002-](http://dx.doi.org/10.1007/s11745-002-0894-2)
18 [0894-2](http://dx.doi.org/10.1007/s11745-002-0894-2)
- 19 Zheng, X., Torstensen, B.E., Tocher, D.R., Dick, J.R., Henderson, R.J.,
20 Bell, J.G., 2005. Environmental and dietary influences on highly
21 unsaturated fatty acid biosynthesis and expression of fatty acyl
22 desaturase and elongase genes in liver of Atlantic salmon (*Salmo*
23 *salar*). *BBA-Mol Cell Biol L.* 1734, 13-24.
24 [tp://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S13881981050000](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S13881981050000)

25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38

(VERSÃO PRELIMINAR DO ARTIGO)

ARTIGO 2 Perfis das lipoproteínas séricas e de ácidos graxos em híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* alimentados com diferentes fontes energéticas

Artigo normalizado de acordo com as normas para submissão do periódico
Aquaculture

1 **Perfis das lipoproteínas séricas e de ácidos graxos em híbrido de**
2 ***Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus* alimentados com**
3 **diferentes fontes energéticas**

4

5 Martha Janeth Prieto-Guevara ^{a,b}, Renan R. Paulino ^a, Daniel Okamura ^a,
6 Yamid F. Hernández-Julio ^c, Priscila V. e Rosa ^a.

7

8 ^a Universidade Federal de Lavras, Departamento de Zootecnia, PO Box
9 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

10 ^b Centro de investigación piscícola – CINPIC, Departamento de Ciencias
11 Acuícolas, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia.

12 ^c Universidade Federal de Lavras, Departamento de Engenharia, PO Box
13 3037, CEP 37200-000, Lavras MG, Brasil.

14

15

16

RESUMO

17

18 O presente estudo tem como objetivo avaliar a influência dos níveis
19 de amido e de fontes de óleos sobre o perfil das lipoproteínas séricas e o
20 perfil de ácidos graxos do fígado e do músculo do híbrido de
21 *Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus*. O experimento foi
22 realizado no Laboratório de Metabolismo de Peixes da Universidade
23 Federal de Lavras (UFLA), com duração de 60 dias. Foram utilizados 520
24 juvenis do híbrido, com peso médio de 82,87 mantidos em caixas de
25 100L, em sistema de recirculação, a uma temperatura média de
26 27,8±0,3°C. Delineamento experimental inteiramente ao acaso com oito
27 tratamentos em esquema fatorial 2x4 (dois níveis de amido de milho 5 e
28 25% e quatro fontes de óleo linhaça, oliva, milho e peixe). Cada
29 tratamento foi fornecido a 5 caixas, totalizando 40 parcelas. Realizou-se
30 coleta de amostras aos 60 dias de experimento para a determinação das
31 concentrações de Colesterol, HDL, LDL, VLDL, e o perfil de ácidos
32 graxos do fígado e do músculo. As concentrações de triglicerídeos, HDL,
33 LDL e VLDL no soro foram influenciadas pela interação entre os níveis

1 de amido na dieta e as diferentes fontes de óleo ($P < 0,05$). O colesterol
2 serico não apresentou efeito do nível de amido nem da fonte de óleo
3 ($P > 0,05$). A interação entre níveis de amido e fontes de óleo teve efeito
4 sobre a somatória de SFA, MUFA, PUFA, HUFA, e na relação n3/n6 no
5 fígado e músculo ($P < 0,05$). A composição de ácidos graxos no fígado foi
6 significativamente afetada pelas dietas ($P < 0,05$). Uma interação entre o
7 nível de amido e fonte de óleo da dieta foi identificada em todos os ácidos
8 graxos, e alguns ácidos graxos refletiram em espelho a sua composição. A
9 composição de ácidos graxos no músculo foi significativamente afetada
10 pelas dietas ($P < 0,05$), uma interação entre o nível de amido e fonte de
11 óleo da dieta foi identificada na maioria dos ácidos graxos exceto para o
12 ácido esteárico, gama linolênico e DHA. O perfil de AG da dieta pode
13 influenciar significativamente o perfil de AG hepático, muscular e as
14 lipoproteínas séricas no híbrido, e estes são influenciados pelos níveis de
15 amido, fontes de óleo, sendo seu comportamento específico em função da
16 relação n3/n6 na dieta.

17

18 Palavras chave: Ácidos graxos, Colesterol, HDL, LDL,
19 VLDL, Peixes.

20

21 Abreviações: AG: ácidos graxos; SFA: ácidos graxos saturados; MUFA:
22 ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poliinsaturados;
23 HUFA: ácidos graxos altamente poliinsaturados; HDL: lipoproteína de
24 alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL:
25 lipoproteína de densidade muito baixa; OV: óleo vegetal; LO: óleo de
26 linhaça; CO: óleo de milho; OO: óleo de oliva; FO: óleo de peixe; EPA:
27 ácido eicosapentaenoico; DHA: ácido docosahexaenoico; TAG:
28 triglicerídeos; CHO: carboidrato.

29 □ Permanent address: Centro de investigación piscícola – CINPIC,
30 Departamento de Ciencias Acuícolas, Universidad de Córdoba, Carrera 6
31 No. 76-103, Montería, Colombia, Código Postal: 230002, Tel.: + 55 35
32 84289205 +57 4 7909806.

33 E-mail address: mjprietoguevara@yahoo.com.

1 **1. Introdução**

2

3 O Cachandiá é originário do cruzamento entre a Cachara
4 (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e o jandiá (*Leiarius marmoratus*), uma
5 espécie carnívora e onívora, respectivamente que pertencem à família
6 pimelodidae (Porto-Foresti et al., 2013). Em condições de produção
7 apresenta melhor desempenho em relação aos puros, aumento de
8 tolerâncias ambientais e resistência às condições de cultivo (Hashimoto
9 et al., 2012). Por se tratar de um novo híbrido ultimamente cultivado em
10 pisciculturas, com carne apreciada e alto valor comercial, é considerada
11 entre os bagres uma espécie promissora para a piscicultura brasileira.
12 Portanto precisa ser bem conhecida em aspectos nutricionais, e
13 principalmente adaptação aos altos níveis de amido e as diversas fontes
14 de ácidos graxos.

15 Devido à complexidade dos mecanismos pelos quais as fontes de
16 óleo e níveis de carboidratos, por si só, podem afetar o transporte e
17 metabolismo lipídico dos peixes, e em virtude da variedade de fontes de
18 óleo e níveis de carboidratos a ser usados nas dietas, é necessário
19 concentrar-se especificamente nas consequências da sua inclusão.
20 Portanto, é importante avaliar a mobilização dos lipídeos via das
21 lipoproteínas, e a deposição dos ácidos nos diferentes tecidos. No fígado
22 como órgão metabólico por excelência, e no músculo branco, como
23 tecido de importância metabólica e parte comestível comercial.
24 (Bandarra et al., 2006; Bell et al., 2010; Borquez et al., 2011; Gao et al.,
25 2012; Luo et al., 2008; Norambuena et al., 2013).

26 As lipoproteínas séricas são responsáveis pelo transporte dos ácidos
27 graxos e colesterol para os diferentes tecidos, e sua composição no
28 plasma é afetada pela constituição de ácidos graxos na dieta em
29 diferentes graus (Celik, 2004; Eliason et al., 2010; Endo et al., 2003;
30 Jordal; Lie; Torstensen, 2007; Messina et al., 2013; Torstensen;
31 Frøyland; Lie, 2004).

32 Gorduras saturadas estão associadas a níveis plasmáticos altos de
33 colesterol total e colesterol LDL, os quais são diminuídos com gorduras
34 monoinsaturadas, que por sua vez podem incrementar o colesterol HDL.

1 A dieta rica em ácidos graxos monoinsaturados (n9) e poliinsaturados
2 (n3), também chamada dieta mediterrânea, está associada à diminuição
3 do colesterol total e do LDL. Os ácidos graxos poliinsaturados (n6)
4 diminuem colesterol LDL e HDL, e os (n3) têm pouco efeito nas
5 lipoproteínas LDL e HDL e os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia
6 longa EPA e DHA são especialmente importantes no metabolismo das
7 lipoproteínas e regulação da lipogênese hepática (Champe; Harvey;
8 Ferrier, 2010).

9 Em peixes os lipídeos mobilizados são transportados, principalmente
10 esterificados em triglicerídeos, na maioria em HDL e menos em LDL
11 (Kjær et al., 2009). A substituição de óleo de peixe por óleo vegetal na
12 dieta, afeta os níveis de LDL, aumenta os depósitos de triglicerídeos no
13 fígado, e diminui os níveis de lipídeos no plasma, possivelmente através
14 da diminuição da síntese de VLDL (Ferreira et al., 2011; Jordal; Lie;
15 Torstensen, 2007; Ribeiro et al., 2013).

16 A composição de ácidos graxos do corpo dos peixes é determinada
17 tanto pelo tipo de lipídio na dieta ingerida quanto pela capacidade
18 individual das espécies em modificar essa entrada dietética por ambas as
19 vias de catabolismo e conversão, incluindo dessaturação e alongamento.
20 As mudanças de lipídeos nos tecidos não se refletem da mesma forma
21 para suas diferentes classes. A concentração de fosfolipídeos se mantém
22 quase constante, enquanto os lipídeos neutros ou triglicerídeos estão
23 fortemente influenciados pela composição de ácidos graxos da dieta
24 (Figueiredo-Silva et al., 2005). A retenção ou o catabolismo é
25 dependente do tipo de ácido graxo, o seu nível dietético e o tipo de
26 tecido. Os ácidos graxos não essenciais são prontamente catabolizados,
27 enquanto que os essenciais são mantidos em grau crescente com a sua
28 diminuição de níveis dietéticos (Torstensen; Frøyland; Lie, 2004).

29 A substituição do óleo de peixe com os óleos vegetais pode causar
30 um decréscimo no valor de EPA e DHA nos tecidos dos peixes e,
31 conseqüentemente, do seu estado metabólico, isto também pode alterar o
32 seu valor nutricional, o que é relevante para o consumidor (Turchini;
33 Torstensen; Ng, 2009). No entanto, tem sido demonstrado que alguns
34 peixes de água doce têm uma capacidade inata para sintetizar EPA e

1 DHA a partir de precursores com 18 átomos de carbono (Tan et al.,
2 2009b). Esse fato permite a inclusão nas rações de óleos vegetais, desde
3 que estes contenham quantidades adequadas de ácido α -linolênico, que
4 pode ser convertido em EPA e DHA pelo sistema enzimático do peixe
5 (Martino et al., 2002a). No mesmo sentido tem se mostrado que ácidos
6 graxos monossaturados e ácidos graxos saturados em menor medida,
7 podem ter um efeito "poupador de n³". Assim uma disponibilidade
8 abundante de MUFA e AGS dietética pode diminuir o catabolismo de n³
9 PUFA, e resultar em uma maior taxa de deposição desses ácidos graxos
10 nos filés de peixe que promovem a fisiologia (Turchini et al., 2011).

11 Assim a composição de ácidos graxos dos teleósteos é afetada pela
12 constituição de ácidos graxos da dieta em diferentes graus (Bell et al.,
13 2002; Bell et al., 2010; Güroy et al., 2013; Teoh; Turchini; Ng, 2011; Xu
14 et al., 2010). Do ponto de vista nutricional, pesquisas vêm sendo
15 realizadas, a fim de substituir óleo de peixe por óleos vegetais, com o
16 intuito de alcançar melhores proporções de n³/n⁶ no músculo do peixe
17 (Martino et al., 2002a). Dessa forma, se potencializa o valor nutricional
18 para a saúde humana, já que os ácidos graxos altamente insaturados
19 proporcionam diversos benefícios, como prevenção de doenças, portanto,
20 deve ter seu consumo aumentado (Souza; Anido; Tognon, 2007).

21 O presente estudo teve como objetivo avaliar através das
22 lipoproteínas séricas e do perfil lipídico hepático e muscular a influência
23 da adição de diferentes níveis de amido em dietas com diferentes fontes
24 de lipídeos sobre o metabolismo energético do híbrido *Pseudoplatystoma*
25 *reticulatum* x *Leiarius marmoratus*.

26

27 **2. Material e métodos**

28

29 2.1. Instalações e delineamento Experimental

30

31 O experimento, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de
32 Animais da UFLA (protocolo nº 028/12), foi realizado na Estação de
33 Piscicultura do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de

1 Lavras – UFLA, MG, Brasil. Esse foi conduzido em um sistema com
2 recirculação de água, provido com 40 caixas circulares de fibra de vidro,
3 com capacidade total 100 litros cada. Este sistema é composto por
4 bomba elétrica, biofiltro, filtro de areia e filtro ultravioleta. O fluxo na
5 estrutura permite três renovações totais de água a cada hora nas caixas. A
6 temperatura da água ($27,8 \pm 0,3$ °C) e fotoperíodo (12 h luz: 12 h escuro)
7 foram controlados no sistema e laboratório. O teor de oxigênio
8 dissolvido (DO₂) ($3,6 \pm 0,5$ mg/L), e pH ($7,1 \pm 0,3$ mg/L) foram
9 mantidos dentro da faixa ótima para a espécie.

10 Adotou-se um Delineamento experimental Inteiramente
11 Casualizado, com oito tratamentos em esquema fatorial 2x4, (dois níveis
12 de amido de milho 5 e 25% e quatro fontes de óleo linhaça, oliva, milho
13 e peixe). Cada dieta foi fornecida a cinco caixas, totalizando 40 parcelas.
14 Cada parcela foi constituída por 13 peixes. Um total de 520 juvenis do
15 híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* com
16 peso inicial médio de $82,87g \pm 25,36g$, distribuídos aleatoriamente nas
17 parcelas, foram mantidos nesse laboratório por 80 dias, sendo 20 dias de
18 adaptação ao sistema e ao manejo, e 60 dias de fornecimento das
19 diferentes dietas experimentais. Os juvenis foram alimentados duas
20 vezes ao dia, às 8:00 e às 17:00 horas, e as caixas foram limpas após
21 cada alimentação, para coleta dos restos de dieta e retirada das excretas.
22 A quantidade fornecida foi ajustada diariamente, conforme a saciedade
23 dos juvenis.

24

25 2.2. Dietas experimentais

26

27 Foram formuladas oito dietas experimentais para serem isoprotéicas
28 e isoenergéticas com 42% de proteína bruta e 4055 kcal/kg de energia
29 bruta. Os óleos utilizados foram o óleo de linhaça (LO; rico em 18:3n3),
30 óleo de milho (MO; rico em 18:2n6), óleo de oliva (OO; rico em 18:1n9)
31 e óleo de peixe (PO, rico em PUFA –EPA e DHA) (Tabelas 1). As dietas
32 foram processadas e peletizadas no Laboratório de Nutrição do
33 Departamento de Zootecnia da UFLA. A composição centesimal das

^a Farinha de resíduo da indústria de filetagem de salmão. ^b Composição do suplemento mineral e vitamínico (quantidade / kg): 1.500 UI de vitamina A; 15 mg de vitamina B2; 1000 UI de vitamina B3; 1000 UI de vitamina B12; 25 mg de vitamina E; 120 mg de vitamina PP; 2000 mg de colina; 80 mg de pantotenato de cálcio; 2 mg de ácido fólico; 170 mg de BHT; 80 mg de Mn.; 24 mg de Fe; 50 mg de Zn; 8 mg de Cu; 3 mg de I; 0,10 mg de Se. ^c Amido de milho cru.

1

Tabela 2

Composição proximal das dietas experimentais em % de matéria seca

	5% Amido				25% Amido			
	LO ^b	CO	OO	FO	LO	CO	OO	FO
Proteína bruta	44,44	45,61	43,94	44,00	45,58	45,32	44,13	44,98
Energia bruta	4767	4815	4812	4848	4617	4691	4682	4680
Extrato etéreo	18,42	18,88	18,13	20,05	9,54	9,03	9,91	9,47
Cinzas	17,61	17,86	17,96	18,18	11,75	11,63	11,92	11,85
Matéria seca	92,49	92,23	92,44	95,15	92,56	90,86	90,72	93,75
Relação EB:PB ^a	10,73	10,56	10,95	11,02	10,13	10,35	10,61	10,41

^a Taxa Energia bruta/Proteína bruta. ^b LO: Óleo de linhaça; CO: Óleo de Milho; OO: Óleo de Oliva; FO: Óleo de Peixe.

2

Tabela 3Composição de lipídeo e de ácidos graxos (% de ácidos graxos totais) das dietas experimentais s^a

Ácido graxo	5% Amido				25% Amido			
	LO ^b	CO	OO	FO	LO	CO	OO	FO
C14:0	1,3	1,3	1,2	6,3	2,8	3,0	2,6	5,0
C16:0	10,1	13,8	14,6	17,6	15,8	18,2	16,9	18,1
C16:1	1,4	1,5	2,0	6,5	2,9	2,7	2,8	4,6
C18:0	4,8	3,0	3,8	3,99	5,37	4,63	4,45	4,46
C18:1n9	17,0	25,7	49,2	12,0	17,8	20,1	31,3	14,1

	5	2	2	0	4	3	1	1
C18:2n6	12,1 7	30,8 0	8,67	5,74	12,0 7	18,4 6	8,35	8,20
C18:3n6	0,05	ND ^c	ND	0,18	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	32,6 4	1,0	0,91	0,99	16,4 6	1,42	1,06	1,46
C20:3n6	0,73	ND	ND	0,22	ND	1,66	ND	ND
C20:5n3	2,20	2,22	2,26	14,4 6	4,56	4,32	4,06	8,82
C22:6n3	2,71	2,76	2,88	9,90	5,76	5,41	5,09	8,03
SFA ^d	16,2 8	18,1 9	19,6 4	28,0 1	24,1	25,9 2	23,9 6	27,5 6
MUFA ^e	18,50	27,26	51,28	18,55	20,81	22,91	34,16	18,74
PUFA ^f	50,5 0	36,7 8	14,3 2	31,4 9	38,8 5	31,2 5	18,5 6	26,5 1
HUFA ^g	4,90	4,98	5,14	24,3 6	10,3 2	9,73	9,15	16,8 5
n6 ^h	12,9 5	30,8	8,67	6,14	12,0 7	20,1 2	8,35	8,2
n3 ⁱ	37,5 5	5,98	6,05	25,3 5	26,7 8	11,1 5	10,2 1	18,3 1
n3/n6	2,89	0,19	0,69	4,12	2,21	0,55	1,22	2,23
n3/n9	2,20	0,23	0,12	2,11	1,50	0,55	0,32	1,29
DHA/EP A ^j	1,23	1,24	1,27	0,68	1,26	1,25	1,25	0,91

^a Valores apresentados como medias de tres repetições. ^b LO, Óleo de linhaça; CO, Óleo de milho; OO, Óleo de oliva; FO, Óleo de peixe. ^c ND: não detectado. ^d SFA: total de ácidos graxos saturados. ^e MUFA: total de ácidos graxos monosaturados. ^f PUFA: total de ácidos graxos poliinsaturados (2 ou mais insaturações). ^g HUFA: total de ácidos graxos altamente insaturados (5 ou mais insaturações). ^h n3: total de ácidos graxos poliinsaturados n3. ⁱ n-6: total de ácidos graxos poliinsaturados n6. ^j DHA/EPA = 22:6n3/20:5n3.

1

2 2.3. Amostragem

3

4 No final dos 60 dias os peixes foram mantidos em jejum por 24 h, e

1 posteriormente, dois peixes por caixa foram sedados com benzocaína, em
2 uma concentração de 300 mg.L⁻¹ (Ross and Ross, 2008) e sacrificados.
3 Dos peixes foram coletados o sangue, fígado e duas amostra de músculo
4 branco direito. Essas amostras de tecido hepático e músculo branco foram
5 dispostos em tubos eppendorf. Todo o material foi armazenado a -80°C
6 para posteriores análises de lipoproteínas séricas e perfil lipídico.

7

8 2.4. Perfil de ácidos graxos

9

10 Amostras de fígado, músculo branco e dietas experimentais foram
11 mantidas a -80°C e liofilizadas antes da análise. Foram usados 100 mg de
12 cada amostra. Os lipídeos foram extraídos com clorofórmio:metanol:água
13 (2:1:0,8 v/v/v), seguindo o método proposto por (Folch; Lees; Sloane-
14 Stanley, 1957). Os extratos lipídicos foram saponificados com 2 mL de
15 NaOH 0,5 M em metanol (w:v) e esterificados com 2.5 mL de reagente
16 esterificante (10 g NH₄Cl: 300 mL de CH₃OH:15 mL H₂SO₄) em um
17 banho em ebulição (5 min por processo). Após adição de 4 ml de solução
18 saturada de NaCl, os ésteres metílicos foram extraídos com 2,5 ml de
19 hexano e preservados em seco com ar de N₂ a -80°C antes das análises
20 química (Liu, 1994).

21 Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram analisados por
22 cromatografia gasosa através do cromatografo (GC 2010, Shimadzu,
23 Italy), equipado com injetor automático (AOC 20i Shimadzu), detector
24 ionizador de chama e coluna capilar (SP-2560 SupelcoTM, 100 m
25 comprimento, 0.25 mm i.d., 0.2 mm espesura) carregada com gás
26 hélio(28 cm s⁻¹). A temperatura da coluna programada (de 140 para
27 240°C, com aumento de 4°C/min e mantido por 30 min nessa temperatura)
28 e taxa de split de 1:100. Os picos dos ácidos graxos foram integrados e
29 quantificados usando o software GC Solution (Shimadzu, Italy), e a
30 identificação foi feita por comparação dos tempos de retenção com
31 referência ao padrão interno certificado (Supelco® 37 Component FAME
32 Mix). Os resultados foram relatados como porcentagem de área.

