

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

MARCIO DOUGLAS GOES

**EFEITOS DA L-CARNITINA E DE FONTES LIPÍDICAS NA DIETA SOBRE
O STATUS ANTIOXIDANTE DE MATRIZES E REPRODUTORES DE
JUNDIÁ**

Marechal Cândido Rondon

2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

MARCIO DOUGLAS GOES

**EFEITOS DA L-CARNITINA E DE FONTES LIPÍDICAS NA DIETA SOBRE
O STATUS ANTIOXIDANTE DE MATRIZES E REPRODUTORES DE
JUNDIÁ**

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal
Orientador: Prof. Dr. Robie Allan Bombardelli

Marechal Cândido Rondon

2020

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Goes, Marcio Douglas

EFEITOS DA L-CARNITINA E DE FONTES LIPÍDICAS NA DIETA SOBRE O STATUS ANTIOXIDANTE DE MATRIZES E REPRODUTORES DE JUNDIÁ / Marcio Douglas Goes; orientador(a), Robie Allan Bombardelli, 2020.

82 f.

Tese (doutorado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2020.

1. Aquicultura. 2. Nutrição de peixes. 3. Reprodução. 4. Rhamdia quelen. I. Bombardelli, Robie Allan. II. Título.

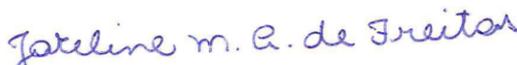
MARCIO DOUGLAS GOES

Efeitos da L-Cartinina e de fontes lipídicas na dieta sobre o status antioxidante de matrizes e reprodutores de jundiá

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de “Doutor em Zootecnia”, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, Linha de Pesquisa “Aquicultura”, APROVADO(A) pela seguinte Banca Examinadora:



Orientador – Prof. Dr. Robie Allan Bombardelli
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Toledo



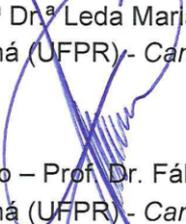
Membro – Dr.^a Jakeline Marcela Azambuja de Freitas
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Toledo (PREP/PNPD)



Membro – Dr.^a Thais Souto Bignotto
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Toledo



Membro – Prof.^a Dr.^a Leda Marja Saragiotto Colpini
Universidade Federal do Paraná (UFPR) - *Campus* Avançado de Jandaia do Sul



Membro – Prof. Dr. Fábio Meurer
Universidade Federal do Paraná (UFPR) - *Campus* Avançado de Jandaia do Sul

Marechal Cândido Rondon, 2 de março de 2020.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, que por meio do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, oportunizou a realização deste doutorado.

Ao Instituto de Pesquisa em Aquicultura Ambiental (InPAA) e LATRAAC (Laboratório de Tecnologia da Reprodução de Animais Aquáticos Cultiváveis), pela estrutura disponibilizada para realização deste estudo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Robie Allan Bombaderlli, por possibilitar a execução e defesa deste doutorado, e pela amizade ao longo de todos estes anos.

Ao Prof. Dr. Fábio Meurer, pela formulação das dietas experimentais.

Aos avaliadores das bancas de qualificação e defesa desta Tese, pelo trabalho na correção e sugestões para melhorar esta tese.

A todos da equipe LATRAAC, pelo trabalho na execução do experimento, monitorado pela Karen Carvalho. Também, à Simone Lima, Anna Dalmaso e Ahianna Cássia, pelo auxílio e condução das análises bioquímicas, e à Lucélia Tessaro, pelas análises de histologia.

EFEITOS DA L-CARNITINA E DE FONTES LIPÍDICAS NA DIETA SOBRE O STATUS ANTIOXIDANTE DE MATRIZES E REPRODUTORES DE JUNDIÁ

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de rações com inclusão de L-carnitina e diferentes fontes lipídicas, sobre parâmetros bioquímicos sanguíneos, atividade de enzimas do sistema antioxidante e a histologia de fígado e gônadas de matrizes e reprodutores de jundiá. Foram utilizados 360 machos e fêmeas de jundiá ($167,33 \pm 9,24$ g), distribuídos em um delineamento experimental com estrutura bi-fatorial 4x2, sendo dietas contendo quatro níveis de inclusão de L-carnitina (0, 150, 450, 750 mg·kg⁻¹ de ração) e duas fontes lipídicas (óleo de soja e óleo de peixe marinho), totalizando oito tratamentos com três repetições. Os peixes foram alimentados durante 153 dias com estas dietas, isoproteicas (36,2% de proteína bruta) e isoenergéticas (3.188,9 kcal de energia digestível·kg⁻¹). Foram analisados glicose, triglicérides, colesterol, lipoproteína de alta densidade (HDL), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e albumina plasmáticos. No fígado e gônadas, foram analisadas a histologia e a atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST). Para as fêmeas, as dietas com 750 mg de L-carnitina proporcionaram maiores níveis de glicose. A dieta, com 450 mg de L-carnitina associada ao óleo de soja, levou a maiores níveis de triglicérides, colesterol, HDL, e maior atividade da SOD no fígado. A dieta, com 150 mg de L-carnitina + óleo de peixe, levou à menor ALT e maior albumina. Dietas com 150 mg de L-carnitina ocasionaram maior AST. A atividade da GST não foi diferente entre os tratamentos. Pela histologia dos ovários, todas as fêmeas estavam aptas a desovar, sem diferenças no percentual de ovócitos vitelogênicos. Os fígados apresentaram tecido hepático normal, sem presença de vacúolos. Para os machos, a dieta com 750 mg de L-carnitina + óleo de peixe levou à menor média de HDL e maiores glicose plasmática e atividade da SOD nos testículos. O maior nível de colesterol foi observado nas dietas contendo 150 mg de L-carnitina. As dietas contendo óleo de peixe proporcionaram animais com maiores médias para glicose, triglicérides, colesterol, ALT e albumina, e menor AST. Não houve efeito das dietas sobre a atividade das enzimas antioxidantes no fígado. Conforme análise histológica, todos os machos estavam aptos a espermiar, e no fígado não foi verificada a presença de vacúolos. Concluiu-se que a suplementação de 450 mg de L-carnitina · kg⁻¹ de ração, associada ao óleo de soja, pode alterar o metabolismo lipídico e influenciar positivamente o status antioxidante de fêmeas de jundiá, e a associação de 750 mg de L-carnitina · kg⁻¹ de ração com o óleo de peixe, pode influenciar positivamente o *status* antioxidante de machos de jundiá.

Palavras-chave: aquicultura; metabolismo lipídico, nutrição de peixes, *Rhamdia quelen*.

EFFECTS OF L-CARNITINE AND LIPID SOURCES IN THE DIET ON THE ANTIOXIDANT STATUS OF JUNDIÁ BROODSTOCKS

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the effect of diets with inclusion of L-carnitine and different lipid sources, on blood biochemical parameters, activity of antioxidant enzymes and the histology of liver and gonads of jundiá broodstocks. Males and females of jundiá (n=360; 167.33 ± 9.24 g) were distributed in a 4x2 bi-factorial experimental design, with diets containing four levels of inclusion of L-carnitine (0, 150, 450, 750 mg kg⁻¹ feed) and two lipid sources (soybean oil and marine fish oil), totaling eight treatments with three repetitions. Fish were fed on these diets, isoproteic (36.2% crude protein) and isoenergetic (3,188.9 kcal digestible energy kg⁻¹) for 153 days. Glucose, triglycerides, cholesterol, high-density lipoprotein (HDL), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and plasma albumin were analyzed. Liver and gonads were analyzed for histology and activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione S-transferase (GST). For females, diets with 750 mg L-carnitine resulted in higher levels of glucose. The diet with 450 mg L-carnitine combined with soybean oil led to higher levels of triglycerides, cholesterol, HDL, and higher SOD activity in the liver. The diet with 150 mg L-carnitine combined with fish oil led to lower ALT and higher albumin. Diets with 150 mg L-carnitine resulted in higher AST. GST activity was not different between treatments. According to the histology of the ovaries, all females were able to spawn, with no difference in the percentage of vitellogenic oocytes. Liver had normal liver tissue, without the presence of vacuoles. For males, the diet with 750 mg L-carnitine combined fish oil led to the lowest mean value of HDL and higher mean levels of plasma glucose and SOD activity in testicles. The highest cholesterol level was found with diets containing 150 mg L-carnitine. Diets containing fish oil provided animals with higher mean values for glucose, triglycerides, cholesterol, ALT and albumin, and lower AST. There was no effect of diets on the activity of antioxidant enzymes in the liver. According to histological analysis, all males were able to spermiate, and their liver cells showed no vacuoles. The supplementation with 450 mg L-carnitine kg⁻¹ feed, combined with soybean oil, can alter the lipid metabolism and positively influence the antioxidant status of jundiá females, and the combination of 750 mg L-carnitine kg⁻¹ feed and fish oil can positively influence the antioxidant status of jundiá males.

Keywords: aquaculture; fish nutrition, lipid metabolism, *Rhamdia quelen*.

LISTA DE FIGURAS

3. EFEITOS DA L-CARNITINA E FONTES LIPÍDICAS NA DIETA SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS E STATUS ANTIOXIDANTE DE MATRIZES DE JUNDIÁS

- Figura 1. Ovário de fêmea de jundiá “apta a desovar”. Predominância de ovócitos vitelogênicos e presença de ovócitos em desenvolvimento. Ov= ovócito vitelogênico; opv= ovócito pré vitelogênico. H.E. 40x de aumento.....43
- Figura 2. Ovócitos pré-vitelogênicos. A) opv= ovócito pré vitelogênico; ov= ovócito vitelogênico. H.E. 40x aumento. B) ovócito pré-vitelogênico perinucleolar. n=núcleo; c= citoplasma; cf= células foliculares; →nucléolos periféricos. H.E. 400x aumento.44
- Figura 3. Ovócito vitelogênico. Glóbulos de vitelo bem definidos e ocupando todo o citoplasma e alvéolos corticais na periferia. v= Glóbulo de vitelo; ac= alvéolo cortical; cf= célula folicular; → núcleo da célula folicular; ↔= camada de célula folicular, notar espessura. H.E. 400x de aumento..... 44
- Figura 4. Diferença entre ovócito vitelogênico completamente desenvolvido e ovócito em atresia. Reparar a espessura e definição da camada de células foliculares e diferente aspecto dos glóbulos de vitelo. OV= ovócito vitelogênico; OA=ovócito em atresia; v= vitelo; ↔ camada de células foliculares. H.E. 100x aumento.45
- Figura 5. Ovócito em atresia. Nota-se o vitelo liquefeito e a perda de definição das camadas do folículo pela atividade das células foliculares hipertróficas englobando o vitelo. v= vitelo; cf= célula folicular; n= núcleo da célula folicular; h= hemácia. H.E. 400x de aumento.45
- Figura 6. Tecido hepático de fêmea. A) Aspecto geral do tecido. vs= vaso sanguíneo. H.E. 100x de aumento. B) Detalhe do tecido. Células poliédricas e núcleos marcados (→); vaso sanguíneo marcado pela presença de hemácias (h). H.E. 400x aumento.....46