1

2 2.5. Lipoproteínas séricas

3

4 O sangue foi coletado da veia caudal 24h após a última
5 alimentação com seringas contendo 4% de EDTA. Este foi centrifugado
6 (3000 g/10 min) e o soro foi separado e armazenado a -80 °C. Foram
7 usados Kit Labtest para a quantificação de triglicerídeos
8 (TRIGLICÉRIDES Liquiform, Cat. 87), do colesterol (COLESTEROL-
9 HDL Linquiform, Cat. 13), lipoproteínas HDL (HDL Linquiform, Cat.
10 98) e LDL (LDL Linquiform, Cat. 111). A lipoproteína VLDL foi
11 determinada como a quinta parte do valor de triglicerídeos (Maggi et al.,
12 2008). Todas as amostras foram mensuradas por triplicata em leitor 96-
13 well plate spectrophotometer (Multskan GO, Thermo Scientific, USA). A
14 concentração foi expressa em mg /dL.

15

16 2.6 Análises estatísticas

17

18 Todos os dados foram apresentados como médias \pm erro padrão (n =
19 5). As comparações foram feitas entre os tratamentos por meio de análise
20 de variância a uma via (ANOVA), a um nível de significância de 0,05,
21 após confirmação da normalidade e homogeneidade da variância. Onde
22 foram detectadas diferenças significativas pela ANOVA, os dados foram
23 submetidos ao teste de comparações múltiplas de Student-Newman-Keuls.
24 Foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson entre as variáveis, e
25 correlação de Spearman para a relação n3/n6. Todas as análises
26 estatísticas foram computadas usando o software SAEG 9.1 -Sistema para
27 Análises Estatísticas e Genéticas, proposto por (Euclides, 1997).

28

1

2 **3. Resultados**

3

Tabela 4

Parâmetros sanguíneos: Triglicerídeos (TAG), Colesterol (COL), HDL, LDL, VLDL do híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* alimentados com diferentes fontes energéticas (média \pm EP, n=5) *.

Óleo/Amido**		LO n3	CO n6	OO n9	FO		
					EP	A/ DH	
						A	
						TAG (mg/dL)	Média
5	164,48 \pm 17,36 ^{Aa}	141,15 \pm 6,92 ^{Aa}	149,87 \pm 9,49 ^{Aa}	69,62 \pm 5,73 ^{Ab}	131,3 \pm 9,76		
	25	106,62 \pm 10,36 ^{Ba}	103,11 \pm 12,75 ^{Ba}	98,1 \pm 4,02 ^{Ba}	68,13 \pm 3,59 ^{Ab}	93,99 \pm 5,29	
Média		135,55 \pm 13,56	122,13 \pm 9,33	123,98 \pm 9,9	68,87 \pm 3,2		
						COL (mg/dL)	Média
5	3,506 \pm 0,29	3,868 \pm 0,53	3,064 \pm 0,42	3,650 \pm 0,16	3,52 \pm 0,18		
25	3,362 \pm 0,17	2,798 \pm 0,20	3,749 \pm 0,22	2,779 \pm 0,59	3,17 \pm 0,18		
Média	3,434 \pm 0,16	3,333 \pm 0,32	3,407 \pm 0,25	3,214 \pm 0,32			
						HDL (mg/dL)	Média
5	32,88 \pm 3,65 ^{Aa}	23,04 \pm 1,79 ^{Bb}	25,62A \pm 1,24 ^{Ab}	33,81 \pm 2,16 ^{Aa}	28,84 \pm 1,52		
	25	32,37 \pm 3,81 ^{Aa}	30,49 \pm 1,82 ^{Aa}	23,54 \pm 1,95 ^{Ab}	19,29 \pm 1,16 ^{Bb}	26,42 \pm 1,63	
Média		32,63 \pm 2,49	26,76 \pm 1,73	24,58 \pm 1,14	26,55 \pm 2,68		
						LDL (mg/dL)	Média
5	56,77 \pm 2,26 ^{Ac}	65,16 \pm 4,99 ^{Ab}	52,43 \pm 2,86 ^{Ac}	115,99 \pm 3,63 ^{Aa}	72,59 \pm 6,07		

25	57,64 ± 2,38 ^{Aa}	46,28 ± 3,97 ^{Bb}	63,09 ± 4,47 ^{Aa}	66,97 ± 3,66 ^{Ba}	58,50 ± 2,47
Méd ia	57,20 ± 1,56	55,72 ± 4,35	57,76 ± 3,07	91,48 ± 8,52	
VLDL (mg/dL)					Média
5	32,89 ± 3,47 ^{Aa}	28,23 ± 1,38 ^{Aa}	29,97 ± 1,9 ^{Aa}	13,92 ± 1,15 ^{Ab}	26,25 ± 1,95
25	21,32 ± 2,07 ^{Ba}	20,62 ± 2,55 ^{Ba}	19,61 ± 0,8 ^{Ba}	13,63 ± 0,72 ^{Ab}	19,19 ± 1,03
Méd ia	27,11 ± 2,71	24,42 ± 1,87	24,79 ± 1,98	13,78 ± 0,64	

^a Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e medias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância. **, 5% e 25% referem-se aos níveis de amido da dieta.

^b LO, Óleo de Linhaça; CO, Óleo de Milho; OO, Óleo de Oliva; FO, Óleo de Peixe.

1 3.1. Parâmetros sanguíneos

2

3 Os parâmetros sanguíneos foram influenciados pelos níveis de amido,
4 a fonte de óleo e sua interação na dieta (Tabela 4). A concentração de
5 triglicerídeos no soro foi influenciada pela interação entre os níveis de
6 amido na dieta e as diferentes fontes de óleo (P<0,05). As maiores
7 concentrações de triglicerídeos séricos se registram nas dietas
8 suplementadas com óleos vegetais sem diferença significativa entre eles
9 (P>0,05), a menor concentração foi observada no soro dos peixes
10 alimentados com as dietas suplementadas com óleo de peixe com
11 diferença significativa com as demais (P<0,05) (Tabela 4).

12 O colesterol sérico não apresentou efeito do nível de amido nem da
13 fonte de óleo (P>0,05). A lipoproteína HDL não foi influenciada pelos
14 níveis de amido em forma independente (P>0,05), entretanto, foi
15 influenciada (P<0,05) pelas diferentes fontes de óleo e pela interação
16 entre essas e o nível de amido na dieta. Com o nível de 5% de amido as
17 dietas suplementadas com óleo de linhaça e óleo de peixe elevaram
18 significativamente a concentração de HDL (P<0,05). Já com 25% de

1 amido na dieta a concentração da lipoproteína HDL incrementou com as
2 dietas contendo óleo de linhaça e óleo de milho ($P<0,05$) (Tabela 4).

3 As lipoproteínas LDL e VLDL apresentaram efeito do nível de
4 amido, da fonte de óleo e da sua interação ($P<0,05$). Nas dietas com 5%
5 de amido a maior concentração de LDL ($P<0,05$) se registrou quando a
6 dieta foi suplementada com óleo de peixe, seguida por óleo de milho e
7 finalmente linhaça e oliva sem diferença entre estas últimas ($P>0,05$). No
8 nível de 25% de amido a menor concentração de LDL se observou nas
9 dietas contendo óleo de milho ($P<0,05$), seguida pelas dietas contendo as
10 outras fontes de óleo sem diferença entre estas ($P>0,05$) (Tabela 4).

11 A concentração da lipoproteína VLDL nas dietas com 5% de amido
12 foi significativamente menor ($P<0,05$) quando presente o óleo de peixe.
13 Em geral, a 25% de amido na dieta a concentração de VLDL foi menor
14 para todas as dietas, quando comparado com 5% de amido, sem diferença
15 significativa entre as fontes de óleo ($P>0,05$) (Tabela 4).

16

17 3.2. Perfil de ácidos graxos

18

19 A composição de ácidos graxos do fígado e músculo de Cahandiá foi
20 apresentada nas tabelas 5 e 6, respectivamente. A composição de ácidos
21 graxos no fígado foi significativamente afetada pelas dietas ($P<0,05$), uma
22 interação entre o nível de amido e fonte de óleo da dieta foi identificada
23 em todos os ácidos graxos (Tabela 5), e alguns ácidos graxos refletiram
24 em espelho a composição das dietas.

25 O ácido mirístico (C14:0) apresentou maior deposição ($P<0,05$) no
26 fígado dos animais alimentados com as dietas contendo óleo de peixe e
27 5% de amido. Com 25% a maior deposição foi registrada com as dietas
28 suplementadas com óleo de linhaça ($P<0,05$), seguida por aquelas
29 contendo óleo de milho e peixe e finalmente óleo de oliva. Os ácidos
30 palmítico (C16:0) e palmitoléico (C16:1) tiveram maior deposição no
31 nível de 25% de amido ($P<0,05$), sem diferença entre fontes de óleo, a
32 exceção da dieta contendo óleo de peixe, na qual a deposição foi maior

1 com 5% de amido (Tabela 5).

2 O ácido esteárico (C18:0) apresentou maior deposição nos peixes
3 alimentados com as dietas com 25% de amido e foi maior ($P<0,05$) com a
4 dieta contendo óleo de linhaça. O ácido oléico (C18:1n9) apresentou
5 ($P<0,05$) maior deposição hepática em peixes com as dietas
6 suplementadas com óleo de oliva nos dois níveis de amido. O ácido
7 linoléico (C18:2n6) teve maior deposição ($P<0,05$) com óleo de linhaça e
8 óleo de milho no nível de 5% e 25% de amido respectivamente (Tabela
9 5).

10 Os ácidos linolênico e gama linolênico (C18:3n3 e C18:3n6)
11 apresentaram maior ($P<0,05$) deposição com 5% de amido e óleo de
12 milho. O ácido C20:3n6 teve maior deposição média no fígado com o uso
13 da dieta suplementada com óleo de milho e 25% de amido ($P<0,05$). Com
14 a dieta suplementada com óleo de peixe, o EPA e o DHA foram
15 depositados, maiormente ($P<0,05$), com o nível de 5% e sem diferença
16 entre níveis de amido respectivamente.

17 A deposição dos ácidos graxos n3 foi maior em peixes que
18 consumiram a dieta suplementada com óleo de peixe nos dois níveis de
19 amido, e para os ácidos graxos n6 foi maior ($P<0,05$) com óleo de linhaça
20 e óleo de milho, nos níveis de 5% e 25% de amido respectivamente.

21 A interação entre níveis de amido e fontes de óleo teve efeito sobre o
22 total de SFA, MUFA, PUFA, HUFA, e na relação n3/n6 no fígado
23 ($P<0,05$) (Tabela 5). Os valores de SFA foram maiores no nível de 25%
24 de amido ($P<0,05$), sendo superiores com óleo de linhaça ($P<0,05$). Em
25 dietas com 5% de amido foram superiores significativamente com óleo de
26 peixe ($P<0,05$). Os valores de MUFA foram superiores com 5% de amido,
27 com as dietas contendo óleo de oliva e de peixe. Nas dietas contendo óleo
28 de oliva os valores de MUFAS foram superiores significativamente
29 ($P<0,05$), nos dois níveis de amido.

30 Os valores de PUFA foram superiores ($P<0,05$) com o nível de 5% de
31 amido, a exceção do óleo de oliva que foi menor. Com o uso de óleo de
32 linhaça os valores de PUFAS foram menores ($P<0,05$) com 25% de amido
33 e com 5% foram maiores ($P<0,05$) com óleo de linhaça e de milho. Os

1 valores de HUFA foram superiores ($P < 0,05$) com o uso de óleo de peixe,
2 nos dois níveis de amido. A relação n3/n6 foi superior ($P < 0,05$) para o
3 nível de 5% de amido na dieta, a exceção para o uso do óleo de linhaça,
4 que foi menor ($P < 0,05$). Esta relação foi superior ($P < 0,05$) com óleo de
5 peixe, nos dois níveis de amido.

6 A composição de ácidos graxos no músculo foi significativamente
7 afetada pelas dietas ($P < 0,05$), e interação entre o nível de amido e fonte de
8 óleo da dieta foi identificada na maioria dos ácidos graxos, exceto para o
9 ácido esteárico, gama linolênico e DHA (Tabela 6).

10 A deposição dos ácidos esteárico e DHA muscular não apresentou
11 influencia dos níveis de amido nem das fontes de óleo ($P > 0,05$). O ácido
12 graxo gama linolênico foi depositado significativamente com o nível de
13 25% de amido e diminuiu significativamente ($P < 0,05$) sua deposição
14 quando suplementada a dieta com óleo de peixe (Tabela 6).

15 A deposição do ácidos mirístico, palmítico e palmitoleico foi maior
16 com o nível de 5% de amido e óleo de peixe na dieta ($P < 0,05$). O ácido
17 oleico apresentou maior deposição ($P < 0,05$) quando suplementada a dieta
18 com óleo de oliva nos dois níveis de amido. O ácido linoleico teve maior
19 deposição ($P < 0,05$) muscular quando suplementada a dieta com óleo de
20 linhaça e milho no nível de 5% e 25% de amido respectivamente.

21

22

Tabela 5

Perfil lipídico do fígado do híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* alimentados com com diferentes fontes energéticas (média ± EP, n=5)*.2

AG	Amido**	Fontes de óleo					Média
		LO	CO	OO	FO		
C14:0	5	0,6 ± 0,05 ^{Bb}	0,58 ± 0,04 ^{Ab}	0,48 ± 0,04 ^{Ab}	2,32 ± 0,18 ^{Aa}	0,99 ± 0,18	
	25	0,99 ± 0,1 ^{Aa}	0,74 ± 0,04 ^{Aab}	0,63 ± 0,06 ^{Ab}	0,82 ± 0,05 ^{Bab}	0,79 ± 0,04	
	Média	0,79 ± 0,08	0,66 ± 0,04	0,55 ± 0,04	1,57 ± 0,27		
C16:0	5	15,92 ± 0,44 ^{Bb}	17,27 ± 0,94 ^{Bb}	15,09 ± 0,25 ^{Bb}	20,03 ± 0,15 ^{Ba}	17,08 ± 0,49	
	25	31,09 ± 1,89 ^{Aa}	23,16 ± 0,67 ^{Ac}	26,09 ± 0,61 ^{Ab}	22,19 ± 0,53 ^{Ac}	25,63 ± 0,94	
	Média	23,51 ± 2,69	20,21 ± 1,12	20,59 ± 1,86	21,11 ± 0,44		
C16:1	5	1,46 ± 0,11 ^{Bb}	1,48 ± 0,14 ^{Ab}	1,66 ± 0,11 ^{Bb}	3,85 ± 0,3 ^{Aa}	2,11 ± 0,25	
	25	2,05 ± 0,08 ^{Aa}	1,8 ± 0,1 ^{Aa}	2,19 ± 0,17 ^{Aa}	2,22 ± 0,06 ^{Ba}	2,06 ± 0,06	
	Média	1,75 ± 0,12	1,64 ± 0,1	1,92 ± 0,13	3,03 ± 0,31		
C18:0	5	7,19 ± 0,2 ^{Bb}	8,26 ± 0,32 ^{Aa}	5,91 ± 0,12 ^{Bc}	7,75 ± 0,38 ^{Bab}	7,27 ± 0,24	
	25	10,49 ± 0,33 ^{Aa}	8,55 ± 0,19 ^{Ab}	7,89 ± 0,39 ^{Ab}	8,52 ± 0,28 ^{Ab}	8,86 ± 0,27	
	Média	8,84 ± 0,58	8,4 ± 0,18	6,9 ± 0,38	8,14 ± 0,26		
C18:1n9	5	16,54 ± 0,31 ^{Bb}	16 ± 0,25 ^{Ab}	35,1 ± 0,43 ^{Aa}	7,72 ± 0,21 ^{Bc}	18,84 ± 2,3	
	25	18,12 ± 0,54 ^{Ab}	16,11 ± 0,69 ^{Ac}	20,55 ± 0,51 ^{Ba}	10,62 ± 0,7 ^{Ad}	16,35 ± 0,89	
	Média	17,33 ± 0,39	16,05 ± 0,35	27,83 ± 2,45	9,17 ± 0,59		
C18:2n6	5	17,48 ± 0,77 ^{Aa}	13,84 ± 0,55 ^{Ab}	7,57 ± 0,28 ^{Ac}	3,01 ± 0,2 ^{Bd}	10,47 ± 1,3	
	25	4,42 ± 0,38 ^{Bc}	10,23 ± 0,25 ^{Ba}	8,17 ± 0,82 ^{Ab}	4,38 ± 0,22 ^{Ac}	6,8 ± 0,62	
	Média	10,95 ± 2,21	12,03 ± 0,67	7,87 ± 0,42	3,69 ± 0,27		
C18:3n6	5	0,17 ± 0,03 ^{Ab}	0,24 ± 0,02 ^{Aa}	0,13 ± 0,01 ^{Ac}	0,11 ± 0,02 ^{Ac}	0,16 ± 0,01	
	25	0,08 ± 0,01 ^{Ba}	0,11 ± 0,01 ^{Ba}	0,14 ± 0,03 ^{Aa}	0,08 ± 0,01 ^{Aa}	0,1 ± 0,01	
	Média	0,13 ± 0,02	0,17 ± 0,03	0,13 ± 0,01	0,1 ± 0,01		
C18:3n3	5	5,79 ± 1,49 ^{Ab}	11,27 ± 0,53 ^{Aa}	1,34 ± 0,11 ^{Ac}	0,49 ± 0,04 ^{Ac}	4,72 ± 1,05	
	25	2,76 ± 0,31 ^{Ba}	0,58 ± 0,05 ^{Bb}	0,7 ± 0,09 ^{Ab}	0,68 ± 0,05 ^{Ab}	1,18 ± 0,22	
	Média	4,27 ± 0,88	5,92 ± 1,8	1,02 ± 0,13	0,59 ± 0,04		

C20:3n6	5	0,65 ± 0,11 ^{Aa}	0,45 ± 0,11 ^{Ba}	0,64 ± 0,07 ^{Ba}	0,29 ± 0,02 ^{Ba}	0,51 ± 0,05
	25	0,78 ± 0,07 ^{Ab}	1,44 ± 0,2 ^{Aa}	1,36 ± 0,17 ^{Aa}	0,72 ± 0,08 ^{Ab}	1,07 ± 0,1
	Média	0,72 ± 0,88	0,94 ± 1,8	1 ± 0,13	0,51 ± 0,04	
C20:5n3	5	4,05 ± 0,07 ^{Ab}	3,4 ± 0,14 ^{Ab}	4,1 ± 0,2 ^{Ab}	12,55 ± 0,57 ^{Aa}	6,02 ± 0,88
	25	2,21 ± 0,3 ^{Bd}	3,57 ± 0,32 ^{Ac}	4,57 ± 0,14 ^{Ab}	6,75 ± 0,66 ^{Ba}	4,27 ± 0,42
	Média	3,13 ± 0,34	3,48 ± 0,16	4,33 ± 0,14	9,65 ± 1,05	
C22:6n3	5	9,77 ± 0,66 ^{Ab}	8,1 ± 0,27 ^{Bc}	10,11 ± 0,12 ^{Bb}	15,15 ± 0,35 ^{Aa}	10,78 ± 0,63
	25	10,73 ± 0,94 ^{Ab}	11,66 ± 0,5 ^{Ab}	12,31 ± 0,41 ^{Ab}	15,54 ± 0,54 ^{Aa}	12,56 ± 0,51
	Média	10,25 ± 0,56	9,88 ± 0,65	11,21 ± 0,42	15,34 ± 0,31	
n3	5	19,61 ± 1,22 ^{Ac}	22,77 ± 0,84 ^{Ab}	15,54 ± 0,18 ^{Ad}	28,19 ± 0,82 ^{Aa}	21,53 ± 1,13
	25	15,7 ± 1,36 ^{Bb}	15,81 ± 0,53 ^{Bb}	17,58 ± 0,46 ^{Ab}	22,97 ± 1,16 ^{Ba}	18,01 ± 0,81
	Média	17,65 ± 1,08	19,29 ± 1,25	16,56 ± 0,41	25,58 ± 1,1	
n6	5	18,31 ± 0,79 ^{Aa}	14,52 ± 0,54 ^{Ab}	8,34 ± 0,27 ^{Bc}	3,42 ± 0,22 ^{Bd}	11,15 ± 1,33
	25	5,29 ± 0,45 ^{Bc}	11,77 ± 0,06 ^{Ba}	9,66 ± 0,89 ^{Ab}	5,18 ± 0,29 ^{Ac}	7,97 ± 0,69
	Média	11,8 ± 2,21	13,14 ± 0,52	9 ± 0,49	4,3 ± 0,34	
n3/n6	5	1,07 ± 0,07 ^{Bb}	1,58 ± 0,09 ^{Ab}	1,88 ± 0,08 ^{Ab}	8,44 ± 0,75 ^{Aa}	3,24 ± 0,71
	25	2,99 ± 0,15 ^{Ab}	1,34 ± 0,05 ^{Ac}	1,87 ± 0,15 ^{Ac}	4,45 ± 0,12 ^{Ba}	2,66 ± 0,28
	Média	2,03 ± 0,33	1,46 ± 0,06	1,87 ± 0,08	6,44 ± 0,76	
SFA	5	30,25 ± 0,77 ^{Bb}	32,75 ± 1,26 ^{Bb}	26,58 ± 0,53 ^{Bc}	37,95 ± 0,57 ^{Ba}	31,88 ± 1,02
	25	47,82 ± 2,08 ^{Aa}	38,88 ± 0,54 ^{Ab}	41,63 ± 1,39 ^{Ab}	41,07 ± 0,99 ^{Ab}	42,35 ± 0,99
	Média	39,04 ± 4,4	35,81 ± 1,71	34,11 ± 3,68	39,51 ± 1,06	
MUFA	5	20,23 ± 0,35 ^{Bb}	19,30 ± 0,53 ^{Bb}	39,58 ± 0,4 ^{Aa}	14,88 ± 0,46 ^{Ac}	23,50 ± 2,19
	25	23,15 ± 0,61 ^{Ab}	21,04 ± 0,82 ^{Ac}	26,52 ± 0,8 ^{Ba}	16,3 ± 0,79 ^{Ad}	21,75 ± 0,92
	Média	11,8 ± 2,21	13,14 ± 0,52	9 ± 0,49	4,3 ± 0,34	
PUFA	5	40,59 ± 1,87 ^{Aa}	40,86 ± 0,97 ^{Aa}	25,28 ± 0,12 ^{Bc}	33,72 ± 0,67 ^{Ab}	35,11 ± 1,54
	25	23,72 ± 2,08 ^{Bb}	30,17 ± 0,56 ^{Ba}	29,32 ± 1,29 ^{Aa}	30,26 ± 1,47 ^{Ba}	35,11 ± 1,54
	Média	32,16 ± 4,39	35,51 ± 2,63	27,3 ± 1,28	31,99 ± 1,35	
HUFA	5	13,82 ± 0,69 ^{Ab}	11,5 ± 0,36 ^{Bc}	14,2 ± 0,22 ^{Bb}	27,7 ± 0,86 ^{Aa}	16,81 ± 1,49
	25	12,94 ± 1,18 ^{Ac}	15,23 ± 0,56 ^{Ab}	16,88 ± 0,41 ^{Ab}	22,29 ± 1,11 ^{Ba}	16,83 ± 0,89
	Média	13,38 ± 0,93	13,36 ± 0,98	15,54 ± 0,7	24,99 ± 1,58	

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância. **, 5% e 25% referem-se aos níveis de amido da dieta. C20:4n6 não determinado (ND).