4. L-CARNITINA E FONTES LIPÍDICAS NA DIETA SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS E STATUS ANTIOXIDANTE DE REPRODUTORES DE JUNDIÁS

- Figura 1. Macho de jundiá apto a espermiar. Abundância de espermatozoides (z), espermátocitos (c) e espermátides (t) presentes. → túbulos seminíferos. H.E. 100x de aumento..... 70
- Figura 2. Estágios de desenvolvimento espermático. c= espermátocito; t= espermátide; z= espermatozoides; → túbulo seminífero. H.E. 400x de aumento..... 70
- Figura 3. Macho apto a espermiar. Abundância de espermatozoides e presença de espermatogônia. z= espermatozoides e espermatogônia (→). H.E. 400x de aumento...71
- Figura 4. Tecido hepático de macho de jundiá. A) Aspecto geral do tecido. vs= vaso sanguíneo. H.E. 100x de aumento. B) Detalhe do tecido. Células poliédricas e núcleos marcados (→); vaso sanguíneo marcado pela presença de hemácias (h). H.E. 400x aumento..... 71

LISTA DE TABELAS

3. EFEITOS DA L-CARNITINA E FONTES LIPÍDICAS NA DIETA SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS E STATUS ANTIOXIDANTE DE MATRIZES DE JUNDIÁS

Tabela 1. Composição dos alimentos ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) e conteúdo de nutrientes das rações experimentais contendo níveis de inclusão de L-carnitina e diferentes fontes lipídicas utilizadas na alimentação do jundiá.	34
Tabela 2. Parâmetros bioquímicos ($\text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$) do sangue de fêmeas de jundiás alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.....	38
Tabela 3. Atividade de enzimas metabólicas (ALT e AST em U/L) e albumina (g/dL) no sangue de fêmeas de jundiás alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.....	39
Tabela 4. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST) em fígado de fêmeas de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.....	40
Tabela 5. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST) em ovários de fêmeas de jundiás alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.....	41
Tabela 6. Percentual de ovócitos vitelogênicos de fêmeas de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.....	43

4. L-CARNITINA E FONTES LIPÍDICAS NA DIETA SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS E STATUS ANTIOXIDANTE DE REPRODUTORES DE JUNDIÁS

Tabela 1. Composição dos alimentos ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) e conteúdo de nutrientes das rações experimentais contendo níveis de inclusão de L-carnitina e diferentes fontes lipídicas utilizadas na alimentação do jundiá.	62
Tabela 2. Parâmetros bioquímicos (mg/dL) do sangue de machos de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.....	66
Tabela 3. Atividade de enzimas metabólicas (ALT e AST em U/L) e albumina (g/dL) no sangue de fêmeas de jundiás alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.....	67
Tabela 4. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST) em fígados de machos de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.....	68
Tabela 5. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST) em gônadas de machos de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.....	69

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	6
2	Revisão	8
	2.1 Espécie estudada: o jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>).....	8
	2.2 Nutrição de peixes reprodutores	9
	2.3 Lipídeos e ácidos graxos essenciais para peixes reprodutores	9
	2.3.1 Fontes de lipídeos nas dietas para peixes	10
	2.4 A L-carnitina e seu uso na nutrição de peixes	12
	2.5 Estresse oxidativo em peixes de cultivo	15
	2.6 Referências	17
3	EFEITOS DA L-CARNITINA E FONTES LIPÍDICAS NA DIETA SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS E STATUS ANTIOXIDANTE DE MATRIZES DE JUNDIÁS	29
	3.1 Introdução	31
	3.2 Material e Métodos	32
	3.2.1 Local e período de experimentação	32
	3.2.2 Delineamento experimental	33
	3.2.3 Rações e manejo alimentar	33
	3.2.4 Manejo reprodutivo	34
	3.2.5 Coleta de sangue e tecidos para realização das análises.....	35
	3.2.6 Análise de parâmetros bioquímicos e enzimáticos.....	35
	3.2.7 Análise da atividade enzimática	36
	3.2.8 Histologia das gônadas e do fígado	36
	3.2.9 Análises estatísticas	37
	3.3 Resultados.....	37
	3.3.1 Parâmetros bioquímicos e enzimáticos do sangue	37
	3.3.2 Indicadores de estresse oxidativo	40
	3.3.3 Histologia dos ovários e do fígado	42
	3.4 Discussão	46
	3.4.1 Parâmetros bioquímicos e enzimáticos.....	46
	3.4.2 Indicadores de estresse oxidativo	48
	3.5 Conclusão	51
	3.6 Referências	51
4	L-CARNITINA E FONTES LIPÍDICAS NA DIETA SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS E STATUS ANTIOXIDANTE DE REPRODUTORES DE JUNDIÁS	57

4.1	Introdução.....	59
4.2	Material e Métodos.....	60
4.2.1	Local e período de experimentação.....	60
4.2.2	Animais, instalações e delineamento experimental.....	61
4.2.3	Rações e manejo alimentar.....	61
4.2.4	Manejo reprodutivo.....	62
4.2.5	Coleta de órgãos para realização das análises.....	63
4.2.6	Análise de parâmetros bioquímicos e enzimáticos.....	63
4.2.7	Análise da atividade de enzimas antioxidantes.....	63
4.2.8	Histologia das gônadas e do fígado.....	64
4.2.9	Análises estatísticas.....	65
4.3	Resultados.....	65
4.3.1	Parâmetros bioquímicos e enzimáticos.....	65
4.3.2	Indicadores do estresse oxidativo.....	67
4.3.3	Histologia dos testículos e fígados.....	69
4.4	Discussão.....	72
4.5	Conclusão.....	73
4.6	Referências.....	73

1 INTRODUÇÃO

O jundiá (*Rhamdia quelen*), um surubim nativo da América do Sul (GUILOSKI et al., 2017), é uma espécie de interesse comercial devido às altas taxas de crescimento, fácil reprodução e larvicultura, ausência de espinha intramuscular e alta aceitação pelos consumidores (SANTOS; MEURER, 2020).

A nutrição de peixes vem evoluindo continuamente nas últimas duas décadas, com inovações na formulação de dietas para melhorar a eficiência e a sustentabilidade dos alimentos (ROQUES et al., 2020). Uma das tendências atuais na aquicultura é a substituição do óleo de peixe por óleos vegetais nas dietas. Diversos estudos comprovam que esta substituição pode ser feita em peixes de água doce (VARGAS et al., 2015; YILDIZ et al., 2018; HILBIG et al., 2019). Porém, os óleos vegetais têm diferentes níveis de ácidos graxos e, portanto, reagem de maneira diferente com os genes relacionados ao metabolismo lipídico (AYISI et al., 2018), podendo afetar a oxidação de lipídios, bem como a sua deposição através da modulação da expressão gênica de várias enzimas metabólicas (PRICE et al., 2000).

Assim, potenciais mecanismos reguladores metabólicos para diminuir a deposição de gordura em peixes têm recebido considerável atenção em pesquisas sobre nutrição de peixes (LI et al., 2019). Destes, a L-carnitina, como aditivo alimentar, vem sendo estudada por seu papel em desviar uma grande parte dos lipídios da dieta para a produção de energia, em vez de deposição (YANG et al., 2012).

A L-carnitina participa do metabolismo lipídico através da realização da β -oxidação de ácidos graxos para produção de energia, o que reduz o percentual de gordura nos tecidos e melhora o peso corporal (LI et al., 2019). Outras funções importantes foram associadas à L-carnitina, como proteção contra o estresse induzido pela qualidade da água (HARPAZ et al., 1999), aumento da imunidade contra várias doenças bacterianas (SCHREIBER et al. 1997), melhora na reprodução (HARPAZ, 2005) e no *status* antioxidante de animais aquáticos (MA et al., 2008; GOU et al., 2016; SABZI et al., 2017).

Considerando que uma das funções da L-carnitina é atuar no metabolismo lipídico, sua suplementação em dietas com diferentes composições de ácidos graxos (como as dietas contendo óleo de soja ou peixe), pode ser benéfica, melhorando os parâmetros bioquímicos e a resistência ao estresse em animais submetidos à reprodução artificial. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de rações com inclusão de L-carnitina e diferentes fontes lipídicas, sobre parâmetros bioquímicos sanguíneos, atividade de enzimas do sistema

antioxidante e a histologia de fígado e gônadas de matrizes e reprodutores de jundiá (*Rhamdia quelen*).

No Capítulo 2, é apresentada uma revisão bibliográfica sobre a nutrição de peixes reprodutores, fontes de lipídeos e da L-carnitina na aquicultura e estresse oxidativo em peixes. O Capítulo 3 apresenta o artigo intitulado “Efeitos da L-carnitina e fontes lipídicas na dieta sobre parâmetros bioquímicos sanguíneos e status antioxidante de matrizes de jundiás”, e, no Capítulo 4, são apresentados os resultados referentes aos reprodutores, com o artigo “L-carnitina e fontes lipídicas na dieta sobre parâmetros bioquímicos sanguíneos e status antioxidante de reprodutores de jundiás”.

2 Revisão

2.1 Espécie estudada: o jundiá (*Rhamdia quelen*)

A aquicultura brasileira vem crescendo nos últimos anos. Em 2018, o Brasil produziu 722.560 toneladas de peixes de cultivo, com crescimento de 4,5% em relação ao ano anterior, sendo que 39,84% da produção total foi de peixes nativos (PEIXE BR, 2019). Na região sul do Brasil, segundo o Censo Agropecuário 2017 (IBGE, 2019), estão instaladas 97,6% das unidades produtivas de jundiá, totalizando 36.017 unidades de produção da espécie.

Jundiá é o nome comum para *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae), um surubim nativo da América do Sul. É uma espécie de água doce, que vive em lagos e rios e prefere ambientes aquáticos mais calmos (GUILOSKI et al., 2017), sendo onívora, com tendência a hábitos alimentares carnívoros (SANTOS; MEURER, 2020). As fêmeas podem atingir o comprimento assintótico de aproximadamente 66,5 cm e os machos de 52,0 cm (GOMES et al., 2000).

Os jundiás atingem a maturidade sexual aos 12 meses e o desenvolvimento dos oócitos é assíncrono, com desova parcelada (GHIRALDELLI et al., 2007). O período reprodutivo desta espécie possui dois picos: um no verão e outro na primavera (GOMIERO et al., 2007). É uma espécie de interesse comercial devido às altas taxas de crescimento, fácil reprodução e larvicultura, ausência de espinha intramuscular e alta aceitação pelos consumidores (SANTOS; MEURER, 2020).

Devido ao potencial que o jundiá apresenta para a piscicultura, diversos estudos recentes têm sido realizados com a espécie, sobre sua reprodução (ADAMES et al., 2015; MARTINS et al., 2015; GOES et al., 2017), larvicultura (SILVEIRA et al., 2013; POLI et al., 2015; MARENGONI et al., 2017), cultivo (SANTINÓN et al., 2010; ROCHA et al., 2017) e nutrição (LAZZARI et al., 2010; MORO et al., 2010; REIDEL et al., 2010; MELO et al., 2012; ADORIAN et al., 2015). Além disso, a nutrição dos reprodutores de *R. quelen* também tem sido alvo dos estudos atuais (COLDEBELLA et al., 2011; TESSARO et al., 2012; COLDEBELLA et al., 2013; TESSARO et al., 2014; BOMBARDELLI et al., 2015; HILBIG et al., 2017; HILBIG et al., 2019). Por possuir muitas semelhanças com outras famílias de peixes, o *R. quelen* pode ser usado como modelo de pesquisa para outras espécies de bagres em todo o mundo (KOAKOSKI et al., 2012).

2.2 Nutrição de peixes reprodutores

Uma boa nutrição nos sistemas agropecuários é essencial para a criação econômica e geração de produtos de alta qualidade. A nutrição de peixes vem evoluindo continuamente nas últimas duas décadas, com inovações na formulação de dietas para melhorar a eficiência e a sustentabilidade dos alimentos (ROQUES et al., 2020). Atualmente, a pesquisa em nutrição de peixes engloba estudos sobre a ingestão de alimentos e os mecanismos fisiológicos envolvidos em sua regulação, vias metabólicas, exigências e interações de nutrientes, crescimento dos peixes, reprodução e desenvolvimento inicial (JOBBLING, 2016).

Destes campos de estudo, a nutrição de matrizes, reprodutores e pós-larvas estão entre as áreas menos compreendidas, embora sua importância seja reconhecida (IZQUIERDO et al., 2001; JOBBLING, 2016). A nutrição tem influência em todos os aspectos da reprodução, desde o início da puberdade, passando pela gametogênese e pela determinação da fecundidade à produção de óvulos e espermatozoides viáveis (JOBBLING, 2016). Além disso, muitas das deficiências e problemas encontrados durante as fases iniciais de criação de larvas de peixes estão diretamente relacionados à dieta dos reprodutores e matrizes (IZQUIERDO et al., 2001).

As necessidades nutricionais dos peixes durante a reprodução são maiores que as dos juvenis, mas quantidades excessivas de nutrientes ou um desequilíbrio podem ser prejudiciais para a reprodução (IZQUIERDO et al., 2001). Dentre os nutrientes, a composição lipídica e de ácidos graxos da dieta de reprodutores e matrizes foram identificadas como os principais fatores alimentares que determinam a reprodução e a sobrevivência bem-sucedida da prole (IZQUIERDO et al., 2001).

2.3 Lipídeos e ácidos graxos essenciais para peixes reprodutores

Os lipídios e seus ácidos graxos constituintes são, juntamente com as proteínas, os principais constituintes orgânicos dos peixes, e desempenham papéis importantes como fonte de energia metabólica para o crescimento, incluindo reprodução e movimento (TOCHER, 2003). Além de afetar a sobrevivência e o crescimento dos peixes em seus estágios iniciais de vida, a deficiência de lipídeos na dieta antes da desova pode reduzir significativamente a

produção de ovos, a eclodibilidade e o número de larvas sobreviventes (COLDEBELLA et al., 2013).

Dentre os ácidos graxos que constituem os lipídeos, sabe-se que todos os vertebrados têm um requisito dietético absoluto para certos ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) específicos (TOCHER, 2010). Em ovos de peixes, sabe-se que a composição de ácidos graxos é influenciada pelas quantidades, tipos e proporções de ácidos graxos presentes na dieta dos reprodutores e matrizes, e estes ovos devem conter AGPIs da série n-3 para que as larvas se desenvolvam normalmente (JOBBLING, 2016). Os AGPIs com 20 ou mais átomos de carbono afetam, diretamente ou através de seus metabólitos, a maturação dos peixes e a esteroidogênese, sendo que, em algumas espécies, os AGPIs nas dietas de matrizes e reprodutores aumentaram a fecundidade, a fertilização e a qualidade dos ovos (IZQUIERDO et al., 2001).

Os dois AGPIs da série n-3 mais importantes, necessários durante o desenvolvimento embrionário e larval, são o ácido docosahexaenóico (DHA; 22:6 n-3) e o ácido eicosapentaenóico (EPA; 20:5 n-3) (TOCHER, 2010). Há também um requisito do ácido araquidônico (ARA; 20:4 n-6) para a conclusão da oogênese e maturação dos ovos, e também para o desenvolvimento embrionário e a sobrevivência (JOBBLING, 2016). Estes três AGPIs, na aquicultura, são frequentemente denominados ácidos graxos altamente insaturados (AGAI, AGPIs com ≥ 20 C e ≥ 3 ligações duplas) (TOCHER, 2010).

De acordo com Izquierdo et al. (2001), os AGAIs (ARA, EPA e DHA) estão envolvidos em processos metabólicos importantes, e, desta forma, são considerados fundamentais para o desenvolvimento normal dos peixes, incluindo crescimento e reprodução. O DHA é necessário para o desenvolvimento do cérebro e dos tecidos neurais, e deficiências ou desequilíbrios nos AGPIs da série n-3 levam a piora nas taxas de sobrevivências larvais (JOBBLING, 2016).

2.3.1 Fontes de lipídeos nas dietas para peixes

Como se sabe, a farinha e o óleo de peixe são as fontes básicas de proteínas e lipídeos para peixes cultivados (YILDIZ et al., 2018). O óleo de peixe, em especial, possui alta quantidade de AGAIs da série n-3, importantes ácidos graxos derivados do ácido linolênico que desempenham um papel estrutural e funcional essencial no metabolismo dos peixes (IZQUIERDO et al., 2015).

Considerando a oferta limitada e preços cada vez mais caros do óleo de peixe (EMERY

et al., 2016), numerosos estudos foram conduzidos nos últimos anos, mostrando que este óleo pode ser substituído por óleos vegetais em rações para diversas espécies de peixes de água doce (VARGAS et al., 2015; YILDIZ et al., 2018; HILBIG et al., 2019). Isto acontece pois, embora não estejam presentes nos óleos vegetais, os AGAI da série n-3 ARA, EPA e DHA podem ser produzidos por peixes de água doce a partir de seus precursores de ácidos graxos, ácidos linoléico (AL, C18:2 n-6) e linolênico (ALN, C18:3 n-3) (TOCHER, 2010; HILBIG et al., 2019). Isto é possível devido ao fato de que estes peixes geralmente têm atividades de enzimas elongase e dessaturase suficientes para produzir ácidos graxos altamente insaturados a partir dos precursores de 18 carbonos (IZQUIERDO et al., 2015). Ainda assim, mesmo as espécies que supostamente não necessitam de AGPI n-3 na dieta podem se beneficiar do fornecimento direto desses ácidos graxos (EMERY et al., 2016).

Diversos estudos relatam que alguns óleos vegetais são boas fontes lipídicas alternativas para peixes, como o óleo de soja (COLDEBELLA et al., 2013), óleo de colza (FOUNTOULAKI et al. 2009), óleos de coco, girassol e linhaça combinados (VARGAS et al., 2015), óleo de palma (HILBIG et al., 2019), óleo de linhaça (PENG et al., 2016) entre outros.

Durante o período reprodutivo, fase em que as necessidades nutricionais dos peixes são maiores que as dos juvenis (IZQUIERDO et al., 2001), a substituição do óleo de peixe por óleos vegetais também tem sido relatada com sucesso para algumas espécies, como demonstram os estudos com a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (NG; WANG, 2011), truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (AGH et al., 2019) e sterlet (*Acipenser ruthenus*) (SARAMEH et al., 2019).

Especificamente para o jundiá (*R. quelen*), quando estudados óleos vegetais (palma e soja) nas dietas das matrizes, verificou-se que estas fontes lipídicas foram adequadas para o bom desempenho reprodutivo das fêmeas, pois, apesar da taxa de fertilização dos ovócitos ter sido menor nas dietas contendo óleo de soja, a fecundidade, tamanho dos ovócitos, tamanho das larvas e taxa de deformidade larval não foram influenciados pelos óleos vegetais (HILBIG et al., 2019). Também, estudos anteriores com *R. quelen* demonstraram que dietas contendo apenas óleos vegetais como fonte lipídica proporcionaram crescimento satisfatório para a espécie, sejam alevinos (VARGAS et al., 2015) ou juvenis (GOMES et al., 2019).

A remoção completa da farinha e do óleo de peixe é necessária para promover o desenvolvimento sustentável da aquicultura e, para isso, são necessários peixes de alta qualidade e rápido crescimento que são alimentados sem estes ingredientes (IZQUIERDO et al., 2015).

Apesar de documentados como alternativas adequadas na substituição do óleo de peixe,

os óleos vegetais têm diferentes níveis de ácidos graxos e, portanto, reagem de maneira diferente com os genes relacionados ao metabolismo lipídico (AYISI et al., 2018). As diferentes reações ocorrem porque, quando há uma alteração na composição lipídica das dietas, isso conseqüentemente afeta a oxidação de lipídios, bem como a sua deposição através da modulação da expressão gênica de várias enzimas metabólicas (PRICE et al., 2000).

Além desta questão, existe a tendência na alimentação aquática de utilizar dietas ricas em lipídeos, com o intuito de obter um efeito poupador de proteínas, que é quando a energia proveniente das proteínas é substituída pela energia lipídica (MORAIS et al., 2001; BOUJARD et al., 2004). Porém, as dietas com alto teor de lipídeos costumam levar ao acúmulo de lipídeos no fígado e tecido adiposo abdominal em peixes cultivados, causando distúrbios metabólicos (LU et al., 2014; YAN et al., 2015).

Portanto, potenciais mecanismos reguladores metabólicos para diminuir a deposição de gordura em peixes têm recebido considerável atenção em pesquisas sobre nutrição aquática e no campo do desenvolvimento funcional de alimentos (LI et al., 2019). Destes, a L-carnitina como aditivo alimentar vem sendo estudada por seu papel em desviar uma grande parte dos lipídios da dieta para energia, em vez de deposição (YANG et al., 2012).

2.4 A L-carnitina e seu uso na nutrição de peixes

A carnitina (ácido 4-N-trimetilamônio-3-hidroxi-butírico) é um composto de amônio quaternário essencial para a entrada de ácidos graxos de cadeia longa nas mitocôndrias (SABZI et al., 2017). É uma molécula pequena (peso molecular 161,20 µg/mol), amplamente presente em todas as células, desde procarióticas a eucarióticas (OZÓRIO, 2009). A carnitina é sintetizada a partir dos aminoácidos essenciais lisina e metionina, com o apoio da vitamina C e de outros compostos secundários produzidos no corpo (HARPAZ, 2005). Esta molécula está disponível quimicamente em duas formas de isômero, D e L, sendo que o isômero L possui atividade biológica, enquanto a forma D é quase sem valor fisiológico (OZÓRIO, 2009). Apesar de ser um nutriente orgânico não essencial, sob certas condições, a demanda por L-carnitina pode exceder a capacidade de um indivíduo de sintetizá-lo, tornando-o um nutriente condicionalmente essencial (HARPAZ, 2005).

Inicialmente, as funções da L-carnitina estão relacionadas ao seu papel no metabolismo lipídico, atuando na produção de energia. De forma geral, o metabolismo e deposição de lipídios

é um fenômeno complexo em peixes, envolvendo processos como lipogênese, β -oxidação e biossíntese de AGPIs de cadeia longa (AYISI et al., 2018).