1 O ácido gama linolênico apresentou baixa deposição em geral nos
2 peixes, sendo superior com o nível de 25% de amido ($P < 0,05$). Já o ácido
3 linolênico apresentou maior deposição com o nível de 5% ($P < 0,05$) de
4 amido quando foi usado óleo de linhaça ou milho, sem diferença entre
5 essas fontes de óleo ($P > 0,05$). O EPA foi depositado significativamente
6 ($P < 0,05$), nos diferentes níveis de amido na dieta contendo óleo de peixe.

7 A deposição dos ácidos graxos n3 foi maior ($P < 0,05$) com as dietas
8 suplementadas com óleos de peixe e de linhaça, nos níveis de 5% e 25%
9 de amido, respectivamente; e para os ácidos graxos n6 as medias foram
10 maiores ($P < 0,05$) com as dietas contendo óleo de linhaça e óleo de milho,
11 nos níveis de 5% e 25% de amido, respectivamente.

12 Houve interação entre os efeitos dos níveis de amido e fontes de óleo
13 sobre o total de PUFA, HUFA, e na relação n3/n6 no músculo ($P < 0,05$)
14 (Tabela 6). No entanto, houve efeito só por amido e óleo para a somatória
15 de SFA e MUFA respectivamente. Os SFA foram maiores no nível de
16 25% de amido ($P < 0,05$) e não apresentou efeito da fonte de óleo. Os
17 valores de MUFAs, independente do nível de amido, foram superiores
18 significativamente ($P < 0,05$) para as dietas contendo óleo de oliva, e foram
19 menores ($P < 0,05$) para as dietas contendo óleo de peixe.

20 Os valores de PUFA foram superiores ($P < 0,05$) com o nível de 5%
21 de amido. Com óleo de linhaça os PUFAS foram maiores ($P < 0,05$) a 5%
22 e 25% de amido. Os valores de HUFA foram superiores ($P < 0,05$) com o
23 uso de óleo de peixe em dietas com 5% de amido com diferença entre os
24 níveis de amido. Para as outras fontes de óleo não houve diferença dos
25 HUFA entre níveis de amido (Tabela 6). As relações n3/n6 na
26 musculatura foram superiores ($P < 0,05$) com o nível de 5% de amido, a
27 exceção para o óleo de linhaça que promoveu menor media ($P < 0,05$).
28 Esta relação foi superior ($P < 0,05$) com óleo de peixe nos dois níveis de
29 amido.

30 Correlações altamente significativas ($P < 0,001$) entre diferentes
31 variáveis foram registradas. Apresentaram correlação positiva as
32 variáveis: Triglicerídeos com C18:1n9 (53%) e C18:2n6 (56%) no fígado;
33 EPA hepático com LDL (72%); LDL com n3 (62%), n3/n6 (70%), C14:0
34 (75%) e C16:1 (67,7%) hepático, assim como com n3 (61%), C14:0
35 (52%) e C20:3n6 (63,4%) muscular; AG linoleico hepático com o mesmo
36 AG muscular (85,6%); AG linoléico hepático com n6 hepático (99,6%) e
37 muscular (84,7%); AG linolênico hepático com AG linolênico muscular
38 (73%).

1 As medias de EPA e DHA hepático tiveram correlação positiva
2 (70,6); assim como as de EPA hepático e muscular (88,8%), e de C20:3n6
3 hepático e muscular (60%). Correlações negativas foram observadas entre
4 as variáveis: Triglicerídeos e VLDL com EPA (59%) e DHA (68%) no
5 fígado; EPA hepático com LDL (59%); DHA com VLDL (68%).

1

Tabela 6

Perfil lipídico do músculo do híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* alimentados com diferentes fontes energéticas (média ± EP, n=5)*.

AG	Amido**	Fonte de óleo					Média
		LO	CO	OO	FO		
C14:0	5	0,36 0,11 ^{Ab}	± 0,26 0,05 ^{Ab}	± 0,19 ± 0,05 ^{Ab}	1,05 0,22 ^{Aa}	± 0,47 ± 0,1	
	25	0,41 0,06 ^{Aa}	± 0,37 0,05 ^{Aa}	± 0,32 ± 0,04 ^{Aa}	0,61 0,16 ^{Ba}	± 0,43 ± 0,05	
	Média	0,39 ± 0,06	0,31 ± 0,04	0,25 ± 0,04	0,83 ± 0,15		
C16:0	5	14,32 0,22 ^{Bb}	± 13,88 0,36 ^{Ab}	± 14,12 0,06 ^{Ab}	± 15,82 0,47 ^{Aa}	± 14,53 ± 0,23	
	25	15,79 0,41 ^{Aa}	± 15,16 0,31 ^{Aa}	± 15,18 0,61 ^{Aa}	± 14,46 0,85 ^{Ba}	± 15,15 ± 0,29	
	Média	15,05 0,33	± 14,52 0,31	± 14,65 ± 0,34	15,14 ± 0,51		
C16:1	5	0,61 0,17 ^{Bb}	± 0,74 0,09 ^{Bb}	± 0,8 ± 0,1 ^{Ab}	1,78 0,24 ^{Aa}	± 0,98 ± 0,13	
	25	1,12 0,13 ^{Aa}	± 1,28 ± 0,1 ^{Aa}	1,05 ± 0,15 ^{Aa}	1,03 0,21 ^{Ba}	± 1,12 ± 0,07	
	Média	0,86 ± 0,13	1,01 ± 0,11	0,92 ± 0,09	1,41 ± 0,2		
C18:0	5	6,47 ± 0,27	6,51 ± 0,3	6,17 ± 0,14	6,27 ± 0,15	6,36 ± 0,11	
	25	7,3 ± 0,17	6,64 ± 0,31	6,43 ± 0,21	6,25 ± 0,36	6,66 ± 0,15	
	Média	6,89 ± 0,2	6,58 ± 0,2	6,3 ± 0,13	6,26 ± 0,18		
C18:1 n9	5	13,09 1,9 ^{Ab}	± 11,57 1,2 ^{Ab}	± 19,32 2,09 ^{Aa}	± 7,48 0,45 ^{Ac}	± 12,87 ± 1,21	
	25	10,81 0,64 ^{Aab}	± 11,71 0,77 ^{Aab}	± 13,25 0,67 ^{Ba}	± 8,79 0,87 ^{Ab}	± 11,14 ± 0,5	
	Média	11,95 1,02	± 11,64 0,67	± 16,29 ± 1,45	8,14 ± 0,51		
C18:2 n6	5	11,74 1,35 ^{Aa}	± 10,81 0,94 ^{Aa}	± 5,68 ± 0,24 ^{Ab}	3,34 0,31 ^{Ac}	± 7,89 ± 0,89	
	25	6,12 0,22 ^{Bb}	± 9,25 0,25 ^{Ba}	± 6,03 ± 0,22 ^{Ab}	4,23 0,45 ^{Ab}	± 6,41 ± 0,44	
	Média	8,93 ± 1,14	10,03 0,52	± 5,86 ± 0,16	3,78 ± 0,3		
C18:3 n6	5	0 ± 0 ^{Bb}	0,04 0,01 ^{Ba}	± 0,03 ± 0 ^{Ba}	0,04 0,01 ^{Aa}	± 0,03 ± 0	
	25	0,04 ± 0 ^{Ab}	0,06 0,01 ^{Aa}	± 0,06 ± 0,01 ^{Aa}	0,04 0,01 ^{Ab}	± 0,05 ± 0	
	Média	0,02 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0		
C18:3 n3	5	5,47 1,28 ^{Aa}	± 4,61 0,69 ^{Aa}	± 0,7 ± 0,07 ^{Ab}	0,57 0,06 ^{Ab}	± 2,84 ± 0,61	
	25	3,4 ± 0,3 ^{Ba}	0,43 0,03 ^{Bb}	± 0,39 ± 0,03 ^{Ab}	0,68 0,12 ^{Ab}	± 1,22 ± 0,3	
	Média	4,44 ± 0,71	2,52 ± 0,77	0,54 ± 0,06	0,62 ± 0,07		

C20:3 n6	5	0,81 ± 0,11	0,98 ± 0,11	0,86 ± 0,05	0,16 ± 0,14	0,7 ± 0,09 ^B
	25	1,18 ± 0,09	1,41 ± 0,07	1,3 ± 0,1	0,91 ± 0,08	1,2 ± 0,06 ^A
	Média	1 ± 0,71 ^a	1,2 ± 0,77 ^a	1,08 ± 0,06 ^a	0,54 ± 0,07 ^b	
C20:5 n3	5	3,27 ± 0,27 ^{Bb}	3,08 ± 0,16 ^{Bb}	3,56 ± 0,22 ^{Ab}	9,54 ± 0,44 ^{Aa}	4,86 ± 0,63
	25	4,37 ± 0,07 ^{Ab}	3,75 ± 0,17 ^{Ab}	4 ± 0,02 ^{Ab}	5,81 ± 0,37 ^{Ba}	4,48 ± 0,21
	Média	3,82 ± 0,23	3,42 ± 0,16	3,78 ± 0,13	7,67 ± 0,68	
C22:6 n3	5	13,4 ± 1,41	13,98 ± 1,17	15 ± 0,9	16,7 ± 0,53	14,77 ± 0,56
	25	14,73 ± 0,55	13,95 ± 0,59	15,48 ± 0,87	14,83 ± 0,64	14,74 ± 0,33
	Média	14,07 ± 0,75	13,96 ± 0,62	15,24 ± 0,59	15,76 ± 0,5	
n3	5	22,14 ± 0,47 ^{Ab}	21,67 ± 0,72 ^{Ab}	19,26 ± 1,06 ^{Ac}	26,81 ± 0,58 ^{Aa}	22,47 ± 0,71
	25	22,5 ± 0,48 ^{Aa}	18,13 ± 0,73 ^{Bc}	19,87 ± 0,86 ^{Abc}	21,31 ± 1,01 ^{Bab}	20,45 ± 0,52
	Média	22,32 ± 0,32	19,9 ± 0,76	19,56 ± 0,65	24,06 ± 1,07	
n6	5	12,56 ± 1,25 ^{Aa}	11,83 ± 0,86 ^{Aa}	6,57 ± 0,21 ^{Ab}	3,55 ± 0,41 ^{Bc}	8,62 ± 0,93
	25	7,34 ± 0,2 ^{Bb}	10,73 ± 0,17 ^{Aa}	7,39 ± 0,25 ^{Ab}	5,18 ± 0,52 ^{Ac}	7,66 ± 0,48
	Média	9,95 ± 1,05	11,28 ± 0,45	6,98 ± 0,21	4,36 ± 0,41	
n3/n6	5	1,83 ± 0,18 ^{Bc}	1,89 ± 0,22 ^{Ac}	2,96 ± 0,22 ^{Ab}	7,96 ± 0,88 ^{Aa}	3,66 ± 0,62
	25	3,07 ± 0,06 ^{Ab}	1,69 ± 0,08 ^{Ac}	2,69 ± 0,08 ^{Ab}	4,24 ± 0,32 ^{Ba}	2,92 ± 0,22
	Média	2,45 ± 0,22	1,79 ± 0,1	2,82 ± 0,12	6,1 ± 0,76	
SFA	5	37,61 ± 1,87	38,08 ± 1,16	37,54 ± 0,96	40,52 ± 0,72	38,44 ± 0,64 ^B
	25	40,34 ± 0,43	39,47 ± 0,86	39,92 ± 0,56	40,87 ± 1,27	40,15 ± 0,41 ^A
	Média	38,97 ± 1,01	38,78 ± 0,72	38,73 ± 0,66	40,69 ± 0,69	
MUFA	5	14,69 ± 2,1	13,15 ± 1,32	21,04 ± 2,21	10,26 ± 0,74	14,78 ± 1,19
	25	12,88 ± 0,79	14,13 ± 0,83	15,32 ± 0,8	11,14 ± 1,08	13,37 ± 0,54
	Média	13,79 ± 1,1b	13,64 ± 0,75 ^b	18,18 ± 1,46 ^a	10,7 ± 0,64c	
PUFA	5	36,2 ± 0,96 ^{Aa}	34,97 ± 0,55 ^{Aab}	26,85 ± 0,91 ^{Ac}	32,87 ± 0,62 ^{Ab}	32,73 ± 0,9
	25	31,38 ± 0,68 ^{Ba}	30,35 ± 0,93 ^{Bab}	28,51 ± 1,17 ^{Ab}	28,03 ± 1,4 ^{Bb}	29,57 ± 0,58
	Média	33,79 ± 0,98	32,66 ± 0,92	27,68 ± 0,75	30,45 ± 1,08	
HUFA	5	16,67 ± 1,64 ^{Ab}	17,06 ± 1,29 ^{Ab}	18,56 ± 1,1 ^{Ab}	26,24 ± 0,54 ^{Aa}	19,63 ± 1,05

25	$19,1 \pm 0,59^A$	$17,7 \pm 0,73^A$	$19,48 \pm 0,88^A$	$20,64 \pm 0,94^B$	$19,23 \pm 0,44$
Média	$17,88 \pm 0,91$	$17,38 \pm 0,71$	$19,02 \pm 0,68$	$23,44 \pm 1,06$	

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância. ** 5% e 25% referem-se aos níveis de amido da dieta. C20:4n6 não determinado (ND).

1

2 **4. Discussão**

3

4 No presente trabalho os parâmetros sanguíneos avaliados foram
5 influenciados pelos níveis de amido e pelas fontes de óleo utilizadas nas
6 dietas experimentais. Eles apresentaram comportamentos específicos em
7 função das dietas e sua relação n3/n6, tal como observado em *Salmo salar*
8 (Torstensen; Frøyland; Lie, 2004), *Sparus latus* (Hu et al., 2007),
9 *Megalobrama amblycephala* (Lu et al., 2013) e *Sander lucioperca*
10 (Kowalska et al., 2011b).

11 A influência da relação n3/n6 foi notada principalmente nas dietas
12 com óleo de milho. As dietas com o nível de 5% de amido apresentaram
13 níveis maiores de óleo do que as com 25%, uma vez que essas são
14 isoenergéticas e isoproteicas. O aumento dos níveis de 5% para 25% de
15 amido passava pela diminuição dos níveis de óleo. Esse menor nível de
16 óleo promoveu mudanças na relação n3/n6, uma vez que as dietas
17 apresentavam farinha de peixe, fonte de AG da série n3, em quantidade
18 padrão para todas as dietas experimentais. Assim, a inclusão de óleo de
19 milho nas dietas com 5% de amido proporcionou baixa relação n3/n6
20 (0,19), onde foi aumentada (0,55) com a diminuição dos níveis de óleo.

21 Em peixes tem sido sugerido que a ingestão de uma dieta rica em
22 lipídeos durante um longo período de tempo resulta na diminuição da
23 secreção de lipoproteínas (Du et al., 2008). Gorduras saturadas estão
24 associadas a níveis sanguíneos altos de colesterol total e colesterol LDL,
25 os quais são diminuídos com ácidos graxos monoinsaturados, que por sua
26 vez podem incrementar o colesterol HDL. A dieta rica em ácidos graxos
27 monoinsaturados n9 e poliinsaturados (n3), também chamada dieta
28 mediterrânea está associada à diminuição do colesterol total e do LDL. Os
29 ácidos graxos poliinsaturados n6 diminuem o colesterol LDL e HDL, e os
30 n3 tem pouco efeito nas lipoproteínas LDL e HDL (Champe; Harvey;
31 Ferrier, 2010).

32 Neste estudo, a concentração sérica de triglicerídeos foi afetada pela
33 interação entre o nível de amido e a fonte de óleo na dieta. Com as
34 diferentes fontes de óleo vegetal, na medida em que aumenta a sua
35 porcentagem na dieta aumenta o nível de triglicerídeos circulante no soro.
36 Já com uso de óleo de peixe, apresenta-se um efeito diferente. Essa fonte
37 de óleo na dieta permite manter estável a concentração de triglicerídeos
38 circulante no soro, apesar do seu incremento na dieta. Tal efeito foi

1 observado também por (Ferreira et al., 2011), em *Oreochromis niloticus*.
2 Houve efeito do óleo de peixe, sendo que a concentração de triglicerídeos
3 foi significativamente menor. Esse resultado permite inferir que a relação
4 n3/n6 presente nessa fonte, somado ao efeito do n3 residual da farinha de
5 peixe da dieta basal, podem ser responsáveis pelas menores concentrações
6 de triglicerídeos registradas, sendo que os valores de EPA e o DHA
7 presentes inibem a síntese de triglicerídeos.

8 Em relação a isso, (Kjær et al., 2008) afirmaram que os ácidos graxos
9 poliinsaturados (PUFAs), EPA e DHA, possuem diferentes propriedades
10 hipolipidémicas, inibem a síntese e secreção de (TAG), e reduzem a
11 secreção de lipoproteínas (VLDL), ricas em TAG em salmão do atlântico,
12 como o fazem em humanos. Em consonância (Lu et al., 2013) reportaram
13 que a secreção de TAG foi inibida devido aos percentuais elevados de
14 DHA e EPA nos fígados de *Megalobrama amblycephalado*, quando
15 alimentados com alto teor de lipídeos.

16 As concentrações de triglicerídeos sanguíneos e VLDL foram
17 correlacionadas negativamente com a proporção de AG da série n-3
18 presente no fígado. Assim, quanto maior a quantidade de AG n3 PUFA,
19 menor a quantidade de triglicerídeos e VLDL. Essa correlação foi de 59%
20 e 68% para C20:5n3 e C22:6n3, respectivamente para esses ácidos graxos
21 presentes no óleo de peixe. Como discutido anteriormente, essa
22 correlação está vinculada às diferentes propriedades hipolipidémicas
23 desses ácidos graxos. Além disso, existe uma correlação positiva entre os
24 teores dos AG C18:1n9 e C18:2n6 no fígado e a concentração dos
25 triglicerídeos sanguíneos (correlação de 53% e 56% respectivamente).
26 Portanto, quanto maior a concentração de n9 e n6, maior a concentração
27 de triglicerídeos no soro. As fontes de óleo de origem vegetal são ricas
28 nestes ácidos graxos, principalmente óleo de oliva e milho. Assim, essas
29 fontes aumentam a concentração de triglicerídeos sanguíneos no híbrido.
30 Tal efeito foi registrado também para *Salmo salar* (Jordal; Lie;
31 Torstensen, 2007) e *Oreochromis niloticus* (Ferreira et al., 2011).

32 Os níveis de colesterol-HDL sérico não foram diferentes entre os
33 tratamentos, embora fosse esperado maior nível para a dieta suplementada
34 com óleo de peixe, por ser a única fonte de origem animal. O óleo de
35 peixe incrementa os níveis de colesterol plasmático (Ferreira et al., 2011;
36 Jordal; Lie; Torstensen, 2007; Richard et al., 2006). Além disso, os óleos
37 vegetais contêm fitoesteróis, os quais induzem menores níveis de
38 colesterol total e LDL em teleósteos (Gilman et al., 2003). O colesterol-

1 HDL pode não ser representativo dos níveis endógenos de colesterol
2 circulante. Sabe-se ainda que a presença de PUFA e EPA inibem os
3 fatores de transcrição SREBP (*sterol regulatory element binding proteins*)
4 envolvidos na síntese de colesterol (Kajikawa et al., 2009; Kim et al.,
5 2002), e as dietas apresentavam níveis mínimos desses AG n3 vindos da
6 farinha de peixe da dieta basal.

7 Já as medias de lipoproteínas HDL, LDL e VLDL apresentaram
8 comportamentos diferenciados em função do nível de amido, da fonte de
9 óleo e da sua interação. Essas alterações foram previamente observadas
10 em diversas espécies, tais como: hepatócitos cultivados de salmão do
11 atlântico (Vegusdal et al., 2005), pacu (Ribeiro et al., 2013) e tilápia
12 (Ferreira et al., 2011).

13 Em relação a concentração de HDL sérico, observou-se uma
14 interação das fontes de óleo com os níveis de amido. Em geral, as fontes
15 ricas em n3 (óleos de linhaça e peixe) elevaram a concentração de HDL
16 nas dietas com 5% de amido. (Torstensen; Frøyland; Lie, 2004)
17 observaram que a quantidade de HDL plasmático diminuiu
18 significativamente em salmão alimentado com dietas contendo 75% de
19 óleo de colza, comparados com aqueles alimentados com as dietas de óleo
20 de peixe. Os mecanismos envolvidos ainda não estão bem esclarecidos
21 (Ferreira et al., 2011; Torstensen; Frøyland; Lie, 2004).

22 Os níveis sanguíneos de HDL foram maiores nos peixes alimentados
23 com as dietas contendo óleo de linhaça e milho com 25% de amido. A
24 menor inclusão do óleo de milho favoreceu o aumento da relação n3/n6, e
25 isso proporcionou um aumento nos níveis dessa lipoproteína. A
26 diminuição do HDL nas dietas com óleo de peixe, nesse nível de amido,
27 pode ter ocorrido pelo baixo nível de inclusão de óleo de peixe, que
28 possivelmente foi insuficiente para promover o aumento dos níveis de
29 HDL.

30 Em relação a LDL, a maior concentração observada para as dietas
31 com óleo de peixe, no nível de 5% de amido, ocorreu devido ao fato que
32 esse óleo é fonte de colesterol, um constituinte considerável da LDL,
33 além de ser fonte de AG's da série n3. Observou-se que a presença dos
34 AG n3 no fígado, em específico C20:5n3, que tem alta influencia da dieta,
35 estimulou o LDL e inibiu o VLDL (correlação significativa de 72% e
36 59% respectivamente). Igualmente, o AG C22:6n3 hepático inibiu a
37 VLDL com uma correlação significativa de 68%. De modo geral, o LDL
38 foi correlacionado positivamente com a concentração de n3 total no

1 fígado e músculo (correlação significativa de 62% e 61%). Portanto,
2 quanto maiores os níveis de n3, maiores são as concentrações de LDL
3 sérico.

4 Ao aumentar o nível de amido para 25%, os níveis de LDL circulante
5 diminuíram nos peixes alimentados com as dietas contendo óleo de
6 milho. Isso ocorreu devido ao aumento da relação n3/n6 nessa dieta.
7 Sabe-se que a relação n3/n6 influencia as respostas metabólicas (Berge et
8 al., 2009; Ferreira et al., 2011; Ribeiro et al., 2013; Tan et al., 2009b; Wu;
9 Chen, 2012). No presente estudo, os níveis de LDL plasmático foram
10 positivamente correlacionados com a relação n3/n6 (70%) do perfil de
11 ácidos graxos do fígado. Tal achado fundamenta a importância da relação
12 n3/n6 no metabolismo de peixes.

13 Os níveis de LDL sanguíneos foram ainda correlacionados com
14 outras variáveis. Observou-se uma correlação positiva desse parâmetro
15 com o AG C14:0 presente no fígado (75%) e no músculo (52%), com o
16 AG C16:1 no fígado e negativa com o AG C20:3n6 muscular (67,7% e
17 63,7%) respectivamente. Estudos em humanos demonstram que a
18 diminuição no valor de SFA junto com o aumento de PUFA n6 diminui o
19 colesterol LDL pelo aumento do catabolismo da fração apo B-100 da
20 LDL (Ooi et al., 2013). Além disso, dietas ricas em PUFA n6 diminuem
21 os níveis sanguíneos de LDL em humanos (Ooi et al., 2013). A LDL
22 transporta os AG's e colesterol do fígado para os demais tecidos extra-
23 hepáticos, inclusive o músculo (Champe; Harvey; Ferrier, 2010).

24 A composição da dieta pode alterar o perfil de ácidos graxos nas
25 partes consumíveis dos peixes, afetando assim a sua qualidade nutricional
26 final (Benedito-Palos et al., 2009; Ng et al., 2013; Turchini et al., 2011).
27 É comum que a composição de AG's da dieta seja refletida no tecido
28 hepático e muscular, conforme observado por (Nanton et al., 2007) e
29 (Teoh; Turchini; Ng, 2011) entre outros autores. Porém, outros fatores
30 tais como: a digestibilidade, os processos de absorção, transporte,
31 alongamento, dessaturação (Bell et al., 2002; Bell et al., 2001) e β -
32 oxidação dos ácidos graxos também afetam a composição lipídica final, e
33 portanto, devem ser considerados (Frøyland; Lie; Berge, 2000;
34 Torstensen; Lie; Frøyland, 2000; Torstensen et al., 2009).

35 A composição de AG em quantidade total de SFAs, MUFAs, PUFAs,
36 e a proporção n3/n6 apresentaram clara diferença entre as dietas contendo
37 óleos vegetais e aquelas contendo óleo de peixe. Essa composição foi
38 refletida para a maioria dos ácidos graxos depositados no fígado, e neste

1 órgão foi evidente que houve modulação de alguns AG específicos que
2 não refletiram o perfil da dieta. Em função da fonte energética fornecida e
3 da essencialidade dos ácidos graxos modulados no fígado, o músculo não
4 acompanhou o perfil deste órgão em relação à quantidade total de SFAs,
5 MUFAs, PUFAs, e proporção n-3/n-6.

6 No presente trabalho, houve interação entre os efeitos da fonte de
7 óleo e do nível de amido na composição de ácidos graxos presentes nos
8 tecidos analisados. Ao avaliar o AG linolênico (C18:3n3) hepático, é
9 observado que esse AG refletiu o conteúdo dietético para as rações com
10 óleo de linhaça, oliva e peixe. Porém, nas dietas de 5% de amido com alto
11 teor de óleo, a utilização de óleo de milho, fonte de linoléico, promoveu
12 maior deposição desse ácido graxo no fígado.

13 Comportamento semelhante foi observado para a deposição hepática
14 do AG linoléico (C18:2n6). As dietas com óleo de milho, oliva e peixe
15 refletiram a composição da dieta. Todavia, a maior deposição foi
16 encontrada para a dieta com óleo de linhaça, fonte do AG linolênico. Os
17 peixes parecem ter armazenado os AG's nutricionalmente essenciais que
18 estavam presentes de forma desbalanceada na dieta, ou seja, linolênico foi
19 poupado quando se tinha AG linoléico em excesso e vice-versa, nas dietas
20 com baixo nível de amido.

21 No entanto, este comportamento não foi refletido no tecido muscular.
22 As dietas com óleo de milho e linhaça com 5% de amido apresentaram os
23 maiores níveis musculares dos AG's linolênico e linoléico. Sabe-se que a
24 relação n3/n6 afeta diretamente o perfil lipídico hepático e muscular de
25 peixes (Bell et al., 2012; Hu et al., 2007; Kowalska et al., 2011b; Schulz
26 et al., 2005; Tan et al., 2009b; Torstensen; Frøyland; Lie, 2004). Além
27 disso, uma adequada proporção de ácido linolênico e linoléico é
28 importante para a resposta celular imune (Wu; Chen, 2012) [ENREF 49](#).
29 Assim, a relação n3/n6 presente influenciou, portanto, a deposição desses
30 AG's.

31 Houve uma correlação positiva do AG linoléico presente no fígado e
32 no músculo (85,6%). Além disso, o teor desse AG no fígado esteve
33 correlacionado com o total de AG n6 presente em ambos os tecidos
34 (99,6% e 84,7% para fígado e músculo respectivamente). Observou-se
35 também uma correlação entre o conteúdo do AG linolênico presente nos
36 tecidos avaliados (73%).

37 Se a deposição de um AG no músculo acompanha o perfil de
38 deposição observada no fígado, é porque ou o metabolismo do peixe tem

1 baixa capacidade em regular esse AG, ou então não o prioriza. Quando a
2 deposição no músculo não acompanha o observado no fígado, é porque o
3 metabolismo tem alta capacidade de modular esse ácido graxo. Assim, o
4 AG em particular é importante para o organismo, ou apresenta uma
5 prioridade para seu armazenamento. Diante do exposto, é importante
6 salientar que isso está possivelmente em estreita relação com a
7 disponibilidade de substrato, e a capacidade da espécie para alongar e
8 dessaturar os precursores C18.

9 Em relação a isso, (Thanuthong et al., 2011) trabalharam com truta e
10 asseguram que a eficiência de $\Delta 6$ dessaturase foi negativamente afetada
11 pela disponibilidade de C18 PUFA. Além disso salientaram que $\Delta 6$
12 dessaturase tem maior afinidade para n3 PUFA, que para n6 PUFA; e
13 afirmaram que a excessiva disponibilidade do substrato C18 PUFA pode
14 limitar a disponibilidade de $\Delta 6$ dessaturase para agir. Os autores
15 consideraram que a diminuição de n3 de cadeia longa na dieta estimula a
16 taxa de transcrição de $\Delta 6$ dessaturase, e que a atividade enzimática total
17 aparente é direta e positivamente afetada pela disponibilidade de
18 substrato.

19 A dieta influenciou a deposição hepática e muscular do AG oléico
20 (C18:1n9) no híbrido. Os maiores níveis foram observados nas dietas com
21 óleo de oliva, rico nesse composto. Tal comportamento foi observado
22 com ambos os níveis de amido na dieta. O efeito da composição da dieta
23 com óleo de oliva no perfil lipídico muscular foi observado também em
24 tilápia do Nilo (Ribeiro et al., 2008; Teoh; Turchini; Ng, 2011).

25 Ao avaliar os animais alimentados com 25% de amido, observou-se
26 que os AG's presentes na dieta foram refletidos nos tecidos hepáticos e
27 muscular. Os maiores níveis do AG linolênico, linoléico e oléico foram
28 encontrados para os animais tratados com linhaça, milho e oliva
29 respectivamente, como observado por outros autores para diferentes
30 espécies (Bell et al., 2012; Hu et al., 2007; Kowalska et al., 2011b; Lu et
31 al., 2013; Ribeiro et al., 2008; Schulz et al., 2005; Tan et al., 2009a;
32 Torstensen; Frøyland; Lie, 2004).

33 Em relação aos HUFA's, observou-se que os valores maiores de
34 AG's EPA (C20:5n3) e DHA (C22:6n3) foram depositados no fígado dos
35 animais alimentados com as dietas com óleo de peixe. Porém, ao avaliar o
36 tecido muscular, observou-se que EPA foi superior nos tratamentos com
37 esse óleo, sendo que o DHA não foi influenciado pelas dietas
38 experimentais. Tal comportamento do DHA deve-se a essencialidade

1 desse AG, sendo então poupado no fígado, como explicado
2 anteriormente. Estudos com *Maccullochella peelii* revelaram que apesar
3 desse animal aumentar a atividade de alongases e dessaturases, quando
4 alimentados com dietas contendo óleo vegetal, os níveis depositados nos
5 tecidos foram menores quando comparados com aqueles alimentados com
6 dietas a base de óleo de peixe (Francis et al., 2007; Turchini; Francis; De
7 Silva, 2006).

8 O EPA e o DHA desempenham diversas funções metabólicas
9 (Grimm et al., 2002; Trushenski et al., 2012). No fígado, eles
10 apresentaram alta correlação positiva (70%), sendo que os hepatócitos e
11 enterócitos são os principais locais de alongação e dessaturação de EPA
12 para DHA (Tocher et al., 2002; Tocher, 2003; Tocher et al., 2008;
13 Turchini et al., 2011). Deste modo, o DHA pode então estar presente na
14 dieta ou ser originado através da síntese endógena a partir do EPA.
15 Assim, o AG C22:6n3 hepático tem efeito da dieta e do metabolismo
16 endógeno. Além disso, os níveis de EPA foram correlacionados
17 positivamente (88,8%) entre os tecidos avaliados, o que demonstra que
18 esse AG foi conservado.

19 No presente estudo, não foi detectado o AG araquidônico (C20:4n6)
20 nos tecidos avaliados. Porém, identificou-se a presença de intermediários
21 da síntese desse composto, como o AG di-homo-gama-linolênico
22 (C20:3n6). Tal composto não foi diferente nas dietas com 5% de amido
23 em função das fontes de óleo no fígado. Porém, nas dietas com 25% de
24 amido, observaram-se os maiores níveis desse AG para as dietas de óleo
25 de milho e oliva. Dietas com óleo de milho apresentam maior proporção
26 do AG linoléico, que por sua vez, foi alongado e dessaturado à C20:3n6.
27 A maior relação n3/n6 proporcionada na dieta com alto amido e óleo de
28 milho favoreceu a metabolização do AG linoléico e, conseqüentemente,
29 proporcionou maior deposição hepática do C20:3n6.

30 A presença deste AG no músculo refletiu a presença no fígado, e
31 elevada correlação entre estes AG (60%) foi registrada. Assim, menor é o
32 efeito da dieta e maior o reflexo do músculo com o fígado, a deposição no
33 músculo mostra a maior importância deste AG para o metabolismo, tal
34 como reportado por (Xu et al., 2010) ao trabalharem com *Lateolabrax*
35 *japonicus* quando sugeriram que o nível ARA especialmente moderado
36 (0,22-0,56% dw), poderia melhorar o desempenho, crescimento e resposta
37 imune, além de modificar a composição de ácidos graxos dos tecidos do
38 robalo japônês.

1 A ausência do ácido araquidônico do perfil de ácidos graxos hepático
2 e muscular pode ser explicado em duas vias. Esse ácido graxo não foi
3 detectado nas dietas experimentais, e portanto, isso é refletido nos tecidos
4 avaliados. Em segundo lugar, é importante salientar a presença do AG
5 C20:3n6, isso permite questionar a capacidade do híbrido para realizar a
6 dessaturação do C20:3n6 e originar o C20:4n6, onde a $\Delta 5$ dessaturase é
7 responsável. Mais estudos para avaliar a atividade dessa dessaturase se
8 fazem necessários. Sabe-se que a deficiência na via de síntese de HUFAs
9 em algumas espécies de peixes é devido a baixa atividade da dessaturase
10 $\Delta 5$ e não a baixa atividade das alongases (Agaba et al., 2005).

11 Além disso, a expressão gênica da dessaturase $\Delta 5$ está regulada pelo
12 ambiente e portanto regula a biossíntese de PUFA de cadeia longa
13 (Codabaccus et al., 2011; Teoh; Turchini; Ng, 2011). As dessaturases $\Delta 6$
14 e $\Delta 5$ tem um papel importante na síntese de HUFA para uma variedade de
15 funções celulares, e refletem a sua regulação por distintos mecanismos,
16 principalmente sob o controle sofisticado de transcrição de genes
17 (SREBP-1c, PPAR α , ChREBP e LXR) (Nakamura et al., 2004).

18 Nas condições do estudo, as lipoproteínas séricas no híbrido foram
19 influenciadas pela interação entre os níveis de amido e as fontes de óleo,
20 sendo moduladas também pela sua relação n3/n6 das dietas. Observou-se
21 uma interação entre o óleo de oliva e o óleo de peixe residual presente na
22 farinha de peixe da dieta basal.

23 O híbrido possivelmente consegue modular os ácidos graxos da dieta
24 de forma a obter uma relação n3/n6 mais favorável para seu metabolismo.
25 A composição de ácidos graxos SFA, MUFA, PUFA da dieta, e o nível de
26 lipídeos da dieta proporcionaram notável efeito sobre a variação total do
27 perfil de ácidos graxos no fígado e filé do híbrido. O perfil de AG da dieta
28 pode influenciar significativamente o perfil de AG depositado no tecido
29 hepático e muscular.

30 A composição de ácidos graxos do fígado e filé não refletiram
31 diretamente o perfil de AG das dietas. No fígado existe modulação de
32 ácidos graxos específicos, em função da interação entre o nível de amido
33 e a fonte de óleo. O músculo refletiu o perfil do fígado principalmente em
34 MUFAs, e a deposição de SFAs, PUFAs e HUFAs parecem estar sujeita a
35 modulação metabólica, síntese endógena e dependente da relação n3/n6.
36 O híbrido parece conservar preferencialmente n-3 HUFA, principalmente
37 DHA no músculo, e reflete o conteúdo de EPA das dietas no fígado e
38 músculo. Assim, o presente estudo é o primeiro sobre o metabolismo do

1 híbrido sob condições experimentais controladas.

2

3 **5. Conclusão**

4

5 A interação entre viveis de amido, fonte de óleo e proporção n3/n6 afetam
6 o perfil das lipoproteínas séricas. O perfil de ácidos graxos e a relação
7 n3/n6 da dieta não se refletiram na sua totalidade no perfil do fígado e
8 músculo do híbrido, sendo que o DHA foi preservado no músculo.

9

10 **Agradecimentos**

11

12 Os autores agradecem a DZO-UFLA, CAPES (PEC-PG), CNPq,
13 FAPEMIG, COLFUTURO, UNICORDOBA.

14

15 **Referências**

16

17 ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J.; URBINATI, E. C. Growth and
18 metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed
19 diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture**
20 **Research**, London, v.38, n.1, p.36-44, Jan. 2007.

21 AGABA, M. K.; TOCHER, D. R.; ZHENG, X.; DICKSON, C. A.; DICK, J. R.;
22 TEALE, A. J. Cloning and functional characterisation of polyunsaturated fatty
23 acid elongases of marine and freshwater teleost fish. **Comparative**
24 **Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**,
25 v.142, n.3, p.342-352, 2005.

26 AHEARN, G. A.; BEHNKE, R. D.; ZONNO, V.; STORELLI, C. Kinetic
27 heterogeneity of Na-D-glucose cotransport in teleost gastrointestinal tract.
28 **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative**
29 **Physiology**, Bethesda, v.263, n.5, p.R1018-R1023, Nov. 1992.

30 ALMAIDA-PAGÁN, P. F.; HERNÁNDEZ, M. D.; GARCÍA GARCÍA, B.;
31 MADRID, J. A.; DE COSTA, J.; MENDIOLA, P. Effects of total replacement
32 of fish oil by vegetable oils on n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid
33 desaturation and elongation in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*)
34 hepatocytes and enterocytes. **Aquaculture**, Amsterdam, v.272, n.1-4, p.589-
35 598, 2007.