A principal função da L-carnitina está relacionada à sua participação na β -oxidação, pois ela facilita o transporte dos ácidos graxos de cadeia longa do citosol para as mitocôndrias (OZÓRIO, 2009), ação que resulta na produção de energia (LI et al., 2017). Outra função da carnitina é modular a proporção de acetil-coenzima A (CoA)/CoA, atuando como um reservatório para unidades de acetil ativadas (OZÓRIO, 2009; ALTAMIMI et al., 2018). O aumento na razão acetil-CoA/CoA, provocado pela carnitina, altera o metabolismo da glicose e melhora a deposição de proteínas, aprimorando o desempenho de crescimento dos peixes (LI et al., 2019).

Ademais, a carnitina pode modular os efeitos tóxicos de grupos acila mal metabolizados, seja xenobióticos ou resultantes do bloqueio de uma via metabólica normal, por transesterificação de CoA e subsequente remoção de ésteres de acilcarnitina (OZÓRIO, 2009; ALTAMIMI et al., 2018).

Nos vertebrados de forma geral, a β -oxidação de ácidos graxos para produção de energia, realizada pela L-carnitina, reduz o percentual de gordura nos tecidos e melhora o peso corporal, sem afetar o teor de umidade no corpo e nos músculos (LI et al., 2019). Por estas funções, a L-carnitina vem sendo estudada nas últimas décadas para muitas espécies de peixes, sob a hipótese de que este nutriente quando adicionado à dieta produziria efeitos semelhantes aos observados em mamíferos e melhoraria a utilização de lipídios (LI et al., 2017). Para os peixes, que geralmente preferem utilizar proteínas, e não carboidratos, para produzir energia, a carnitina poderia diminuir o excesso de deposição de gordura nos tecidos, além de apresentar efeito poupador de proteína (LI et al., 2017).

Porém, os resultados dos estudos com inclusão de L-carnitina nas dietas para peixes são controversos, variando conforme a espécie, composição das dietas, idade, dependência de tecidos da oxidação de ácidos graxos e condições metabólicas (OZÓRIO, 2009). A suplementação com carnitina promoveu melhorias no crescimento do robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) (SANTULLI; d'AMELIO, 1986), bagre africano (*Clarias gariepinus*) (TORREELE et al., 1993; OZORIO et al., 2001), pargo (*Pagrus major*) (CHATZIFOTIS et al., 1995; CHATZIFOTIS et al., 1996), tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*) (JAYAPRAKAS et al., 1996), rohu (*Labeo rohita*) (KESHAVANATH; RENUKA, 1998); tilápia híbrida (*O. niloticus x O. aureus*) (BECKER et al., 1999; HUANG et al., 2010), robalo híbrido (*Morone saxatilis x M. chrysops*) (TWIBELL; BROWN, 2000), cobia (*Rachycentron canadum*) (ZHOU et al., 2007), esturção-beluga (*Huso huso*) (MOHSENI et al., 2008), sargo

do mar negro (*Sparus macrocephalus*) (MA et al., 2008), mrigal (*Cirrhinus mrigala*) (SINGH et al., 2008a), poleiro de prata (*Bidyanus bidyanus*) (YANG et al., 2012), truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (HAJIABADI et al., 2009; DIKEL et al., 2010; SAYEDMOHAMMADALI et al., 2010; SHARIFZADEH et al., 2017), carpa comum (*Cyprinus carpio*) (FOCKEN et al., 1997; ZHAO et al. 2004; SABZI et al., 2017), tilápia do Nilo (*O. niloticus*) (AZAB et al., 2002; DIKEL et al., 2003; GANG et al., 2010; GOU et al., 2016; AGOUZ et al., 2016), peixe-gato asiático (*Clarias batrachus*) (DESAI et al., 2010), peixe-gato amarelo (*Pelteobagrus fulvidraco*) (ZHENG et al., 2014), carpa cruciana (*Carassius auratus gibelio*) (ZHANG, 2009; MING et al., 2013), solha japonesa (*Paralichthys olivaceus*) (GAO et al., 2012), pregado (*Scophthalmus maximus* L.) (LIU et al., 2012) e carpa de Gibel (*Carassais auratus gibeio*) (WANG et al., 2015).

Porém, em outros estudos, a L-carnitina não afetou o crescimento dos peixes, como em bagre-do-canal (*Ictalurus punctatus*) (BURTLE; LIU, 1994), salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (JI et al., 1996), sargo (*Pagrus major*) (CHATZIFOTIS; TAKEUCHI, 1997), robalo híbrido (*Morone chrysops x M. saxatilis*) (GAYLORD; GATLIN, 2000), robalo-europeu (*Dicentrarchus labrax*) (DIAS et al., 2001), truta arco-íris (*O. mykiss*) (SELCUK et al., 2010; OZÓRIO et al., 2012; NUNES et al., 2014), bagre-africano (*Clarias gariepinus*) (OZÓRIO et al., 2003; OZÓRIO et al., 2010), cobia (*Rachycentron canadum*) (WANG et al., 2007), sargo (*Acanthopagrus schlegel*) (PENG et al., 2010), baixo largemouth (*Micropterus salmoides*) (LI et al., 2010), pregado (*Scophthalmus maximus*) (GONÇALVES et al., 2010), pargo vermelho (*Pagrus pagrus*) (NOGUEIRA et al., 2010), barata do Cáspio (*Rutilus rutilus caspicus*) (KORDI et al., 2012), corvina amarela (*Pseudosciaena crocea*) (SANG et al., 2012) e tilápia do Nilo (*O. niloticus*) (ERDOGAN et al., 2015).

Considerando o potencial da L-carnitina em diminuir a deposição de lipídeos nos tecidos (LI et al., 2017), para algumas espécies, foi observada uma diminuição no teor da gordura corporal de peixes que receberam suplementação com L-carnitina, como descrito para robalo europeu (SANTULLI et al., 1990), bagre africano (OZÓRIO et al., 2001) e tilápia-do-Nilo (CHEN et al., 2010).

Possivelmente, os resultados controversos se devem ao fato de que, em determinadas condições, a biossíntese endógena de carnitina pode ser adequada para manter níveis suficientes de tecido durante o crescimento, além do fato das respostas aos suplementos alimentares de carnitina serem influenciadas por interações ambientais e fisiológicas (OZÓRIO, 2009).

Além disso, a maioria dos estudos sobre L-carnitina em peixes concentrou-se apenas nos efeitos sobre o crescimento e composição corporal, enquanto faltam estudos sobre a

regulação sistêmica do metabolismo nutricional e os mecanismos subjacentes (LI et al., 2017; LI et al., 2019).

Mesmo assim, a suplementação com L-carnitina para animais aquáticos tem sido defendida para diversos outros fins, além da promoção do crescimento. Diversos resultados sugerem um efeito protetor da suplementação dietética de carnitina contra estressores, afetando o metabolismo lipídico e proteico (LI et al., 2019). A L-carnitina parece fornecer proteção aos peixes contra o estresse induzido pela qualidade da água (HARPAZ et al., 1999). Nesse sentido, ela pode aumentar a capacidade dos peixes cultivados de lidar melhor com as variações bióticas e abióticas, aumentando seu desempenho e sua resistência a surtos de doenças (LI et al., 2019). Estudos apontam que a suplementação com L-carnitina aumenta a imunocompetência contra várias doenças bacterianas e toxicidade por amônia (SCHREIBER et al. 1997; SCHLECHTRIEM et al. 2004).

A L-carnitina também foi citada por acarretar melhora na reprodução de peixes (HARPAZ, 2005). Isto, pois o período de reprodução pode causar uma deficiência de L-carnitina no organismo, já que este é um processo com alta demanda energética (OWEN et al., 2001). Efeito positivo da L-carnitina dietética foi observado sobre a reprodução de machos de tilápia de Moçambique, onde se observou um aumento significativo no peso dos testículos e na concentração de espermatozoides, fato que os autores acreditaram estar relacionado ao melhor crescimento dos peixes (JAYAPRAKAS et al., 1996). A reprodução de machos e fêmeas de tilápia-do-Nilo também foi afetada positivamente pela alimentação com dietas contendo L-carnitina (ABDELHAMID et al., 2010). Com o jundiá (*R. quelen*), um estudo demonstrou o efeito positivo da L-carnitina sobre os processos reprodutivos de fêmeas e machos, através da estimulação do processo de desenvolvimento gonadal dos reprodutores e aceleração do desenvolvimento inicial das proles (RODRIGUES et al., 2018).

2.5 Estresse oxidativo em peixes de cultivo

O estresse oxidativo refere-se a níveis intracelulares elevados de espécies reativas ao oxigênio (EROs) que causam danos aos lipídios, proteínas e DNA (SCHIEBER; CHANDEL, 2014). As EROs são subprodutos da respiração e do metabolismo aeróbico (AL-GUBORY et al., 2010). O termo EROs inclui intermediários de oxigênio reativo, como o radical ânion superóxido (O_2^- ou $O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($\bullet OH$), além de

ozônio (O_3) e oxigênio singlete (1O_2), ácidos hipocloroso (HOCl), hipobromoso (HOBr) e hipiodos (HOI) (NATHAN; DING, 2010). Apesar de estarem frequentemente associadas ao princípio do estresse oxidativo, as EROs também servem como moléculas de sinalização para regular processos biológicos e fisiológicos (SCHIEBER; CHANDEL, 2014).

Para se proteger contra o estresse oxidativo, os organismos desenvolveram sistemas antioxidantes, que podem ser produzidos endogenamente ou adquiridas pela alimentação. Esses sistemas são constituídos por compostos de baixo peso molecular (glutationa, ácido ascórbico e úrico, tocoferóis, etc.) e proteínas, incluindo enzimas antioxidantes (AZAMBUJA et al., 2011).

Os sistemas antioxidantes enzimáticos compreendem a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), enzimas do ciclo da glutationa redox, tioredoxinas, tioredoxinas redutases, peroxiredoxinas e sulfóxido de metionina redutase (NATHAN; CUNNINGHAM-BUSSEL, 2013). A SOD constitui o primeiro antioxidante enzimático, que desempenha um papel fundamental no controle da produção de O_2^- , transformando-o em H_2O_2 e O_2 (AL-GUBORY et al., 2010). O passo seguinte é o controle de H_2O_2 , realizado pela catalase e pelas glutationas peroxidases (GPx), que convertem o H_2O_2 em H_2O (AL-GUBORY et al., 2010). Além das GPx, as enzimas do ciclo da glutationa redox são: glutationa-S-transferase (GST) que desintoxica vários compostos conjugando-os com glutationa, glutationa redutase (GR), que reduz a glutationa oxidada, usando nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) e enzimas associadas, como glicose-6-fosfato desidrogenase (HALLIWEL; GUTTERIDGE, 2015).

Além destes antioxidantes, existe o grupo dos antioxidantes não-enzimáticos, formado por glutationa reduzida (GSH), ascorbato, vitaminas C e E, beta-caroteno e proteínas localizadas no citosol e membranas ou presentes no fluido extra celular (ZHANG et al., 2004; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ et al., 2005).