- 1 ÁLVAREZ DÍAZ, A.; PÉREZ ESTEBAN, H.; MARTÍN HERNÁNDEZ, T. D.
2 L. C.; QUINCOSA TORRES, J.; SÁNCHEZ PUZO, A. **Fisiología Animal**
3 **Aplicada**. Medellín: Universidad de Antioquia, 2009. 380p.
- 4 ALVAREZ, M. J.; DÍEZ, A.; LÓPEZ-BOTE, C.; GALLEGO, M.; BAUTISTA,
5 J. M. Short-term modulation of lipogenesis by macronutrients in rainbow trout
6 (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. **British Journal of Nutrition**, Cambridge,
7 v.84, n.05, p.619-628, Nov. 2000.
- 8 AMARAL, A. F.; ALVARADO, N.; MARIGOMEZ, I.; CUNHA, R.;
9 HYLLAND, K.; SOTO, M. Autometallography and metallothionein
10 immunohistochemistry in hepatocytes of turbot (*Scophthalmus maximus* L.)
11 after exposure to cadmium and depuration treatment. **Biomarkers**, London, v.7,
12 n.6, p.491-500, Nov-Dec. 2002.
- 13 ANDRADE, P. M.; CARMO, M. G. T. Ácidos graxos n-3: um link entre
14 eicosanóides, inflamação e imunidade. **Revista Mn-Metabólica**, São Paulo, v.8,
15 n.3, p.135-143, Jul/Sep. 2006.
- 16 ASDARI, R.; ALIYU-PAIKO, M.; HASHIM, R. Effects of different dietary
17 lipid sources in the diet for *Pangasius nasutus* (Bleeker, 1863) juveniles on
18 growth performance, feed efficiency, body indices and muscle and liver fatty
19 acid compositions. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.17, n.4, p.e883-e891,
20 Aug. 2011.
- 21 BABIN, P. J.; VERNIER, J. M. Plasma lipoproteins in fish. **Journal of Lipid**
22 **Research**, Rockville, v.30, n.4, p.467-89, Apr. 1989.
- 23 BAKKE-MCKELP, A. M.; NORDRUM, S.; KROGDAHL, Å.;
24 BUDDINGTON, R. K. Absorption of glucose, amino acids, and dipeptides by
25 the intestines of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Fish Physiology and**
26 **Biochemistry**, The Netherlands, v.22, n.1, p.33-44, Jan. 2000.
- 27 BANDARRA, N. M.; NUNES, M. L.; ANDRADE, A. M.; PRATES, J. A. M.;
28 PEREIRA, S.; MONTEIRO, M.; REMA, P.; VALENTE, L. M. P. Effect of
29 dietary conjugated linoleic acid on muscle, liver and visceral lipid deposition in

- 1 rainbow trout juveniles (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam,
2 v.254, n.1-4, p.496-505, Apr. 2006.
- 3 BANDARRA, N. M.; REMA, P.; BATISTA, I.; POUSÃO-FERREIRA, P.;
4 VALENTE, L. M. P.; BATISTA, S. M. G.; OZÓRIO, R. O. A. Effects of dietary
5 n-3/n-6 ratio on lipid metabolism of gilthead seabream (*Sparus aurata*).
6 **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v.113, n.11,
7 p.1332-1341, 2011.
- 8 BARTLEY, D. M.; RANA, K.; IMMINK, A. J. The use of inter-specific hybrids
9 in aquaculture and fisheries. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, New
10 York, v.10, n.3, p.325-337, Sep. 2000.
- 11 BELL, J. G.; DICK, J. R.; STRACHAN, F.; GUY, D. R.; BERNTSSSEN, M. H.
12 G.; SPRAGUE, M. Complete replacement of fish oil with a blend of vegetable
13 oils affects dioxin, dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) and
14 polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in 3 Atlantic salmon (*Salmo salar*)
15 families differing in flesh adiposity. **Aquaculture**, Amsterdam, v.324-325, n.0,
16 p.118-126, 2012.
- 17 BELL, J. G.; HENDERSON, R. J.; TOCHER, D.; SARGENT, J. Replacement
18 of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil: Modification of flesh
19 fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using a fish oil
20 finishing diet. **Lipids**, v.39, n.3, p.223-232, 2004/03/01. 2004.
- 21 BELL, J. G.; HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R.; MCGHEE, F.; DICK, J.
22 R.; PORTER, A.; SMULLEN, R. P.; SARGENT, J. R. Substituting fish oil with
23 crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty
24 acid composition and hepatic fatty acid metabolism. **The Journal of Nutrition**,
25 Bethesda, v.132, n.2, p.222-230, Feb. 2002.
- 26 BELL, J. G.; MCEVOY, J.; TOCHER, D. R.; MCGHEE, F.; CAMPBELL, P. J.;
27 SARGENT, J. R. Replacement of Fish Oil with Rapeseed Oil in Diets of
28 Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Affects Tissue Lipid Compositions and
29 Hepatocyte Fatty Acid Metabolism. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.131,
30 n.5, p.1535-1543, May. 2001.

- 1 BELL, J. G.; PRATOOMYOT, J.; STRACHAN, F.; HENDERSON, R. J.;
2 FONTANILLAS, R.; HEBARD, A.; GUY, D. R.; HUNTER, D.; TOCHER, D.
3 R. Growth, flesh adiposity and fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo*
4 *salar*) families with contrasting flesh adiposity: Effects of replacement of dietary
5 fish oil with vegetable oils. **Aquaculture**, Amsterdam, v.306, n.1-4, p.225-232,
6 Aug. 2010.
- 7 BELL, J. G.; TOCHER, D. R.; HENDERSON, R. J.; DICK, J. R.;
8 CRAMPTON, V. O. Altered Fatty Acid Compositions in Atlantic Salmon
9 (*Salmo salar*) Fed Diets Containing Linseed and Rapeseed Oils Can Be Partially
10 Restored by a Subsequent Fish Oil Finishing Diet. **The Journal of Nutrition**,
11 v.133, n.9, p.2793-2801, September 1, 2003. 2003.
- 12 BENEDITO-PALOS, L.; NAVARRO, J. C.; BERMEJO-NOGALES, A.;
13 SAERA-VILA, A.; KAUSHIK, S.; PÉREZ-SÁNCHEZ, J. The time course of
14 fish oil wash-out follows a simple dilution model in gilthead sea bream (*Sparus*
15 *aurata* L.) fed graded levels of vegetable oils. **Aquaculture**, Amsterdam, v.288,
16 n.1-2, p.98-105, 2009.
- 17 BERGE, G. M.; WITTEN, P. E.; BAEVERFJORD, G.; VEGUSDAL, A.;
18 WADSWORTH, S.; RUYTER, B. Diets with different
19 n-6/n-3 fatty acid ratio in diets for juvenile
20 Atlantic salmon, effects on growth, body composition, bone development and
21 eicosanoid production. **Aquaculture**, Amsterdam, v.296, n.3-4, p.299-308,
22 Nov. 2009.
- 23 BOLLA, S.; NICOLAISEN, O.; AMIN, A. Liver alterations induced by long
24 term feeding on commercial diets in Atlantic halibut (*Hippoglossus*
25 *hippoglossus* L.) females. Histological and biochemical aspects. **Aquaculture**,
26 Amsterdam, v.312, n.1-4, p.117-125, Feb. 2011.
- 27 BOMBARDELLI, R. A.; HAYASHI, C.; NATALI, M. R. M.; SANCHES, E.
28 A.; PIANA, P. A. Níveis de energia digestível sobre os desempenhos
29 reprodutivo e zootécnico e a deposição de lipídios nos hepatócitos de machos de
30 tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, p.941-949, May.
31 2010.

- 1 BOMBONATO, M. T. S.; ROCHEL, S. S.; VICENTINI, C. A.; VICENTINI, I.
2 B. F. Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus*. **Acta**
3 **Scientiarum – Biological Sciences**, Maringá, v.29, n.1, p.81-85, Feb. 2007.
- 4 BOOTH, M. A.; MOSES, M. D.; ALLAN, G. L. Utilisation of carbohydrate by
5 yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. **Aquaculture**, Amsterdam, v.376-379, n.0,
6 p.151-161, Feb. 2013.
- 7 BORQUEZ, A. S.; HERNANDEZ, A. J.; DANTAGNAN, P.; SAEZ, P.;
8 SERRANO, E. Incorporation of Whole Lupin, *Lupinus albus*, Seed Meal in
9 Commercial Extruded Diets for Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*: Effect on
10 Growth Performance, Nutrient Digestibility, and Muscle Fatty Acid
11 Composition. **Journal of the World Aquaculture Society**, Oxford, v.42, n.2,
12 p.209-221, Apr. 2011.
- 13 BOSKOU, D. Olive oil. In: GUNSTONE, F. D. (Org.). **Vegetable Oils in Food**
14 **Technology: Composition, Properties, and Uses**. Oxford: John Wiley & Sons,
15 2002. cap. 9, p.244.
- 16 BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of
17 microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.
18 **Analytical Biochemistry**, Oxford, v.72, p.248-254, May. 1976.
- 19 BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC
20 N° 482 de 23 de setembro de 1999. Valores de referência. Brasília
- 21 BRETT, M.; MÜLLER-NAVARRA, D. The role of highly unsaturated fatty
22 acids in aquatic foodweb processes. **Freshwater Biology**, Oxford, v.38, n.3,
23 p.483-499, Dec. 1997.
- 24 BUREAU, D. P.; KAUSHIK, S. J.; CHO, C. Y. Bioenergetics. In: HALVER, J.
25 E. e HARDY, R. W. (Orgs.). **Fish Nutrition**. 3 ed. New York: Academic Press,
26 2002. cap. 1, p.1-59.

- 1 CABALLERO, M. J.; IZQUIERDO, M. S.; KJORSVIK, E.; FERNANDEZ, A.
2 J.; ROSENLUND, G. Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus*
3 *aurata* L., caused by short- or long-term feeding with vegetable oils. Recovery
4 of normal morphology after feeding fish oil as the sole lipid source. **Journal of**
5 **Fish Diseases**, London, v.27, n.9, p.531-541, Sep. 2004.
- 6 CABALLERO, M. J.; OBACH, A.; ROSENLUND, G.; MONTERO, D.;
7 GISVOLD, M.; IZQUIERDO, M. S. Impact of different dietary lipid sources on
8 growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow
9 trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, Amsterdam, v.214, n.1-4, p.253-271,
10 Nov. 2002.
- 11 CAMPOS, J. L. O cultivo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans* Spix &
12 Agassiz, 1829) e outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos.
13 In: BALDISSEROTTO, B. e DE CARVALHO GOMES, L. (Orgs.). **Espécies**
14 **nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, 2010. cap. 12, p.335-
15 361.
- 16 CELIK, E. S. Blood Chemistry (Electrolytes, Lipoproteins and Enzymes) Values
17 of Black Scorpion Fish (*Scorpaena porcus* Linneaus, 1758) in the Dardanelles,
18 Turkey. **Journal of Biological Sciences**, New York, v.4, n.6, p.716-719, Jun.
19 2004.
- 20 CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Biochemistry**.
21 **Lippincott's illustrated reviews The point**. Ilustrada. Baltimore: Wolters
22 Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2008. 520p.
- 23 _____. **Bioquímica Ilustrada**. 4 ed. Porto Alegre: ArtMed, 2010. 520p.
- 24 CHATZIFOTIS, S.; PANAGIOTIDOU, M.; PAPAIOANNOU, N.; PAVLIDIS,
25 M.; NENGAS, I.; MYLONAS, C. C. Effect of dietary lipid levels on growth,
26 feed utilization, body composition and serum metabolites of meagre
27 (*Argyrosomus regius*) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v.307, n.1-2, p.65-
28 70, Sep. 2010.

- 1 CHEE, K.; GONG, J.; GOOD REES, D.; MEYDANL, M.; AUSMAN, L.;
2 JOHNSON, J.; SIGUEL, E.; SCHAEFER, E. Fatty acid content of marine oil
3 capsules. **Lipids**, Champaign, v.25, n.9, p.523-528, Sep. 1990.
- 4 CODABACCUS, B. M.; BRIDLE, A. R.; NICHOLS, P. D.; CARTER, C. G. An
5 extended feeding history with a stearidonic acid enriched diet from parr to smolt
6 increases n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids biosynthesis in white
7 muscle and liver of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, Amsterdam,
8 v.322–323, n.0, p.65-73, Dec. 2011.
- 9 COLLIE, N. L.; FERRARIS, R. P. Chapter 9 Nutrient fluxes and regulation in
10 fish intestine. In: HOCHACHKA, P. W. e MOMMSEN, T. P. (Orgs.).
11 **Biochemistry and Molecular Biology of Fishes**. Vancouver: Elsevier,
12 v.Volume 4, 1995. p.221-239.
- 13 COWEY, C. B.; WALTON, M. J. Intermediary metabolism. In: HALVER, J. E.
14 (Org.). **Fish Nutrition**. 2. Washington: Academic Press, 1989. p.1-29.
- 15 CREPALDI, D. V.; FARIA, P. M. C.; TEIXEIRA, E. D. A.; RIBEIRO, L. P.;
16 COSTA, Â. A. P.; MELO, D. C. D.; CINTRA, A. P. R.; PRADO, S. D. A.;
17 COSTA, F. A. A.; DRUMOND, M. L.; LOPES, V. E.; MORAES, V. E. D. O
18 surubim na aquacultura do Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**,
19 Belo Horizonte, v.30, n.3/4, p.150-158., Jul/dec. 2006.
- 20 CROUSE, C. C.; KELLEY, R. A.; TRUSHENSKI, J. T.; LYDY, M. J. Use of
21 alternative lipids and finishing feeds to improve nutritional value and food safety
22 of hybrid striped bass. **Aquaculture**, Amsterdam, v.408–409, n.0, p.58-69, Sep.
23 2013.
- 24 D'ALESSANDRO, M. E.; CHICCO, A.; LOMBARDO, Y. B. Dietary fish oil
25 reverses lipotoxicity, altered glucose metabolism, and nPKC ϵ translocation in
26 the heart of dyslipemic insulin-resistant rats. **Metabolism**, Boston, v.57, n.7,
27 p.911-919, Jul. 2008.
- 28 DA SILVA, C. A.; MASSARO, M. Influência da sazonalidade na mobilização
29 das reservas de glicogênio do peixe elétrico *Gymnotus carapo* Miller, 1966

- 1 (Osteichthyes, Gymnotidae). **Zoociências**, Juiz de Fora, v.8, n.1, p.61-66, Apr.
2 2006.
- 3 DABROWSKI, K.; GUDERLEY, H. Intermediary Metabolism. In: HALVER, J.
4 E. e HARDY, R. W. (Orgs.). **Fish Nutrition**. 3. New York: Academic Press,
5 2002. cap. 6, p.309-365.
- 6 DAS, U. N. Long-chain polyunsaturated fatty acids in the growth and
7 development of the brain and memory. **Nutrition**, Burbank, v.19, n.1, p.62-65,
8 Jan. 2003.
- 9 DENG, J.; MAI, K.; AI, Q.; ZHANG, W.; WANG, X.; TAN, B.; XU, W.;
10 LIUFU, Z.; MA, H. Interactive effects of dietary cholesterol and protein sources
11 on growth performance and cholesterol metabolism of Japanese flounder
12 (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.16, n.4, p.419-429,
13 Aug. 2010.
- 14 DU, Z. Y.; CLOUET, P.; HUANG, L. M.; DEGRACE, P.; ZHENG, W. H.; HE,
15 J. G.; TIAN, L. X.; LIU, Y. J. Utilization of different dietary lipid sources at
16 high level in herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*): mechanism
17 related to hepatic fatty acid oxidation. **Aquaculture Nutrition**, London, v.14,
18 p.77-92, Feb. 2008.
- 19 DU, Z. Y.; CLOUET, P.; ZHENG, W. H.; DEGRACE, P.; TIAN, L. X.; LIU, Y.
20 J. Biochemical hepatic alterations and body lipid composition in the herbivorous
21 grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed high-fat diets. **British Journal of**
22 **Nutrition**, Oxford, v.95, n.5, p.905-915, May. 2006.
- 23 DU, Z. Y.; LIU, Y. J.; TIAN, L. X.; WANG, J. T.; WANG, Y.; LIANG, G. Y.
24 Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by
25 juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture Nutrition**, v.11,
26 n.2, p.139-146, 2005.
- 27 ELIASON, E. J.; DJORDJEVIC, B.; TRATTNER, S.; PICKOVA, J.;
28 KARLSSON, A.; FARRELL, A. P.; KIESSLING, A. K. The effect of hepatic
29 passage on postprandial plasma lipid profile of rainbow trout (*Oncorhynchus*

- 1 mykiss) after a single meal. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.16, n.5, p.536-
2 543, Oct. 2010.
- 3 ENDO, H.; MAITA, M.; TAKIKAWA, M.; REN, H.; HAYASHI, T.; URANO,
4 N.; MITSUBAYASHI, K. Enzyme sensor system for determination of total
5 cholesterol in fish plasma. **Fisheries Science**, London, v.69, n.6, p.1194-1199,
6 Dec. 2003.
- 7 ENES, P.; PANSEMAT, S.; KAUSHIK, S.; OLIVA-TELES, A. Nutritional
8 regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish Physiology and**
9 **Biochemistry**, The Netherlands, v.35, n.3, p.519-539, Aug. 2009.
- 10 ENES, P.; PERES, H.; SANCHEZ-GURMACHES, J.; NAVARRO, I.;
11 GUTIÉRREZ, J.; OLIVA-TELES, A. Insulin and IGF-I response to a glucose
12 load in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture**,
13 Amsterdam, v.315, n.3-4, p.321-326, 2011.
- 14 EUCLYDES, R. F. **Manual de utilização do programa SAEG - Sistema para**
15 **Análises Estatísticas e Genéticas**. Viçosa: UFV, 1997. 150p.
- 16 FERRARIS JUNIOR, C. J. Checklist of catfishes, recent and fossil
17 (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types.
18 **Zootaxa**, Auckland, v.1418, p.1-618, Mar. 2007.
- 19 FERREIRA, M. W. **Fontes de óleo da dieta na composição do músculo,**
20 **lipoproteínas plasmáticas, imunidade inata e resistência de tilápias do nilo**
21 **(*Oreochromis niloticus* L. 1757)**. 2008. 57 p. Dissertação (Mestrado em
22 Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- 23 FERREIRA, M. W.; DE ARAUJO, F. G.; COSTA, D. V.; ROSA, P. V.;
24 FIGUEIREDO, H. C. P.; MURGAS, L. D. S. Influence of Dietary Oil Sources
25 on Muscle Composition and Plasma Lipoprotein Concentrations in Nile Tilapia,
26 *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, London,
27 v.42, n.1, p.24-33, Feb. 2011.

- 1 FIGUEIREDO-SILVA, A.; ROCHA, E.; DIAS, J.; SILVA, P.; REMA, P.;
2 GOMES, E.; VALENTE, L. M. P. Partial replacement of fish oil by soybean oil
3 on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus*
4 *labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. **Aquaculture**
5 **Nutrition**, Oxford, v.11, n.2, p.147-155, Apr. 2005.
- 6 FLORES-LOPES, F.; MALABARBA, L. R. Alterações histopatológicas
7 observadas no fígado do lambari *Astyanax jacuhiensis* (Cope, 1894) (Teleostei.
8 Characidae) sob influência de efluentes petroquímicos. **Biociências**, Porto
9 Alegre, v.15, n.2, p.166-172, Jul. 2007.
- 10 FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G. H. A simple method for the
11 isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of**
12 **Biological Chemistry**, v.226, n.1, p.497-509, May. 1957.
- 13 FRANCIS, D. S.; TURCHINI, G. M.; JONES, P. L.; DE SILVA, S. S. Effects
14 of fish oil substitution with a mix blend vegetable oil on nutrient digestibility in
15 Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. **Aquaculture**, Amsterdam, v.269, n.1-
16 4, p.447-455, 2007.
- 17 FRØYLAND, L.; LIE, Ø.; BERGE, R. K. Mitochondrial and peroxisomal beta-
18 oxidation capacities in various tissues from Atlantic salmon *Salmo salar*.
19 **Aquaculture Nutrition**, v.6, n.2, p.85-89, Jun. 2000.
- 20 GAO, J.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; YOKOYAMA, S.; REN, T.;
21 KOMILUS, C. F.; HAN, Y. Effects of dietary palm oil supplements with
22 oxidized and non-oxidized fish oil on growth performances and fatty acid
23 compositions of juvenile Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicus*.
24 **Aquaculture**, Amsterdam, v.324-325, n.0, p.97-103, 2012.
- 25 GAO, W.; LIU, Y. J.; TIAN, L. X.; MAI, K. S.; LIANG, G. Y.; YANG, H. J.;
26 HUAI, M. Y.; LUO, W. J. Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on
27 growth performance, body composition, nutrient utilization and hepatic enzymes
28 activities of herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture**
29 **Nutrition**, Oxford, v.16, n.3, p.327-333, Jun. 2010.

- 1 GATTA, P. P.; PARMA, L.; GUARNIERO, I.; MANDRIOLI, L.; SIRRI, R.;
2 FONTANILLAS, R.; BONALDO, A. Growth, feed utilization and liver
3 histology of juvenile common sole (*Solea solea* L.) fed isoenergetic diets with
4 increasing protein levels. **Aquaculture Research**, London, v.42, n.3, p.313-321,
5 Feb. 2011.
- 6 GAYLORD, T. G.; GATLIN III, D. M. Dietary lipid level but not l-carnitine
7 affects growth performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* ♀×*M.*
8 *saxatilis* ♂). **Aquaculture**, Amsterdam, v.190, n.3-4, p.237-246, Nov. 2000.
- 9 GBORE, F.; ADEWOLE, A.; OGinni, O.; OGUNTOLU, M.; BADA, A.;
10 AKELE, O. Growth performance, haematology and serum biochemistry of
11 African catfish (*Clarias gariepinus*) fingerlings fed graded levels of dietary
12 fumonisin B1. **Mycotoxin Research**, New York, v.26, n.4, p.221-227, Nov.
13 2010.
- 14 GIL CANO F.; AYALA FLORENCIANO, M. D.; LÒPEZ ALBORS, O.
15 Estómago, Hígado, Bazo y páncreas de los peces. Murcia, 2010. Disponível
16 em: <[http://www.um.es/anatvet/Documentos/Curso-](http://www.um.es/anatvet/Documentos/Curso-Peces/pdfs/Estomago%20higado%20intestino%20bazo%20pancreas%20de%20os%20peces.pdf)
17 [Peces/pdfs/Estomago%20higado%20intestino%20bazo%20pancreas%20de%20os%20peces.pdf](http://www.um.es/anatvet/Documentos/Curso-Peces/pdfs/Estomago%20higado%20intestino%20bazo%20pancreas%20de%20os%20peces.pdf)>. Acesso em: 04/10/2013.
18
- 19 GILMAN, C. I.; LEUSCH, F. D. L.; CARL BRECKENRIDGE, W.;
20 MACLATCHY, D. L. Effects of a phytosterol mixture on male fish plasma
21 lipoprotein fractions and testis P450scc activity. **General and Comparative**
22 **Endocrinology**, v.130, n.2, p.172-184, 2003.
- 23 GRACIANO, T. S.; NATALI, M. R. M.; VIDAL, L. V. O.; MICHELATO, M.;
24 RIGHETTI, J. S.; FURUYA, W. M. Desempenho e morfologia hepática de
25 juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas suplementadas com metionina
26 e colina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.7, p.737-743, Jul.
27 2010.
- 28 GRIMM, H.; MAYER, K.; MAYSER, P.; EIGENBRODT, E. Regulatory
29 potential of n-3 fatty acids in immunological and inflammatory processes.
30 **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.87, n.SupplementS1, p.S59-S67,
31 Jan. 2002.

- 1 GÜROY, B.; ERGÜN, S.; MERRIFIELD, D.; GÜROY, D. Effect of autoclaved
2 Ulva meal on growth performance, nutrient utilization and fatty acid profile of
3 rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture International**, New York,
4 v.21, n.3, p.605-615, Jun. 2013.
- 5 GUILLAUME, J.; KAUSHIK, S.; BERGOT, P.; METAILER, R. Síntesis y
6 movilización del glucógeno. In: SOPEÑA BLANCO, A. (Org.). **Nutrición y**
7 **alimentación de peces y crustáceos**. Madrid, Barcelon, México: Mundi-Prensa,
8 2004. p.177.
- 9 HANSEN, J. Ø.; BERGE, G. M.; HILLESTAD, M.; KROGDAHL, Å.;
10 GALLOWAY, T. F.; HOLM, H.; HOLM, J.; RUYTER, B. Apparent digestion
11 and apparent retention of lipid and fatty acids in Atlantic cod (*Gadus morhua*)
12 fed increasing dietary lipid levels. **Aquaculture**, Amsterdam, v.284, n.1-4,
13 p.159-166, Nov. 2008.
- 14 HARMON, K. J.; BOLINGER, M. T.; RODNICK, K. J. Carbohydrate energy
15 reserves and effects of food deprivation in male and female rainbow trout.
16 **Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative**
17 **Physiology**, New York, v.158, n.4, p.423-431, Apr. 2011.
- 18 HASHIMOTO, D. T.; SENHORINI, J. A.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F.
19 Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for
20 sustainable use. **Reviews in Aquaculture**, Weinheim, v.4, n.2, p.108-118, Jun.
21 2012.
- 22 HEMRE, G. I.; MOMMSEN, T. P.; KROGDAHL, A. Carbohydrates in fish
23 nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes.
24 **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.8, n.3, p.175-194, Sep. 2002.
- 25 HEPHER, B. Principles of fish nutrition. In: SHILO, M. e SARIG, S. (Orgs.).
26 **Fish culture in warm water systems: problems and trends**. 1. Boca Raton, Fl:
27 CRC Press, 1989. p.121-141.
- 28 HOLME, M. H.; SOUTHGATE, P. C.; ZENG, C. Survivor, development and
29 growth response of mud crab, *Scylla serrata*, megalopae feed semi-purified diets

- 1 containing various fish oil: corn oil ratios. **Aquaculture**, v.269, n.1-4, p.427-
2 435, Sep. 2007.
- 3 HU, Y. H.; LIU, Y. J.; TIAN, L. X.; YANG, H. J.; LIANG, G. Y.; GAO, W.
4 Optimal dietary carbohydrate to lipid ratio for juvenile yellowfin seabream
5 (*Sparus latus*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.13, n.4, p.291-297, 2007.
- 6 IZQUIERDO, M. S.; OBACH, A.; ARANTZAMENDI, L.; MONTERO, D.;
7 ROBAINA, L.; ROSENLUND, G. Dietary lipid sources for seabream and
8 seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. **Aquaculture**
9 **Nutrition**, Oxford, v.9, n.6, p.397-407, Dec. 2003.
- 10 JORDAL, A. E. O.; LIE, Ø.; TORSTENSEN, B. E. Complete replacement of
11 dietary fish oil with a vegetable oil blend affect liver lipid and plasma
12 lipoprotein levels in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture Nutrition**,
13 Oxford, v.13, n.2, p.114-130, Apr. 2007.
- 14 KAJIKAWA, S.; HARADA, T.; KAWASHIMA, A.; IMADA, K.;
15 MIZUGUCHI, K. Highly purified eicosapentaenoic acid prevents the
16 progression of hepatic steatosis by repressing monounsaturated fatty acid
17 synthesis in high-fat/high-sucrose diet-fed mice. **Prostaglandins, leukotrienes,**
18 **and essential fatty acids**, Boston, v.80, n.4, p.229-238, Apr. 2009.
- 19 KAVITHA, C.; RAMESH, M.; KUMARAN, S. S.; LAKSHMI, S. A. Toxicity
20 of Moringa oleifera seed extract on some hematological and biochemical
21 profiles in a freshwater fish, *Cyprinus carpio*. **Experimental and Toxicologic**
22 **Pathology**, Hannover, v.64, n.7-8, p.681-687, Nov. 2012.
- 23 KIM, H.-J.; MIYAZAKI, M.; MAN, W. C.; NTAMBI, J. M. Sterol Regulatory
24 Element-Binding Proteins (SREBPs) as Regulators of Lipid Metabolism.
25 **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.967, n.1, p.34-42, 2002.
- 26 KIM, L. O.; LEE, S.-M. Effects of the dietary protein and lipid levels on growth
27 and body composition of bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. **Aquaculture**,
28 v.243, n.1-4, p.323-329, Jan. 2005.

- 1 KJÆR, M. A.; VEGUSDAL, A.; BERGE, G. M.; GALLOWAY, T. F.;
2 HILLESTAD, M.; KROGDAHL, Å.; HOLM, H.; RUYTER, B. Characterisation
3 of lipid transport in Atlantic cod (*Gadus morhua*) when fasted and fed high or
4 low fat diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v.288, n.3-4, p.325-336, Mar. 2009.
- 5 KJÆR, M. A.; VEGUSDAL, A.; GJØEN, T.; RUSTAN, A. C.; TODORČEVIĆ,
6 M.; RUYTER, B. Effect of rapeseed oil and dietary n-3 fatty acids on
7 triacylglycerol synthesis and secretion in Atlantic salmon hepatocytes.
8 **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of**
9 **Lipids**, v.1781, n.3, p.112-122, 2008.
- 10 KOCHHAR, S. P. Sesame, rice-bran and flaxseed oils. In: GUNSTONE, F. D.
11 (Org.). **Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties, and**
12 **Uses**. London: John Wiley & Sons, 2002. cap. 11, p.297.
- 13 KOWALSKA, A.; ZAKĘŚ, Z.; JANKOWSKA, B.; DEMSKA-ZAKĘŚ, K.
14 Effect of different dietary lipid levels on growth performance, slaughter yield,
15 chemical composition, and histology of liver and intestine of pikeperch, *Sander*
16 *lucioperca*. **Czech Journal of animal science**, v.56, n.3, p.136-149, 2011b.
- 17 KOWALSKA, A.; ZAKES, Z.; JANKOWSKA, B.; SIWICKI, A. Impact of
18 diets with vegetable oils on the growth, histological structure of internal organs,
19 biochemical blood parameters, and proximate composition of pikeperch *Sander*
20 *lucioperca* (L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v.301, n.1-4, p.69-77, Mar. 2010.
- 21 KOWALSKA, A.; ZAKĘŚ, Z.; JANKOWSKA, B.; SIWICKI, A. Substituting
22 vegetable oil for fish oil in pikeperch diets: the impact on growth, internal organ
23 histology, blood biochemical parameters, and proximate composition.
24 **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.17, n.2, p.e148-e163, 2011a.
- 25 KROGDAHL, A.; HEMRE, G. I.; MOMMSEN, T. P. Carbohydrates in fish
26 nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. **Aquaculture Nutrition**,
27 Oxford, v.11, n.2, p.103-122, Apr. 2005.
- 28 KUMAR, S.; SAHU, N. P.; PAL, A. K.; SAGAR, V.; SINHA, A.; BARUAH,
29 K. Modulation of key metabolic enzyme of *Labeo rohita* (Hamilton) juvenile:

- 1 effect of dietary starch type, protein level and exogenous α -amylase in the diet.
2 **Fish Physiology and Biochemistry**, The Netherlands, v.35, n.2, p.301-315,
3 2009/05/01. 2009.
- 4 LANGIANO, V. D. C. **Toxicidade do Roundup® e seus efeitos para o peixe**
5 **neotropical *Prochilodus lineatus***. 2006. 63 p. Dissertação (Mestrado em
6 Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006.
- 7 LEE, S.-M.; JEON, I. G.; LEE, J. Y. Effects of digestible protein and lipid levels
8 in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile
9 rockfish (*Sebastes schlegeli*). **Aquaculture**, v.211, n.1-4, p.227-239, Aug. 2002.
- 10 LEUNG, L. Y.; WOO, N. S. Influence of dietary carbohydrate level on
11 endocrine status and hepatic carbohydrate metabolism in the marine fish Sparus
12 sarba. **Fish Physiology and Biochemistry**, The Netherlands, v.38, n.2, p.543-
13 554, 2012/04/01. 2012.
- 14 LEVENE, A. P.; GOLDIN, R. D. The epidemiology, pathogenesis and
15 histopathology of fatty liver disease. **Histopathology**, Oxford, v.61, n.2, p.141-
16 152, Aug. 2012.
- 17 LI, X. F.; WANG, Y.; LIU, W. B.; JIANG, G. Z.; ZHU, J. Effects of dietary
18 carbohydrate/lipid ratios on growth performance, body composition and glucose
19 metabolism of fingerling blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*.
20 **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.19, n.5, p.701-708, Oct. 2013.
- 21 LIU, K.-S. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-chromatographic
22 analysis of lipids in biological materials. **Journal of the American Oil**
23 **Chemists' Society**, v.71, p.1179-1187, 1994.
- 24 LONDERO, L. G. **Efeitos de ácidos graxos poliinsaturados sobre parâmetros**
25 **do metabolismo intermediário de ratos Wistar**. 2008. 139 p. Dissertação
26 (Mestrado em Ciências Biológicas-Bioquímica) - Universidade Federal do Rio
27 Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

- 1 LU, K.-L.; XU, W.-N.; LI, J.-Y.; LI, X.-F.; HUANG, G.-Q.; LIU, W.-B.
2 Alterations of liver histology and blood biochemistry in blunt snout bream
3 *Megalobrama amblycephala* fed high-fat diets. **Fisheries Science**, New York,
4 v.79, n.4, p.661-671, Jul. 2013b.
- 5 LU, K.-L.; XU, W.-N.; LI, X.-F.; LIU, W.-B.; WANG, L.-N.; ZHANG, C.-N.
6 Hepatic triacylglycerol secretion, lipid transport and tissue lipid uptake in blunt
7 snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fed high-fat diet. **Aquaculture**,
8 Amsterdam, v.408–409, n.0, p.160-168, Sep. 2013.
- 9 LUO, Z.; LI, X.; BAI, H.; GONG, S. Effects of dietary fatty acid composition on
10 muscle composition and hepatic fatty acid profile in juvenile *Synechogobius*
11 *hasta*. **Journal of Applied Ichthyology**, Oxford, v.24, n.1, p.116-119, Feb.
12 2008.
- 13 MADSEN, L.; PETERSEN, R. K.; KRISTIANSEN, K. Regulation of adipocyte
14 differentiation and function by polyunsaturated fatty acids. **Biochimica et**
15 **Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, Amsterdam, v.1740,
16 n.2, p.266-286, May. 2005.
- 17 MAGGI, L. E.; GIUNTA, G. A.; TORRES, M. I.; INFANTE, S. Comparación
18 de un nuevo método directo para cuantificar el colesterol LDL, HDL, VLDL y
19 lipoproteína (a) con los métodos tradicionales. **Revista Bioanálisis**, n.19, p.20-
20 24, Jan-Feb. 2008.
- 21 MAITA, M. Fish health assessment. In: NAKAGAWA, H.; SATO, M. e
22 GATLIN III, D. M. (Orgs.). **Dietary supplements for the health and quality**
23 **of cultured fish**. Cambridge: CAB International, 2007. p.10 - 34.
- 24 MARTINEZ-RUBIO, L.; WADSWORTH, S.; GONZÁLEZ VECINO, J. L.;
25 BELL, J. G.; TOCHER, D. R. Effect of dietary digestible energy content on
26 expression of genes of lipid metabolism and LC-PUFA biosynthesis in liver of
27 Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). **Aquaculture**, Amsterdam, v.384–387, n.0,
28 p.94-103, Mar. 2013.

- 1 MARTINO, R. C.; CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L.; TRUGO, L. C. Performance
2 and fatty acid composition of surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) fed diets
3 with animal and plant lipids. **Aquaculture**, Amsterdam, v.209, n.1-4, p.233-246,
4 Jun. 2002a.
- 5 MATEO, F. J.; DELGADO, N.; LÓPEZ, H. Caracterización morfométrica del
6 híbrido Yaque pintado (*Pseudoplatystoma Fasciatum x Leiarius Marmoratus*) y
7 sus progenitores (Siluriformes: Pimelodidae). **Revista de la Facultad de**
8 **Ciencias Veterinarias**, Maracay, v.49, n.1, p.047-060, Jun. 2008.
- 9 MCNAMARA, D. J. Dietary cholesterol and atherosclerosis. **Biochimica et**
10 **Biophysica Acta**, London, v.1529, p.310-320, Sep. 2000.
- 11 MENOYO, D.; DIEZ, A.; LOPEZ-BOTE, C. J.; CASADO, S.; OBACH, A.;
12 BAUTISTA, J. M. Dietary fat type affects lipid metabolism in Atlantic salmon
13 (*Salmo salar* L.) and differentially regulates glucose transporter GLUT4
14 expression in muscle. **Aquaculture**, Amsterdam, v.261, n.1, p.294-304, Nov.
15 2006.
- 16 MENOYO, D.; IZQUIERDO, M. S.; ROBAINA, L.; GINÉS, R.; LOPEZ-
17 BOTE, C. J.; BAUTISTA, J. M. Adaptation of lipid metabolism, tissue
18 composition and flesh quality in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) to the
19 replacement of dietary fish oil by linseed and soyabean oils. **British Journal of**
20 **Nutrition**, Cambridge, v.92, n.01, p.41-52, Jul. 2004.
- 21 MENOYO, D.; LOPEZ-BOTE, C. J.; BAUTISTA, J. M.; OBACH, A. Growth,
22 digestibility and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed
23 varying levels of n-3 and saturated fatty acids. **Aquaculture**, Amsterdam, v.225,
24 n.1-4, p.295-307, Jul. 2003.
- 25 MESSINA, M.; PICCOLO, G.; TULLI, F.; MESSINA, C. M.;
26 CARDINALETTI, G.; TIBALDI, E. Lipid composition and metabolism of
27 European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fed diets containing wheat gluten
28 and legume meals as substitutes for fish meal. **Aquaculture**, Amsterdam, v.376-
29 379, n.0, p.6-14, Feb. 2013.

- 1 MOHANTA, K. N.; MOHANTY, S. N.; JENA, J.; SAHU, N. P.; PATRO, B.
2 Carbohydrate level in the diet of silver barb, *Puntius gonionotus* (Bleeker)
3 fingerlings: effect on growth, nutrient utilization and whole body composition.
4 **Aquaculture Research**, London, v.40, n.8, p.927-937, 2009.
- 5 MOMMSEN, T. P.; PLISETSKAYA, E. M. Insulin in fishes and agnathans:
6 history, structure, and metabolic regulation. **Reviews in Aquatic Sciences**, Boca
7 Raton, v.4, p.225-259, Apr. 1991.
- 8 MONSTERFISHKEEPERS. My new addition: Reticulated Tiger shovelnose
9 (*Pseudoplatystoma reticulatum*). Tucson, 2010. Disponível em:
10 <[http://www.monsterfishkeepers.com/forums/showthread.php?370843-My-new-
11 addition-Reticulated-Tiger-shovelnose-\(Pseudoplatystoma-reticulatum\)>](http://www.monsterfishkeepers.com/forums/showthread.php?370843-My-new-addition-Reticulated-Tiger-shovelnose-(Pseudoplatystoma-reticulatum)>).
12 Acesso em: Nov. 2013.
- 13 MOREAU, R. A. Corn oil. In: GUNSTONE, F. D. (Org.). **Vegetable Oils in**
14 **Food Technology: Composition, Properties, and Uses**. London: John Wiley &
15 Sons, 2002. cap. 10, p.278.
- 16 MOURENTE, G.; GOOD, J. E.; BELL, J. G. Partial substitution of fish oil with
17 rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus*
18 *labrax* L.): effects on flesh fatty acid composition, plasma prostaglandins E2 and
19 F2 α , immune function and effectiveness of a fish oil finishing diet. **Aquaculture**
20 **Nutrition**, Oxford, v.11, n.1, p.25-40, 2005.
- 21 NAGEL, F.; VON DANWITZ, A.; TUSCHE, K.; KROECKEL, S.; VAN
22 BUSSEL, C. G. J.; SCHLACHTER, M.; ADEM, H.; TRESSEL, R.-P.;
23 SCHULZ, C. Nutritional evaluation of rapeseed protein isolate as fish meal
24 substitute for juvenile turbot (*Psetta maxima* L.) — Impact on growth
25 performance, body composition, nutrient digestibility and blood physiology.
26 **Aquaculture**, Amsterdam, v.356–357, n.0, p.357-364, Aug. 2012.
- 27 NAKAMURA, M.; CHEON, Y.; LI, Y.; NARA, T. Mechanisms of regulation of
28 gene expression by fatty acids. **Lipids**, v.39, n.11, p.1077-1083, 2004/11/01.
29 2004.

- 1 NANTON, D. A.; MCNIVEN, M. A.; LALL, S. P. Serum lipoproteins in
2 haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.12,
3 n.5, p.363-371, Oct. 2006.
- 4 NANTON, D. A.; VEGUSDAL, A.; RØRÅ, A. M. B.; RUYTER, B.;
5 BAEVERFJORD, G.; TORSTENSEN, B. E. Muscle lipid storage pattern,
6 composition, and adipocyte distribution in different parts of Atlantic salmon
7 (*Salmo salar*) fed fish oil and vegetable oil. **Aquaculture**, Amsterdam, v.265,
8 n.1-4, p.230-243, May. 2007.
- 9 NASOPOULOU, C.; ZABETAKIS, I. Benefits of fish oil replacement by plant
10 originated oils in compounded fish feeds. A review. **LWT - Food Science and**
11 **Technology**, London, v.47, n.2, p.217-224, Jul. 2012.
- 12 NELSON, D. L.; COX, M. M.; TILLBERRY, S. **Lehninger principles of**
13 **biochemistry**. New York: Worth : The Mona group, LLC (CD ROM), 2002.
- 14 NG, W.-K.; CHONG, C.-Y.; WANG, Y.; ROMANO, N. Effects of dietary fish
15 and vegetable oils on the growth, tissue fatty acid composition, oxidative
16 stability and vitamin E content of red hybrid tilapia and efficacy of using fish oil
17 finishing diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v.372-375, n.0, p.97-110, Jan. 2013.
- 18 NORAMBUENA, F.; MORAIS, S.; ESTÉVEZ, A.; BELL, J. G.; TOCHER, D.
19 R.; NAVARRO, J. C.; CERDÀ, J.; DUNCAN, N. Dietary modulation of
20 arachidonic acid metabolism in senegalese sole (*Solea Senegalensis*) broodstock
21 reared in captivity. **Aquaculture**, Amsterdam, v.372-375, n.0, p.80-88, Jan.
22 2013.
- 23 NRC. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington: The National
24 Academic Press, 2011. 376p.
- 25 NUÑEZ, J.; DUGUÉ, R.; CORCUY ARANA, N.; DUPONCHELLE, F.;
26 RENNO, J. F.; RAYNAUD, T.; HUBERT, N.; LEGENDRE, M. Induced
27 breeding and larval rearing of Surubí, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus,
28 1766), from the Bolivian Amazon. **Aquaculture Research**, London, v.39, n.7,
29 p.764-776, May. 2008.