Os peixes sob condições de criação intensiva são continuamente expostos a muitos estressores, como manuseio, composição das dietas, confinamento e variações na qualidade da água, que provocam respostas ao estresse (MAMBRINI et al. 2004). Também, o manejo durante o período de reprodução artificial de peixes normalmente ocasiona estresse, comprometendo o desempenho reprodutivo (LIMA et al., 2006).

O estresse é uma condição de alta demanda aeróbica de energia para suprir os mecanismos de manutenção do organismo durante a ativação para a adaptação e resistência do corpo às condições estressoras (BARTON, 2002). Quando os organismos são expostos ao estresse ambiental, os EROs podem aumentar extensivamente, causando danos às células (MADEIRA et al., 2013).

Assim, existe uma tendência para a inclusão de antioxidantes nas dietas, uma vez que eles podem proteger os organismos dos efeitos dos radicais livres e das EROs e retardar o progresso de muitas doenças crônicas, bem como a peroxidação lipídica (MA et al., 2008). Nos últimos anos, várias formas orgânicas de moléculas antioxidantes têm sido estudadas como possíveis agentes terapêuticos e preventivos naturais (SEKHONLOODU et al., 2013). A capacidade antioxidante tem sido geralmente atribuída à atividade de enzimas antioxidantes e ao conteúdo de baixos antioxidantes moleculares como carotenóides, tocoferóis e substâncias fenólicas (GULHAN et al., 2012).

Alguns nutrientes, quando adicionados às dietas, podem elevar os antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos no organismo dos peixes, melhorando o status antioxidante, como é o caso da L-carnitina (MA et al., 2008), vitamina C (LIANG et al., 2017), vitamina E (ZHAO et al., 2018), selênio (WISCHHUSEN et al., 2019), zinco (WU et al., 2015), treonina (HABTE-TSION et al., 2016), entre muitos outros.

O papel da L-carnitina como antioxidante foi mencionado por Mohseni e Ozório (2014) e Du et al. (2006). A suplementação com L-carnitina foi eficaz para aumentar antioxidantes enzimáticos nos tecidos da dourada (MA et al., 2008), tilápias do Nilo da variedade GIFT (GOU et al., 2016) e carpa comum (SABZI et al., 2017). Além disso, a L-carnitina reduziu o conteúdo de produtos de peroxidação lipídica no sargo (MA et al., 2008) e na carpa comum (SABZI et al., 2017).

2.6 Referências

- ABDELHAMID, M.A.; MEHRIM, A.I.; EL-BARBARY, M.I. et al. An attempt to improve the reproductive efficiency of Nile tilapia brood stockfish. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.36, p.1097-1104, 2010.
- ADAMES, M.S.; TOLEDO, C.P.R.; NEUMANN, G. et al. Optimization of the sperm: oocyte ratio and sperm economy in the artificial reproduction of *Rhamdia quelen* using fructose as a sperm motility modulator. **Animal reproduction science**, v.161, p. 119-128, 2015.
- ADORIAN, T.J.; MOMBACH, P.I.; GOULART, F.R. et al. Dietary fiber in the nutrition of silver catfish: Prebiotic or antinutrient? **Animal Feed Science and Technology**, v. 209, p.167-173, 2015.
- AGH, N.; JAFARI, F.; JALILI, R. et al. Replacing dietary fish oil with vegetable oil blends in female rainbow trout brood stock does not affect breeding quality. **Lipids**, v.54, n.2-3, p.149-61, 2019.

- AGOZ, H.; SOLTAN, M.; ESAID, A.E. et al. Effect of feed supplementation with L-carnitine on growth and cold tolerance of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries**, v. 20, n. 3, p. 67-75, 2016.
- AL-GUBORY, K.H.; FOWLER, P.A.; GARREL, C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 42, n.10, p.1634-1650, 2010.
- ALTAMIMI, T.R.; THOMAS, P.D.; DARWESH, A.M. et al. Cytosolic carnitine acetyltransferase as a source of cytosolic acetyl-CoA: a possible mechanism for regulation of cardiac energy metabolism. **The Biochemical Journal**, v.475, n.5, p. 959–976, 2018.
- AYISI, C. L.; YAMEI, C.; ZHAO, J. L. Genes, transcription factors and enzymes involved in lipid metabolism in fin fish. **Agri Gene**, v.7, p. 7-14, 2018.
- AZAB, M.E.; FATHALLA, S.I.; SOLTAN, M.A. Effect of feed supplementation with L-carnitine on growth performance and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Suez Canal Veterinary Medicine Journal**, v.5, n.1, p. 201– 214, 2002.
- AZAMBUJA, C.R.; MATTIAZZI, J.; RIFFEL, A.P.K. et al. Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport. **Aquaculture**, v.319, n. 1-2, p.156-161, 2011.
- BARTON, B.A. Stress in Fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, n. 42, v. 3, p. 517-525, 2002.
- BECKER, K.; SCHREIBER, S.; ANGONI, C. et al. Growth performance and feed utilization response of *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* hybrids to L-carnitine measured over a full fattening cycle under commercial conditions. **Aquaculture**, v.174, n.3–4, p. 313–322, 1999.
- BOMBARDELLI, R.A.; SANCHES, E. A.; TESSARO, L. et al. Digestible energy requirement for females of *Rhamdia quelen* on reproductive activity fed with ration based on vegetal ingredients. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v.43, n.3, p.557-565, 2015.
- BOUJARD, T.; GÉLINEAU, A.; COVÈS, D. et al. Regulation of feed intake, growth, nutrient and energy utilization in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high fat diets. **Aquaculture**, v.231, n.1-4, p.529-545, 2004.
- BURTLE, G.J.; LIU, Q. Dietary carnitine and lysine affect channel catfish lipid and protein composition. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.25, n. 2, p.169– 174, 1994.
- CHATZIFOTIS, S.; TAKEUCHI, T. Effect of supplemental carnitine on body weight loss, proximate and lipid compositions and carnitine content of red sea bream (*Pagrus major*) during starvation. **Aquaculture**, v.158, n. 1–2, p. 129– 140, 1997.
- CHATZIFOTIS, S.; TAKEUCHI, T.; SEIKAI, T. The effect of dietary L-Carnitine on growth performance and lipid composition in red sea bream fingerlings. **Fisheries science**, v.61, n.6,

p.1004-1008, 1995.

- CHATZIFOTIS, S.; TAKEUCHI, T.; SEIKAI, T. The effect of dietary carnitine supplementation on growth of red sea bream (*Pagrus major*) fingerlings at two levels of dietary lysine. **Aquaculture**, v.147, n.3-4, p. 235-248, 1996.
- CHEN, G.; ZHANG, M.H.; ZHANG, J.D. et al. Effects of L-carnitine and dietary protein on body composition and liver lipid content in juvenile new GIFT strain Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Applied Animal Research**, v.37, p.141-144, 2010.
- COLDEBELLA, I.J.; NETO, J.R.; MALLMANN, C.A. et al. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, v.312, n.1-4, p.137-144, 2011.
- COLDEBELLA, I.J.; EMANUELLI, T.; VEIVERBERG, C.A. et al. Effect of different dietary lipid levels on the reproduction of *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, 1824). **Aquaculture Nutrition**, v.19, n.5, p. 751-764, 2013.
- DESAI, A.S.; SINGH, R.K.; SAPKALE, P.H. et al. Effects of feed supplementation with L-carnitine on growth and body composition of Asian catfish, *Clarias batrachus* fry. **Journal of Applied Animal Research**, v.38, n.2, p.153-157, 2010.
- DIAS, J.; ARZEL, J.; CORRAZE, G. et al. Effects of dietary L-carnitine supplementation on growth and lipid metabolism in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture Research**, v.32, n. s1, p.206- 215, 2001.
- DIAS, S.; OZÓRIO, R.O.A.; GONÇALVES, J. et al. Dietary L-carnitine supplementation protected Turbot (*Scophthalmus maximus*) against *Streptococcus parauberis* infection. **Journal of Applied Aquaculture**, v.23, n. 4, p. 299- 303, 2011.
- DIKEL, S. Effects of supplemental dietary L-carnitine on the growth of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cage conditions. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences**, v.26, n.4, p. 245-247, 2003.
- DIKEL, S.; UNALAN, B.; EROLDOGAN, O.T. et al. Effects of dietary L-carnitine supplementation on growth, muscle fatty acid composition and economic profit of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Turkish Journal of Fisheries & Aquatic Sciences**, v.10, n.2, p. 173-180, 2010.
- DU, Z.U.; CLOUET, P.; ZHENG, W.H. et al. Biochemical hepatic alterations and body lipid composition in the herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed high-fat diets. **British Journal of Nutrition**, v. 95, n. 5, p. 905-915, 2006.
- EMERY, J. A.; NORAMBUENA, F.; TRUSHENSKI, J. et al. Uncoupling EPA and DHA in fish nutrition: Dietary demand is limited in Atlantic salmon and effectively met by DHA alone. **Lipids**, v.51, n.4, p.399-412, 2016.
- ERDOGAN, F.; KANYILMAZ, M.; AYDIN, B. et al. Effect of dietary supplementation of L-carnitine on growth, feed utilisation and liver histology in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fry. **Indian Journal of Fisheries**, v.62, n. 2, p.123- 127, 2015.

- FOCKEN, U.; BECKER, K.; LAWRENCE, P. A note on the effects of L-carnitine on the energy metabolism of individually reared carp *Cyprinus carpio* L. **Aquaculture Nutrition**, v.3, n.4, p. 261–264, 1997.
- FOUNTOULAKI, E.; VASILAKI, A.; HURTADO, R. et al. Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile: recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures. **Aquaculture**, v.289, n.3-4, p.317-326, 2009.
- GANG, C.; ZHANG, M.H.; ZHANG, J.D. et al. Effects of L-carnitine and dietary protein on body composition and liver lipid content in juvenile new GIFT strain Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Applied Animal Research**, v.37, n.2, p.141–144, 2010.
- GAO, X.Q.; TIAN, Q.J.; SHI, H.Y. et al. Effects of dietary L-carnitine on growth performance, body composition and blood parameters of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) juvenile. **Journal of Guangdong Ocean University**, v. 32, n.1, p. 39–46, 2012.
- GAYLORD, T.G.; GATLIN, D. Dietary lipid level but not L-carnitine affects growth performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* females x *M. saxatilis* male). **Aquaculture**, v.190, n. 3–4, p. 237– 246, 2000.
- GHIRALDELLI, L., MACHADO, C. & FRACALOSSO, D.M. Desenvolvimento gonadal do jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei, Siluriformes), em viveiros de terra, na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum**, v.29, p.349-356, 2007.
- GOES, M. D.; GOES, E.S.R.; RIBEIRO, R.P. et al. Natural and artificial spawning strategies with fresh and cryopreserved semen in *Rhamdia quelen*: Reproductive parameters and genetic variability of offspring. **Theriogenology**, v.88, p.254-263, 2017.
- GOMES L.C.; GOLOMBIESKI, J.I.; GOMES, A.R.C. et al. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, v.30, p.179-185, 2000.
- GOMES, R.L.M.; MORO, E. B.; SOSA, B.S. et al. Sources of lipids in diets for silver catfish (*Rhamdia quelen*) juveniles. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.45, n.2, p. e.465, 2019.
- GOMIERO, L.M.; SOUZA, U.P.; BRAGA, F.M.S. Reprodução e alimentação de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) em rios do Núcleo Santa Virgínia, Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo, SP. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 3, p. 127-133, 2007.
- GONÇALVES, J.F.M.; TURINI, B.G.D.S.; OZÓRIO, R.O.D. Performance of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) fed varying dietary L-carnitine levels at different stocking densities. **Scientia Agricola**, v.67, n.2, p.151– 157, 2010.
- GOU, G.W.; JIANG, M.; WEN, H. et al. Effects of dietary L-carnitine supplementation on growth, hepatic lipid metabolism and antioxidant ability in GIFT, *Oreochromis niloticus*. **Freshwater Fisheries**, v.46, n.5, p. 81–88, 2016.
- GUILOSKI, I.C.; PIANCINI, L.D.S.; DAGOSTIM, A.C. et al. Effects of environmentally relevant concentrations of the anti-inflammatory drug diclofenac in freshwater fish *Rhamdia quelen*.