- 1 OLIVEIRA, R. H. F. D.; SILVA, E. M. P.-D.; BUENO, R. S.; BARONE, A. A.
2 C. O extrato de maracujá sobre a morfometria de hepatócitos da tilápia do Nilo.
3 **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.12, p.2562-2567, Dec. 2010.
- 4 OOI, E. M. M.; NG, W. K. T.; WATTS, G. F.; BARRET, P. H. R. Dietary fatty
5 acids and lipoprotein metabolism: new insights and updates. **Lippincott**
6 **Williams & Wilkins**, v.24, n.3, p.192-197, Jun. 2013.
- 7 PANSERAT, S.; PLAGNES-JUAN, E.; BREQUE, J.; KAUSHIK, S. Hepatic
8 phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression is not repressed by dietary
9 carbohydrates in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **The Journal of**
10 **Experimental Biology**, Edinburgh, v.204, n.Pt 2, p.359-365, Jan. 2001.
- 11 PARPOURA, A. R.; ALEXIS, M. Effects of different dietary oils in sea bass
12 (*Dicentrarchus labrax*) nutrition. **Aquaculture International**, v.9, n.6, p.463-
13 476, 2001/11/01. 2001.
- 14 PÁRRIZAS, M.; BAÑOS, N.; BARÓ, J.; PLANAS, J.; GUTIÉRREZ, J. Up-
15 regulation of insulin binding in fish skeletal muscle by high insulin levels.
16 **Regulatory Peptides**, Oulu, v.53, n.3, p.211-222, Oct. 1994.
- 17 PAVLIDIS, M.; FUTTER, W. C.; KATHARIOS, P.; DIVANACH, P. Blood
18 cell profile of six Mediterranean mariculture fish species. **Journal of Applied**
19 **Ichthyology**, Neu Wulmstorf, v.23, n.1, p.70-73, Feb. 2007.
- 20 PERES, H.; OLIVA-TELES, A. Utilization of raw and gelatinized starch by
21 European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam,
22 v.205, n.3-4, p.287-299, Mar. 2002.
- 23 PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; GUEDES, M. J.; MORALES, A. E.; OLIVA-TELES, A.
24 Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*.
25 Effect of dietary composition. **Aquaculture**, Amsterdam, v.265, n.1-4, p.325-
26 335, May. 2007.

- 1 PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; FURUYA, W. M. Valor nutritivo dos
2 alimentos utilizados na formulação de rações para peixes tropicais. **Revista**
3 **Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.spe, p.43-51, Jul. 2009.
- 4 PIEDECAUSA, M. A.; MAZÓN, M. J.; GARCÍA GARCÍA, B.;
5 HERNÁNDEZ, M. D. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils
6 in the diets of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). **Aquaculture**, v.263,
7 n.1-4, p.211-219, 2007.
- 8 PLAGNES-JUAN, E.; LANSARD, M.; SEILIEZ, I.; MÉDALE, F.; CORRAZE,
9 G.; KAUSHIK, S.; PANSEERAT, S.; SKIBA-CASSY, S., 2510-2518. . Insulin
10 regulates the expression of several metabolism-related genes in the liver and
11 primary hepatocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **The Journal of**
12 **Experimental Biology**, Edinburgh, v.211, n.Pt 15, Aug. 2008.
- 13 PORTO-FORESTI, F.; HASHIMOTO, D. T.; PRADO, F. D.; SENHORINI, J.
14 A.; FORESTI, F. Genetic markers for the identification of hybrids among catfish
15 species of the family Pimelodidae. **Journal of Applied Ichthyology**, Oxford,
16 v.29, n.3, p.643-647, Jun. 2013.
- 17 PRADO, F. D. D.; NUNES, T. L.; SENHORINI, J. A.; BORTOLOZZI, J.;
18 FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F. Cytogenetic characterization of F1, F2 and
19 backcross hybrids of the Neotropical catfish species *Pseudoplatystoma*
20 *corruscans* and *Pseudoplatystoma reticulatum* (Pimelodidae, Siluriformes).
21 **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v.35, n.1, p.57-64, Feb. 2012.
- 22 RAMÍREZ D, W.; RONDÓN B, I.; VIDAL B, H.; ESLAVA M, P. Toxicidad
23 aguda y lesiones histopatológicas en cachama blanca (*Piaractus brachypomus*)
24 expuestas a la mezcla de herbicida roundup® más surfactante cosmoflux® 411f.
25 **Revista MVZ Córdoba**, Montería, v.14, n.1, p.1563-1575, Jan- Apr. 2009.
- 26 RESENDE, E. K.; OLIVEIRA, C. A. L.; LEGAT, A. P.; RIBEIRO, R. P.
27 Melhoramento animal no Brasil: uma visão crítica espécies aquáticas. Brasília,
28 2010. Disponível em:
29 <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/24561/1/5.pdf>>. Acesso
30 em: 03/03/2013.

- 1 RIBEIRO, P. A. P. **Efeito de fontes de ácidos graxos na dieta e da redução da**
2 **temperatura sobre o metabolismo lipídico de tilápias nilóticas (*Oreochromis***
3 ***niloticus*) e trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).** 2007. 162 p. Tese
4 (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- 5 RIBEIRO, P. A. P.; COSTA, L. S.; PEREIRA, R. T.; MURGAS, L. D. S.;
6 ROSA, P. V. Parâmetros metabólicos de pacus alimentados com diferentes
7 fontes de óleo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.8, p.1035-
8 1042, Aug. 2013.
- 9 RIBEIRO, P. A. P.; LOGATO, P. V. R.; PAULA, D. A. D. J.; COSTA, A. C.;
10 MURGAS, L. D. S.; FREITAS, R. T. F. D. Efeito do uso de óleo na dieta sobre
11 a lipogênese e o perfil lipídico de tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de**
12 **Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.8, p.1331-1337, Aug. 2008.
- 13 RICHARD, N.; MOURENTE, G.; KAUSHIK, S.; CORRAZE, G. Replacement
14 of a large portion of fish oil by vegetable oils does not affect lipogenesis, lipid
15 transport and tissue lipid uptake in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.).
16 **Aquaculture**, Amsterdam, v.261, n.3, p.1077-1087, 2006.
- 17 RIOS, F. S.; DONATTI, L.; FERNANDES, M. N.; KALININ, A. L.; RANTIN,
18 F. T. Liver histopathology and accumulation of melano-macrophage centres in
19 *Hoplias malabaricus* after long-term food deprivation and re-feeding. **Journal**
20 **of Fish Biology**, London, v.71, n.5, p.1393-1406, Nov. 2007.
- 21 ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic**
22 **Animals. 3rd ed.** Oxford: Wiley-Blackwell, 2008. 240p.
- 23 RUSSELL, P. M.; DAVIES, S. J.; GOUVEIA, A.; TEKINAY, A. A. Influence
24 of dietary starch source on liver morphology in juvenile cultured European sea
25 bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture Research**, London, v.32,
26 n.Supplement S1, p.306-314, Dec. 2001.
- 27 SAMPATH, H.; NTAMBI, J. M. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes
28 of lipid metabolism. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v.25, n.1, p.317-
29 340, Jul. 2005.

- 1 SARGENT, J. R.; TOCHER, D. R.; BELL, J. G. The Lipids. In: HALVER, J. E.
2 e HARDY, R. W. (Orgs.). **Fish Nutrition**. New York: Academic Press, 2002.
3 cap. 4, p.182-259.
- 4 SCHMITZ, G.; ECKER, J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids.
5 **Progress in Lipid Research**, Oxford, v.47, n.2, p.147-155, Mar. 2008.
- 6 SCHULZ, C.; KNAUS, U.; WIRTH, M.; RENNERT, B. Effects of varying
7 dietary fatty acid profile on growth performance, fatty acid, body and tissue
8 composition of juvenile pike perch (*Sander lucioperca*). **Aquaculture Nutrition**,
9 Oxford, v.11, n.6, p.403-413, Dec. 2005.
- 10 SILVA, C. A.; MASSARO, M. Influência da sazonalidade na mobilização das
11 reservas de glicogênio do peixe elétrico *Gymnotus carapo* Miller, 1966
12 (Osteichthyes, Gymnotidae). **Zoociências**, Juiz de Fora, v.8, n.1, p.61-66, Apr.
13 2006.
- 14 SOUZA, S. M. G.; ANIDO, R. J. V.; TOGNON, F. C. Ácidos graxos ômega-3 e
15 ômega-6 na nutrição de peixes fontes e relações. **Revista de Ciências**
16 **Agroveterinárias**, Lages, v.6, n.1, p.63-71, Oct. 2007.
- 17 STONE, D. A. J. Dietary Carbohydrate Utilization by Fish. **Reviews in**
18 **Fisheries Science**, Groton, v.11, n.4, p.337-369, Oct. 2003.
- 19 TAN, Q.; WANG, F.; XIE, S.; ZHU, X.; LEI, W.; SHEN, J. Effect of high
20 dietary starch levels on the growth performance, blood chemistry and body
21 composition of gibel carp (*Carassius auratus* var. gibelio). **Aquaculture**
22 **Research**, London, v.40, n.9, p.1011-1018, Jun. 2009a.
- 23 TAN, X.-Y.; LUO, Z.; XIE, P.; LIU, X.-J. Effect of dietary linolenic
24 acid/linoleic acid ratio on growth performance, hepatic fatty acid profiles and
25 intermediary metabolism of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*.
26 **Aquaculture**, Amsterdam, v.296, n.1-2, p.96-101, Nov. 2009b.

- 1 TEOH, C.-Y.; TURCHINI, G. M.; NG, W.-K. Erratum to “Genetically
2 improved farmed Nile tilapia and red hybrid tilapia showed differences in fatty
3 acid metabolism when fed diets with added fish oil or a vegetable oil blend”.
4 **Aquaculture**, Amsterdam, v.316, n.1–4, p.144-154, Jun. 2011.
- 5 TEROVA, G.; RIMOLDI, S.; BRAMBILLA, F.; GORNATI, R.;
6 BERNARDINI, G.; SAROGLIA, M. In vivo regulation of GLUT2 mRNA in
7 sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in response to acute and chronic hypoxia.
8 **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and**
9 **Molecular Biology**, New York, v.152, n.4, p.306-316, Abr. 2009.
- 10 THANUTHONG, T.; FRANCIS, D. S.; MANICKAM, E.; SENADHEERA, S.
11 D.; CAMERON-SMITH, D.; TURCHINI, G. M. Fish oil replacement in
12 rainbow trout diets and total dietary PUFA content: II) Effects on fatty acid
13 metabolism and in vivo fatty acid bioconversion. **Aquaculture**, Amsterdam,
14 v.322–323, n.0, p.99-108, 2011.
- 15 TOCHER, D.; FONSECA-MADRIGAL, J.; BELL, J. G.; DICK, J.;
16 HENDERSON, R. J.; SARGENT, J. Effects of diets containing linseed oil on
17 fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes in
18 Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Fish Physiology and Biochemistry**, The
19 Netherlands, v.26, n.2, p.157-170, 2002/03/01. 2002.
- 20 TOCHER, D. R. Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost
21 Fish. **Reviews in Fisheries Science**, Groton, v.11, n.2, p.107-184, Apr. 2003.
- 22 TOCHER, D. R.; BENDIKSEN, E. Å.; CAMPBELL, P. J.; BELL, J. G. The
23 role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. **Aquaculture**,
24 Amsterdam, v.280, n.1–4, p.21-34, Aug. 2008.
- 25 TODORČEVIĆ, M.; VEGUSDAL, A.; GJØEN, T.; SUNDVOLD, H.;
26 TORSTENSEN, B. E.; KJÆR, M. A.; RUYTER, B. Changes in fatty acids
27 metabolism during differentiation of Atlantic salmon preadipocytes; Effects of
28 n-3 and n-9 fatty acids. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular**
29 **and Cell Biology of Lipids**, Amsterdam, v.1781, n.6–7, p.326-335, Jun. 2008.

- 1 TOLUSSI, C. E.; HILSDORF, A. W. S.; CANEPPELE, D.; MOREIRA, R. G.
2 The effects of stocking density in physiological parameters and growth of the
3 endangered teleost species piabanha, *Brycon insignis* (Steindachner, 1877).
4 **Aquaculture**, Amsterdam, v.310, n.1–2, p.221-228, 2010.
- 5 TORRES R, G. A.; GONZÁLEZ P, S.; PEÑA S, E. Descripción Anatómica,
6 Histológica y Ultraestructural de la Branquia e Hígado de Tilapia (*Oreochromis*
7 *niloticus*). **International Journal of Morphology**, Temuco, v.28, n.3, p.703-
8 712, Sep. 2010.
- 9 TORSTENSEN, B. E.; FRØYLAND, L.; LIE, Ø. Replacing dietary fish oil with
10 increasing levels of rapeseed oil and olive oil – effects on Atlantic salmon
11 (*Salmo salar* L.) tissue and lipoprotein lipid composition and lipogenic enzyme
12 activities. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.10, n.3, p.175-192, Jun. 2004.
- 13 TORSTENSEN, B. E.; LIE, Ø.; FRØYLAND, L. Lipid metabolism and tissue
14 composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) - effects of capelin oil, palm
15 oil, and oleic acid-enriched sunflower oil as dietary lipid sources. **Lipids**, v.35,
16 n.6, p.653-664, Jun. 2000.
- 17 TORSTENSEN, B. E.; NANTON, D. A.; OLSVIK, P. A.; SUNDVOLD, H.;
18 STUBHAUG, I. Gene expression of fatty acid-binding proteins, fatty acid
19 transport proteins (cd36 and FATP) and β -oxidation-related genes in Atlantic
20 salmon (*Salmo salar* L.) fed fish oil or vegetable oil. **Aquaculture Nutrition**,
21 v.15, n.4, p.440-451, 2009.
- 22 TORSTENSEN, B. E.; TOCHER, D. R. The effects of fish oil replacement on
23 lipid metabolism of fish. In: TURCHINI, G. M.; NG, W. K. e TOCHER, D. R.
24 (Orgs.). **Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture**
25 **Feeds**. Boca Ratón, FL, USA: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2010.
26 p.405–438.
- 27 TRUSHENSKI, J.; SCHWARZ, M.; BERGMAN, A.; ROMBENSO, A.;
28 DELBOS, B. DHA is essential, EPA appears largely expendable, in meeting the
29 n – 3 long-chain polyunsaturated fatty acid requirements of
30 juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, Amsterdam, v.326–329,
31 n.0, p.81-89, 2012.

- 1 TURCHINI, G. M.; FRANCIS, D. S. Fatty acid metabolism (desaturation,
2 elongation and beta-oxidation) in rainbow trout fed fish oil- or linseed oil-based
3 diets. **British Journal of Nutrition**, v.102, n.1, p.69-81, Jul. 2009.
- 4 TURCHINI, G. M.; FRANCIS, D. S.; DE SILVA, S. S. Fatty acid metabolism
5 in the freshwater fish Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) deduced by the
6 whole-body fatty acid balance method. **Comparative biochemistry and
7 physiology. Part B, Biochemistry & molecular biology**, v.144, n.1, p.110-118,
8 May. 2006.
- 9 TURCHINI, G. M.; FRANCIS, D. S.; SENADHEERA, S.; THANUTHONG,
10 T.; DE SILVA, S. S. Fish oil replacement with different vegetable oils in
11 Murray cod: Evidence of an "omega-3 sparing effect" by other dietary fatty
12 acids. **Aquaculture**, Amsterdam, v.315, n.3-4, p.250-259, May. 2011.
- 13 TURCHINI, G. M.; TORSTENSEN, B. E.; NG, W.-K. Fish oil replacement in
14 finfish nutrition. **Reviews in Aquaculture**, Weinheim, v.1, n.1, p.10-57, Mar.
15 2009.
- 16 VEGUSDAL, A.; GJØEN, T.; BERGE, R. K.; THOMASSEN, M. S.;
17 RUYTER, B. Effect of 18:1n-9, 20:5n-3, and 22:6n-3 on lipid accumulation
18 and secretion by atlantic salmon hepatocytes. **Lipids**, Champaign, v.40, n.5,
19 p.477-486, May. 2005.
- 20 VISENTAINER, J. V. **Composição de ácidos graxos e quantificação dos**
21 **ácidos graxos LNA, EPA e DHA no tecido muscular de tilápias**
22 **(*Oreochromis niloticus*), submetidas a diferentes tratamentos com óleo de**
23 **linhça**. 2003. 192 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) -
24 Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.
- 25 WASSEF, E. A.; WAHBY, O. M.; SAKR, E. M. Effect of dietary vegetable oils
26 on health and liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*) growers.
27 **Aquaculture Research**, London, v.38, n.8, p.852-861, Jun. 2007.
- 28 WETWEBMEDIA. Shovel-noses, Pictus, Tigers and More, The Antennae
29 Catfishes, Family Pimelodidae. San Diego, 2011. Disponível em:

- 1 <[http://www.wetwebmedia.com/fwswebindex/Catfish%20PIX/Pimelodid%20](http://www.wetwebmedia.com/fwswebindex/Catfish%20PIX/Pimelodid%20PIX/Leiarius%20marmoratus.jpg)
2 [PIX/Leiarius%20marmoratus.jpg](http://www.wetwebmedia.com/fwswebindex/Catfish%20PIX/Pimelodid%20PIX/Leiarius%20marmoratus.jpg)>. Acesso em: Nov. 2013.
- 3 WILSON, R. P. Utilization of dietary carbohydrate by fish. **Aquaculture**,
4 Amsterdam, v.124, n.1-4, p.67-80, Jul. 1994.
- 5 WRIGHT, P. A.; LAND, M. A. Urea production and transport in teleost fishes.
6 **Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative**
7 **Physiology**, New York, v.119, n.1, p.47-54, Jan. 1998.
- 8 WU, F.-C.; CHEN, H.-Y. Effects of dietary linolenic acid to linoleic acid ratio
9 on growth, tissue fatty acid profile and immune response of the juvenile grouper
10 *Epinephelus malabaricus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v.324–325, n.0, p.111-117,
11 2012.
- 12 XU, H.; AI, Q.; MAI, K.; XU, W.; WANG, J.; MA, H.; ZHANG, W.; WANG,
13 X.; LIUFU, Z. Effects of dietary arachidonic acid on growth performance,
14 survival, immune response and tissue fatty acid composition of juvenile
15 Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v.307, n.1–
16 2, p.75-82, Sep. 2010.
- 17 XU, X.; KESTEMONT, P. Lipid metabolism and FA composition in tissues of
18 Eurasian perch *Perca fluviatilis* as influenced by dietary fats. **Lipids**,
19 Champaign, v.37, n.3, p.297-304, Mar. 2002.
- 20 ZHENG, X.; TORSTENSEN, B. E.; TOCHER, D. R.; DICK, J. R.;
21 HENDERSON, R. J.; BELL, J. G. Environmental and dietary influences on
22 highly unsaturated fatty acid biosynthesis and expression of fatty acyl desaturase
23 and elongase genes in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Biochimica et**
24 **Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, Amsterdam,
25 v.1734, n.1, p.13-24, May. 2005.

26

27

28

(VERSÃO PRELIMINAR DO ARTIGO)

ANEXOS

ANEXO A -	Análise de variância de Histologia - Conteúdo de Lipídeos aos 60 dias.....	173
ANEXO B -	Análise de variância de Histologia - Conteúdo de Glicogênio aos 60 dias	173
ANEXO C -	Análise de variância de Histologia - Conteúdo de Vacuolização aos 60 dias.	173
ANEXO D -	Análise de Variância do ácido Mirístico (C14:0) do Músculo aos 60 dias.....	173
ANEXO E -	Análise de Variância do ácido Palmítico (C16:0) do Músculo aos 60 dias.....	174
ANEXO F -	Análise de Variância do ácido Palmitoleico (C16:1) do Músculo aos 60 dias.....	174
ANEXO G -	Análise de Variância do ácido Esteárico (C18:0) do Músculo aos 60 dias.....	174
ANEXO H -	Análise de Variância do ácido Oleico (C18:1W9) do Músculo aos 60 dias.....	174
ANEXO I -	Análise de Variância do ácido linoleico (C18:2W6) do Músculo aos 60 dias.....	175
ANEXO J -	Análise de Variância do ácido Linolênico Metil Ester (C18:3W6) do Músculo aos 60 dias.....	175
ANEXO K -	Análise de Variância do ácido Linolênico (C18:3W3) do Músculo aos 60 dias.....	175
ANEXO L -	Análise de Variância do ácido Dihomogama linolênico (C20:3W6) do Músculo aos 60 dias.....	175
ANEXO M -	Análise de Variância do ácido EPA (C20:5W3) do Músculo aos 60 dias.....	176
ANEXO N -	Análise de Variância do ácido DHA (C22:6W3) do Músculo aos 60 dias.....	176
ANEXO O -	Análise de Variância do ácido N3 do Músculo aos 60 dias.....	176
ANEXO P -	Análise de Variância do ácido N6 do Músculo aos 60 dias.....	176
ANEXO Q -	Análise de Variância dos ácidos Saturados – SFA - do Músculo aos 60 dias.....	177
ANEXO R -	Análise de Variância dos ácidos Monossaturados – MUFA - do Músculo aos 60 dias.....	177
ANEXO S -	Análise de Variância dos ácidos Poliinsaturados – PUFA - do Músculo aos 60 dias.....	177

ANEXO T -	Análise de Variância dos ácidos Altamente Poliinsaturados – HUFA - do Músculo aos 60 dias.....	177
ANEXO U -	Análise de Variância da relação N3/N6 no músculo aos 60 dias de alimentação.	178
ANEXO V -	Análise de Variância do ácido Mirístico (C14:0) do Fígado aos 60 dias.....	178
ANEXO W -	Análise de Variância do ácido Palmítico (C16:0) do Fígado aos 60 dias.....	178
ANEXO X -	Análise de Variância do ácido Palmitoleico (C16:1) do Fígado aos 60 dias.....	178
ANEXO Y -	Análise de Variância do ácido Esteárico (C18:0) do Fígado aos 60 dias.....	179
ANEXO Z -	Análise de Variância do ácido Oleico (C18:1W9) do Fígado aos 60 dias.....	179
ANEXO AA -	Análise de Variância do ácido linoleico (C18:2W6) do Fígado aos 60 dias.....	179
ANEXO BB -	Análise de Variância do ácido Linolênico Metil Ester (C18:3W6) do Fígado aos 60 dias.....	179
ANEXO CC -	Análise de Variância do ácido Linolênico (C18:3W3) do Fígado aos 60 dias.....	180
ANEXO DD -	Análise de Variância do ácido Dihomogama linolênico (C20:3W6) do Fígado aos 60 dias.	180
ANEXO EE -	Análise de Variância do ácido EPA (C20:5W3) do Fígado aos 60 dias.....	180
ANEXO FF -	Análise de Variância do ácido DHA (C22:6W3) do Fígado aos 60 dias.....	180
ANEXO GG -	Análise de Variância do ácido N3 do Fígado aos 60 dias.	181
ANEXO HH-	Análise de Variância do ácido N6 do Fígado aos 60 dias.	181
ANEXO II -	Análise de Variância dos ácidos Saturados – SFA - do Fígado aos 60 dias.....	181
ANEXO JJ -	Análise de Variância dos ácidos Monossaturados – MUFA - do Fígado aos 60 dias.....	181
ANEXO KK -	Análise de Variância dos ácidos Poliinsaturados – PUFA - do Fígado aos 60 dias.....	182
ANEXO LL -	Análise de Variância dos ácidos Altamente Poliinsaturados – HUFA - do Fígado aos 60 dias.	182
ANEXO MM-	Análise de Variância da relação N3/N6 no fígado aos 60 dias de alimentação.	182
ANEXO NN -	Análise de Variância da Proteína Bruta (PB) no fígado aos 60 dias de alimentação.....	182

ANEXO OO -	Análise de Variância da Glicose do fígado aos 60 dias de alimentação.	183
ANEXO PP -	Análise de Variância dos Triglicerídeos no fígado aos 60 dias de alimentação.	183
ANEXO QQ -	Análise de Variância da Proteína Bruta (PB) no músculo aos 60 dias de alimentação.	183
ANEXO RR -	Análise de Variância da Glicose no músculo aos 60 dias de alimentação.	183
ANEXO SS -	Análise de Variância dos Triglicerídeos no músculo aos 60 dias de alimentação.	184
ANEXO TT -	Análise de Variância da PB no Soro aos 60 dias de alimentação.	184
ANEXO UU -	Análise de Variância da Glicose no Soro aos 60 dias de alimentação.	184
ANEXO VV -	Análise de Variância dos Triglicerídeos no Soro aos 60 dias de alimentação.	184
ANEXO WW -	Análise de Variância do Colesterol no Soro aos 60 dias de alimentação.	185
ANEXO XX -	Análise de Variância do HDL no Soro aos 60 dias de alimentação.	185
ANEXO YY -	Análise de Variância do LDL no Soro aos 60 dias de alimentação.	185
ANEXO ZZ -	Análise de Variância do VLDL no Soro aos 60 dias de alimentação.	185

ANEXO A - Análise de variância de Histologia - Conteúdo de Lipídeos aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	12.55744	12.55744	13.763	0.00078
OLEO	3	31.21730	10.40577	11.405	0.00003
CHO*OLEO	3	31.55480	10.51827	11.528	0.00003
Resíduo	32	29.19692	0.9124037		
Coeficiente de Variação =		32.270			

ANEXO B - Análise de variância de Histologia - Conteúdo de Glicogênio aos 60 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	642.5866	642.5866	41.580	0.00000
OLEO	3	68.71139	22.90380	1.482	0.23800
CHO*OLEO	3	607.1651	202.3884	13.096	0.00000
Resíduo	32	494.5336	15.45417		
Coeficiente de Variação =		28.626			

ANEXO C - Análise de variância de Histologia - Conteúdo de Vacuolização aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	313.4432	313.4432	20.738	0.00007
OLEO	3	522.4769	174.1590	11.523	0.00003
CHO*OLEO	3	137.7464	45.91546	3.038	0.04320
Resíduo	32	483.6623	15.11445		
Coeficiente de Variação =		24.475			

ANEXO D - Análise de Variância do ácido Mirístico (C14:0) do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.1380122E-01	0.1380122E-01	0.221	*****
OLEO	3	2.067859	0.6892862	11.040	0.00004
CHO*OLEO	3	0.5488476	0.1829492	2.930	0.04847
Resíduo	32	1.997952	0.6243600E-01		
Coeficiente de Variação =		55.847			

ANEXO E - Análise de Variância do ácido Palmítico (C16:0) do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	3.766829	3.766829	3.427	0.07339
OLEO	3	2.771670	0.9238900	0.841	*****
CHO*OLEO	3	13.27102	4.423674	4.025	0.01547
Resíduo	32	35.17317	1.099161		

Coefficiente de Variação = 7.065

ANEXO F - Análise de Variância do ácido Palmitoleico (C16:1) do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.1909509	0.1909509	1.517	0.22704
OLEO	3	1.797486	0.5991620	4.760	0.00744
CHO*OLEO	3	2.734702	0.9115672	7.242	0.00077
Resíduo	32	4.027790	0.1258684		

Coefficiente de Variação = 33.742

ANEXO G - Análise de Variância do ácido Esteárico (C18:0) do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.8997300	0.8997300	2.880	0.09939
OLEO	3	2.497087	0.8323624	2.664	0.06454
CHO*OLEO	3	1.036588	0.3455295	1.106	0.36101
Resíduo	32	9.996619	0.3123943		

Coefficiente de Variação = 8.590

ANEXO H - Análise de Variância do ácido Oleico (C18:1W9) do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	29.80163	29.80163	4.036	0.05305
OLEO	3	334.1216	111.3739	15.082	0.00000
CHO*OLEO	3	79.77339	26.59113	3.601	0.02390
Resíduo	32	236.3108	7.384714		

Coefficiente de Variação = 22.638

ANEXO I- Análise de Variância do ácido linoleico (C18:2W6) do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	22.09994	22.09994	11.049	0.00223
OLEO	3	244.8297	81.60992	40.803	0.00000
CHO*OLEO	3	65.29251	21.76417	10.882	0.00004
Resíduo	32	64.00312	2.000098		
Coeficiente de Variação =		19.777			

ANEXO J - Análise de Variância do ácido Linolênico Metil Ester (C18:3W6) do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.5664400E-02	0.5664400E-02	30.551	0.00000
OLEO	3	0.4898531E-02	0.1632844E-02	8.807	0.00021
CHO*OLEO	3	0.2287800E-02	0.7626000E-03	4.113	0.01414
Resíduo	32	0.5933108E-02	0.1854096E-03		
Coeficiente de Variação =		35.271			

ANEXO K - Análise de Variância do ácido Linolênico (C18:3W3) do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	26.03899	26.03899	18.546	0.00015
OLEO	3	102.2258	34.07528	24.270	0.00000
CHO*OLEO	3	28.60287	9.534290	6.791	0.00114
Resíduo	32	44.92860	1.404019		
Coeficiente de Variação =		58.376			

ANEXO L - Análise de Variância do ácido Dihomogama linolênico (C20:3W6) do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	2.480638	2.480638	52.249	0.00000
OLEO	3	2.514838	0.8382793	17.657	0.00000
CHO*OLEO	3	0.2200347	0.7334490E-01	1.545	0.22192
Resíduo	32	1.519259	0.4747684E-01		
Coeficiente de Variação =		22.866			

ANEXO M - Análise de Variância do ácido EPA (C20:5W3) do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	1.443810	1.443810	4.524	0.04122
OLEO	3	121.0649	40.35495	126.454	0.00000
CHO*OLEO	3	38.01611	12.67204	39.708	0.00000
Resíduo	32	10.21212	0.3191288		
Coeficiente de Variação =		12.090			

ANEXO N - Análise de Variância do ácido DHA (C22:6W3) do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.6741812E-02	0.6741812E-02	0.002	*****
OLEO	3	23.55451	7.851503	2.008	0.13265
CHO*OLEO	3	13.74346	4.581154	1.171	0.33596
Resíduo	32	125.1504	3.910949		
Coeficiente de Variação =		13.401			

ANEXO O - Análise de Variância do ácido N3 do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	40.78784	40.78784	13.813	0.00077
OLEO	3	135.4636	45.15454	15.292	0.00000
CHO*OLEO	3	67.49176	22.49725	7.619	0.00056
Resíduo	32	94.48961	2.952800		
Coeficiente de Variação =		8.007			

ANEXO P - Análise de Variância do ácido N6 do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	9.307329	9.307329	5.109	0.03074
OLEO	3	287.3450	95.78165	52.573	0.00000
CHO*OLEO	3	70.04567	23.34856	12.816	0.00001
Resíduo	32	58.29959	1.821862		
Coeficiente de Variação =		16.577			

ANEXO Q - Análise de Variância dos ácidos Saturados – SFA - do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	29.27829	29.27829	5.131	0.03041
OLEO	3	26.44656	8.815521	1.545	0.22193
CHO*OLEO	3	8.632353	2.877451	0.504	*****
Resíduo	32	182.6081	5.706502		
Coeficiente de Variação =		6.080			

ANEXO R - Análise de Variância dos ácidos Monossaturados – MUFA - do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	20.02720	20.02720	2.180	0.14956
OLEO	3	284.8003	94.93344	10.335	0.00007
CHO*OLEO	3	74.23520	24.74507	2.694	0.06251
Resíduo	32	293.9313	9.185352		
Coeficiente de Variação =		21.529			

ANEXO S - Análise de Variância dos ácidos Poliinsaturados – PUFA - do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	99.67217	99.67217	22.534	0.00004
OLEO	3	217.6821	72.56070	16.405	0.00000
CHO*OLEO	3	77.30226	25.76742	5.826	0.00271
Resíduo	32	141.5414	4.423169		
Coeficiente de Variação =		6.752			

ANEXO T - Análise de Variância dos ácidos Altamente Poliinsaturados – HUFA - do Músculo aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	1.647873	1.647873	0.315	*****
OLEO	3	228.3404	76.11346	14.527	0.00000
CHO*OLEO	3	94.78561	31.59520	6.030	0.00224
Resíduo	32	167.6598	5.239370		
Coeficiente de Variação =		11.780			

ANEXO U - Análise de Variância da relação N3/N6 no músculo aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	5.443185	5.443185	8.568	0.00625
OLEO	3	110.7498	36.91661	58.110	0.00000
CHO*OLEO	3	33.28483	11.09494	17.465	0.00000
Resíduo	32	20.32906	0.6352831		
Coeficiente de Variação =		24.218			

ANEXO V - Análise de Variância do ácido Mirístico (C14:0) do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.3938984	0.3938984	10.965	0.00231
OLEO	3	6.354333	2.118111	58.960	0.00000
CHO*OLEO	3	5.720966	1.906989	53.083	0.00000
Resíduo	32	1.149591	0.3592473E-01		
Coeficiente de Variação =		21.238			

ANEXO W - Análise de Variância do ácido Palmítico (C16:0) do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	731.2845	731.2845	200.873	0.00000
OLEO	3	65.70209	21.90070	6.016	0.00227
CHO*OLEO	3	244.1131	81.37103	22.351	0.00000
Resíduo	32	116.4971	3.640533		
Coeficiente de Variação =		8.935			

ANEXO X - Análise de Variância do ácido Palmitoleico (C16:1) do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.2173541E-01	0.2173541E-01	0.190	*****
OLEO	3	12.31245	4.104151	35.957	0.00000
CHO*OLEO	3	8.439727	2.813242	24.647	0.00000
Resíduo	32	3.652480	0.1141400		
Coeficiente de Variação =		16.194			

ANEXO Y - Análise de Variância do ácido Esteárico (C18:0) do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	25.20482	25.20482	59.201	0.00000
OLEO	3	20.80368	6.934559	16.288	0.00000
CHO*OLEO	3	13.62919	4.543063	10.671	0.00005
Resíduo	32	13.62395	0.4257484		
Coeficiente de Variação =		8.087			

ANEXO Z - Análise de Variância do ácido Oleico (C18:1W9) do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	61.93304	61.93304	51.944	0.00000
OLEO	3	1781.770	593.9234	498.135	0.00000
CHO*OLEO	3	494.7228	164.9076	138.311	0.00000
Resíduo	32	38.15342	1.192294		
Coeficiente de Variação =		6.206			

ANEXO AA - Análise de Variância do ácido linoleico (C18:2W6) do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	135.0663	135.0663	111.404	0.00000
OLEO	3	419.2472	139.7491	115.266	0.00000
CHO*OLEO	3	329.4724	109.8241	90.584	0.00000
Resíduo	32	38.79696	1.212405		
Coeficiente de Variação =		12.749			

ANEXO BB - Análise de Variância do ácido Linolênico Metil Ester (C18:3W6) do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.3649368E-01	0.3649368E-01	20.513	0.00008
OLEO	3	0.2576841E-01	0.8589470E-02	4.828	0.00696
CHO*OLEO	3	0.2941596E-01	0.9805319E-02	5.512	0.00362
Resíduo	32	0.5692918E-01	0.1779037E-02		
Coeficiente de Variação =		31.970			

ANEXO CC - Análise de Variância do ácido Linolênico (C18:3W3) do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	125.2449	125.2449	76.242	0.00000
OLEO	3	199.1680	66.38932	40.414	0.00000
CHO*OLEO	3	184.2407	61.41358	37.385	0.00000
Resíduo	32	52.56705	1.642720		
Coeficiente de Variação =			43.435		

ANEXO DD - Análise de Variância do ácido Dihomogama linolênico (C20:3W6) do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	3.192886	3.192886	46.695	0.00000
OLEO	3	1.524423	0.5081409	7.431	0.00065
CHO*OLEO	3	1.043057	0.3476856	5.085	0.00543
Resíduo	32	2.188070	0.6837718E-01		
Coeficiente de Variação =			33.043		

ANEXO EE - Análise de Variância do ácido EPA (C20:5W3) do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	30.65366	30.65366	47.530	0.00000
OLEO	3	278.2613	92.75376	143.818	0.00000
CHO*OLEO	3	62.57430	20.85810	32.341	0.00000
Resíduo	32	20.63805	0.6449390		
Coeficiente de Variação =			15.599		

ANEXO FF - Análise de Variância do ácido DHA (C22:6W3) do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	31.63965	31.63965	22.765	0.00004
OLEO	3	189.0377	63.01257	45.338	0.00000
CHO*OLEO	3	14.85949	4.953164	3.564	0.02483
Resíduo	32	44.47513	1.389848		
Coeficiente de Variação =			10.101		

ANEXO GG - Análise de Variância do ácido N3 do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	123.2755	123.2755	29.772	0.00000
OLEO	3	487.7156	162.5719	39.262	0.00000
CHO*OLEO	3	114.2630	38.08768	9.198	0.00016
Resíduo	32	132.5012	4.140664		
Coeficiente de Variação =		10.292			

ANEXO HH- Análise de Variância do ácido N6 do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	100.5201	100.5201	76.177	0.00000
OLEO	3	458.5067	152.8356	115.824	0.00000
CHO*OLEO	3	354.6291	118.2097	89.583	0.00000
Resíduo	32	42.22578	1.319556		
Coeficiente de Variação =		12.016			

ANEXO II - Análise de Variância dos ácidos Saturados – SFA - do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	1095.726	1095.726	169.949	0.00000
OLEO	3	201.7492	67.24973	10.431	0.00006
CHO*OLEO	3	359.9948	119.9983	18.612	0.00000
Resíduo	32	206.3162	6.447380		
Coeficiente de Variação =		6.841			

ANEXO JJ - Análise de Variância dos ácidos Monossaturados – MUFA - do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	30.49847	30.49847	15.723	0.00039
OLEO	3	1650.534	550.1780	283.641	0.00000
CHO*OLEO	3	429.9265	143.3088	73.882	0.00000
Resíduo	32	62.07027	1.939696		
Coeficiente de Variação =		6.156			

ANEXO KK - Análise de Variância dos ácidos Poliinsaturados – PUFA - do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	454.7815	454.7815	54.458	0.00000
OLEO	3	341.6158	113.8719	13.636	0.00000
CHO*OLEO	3	612.6657	204.2219	24.455	0.00000
Resíduo	32	267.2346	8.351080		
Coeficiente de Variação =		9.105			

ANEXO LL - Análise de Variância dos ácidos Altamente Poliinsaturados – HUFA - do Fígado aos 60 dias.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.7803642E-02	0.7803642E-02	0.003	*****
OLEO	3	922.5609	307.5203	109.488	0.00000
CHO*OLEO	3	127.6954	42.56515	15.155	0.00000
Resíduo	32	89.87848	2.808703		
Coeficiente de Variação =		9.964			

ANEXO MM- Análise de Variância da relação N3/N6 no fígado aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	3.353832	3.353832	8.313	0.00698
OLEO	3	164.0964	54.69880	135.574	0.00000
CHO*OLEO	3	45.76843	15.25614	37.813	0.00000
Resíduo	32	12.91072	0.4034600		
Coeficiente de Variação =		21.518			

ANEXO NN - Análise de Variância da Proteína Bruta (PB) no fígado aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	2035.373022	2035.373022	10.717	0.0026
OLEO	3	9682.575634	3227.525211	16.994	0.0000
CHO*OLEO	3	1550.008778	516.669593	2.720	0.0607
Resíduo	32	6077.575334	189.924229		
Coeficiente de Variação=		14.57			

ANEXO OO - Análise de Variância da Glicose do fígado aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	10.011003	10.011003	0.493	0.4877
OLEO	3	6.564538	2.188179	0.108	0.9551
CHO*OLEO	3	10.267445	3.422482	0.169	0.9170
Resíduo	32	649.872316	20.308510		
Coeficiente de Variação=		18.26			

ANEXO PP - Análise de Variância dos Triglicerídeos no fígado aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	244.208931	244.208931	28.148	0.0000
OLEO	3	127.229209	42.409736	4.888	0.0066
CHO*OLEO	3	33.669172	11.223057	1.294	0.2935
Resíduo	32	277.629466	8.675921		
Coeficiente de Variação=		20.11			

ANEXO QQ - Análise de Variância da Proteína Bruta (PB) no músculo aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	213.457860	213.457860	3.016	0.0921
OLEO	3	194.448176	64.816059	0.916	0.4443
CHO*OLEO	3	937.074823	312.358274	4.413	0.0105
Resíduo	32	2264.943688	70.779490		
Coeficiente de Variação=		15.70			

ANEXO RR - Análise de Variância da Glicose no músculo aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.010465	0.010465	0.534	0.4702
OLEO	3	0.235572	0.078524	4.008	0.0157
CHO*OLEO	3	0.029345	0.009782	0.499	0.6854
Resíduo	32	0.626914	0.019591		
Coeficiente de Variação =		12.04			

ANEXO SS - Análise de Variância dos Triglicerídeos no músculo aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.003940	0.003940	0.083	0.7745
OLEO	3	0.141559	0.047186	1.000	0.4057
CHO*OLEO	3	0.250912	0.083637	1.772	0.1724
Resíduo	32	1.510611	0.047207		
Coeficiente de Variação =		22.31			

ANEXO TT - Análise de Variância da PB no Soro aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	7.883664	7.883664	0.564	0.4583
OLEO	3	1.604979	0.534993	0.038	0.9901
CHO*OLEO	3	41.796102	13.932034	0.996	0.4072
Resíduo	32	447.610018	13.987813		
Coeficiente de Variação =		13.17			

ANEXO UU - Análise de Variância da Glicose no Soro aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	528.238240	528.238240	2.392	0.1318
OLEO	3	5686.169514	1895.389838	8.581	0.0002
CHO*OLEO	3	1938.600704	646.200235	2.926	0.0487
Resíduo	32	7068.046954	220.876467		
Coeficiente de Variação =		21.43			

ANEXO VV - Análise de Variância dos Triglicerídeos no Soro aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	13906.037646	13906.037646	28.866	0.0000
OLEO	3	26590.323269	8863.441090	18.399	0.0000
CHO*OLEO	3	4788.023216	1596.007739	3.313	0.0323
Resíduo	32	15415.591708	481.737241		
Coeficiente de Variação =		19.49			

ANEXO WW - Análise de Variância do Colesterol no Soro aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	1.224300	1.224300	1.906	0.1769
OLEO	3	0.288743	0.096248	0.150	0.9291
CHO*OLEO	3	4.756090	1.585363	2.469	0.0799
Resíduo	32	20.551314	0.642229		
Coeficiente de Variação =		23.94			

ANEXO XX - Análise de Variância do HDL no Soro aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	58.206388	58.206388	2.041	0.1628
OLEO	3	361.923860	120.641287	4.230	0.0126
CHO*OLEO	3	619.248951	206.416317	7.237	0.0008
Resíduo	32	912.721888	28.522559		
Coeficiente de Variação =		19.32			

ANEXO YY - Análise de Variância do LDL no Soro aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	1985.069656	1985.069656	29.931	0.0000
OLEO	3	8994.528371	2998.176124	45.207	0.0000
CHO*OLEO	3	5197.670670	1732.556890	26.124	0.0000
Resíduo	32	2122.284895	66.321403		
Coeficiente de Variação =		12.42			

ANEXO ZZ - Análise de Variância do VLDL no Soro aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	498.188931	498.188931	23.846	0.0000
OLEO	3	928.420604	309.473535	14.813	0.0000
CHO*OLEO	3	253.599915	84.533305	4.046	0.0151
Resíduo	32	668.544674	20.892021		
Coeficiente de Variação =		20.11			