Ecotoxicology and environmental safety, v.139, p.291-300, 2017.

GULHAN, M.F.; DURAN, A.; TALAS, Z.S. et al. Effects of própolis on microbiologic and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after exposure to the pesticide. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v. 11, n. 3, p. 490-503, 2012.

HABTE-TSION, H.M.; REN, M.; LIU, B. et al. Threonine modulates immune response, antioxidant status and gene expressions of antioxidant enzymes and antioxidant-immune-cytokine-related signaling molecules in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). **Fish & shellfish immunology**, v.51, p.189-199, 2016.

HAJIABADI, S.M.A.J.; SADEGHI, A.A.; SOOFIANI, N.M. et al. Effects of supplemental dietary L-carnitine on blood biochemical parameters and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Science & Technology of Agriculture & Natural Resources**, v.13, n.47, p.105–116, 2009.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford University Press, USA. 2015.

HARPAZ, S. L-Carnitine and its attributed functions in fish culture and nutrition—a review. **Aquaculture**, v.249, p. 3– 21, 2005.

HARPAZ S, BECKER, K.; BLUM, R. The effect of dietary L-carnitine supplementation on cold tolerance and growth of the ornamental cichlid fish *Pelvicachromis pulcher* - preliminary results. **Journal of Thermal Biology**, v. 24, n. 1, p. 57– 62, 1999.

HILBIG, C.C.; NASCIMENTO, N.F.; GRANVILLE, M. et al. Effect of broodstock age on reproductive parameters in silver catfish *Rhamdia quelen*. **Aquaculture Research**, v.48, n. 9, p.5150-5154, 2017.

HILBIG, C.C.; NASCIMENTO, N.F.D.; HEINEN, A.L. et al. Effects of dietary fatty acids on the reproduction of South American female catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). **Latin american journal of aquatic research**, v.47, n.3, p.456-466, 2019.

HUANG, K.; CHEN, T.; ZHAN, G. et al. Effects of dietary L-carnitine on growth, fat content and biochemical indexes of blood of tilapia (*Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus*). **Journal of Shanghai Ocean University**, v.19, n.2, p.201–206, 2010.

IZQUIERDO, M.S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A.G.J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v. 197, n. 1-4, p. 25-42, 2001.

IZQUIERDO, M. S.; TURKMEN, S.; MONTERO, D. et al. Nutritional programming through broodstock diets to improve utilization of very low fishmeal and fish oil diets in gilthead sea bream. **Aquaculture**, v.449, p.18-26, 2015.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agropecuário 2017**. Rio de Janeiro: IBGE, 2019.

JAYAPRAKAS, V.; SAMBHU, C.; KUMAR, S.S. Effect of dietary L-carnitine on growth and reproductive performance of male *Oreochromis mossambicus* Peters. **Fishery Technology**, v.

- 33, p. 84-90, 1996.
- JI, H.; BRADLEY, T.M.; TREMBLAY, G.C. Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed L-carnitine exhibit altered intermediary metabolism and reduced tissue lipid, but no change in growth rate. **Journal of Nutrition**, v.126, n. 8, p.1937– 1950, 1996.
- JOBLING, M. Fish nutrition research: past, present and future. **Aquaculture international**, v. 24, n. 3, p. 767-786, 2016.
- KESHAVANATH, P.; RENUKA, P. Effect of dietary L-carnitine supplements on growth and body composition of fingerling rohu, *Labeo rohita* (Hamilton). **Aquaculture Nutrition**, v.4, n. 2, p.83– 87, 1998.
- KOAKOSKI, G.; OLIVEIRA, T.A.; ROSA, J. G. S. et al. Divergent time course of cortisol response to stress in fish of different ages. **Physiology & behavior**, v.106, n.2, p.129-132, 2012.
- KORDI, H.; IMANPOUR, M.R.; SEDAGHAT, S. Effect of L-carnitine supplementation on growth performance and carcass composition of caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*). **World Journal of Fish and Marine Sciences**, v.4, n.4, p. 396– 399, 2012.
- LAZZARI, R.; RADÜNZ NETO, J.; PEDRON, F.D.A., et al. Protein sources and digestive enzyme activities in jundiá (*Rhamdia quelen*). **Scientia Agricola**, v.67, n.3, p. 259-266, 2010.
- LI, E.C.; YU, N.; CHEN, L.Q. et al. Protein sparing effect of lipid and L-carnitine in diets for Largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Journal of Animal Nutrition**, v.22, n. 3, p. 787– 796, 2010.
- LI, J.M.; LI, L.Y.; QIN, X. et al. Systemic regulation of L-carnitine in nutritional metabolism in zebrafish, *Danio rerio*. **Scientific reports**, v.7, n.1, p.1-14, 2017.
- LI, L.Y.; LIMBU, S.M.; MA, Q. et al. The metabolic regulation of dietary L-carnitine in aquaculture nutrition: present status and future research strategies. **Reviews in Aquaculture**, v.11, n.4, p.1228-1257, 2019.
- LIANG, X.P.; LI, Y.; HOU, Y.M. et al. Effect of dietary vitamin C on the growth performance, antioxidant ability and innate immunity of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco* Richardson). **Aquaculture Research**, v.48, n.1, p.149-160, 2017.
- LIMA, L.C.; RIBEIRO, L.P.; LEITE, R. C.; et al. Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30, n.3/4, p.113-117, 2006.
- LIU, X.; AI, Q.; XU, W. et al. Effect of dietary L-carnitine supplements on growth and liver fatty acid composition of turbot, *Scophthatmus maximus* L. **Journal of Aquaculture**, v.33, n.10, p.35– 39, 2012.
- LU, K.L.; XU, W.N.; WANG, L.N. et al. Hepatic β -oxidation and regulation of carnitine palmitoyltransferase (CPT) I in blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* fed a high fat diet. **PloS one**, v.9, n.3, p. e93135, 2014.
- MA, J.J.; XU, Z.R.; SHAO, Q.J. et al. Effect of dietary supplemental L-carnitine on growth

- performance, body composition and antioxidant status in juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*. **Aquaculture Nutrition**, v.14, n.5, p. 464–471, 2008.
- MADEIRA, D.; NARCISO, L.; CABRAL, H.N. et al. Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v.166, n.2, p. 237-243, 2013.
- MAMBRINI, M.; SANCHEZ, M.P.; CHEVASSUS, B. et al. Selection for growth increases feed intake and affects feeding behavior of brown trout. **Livestock Production Science**, v.88, n.1-2, p.85-98, 2004.
- MARENGONI, N.G.; PEREIRA, L.A.; WEISS, L.A. et al. Garlic essential oil increases rates of eggs fertilization and hatching of *Rhamdia quelen* larvae in an artificial incubation system. **Ciência Rural**, v.47, n.6, p. e20160803 2017.
- MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, R.M.; MORALES, A. E.; SANZ, A. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. **Reviews in Fish Biology and fisheries**, v.15, n.1-2, p.75-88, 2005.
- MARTINS, G.B.; PIEDRAS, S.R.N.; POUEY, J.L.O.F. et al. Salinity on artificial reproduction of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v.45, n.3, p.458-463, 2015.
- MELO, J.F.B.; LUNDSTEDT, L.M.; MORAES, G. et al. Effects of different concentrations of protein on the digestive system of juvenile silver catfish. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**, v.64, p. 450–457, 2012.
- MING, J.H.; YE, J.Y.; ZHANG, Y.X. et al. The influence of maggot meal and L-carnitine on growth, immunity, antioxidant indices and disease resistance of black carp (*Mylopharyngodon Piceus*). **Journal of the Chinese Cereals and Oils Association**, v.28, n. 2, p. 80– 86, 2013.
- MOHSENI, M.; OZORIO, R.O.S. Effects of dietary l-carnitine level on growth performance, body composition and antioxidant status beluga (*Huso huso* L. 1758) **Aquaculture Nutrition**, v.20, p. 477-485, 2014.
- MOHSENI, M.; OZORIO, R.O.A.; POURKAZEMI, M. et al. Effects of dietary l-carnitine supplements on growth and body composition in beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 24, n. 6, p. 646-649, 2008.
- MORAIS, S.; BELL, J.G.; ROBERTSON, D.A. et al. Protein/lipid ratios in extruded diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.): effects on growth, feed utilization, muscle composition and liver histology. **Aquaculture**, v.203, n.1-2, p.101-119, 2001.
- MORO, G.V.; CAMILO, R.Y.; MORAES, G. et al. Dietary non-protein energy sources: growth, digestive enzyme activities and nutrient utilization by the catfish jundiá, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture Research**, v.41, n.3, p.394-400, 2010.
- NATHAN, C.; DING, A. SnapShot: reactive oxygen intermediates (ROI). **Cell**, v.140, n.6, p. 951-951, 2010.
- NATHAN, C.; CUNNINGHAM-BUSSEL, A. Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. **Nature Reviews Immunology**, v.13, n.5, p.349-361, 2013.

- NG, W.K.; WANG, Y. Inclusion of crude palm oil in the broodstock diets of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, resulted in enhanced reproductive performance compared to broodfish fed diets with added fish oil or linseed oil. **Aquaculture**, v.314, n.1-4, p.122-31, 2011.
- NOGUEIRA, N.; CORDEIRO, N.; CANADA, P. et al. Separate and combined effects of cyclic fasting and l-carnitine supplementation in red porgy (*Pagrus pagrus*, L. 1758). **Aquaculture Research**, v. 41, n. 11, p. e795– e806, 2010.
- NUNES, B.; MIRANDA, A.F.; OZÓRIO, R.O.A. et al. Modulation of neuronal activity and hepatic metabolism by ploidy and L-carnitine supplement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v.20, n.3, p. 242– 252, 2014.
- OWEN, K.Q.; NELSSSEN, J.L.; GOODBAND, R.D. et al. Effect of dietary L-carnitine on growth performance and body composition in nursery and growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v.79, n.6, p. 1509–1515, 2001.
- OZÓRIO, R.O.A.; UKTOLSEJA, J.L.A.; HUISMAN, E.A. et al. Changes in fatty acid concentrations in tissues of African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell, as a consequence of dietary carnitine, fat and lysine supplementation. **British Journal of Nutrition**, v. 86, n.5, p.623-36, 2001.
- OZÓRIO, R.O.A.; VERRETH, J.A.J.; ARAGAO, C.R. et al. Dietary carnitine supplements increased lipid metabolism and decreased protein oxidation in African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles fed high fat levels. **Journal of Aquaculture in the Tropics**, v. 18, n. 3, p. 225– 238, 2003.
- OZÓRIO, R.O.A.; GINNEKEN, V.J.T.V.; BESSA, R.J.B. et al. Effects of exercise on L-carnitine and lipid metabolism in African catfish (*Clarias gariepinus*) fed different dietary L-carnitine and lipid levels. **The British Journal of Nutrition**, v.103, n. 8, p. 1139– 1150, 2010.
- OZÓRIO R.O.A.; ESCORCIO, C.; BESSA, R.J.B. et al. Comparative effects of dietary L-carnitine supplementation on diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v.18, n.2, p. 189– 201, 2012.
- OZÓRIO, R. O. A. Dietary L-carnitine supplementation to cultivated fish: a mini-review. **Current Nutrition & Food Science**, v.5, n.1, p. 40-48, 2009.
- PEIXE BR. Associação Brasileira de Piscicultura. **Anuário Peixe BR da Piscicultura 2019**. São Paulo: PEIXE BR, 2019.
- PENG, S.M.; LI, E.C.; CHEN, L.Q. et al. Effect of dietary L-carnitine on growth and tissue biochemical composition of juvenile black seabream, *Acanthopagrus schlegeli* (In Chinese with English Abstract). **Feed Industry**, v. 1, p. 61– 64, 2010.
- PENG, X.; LI, F.; LIN, S. et al. Effects of total replacement of fish oil on growth performance, lipid metabolism and antioxidant capacity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture international**, v.24, n.1, p.145-56, 2016.
- POLI, M. A.; SCHVEITZER, R.; NUÑER, A. P. O. The use of biofloc technology in a South

- American catfish (*Rhamdia quelen*) hatchery: Effect of suspended solids in the performance of larvae. **Aquacultural Engineering**, v.66, p.17-21, 2015.
- PRICE, P. T.; NELSON, C. M.; CLARKE, S. D. Omega-3 polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. **Current opinion in lipidology**, v.11, n.1, p. 3-7, 2000.
- REIDEL, A.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A. et al. The effect of diets with different levels of protein and energy on the process of final maturation of the gametes of Jundiá stocked in cages. **Aquaculture**, v.298, p. 354–359, 2010.
- ROCHA, A.; BIAZZETTI FILHO, M.; STECH, M. et al. Lettuce production in aquaponic and biofloc systems with silver catfish *Rhamdia quelen*. **Boletim do Instituto da Pesca**, v.43, p. 64-73, 2017.
- RODRIGUES, M.L.; SANCHEZ, M.S.S.; DAMASCENO, D.C. et al. Supplementation of l-carnitine in diets for silver catfish and its effects on reproductive aspects. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 45, n.1, p. e.409, 2018.
- ROQUES, S.; DEBORDE, C.; RICHARD, N. et al. Metabolomics and fish nutrition: a review in the context of sustainable feed development. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 1, p. 261-282, 2020.
- SABZI, E.; MOHAMMADIAZARM, H.; SALATI, A. P. Effect of dietary l-carnitine and lipid levels on growth performance, blood biochemical parameters and antioxidant status in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, v.480, p. 89-93, 2017.
- SANG, W.G.; DENG, S.Q.; SHENTU, J.K. et al. Effects of dietary L-carnitine and betaine on serum biochemical indices of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) cultured in floating net cages. **Advance Journal of Food Science and Technology**, v. 4, n. 5, p. 304– 308, 2012.
- SANTOS, H.K.D.; MEURER, F. Nutrition and feeding aspects for jundiá (*Rhamdia quelen*) nutrition and feeding. **Reviews in Aquaculture**, v.12, n.1, p. 299-309, 2020.
- SANTINÓN, J. J.; HERNÁNDEZ, D.R.; SÁNCHEZ, S. et al. Duração da larvicultura sobre o desempenho posterior de juvenis de jundiá, *Rhamdia quelen*, criados em tanques-rede. **Ciência Rural**, v.40, n.5, p.1180-1185, 2010.
- SANTULLI, A.; D'AMELIO, V. Effects of supplemental dietary carnitine on growth and lipid metabolism of hatchery-reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture**, v.59, n.3-4, p.177-186, 1986.
- SANTULLI, A.; PUCCIA, E.; D'AMELIO, V. Preliminary study on the effect of short-term carnitine treatment on nucleic acids and protein metabolism in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fry. **Aquaculture**, v.87, n.1, p. 85–89, 1990.
- SARAMEH, S. P.; BAHRI, A. H.; SALARZADEH, A. et al. Effects of fish oil replacement with vegetable oil in diet of sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) broodstock on expression of lipid metabolism related genes in eggs. **Aquaculture**, v.505, p.441-449, 2019.
- SAYEDMOHAMMADALI, J.H.; NASROLLAH, M.S.; ALIASGHAR, S. et al. Effects of

- supplemental dietary L-carnitine and ractopamine on the performance of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture Research**, v.41, n.11, p. 1582– 1591, 2010.
- SEKHONLOODU, S.; WARNAKULASURIYA, S.N.; RUPASINGHE, V.H.P. et al. Antioxidant ability of fractionated apple peel phenolics to inhibit fish oil oxidation. **Food Chemistry**, v.140, p.189-196, 2013.
- SELCUK, Z.; TIRIL, S.U.; ALAGIL, F. et al. Effects of dietary L-carnitine and chromium picolinate supplementations on performance and some serum parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture International**, v.18, n.2, p. 213–221, 2010.
- SHARIFZADEH, E.; YEGANEH, S.; FIROUZBAKHS, F. et al. Effects of L-carnitine and Vitamin C on the growth indices, body composition and serum biochemical parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. **Journal of Veterinary Research**, v.72, n. 2, p. 173– 182., 2017.
- SCHIEBER, M.; CHANDEL, N.S. ROS function in redox signaling and oxidative stress. **Current biology**, v.24, n.10, p. R453-62, 2014.
- SCHLECHTRIEM, C.; BRESLER, V.; FISHELSON, L. et al. Protective effects of dietary L-carnitine on tilapia hybrids (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) reared under intensive pond culture conditions. **Aquaculture Nutrition**, v.10, n. 1, p. 55– 63, 2004.
- SCHREIBER, S.; BECKER, K.; BRESLER, V. et al. Dietary L-carnitine protects the gills and skin of guppies (*Poecilia reticulata*) against anionic xenobiotics. **Comparative Biochemistry & Physiology Part C: Pharmacology Toxicology & Endocrinology**, v.117, n. 1, p. 99– 102, 1997.
- SILVEIRA, J.; SILVA, C.P.; CARGNIN-FERREIRA, E. et al. Freshwater catfish jundiá (*Rhamdia quelen*) larvae are prepared to digest inert feed at the exogenous feeding onset: physiological and histological assessments. **Fish physiology and biochemistry**, v.39, n.6, p.1581-1590, 2013.
- SINGH, R.K.; DESAI, A.S.; CHAVAN, S.L. et al. Effects of varying concentrations of L-carnitine-incorporated diets on growth and body composition of fry of *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822). **Journal of the World Aquaculture Society**, v.39, n. 2, p. 275– 280, 2008.
- TESSARO, L.; TOLEDO, C.P.R.; NEUMANN, G. et al. Growth and reproductive characteristics of *Rhamdia quelen* males fed on different digestible energy levels in the reproductive phase. **Aquaculture**, v.326, p.74-80, 2012.
- TESSARO, L.; TOLEDO, C.P.R.; NEUMANN, G. et al. Animal performance and reproductive aspects of female *Rhamdia quelen* fed on different levels of digestible energy. **Aquaculture Research**, v.45, n.9, p.1425-1433, 2014.
- TOCHER, D.R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Reviews in fisheries science**, v.11, n.2, p.107-184, 2003.
- TOCHER, D.R. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. **Aquaculture Research**, v.41, n.5, p.717-732, 2010.

- TORREELE, E.; VAN DER SLUISZEN, A.; VERRETH, J. The effect of dietary L-carnitine on the growth performance in fingerlings of the African catfish *Clarias gariepinus* in relation to dietary lipid. **British Journal of Nutrition**, v. 69, n. 1, p. 289-299, 1993.
- TWIBELL, R.G.; BROWN, P. B. Effects of dietary carnitine on growth rates and body composition of hybrid striped bass (*Morone saxatilis* male x *M. chrysops* female). **Aquaculture**, v.187, n.1-2, p.153-161, 2000.
- VARGAS, R.J.; GARCIA, A.S.; BAGGIO, S.R. et al. A combination of plant oils promotes adequate growth of the freshwater catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824). **Aquaculture research**, v.46, n.12, p. 3046-3055, 2015.
- WANG, J.; HAN, T.; TIAN, L. et al. Effect of dietary L-carnitine supplements on growth and body composition of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Journal of Zhejiang Ocean University (Nature Science)**, v. 26, n. 2, p. 125– 131, 2007.
- WANG, Y.D.; HE, J.X. et al. Effect of dietary taurine and L-carnitine on growth and antioxidant capacity of Gibel carp (*Carassais auratus gibeio*) (In Chinese with English Abstract). **Journal of Yangtze University**, v.12, n.21, p. 31– 35, 2015.
- WISCHHUSEN, P.; PARAILLOUX, M.; GERAERT, P. A. et al. Effect of dietary selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock on antioxidant status, its parental transfer and oxidative status in the progeny. **Aquaculture**, v. 507, p. 126-138, 2019.
- WU, Y. P.; FENG, L.; JIANG, W.D. et al. Influence of dietary zinc on muscle composition, flesh quality and muscle antioxidant status of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.). **Aquaculture research**, v.46, n.10, p. 2360-2373, 2015.
- YAN, J.; LIAO, K.; WANG, T. et al. Dietary lipid levels influence lipid deposition in the liver of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) by regulating lipoprotein receptors, fatty acid uptake and triacylglycerol synthesis and catabolism at the transcriptional level. **PloS one**, v.10, n.6, p. e0129937, 2015.
- YANG, S.D.; LIU, F.G.; LIOU, C.H. Effects of dietary L-carnitine, plant proteins and lipid levels on growth performance, body composition, blood traits and muscular carnitine status in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). **Aquaculture**, v.342, p.48-55, 2012.
- YILDIZ, M.; EROLDUĞAN, T.O.; OFORI-MENSAH, S. et al. The effects of fish oil replacement by vegetable oils on growth performance and fatty acid profile of rainbow trout: Re-feeding with fish oil finishing diet improved the fatty acid composition. **Aquaculture**, v.488, p.123-133, 2018.
- ZHANG, S. Effects of L-carnitine on growth performance and muscle quality in allogynogenetic crucian carp. **China Feed**, v.3, p.33– 36, 2009.
- ZHANG, J.; SHEN, H.; WANG, X. et al. Effects of chronic exposure of 2, 4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. **Chemosphere**, v.55, n.2, p. 167-174, 2004.

- ZHAO, W.; CUI, T.; ZHANG, Z. et al. Effect of L-carnitine on off-flavor, growth, body muscle composition and some biochemical indexes in common carp. **Journal of Dalian Fisheries College**, v.19, n. 4, p. 243– 247, 2004.
- ZHAO, H.; MA, H.J.; GAO, S.N. et al. Evaluation of dietary vitamin E supplementation on growth performance and antioxidant status in hybrid snakehead (*Channa argus* × *Channa maculata*). **Aquaculture nutrition**, v.24, n.1, p.625-632, 2018.
- ZHENG, J.L.; LUO, Z.; ZHUO, M.Q. et al. Dietary L-carnitine supplementation increases lipid deposition in the liver and muscle of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) through changes in lipid metabolism. **British Journal of Nutrition**, v.112, n. 5, p. 698– 708, 2014.
- ZHOU, M.; CAO, J.M.; MA, L. et al. Effect of feed added phosphatide oil, choline, L-carnitine on growth and tissue fat content for *Rachycentron canadum*. **Feed Industry**, v.28, n.10, p. 23– 25, 2007.

3 EFEITOS DA L-CARNITINA E FONTES LIPÍDICAS NA DIETA SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS E *STATUS* ANTIOXIDANTE DE MATRIZES DE JUNDIÁS

RESUMO: Este trabalho avaliou o efeito de rações com inclusão de L-carnitina e fontes lipídicas sobre parâmetros bioquímicos, atividade de enzimas do sistema antioxidante e histologia de fígado e gônadas de matrizes de jundiá. Foi conduzido um experimento em esquema fatorial 4x2, sendo quatro níveis de inclusão de L-carnitina (0, 150, 450, 750 mg·kg⁻¹ de ração) e duas fontes lipídicas (óleos de soja e de peixe marinho), totalizando oito tratamentos com três repetições. As fêmeas (167,33±9,24 g) foram alimentadas por 153 dias com as dietas isoprotéicas (36,2% de proteína bruta) e isoenergéticas (3188,9 kcal de energia digestível·kg⁻¹). Foram analisados glicose, triglicérides, colesterol, lipoproteína de alta densidade (HDL), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e albumina plasmáticos. No fígado e gônadas, foram analisadas a histologia e a atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona S-transferase (GST). As dietas com 750 mg de L-carnitina proporcionaram maiores níveis de glicose. A dieta com 450 mg de L-carnitina associada ao óleo de soja levou a maiores níveis de triglicérides, colesterol, HDL, e maior atividade da SOD no fígado. A dieta com 150 mg de L-carnitina + óleo de peixe levou à menor ALT e maior albumina. Dietas com 150 mg de L-carnitina ocasionaram maior AST. A atividade da GST não foi diferente entre os tratamentos. Pela histologia dos ovários, todas as fêmeas estavam aptas a desovar, sem diferenças no percentual de ovócitos vitelogênicos. Os fígados apresentaram tecido hepático normal, sem presença de vacúolos. Conclui-se que a suplementação de 450 mg de L-carnitina · kg⁻¹ de ração, associada ao óleo de soja, pode alterar o metabolismo lipídico e influenciar positivamente o status antioxidante de fêmeas de jundiá.

Palavras-chave: aquicultura; enzimas antioxidantes, estresse oxidativo, metabolismo lipídico, *Rhamdia quelen*.

EFFECTS OF L-CARNITINE AND LIPID SOURCES IN THE DIET ON BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS AND ANTIOXIDANT STATUS OF JUNDIÁ FEMALES

ABSTRACT: This study evaluated the effect of diets with inclusion of L-carnitine and lipid sources on biochemical parameters, activity of antioxidant enzymes, and histology of liver and gonads of jundiá females. An experiment was conducted in a 4x2 factorial arrangement, with four levels of inclusion of L-carnitine (0, 150, 450, 750 mg kg⁻¹ feed) and two lipid sources (soybean oil and marine fish oil), totaling eight treatments with three repetitions. Females (167.33 ± 9.24 g) were fed on isoproteic (36.2% crude protein) and isoenergetic diets (3,188.9 kcal digestible energy kg⁻¹) for 153 days. Glucose, triglycerides, cholesterol, high-density lipoprotein (HDL), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and plasma albumin were analyzed. Liver and gonads were analyzed for histology and activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione S-transferase (GST). Diets with 750 mg L-carnitine resulted in higher levels of glucose. The diet with 450 mg L-carnitine combined with soybean oil led to higher levels of triglycerides, cholesterol, HDL, and higher SOD activity in the liver. The diet with 150 mg L-carnitine combined with fish oil led to lower ALT and higher albumin. Diets with 150 mg L-carnitine resulted in higher AST. GST activity was not different between treatments. According to the histology of the ovaries, all females were able to spawn, with no difference in the percentage of vitellogenic oocytes. Liver had normal liver tissue, without vacuoles. The supplementation with 450 mg L-carnitine kg⁻¹ feed, combined with soybean oil, can alter the lipid metabolism and positively influence the antioxidant status of jundiá females.

Key-Words: aquaculture; antioxidant enzymes, oxidative stress, lipid metabolism, *Rhamdia quelen*.

3.1 Introdução

O jundiá (*Rhamdia quelen*), um surubim nativo da América do Sul (GUILOSKI et al., 2017), é uma espécie de interesse comercial devido às altas taxas de crescimento, fácil reprodução e larvicultura, ausência de espinhos intramusculares e alta aceitação pelos consumidores (SANTOS; MEURER, 2020).

A nutrição de matrizes, reprodutores e larvas estão entre as áreas menos compreendidas, embora sua importância seja reconhecida uma vez que tem influência em todos os aspectos da reprodução (IZQUIERDO et al., 2001; JOBLING, 2016). Dentre os nutrientes, a composição lipídica e de ácidos graxos da dieta de reprodutores e matrizes foi identificada como o principal fator alimentar que determina a reprodução e a sobrevivência bem-sucedida da prole (IZQUIERDO et al., 2001). Ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) com 20 ou mais átomos de carbono afetam a maturação dos peixes e a esteroidogênese, e em algumas espécies, os AGPIs nas dietas aumentaram a fecundidade, a fertilização e a qualidade dos ovos (IZQUIERDO et al., 2001).

Nas rações para peixes, estes AGPIs normalmente são fornecidos através da inclusão de óleo de peixe nas formulações. Porém, considerando a oferta limitada e preços cada vez mais caros do óleo de peixe (EMERY et al., 2016), numerosos estudos foram conduzidos nos últimos anos, mostrando que este óleo pode ser substituído por óleos vegetais em rações para diversas espécies de peixes de água doce (VARGAS et al., 2015; YILDIZ et al., 2018; HILBIG et al., 2019). Isto acontece pois, embora não estejam presentes nos óleos vegetais, os AGPIs da série n-3 podem ser produzidos por peixes de água doce a partir de seus precursores de ácidos graxos, ácidos linoléico (C18: 2n-6) e linolênico (C18: 3n-3) (TOCHER, 2010; HILBIG et al., 2019).

Porém, apesar de documentados como alternativas adequadas na substituição do óleo de peixe, os óleos vegetais têm diferentes níveis de ácidos graxos e, portanto, reagem de maneira diferente com os genes relacionados ao metabolismo lipídico (AYISI et al., 2018). As diferentes reações ocorrem porque, quando há uma alteração na composição lipídica das dietas, isso consequentemente afeta a oxidação de lipídios, bem como a sua deposição através da modulação da expressão gênica de várias enzimas metabólicas (PRICE et al., 2000).

Portanto, potenciais mecanismos reguladores metabólicos para diminuir a deposição de gordura em peixes têm recebido considerável atenção em pesquisas sobre nutrição aquática (LI et al., 2019), e a L-carnitina vem sendo estudada por seu papel em desviar grande parte dos lipídios da dieta para energia, em vez de deposição (YANG et al., 2012).

As funções da L-carnitina estão relacionadas à sua participação na β -oxidação, pois ela facilita o transporte dos ácidos graxos de cadeia longa do citosol para as mitocôndrias (OZÓRIO, 2009), ação que resulta na produção de energia (LI et al., 2017). Outra função da carnitina é modular a proporção de acetil-coenzima A (CoA)/CoA, atuando como um reservatório para unidades de acetil ativadas (OZÓRIO, 2009; ALTAMIMI et al., 2018). O aumento na razão acetil-CoA/CoA, provocado pela carnitina, altera o metabolismo da glicose e melhora a deposição de proteínas, aprimorando o desempenho de crescimento em muitas espécies de peixes (LI et al., 2019). Diversos resultados também sugerem um efeito protetor da suplementação dietética de carnitina contra estressores, afetando o metabolismo lipídico e proteico (LI et al., 2019) e protegendo contra o estresse oxidativo (DU et al., 2006; MOHSENI; OZÓRIO, 2014).

Considerando que uma das funções da L-carnitina é atuar no metabolismo lipídico, sua suplementação em dietas com diferentes composições de ácidos graxos (como as dietas contendo óleo de soja ou peixe), pode ser benéfica, melhorando os parâmetros bioquímicos e a resistência ao estresse em animais submetidos à reprodução artificial. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de rações com inclusão de L-carnitina e diferentes fontes lipídicas, sobre parâmetros bioquímicos sanguíneos, atividade de enzimas do sistema antioxidante e a histologia de fígado e gônadas de matrizes de jundiá (*Rhamdia quelen*).

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Local e período de experimentação

O experimento foi realizado no Instituto de Pesquisa em Aquicultura Ambiental (InPAA) vinculado a Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *Campus* de Toledo, Paraná, Brasil (24°46'48.31"S; 53°43'25.77"W), durante 153 dias, no período de setembro de 2018 a janeiro de 2019. Os procedimentos laboratoriais foram realizados no Laboratório de Tecnologia da Reprodução de Animais Aquáticos (LATRAAC). Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná-Unioeste (CEUA/Unioeste).

3.2.2 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em um delineamento experimental inteiramente casualizado, em estrutura bi-fatorial 4 x 2, sendo quatro níveis de inclusão de L-carnitina (0, 150, 450, 750 mg kg⁻¹ de ração) e duas fontes lipídicas nas rações (óleo de soja e óleo de peixe marinho), resultando em oito tratamentos com três repetições.

Foram utilizados 360 juvenis, machos e fêmeas, de jundiá *R. quelen*, com peso inicial médio 167,33 ± 9,24 g. Os peixes foram alojados em 24 tanques-redes (malha 3 mm, e dimensões 4,0 m x 2,0 m), com 15 peixes por unidade experimental, na densidade de 2,5 animais · m⁻². Os tanques-redes foram distribuídos aleatoriamente em dois viveiros escavados, revestidos em alvenaria e com o fundo de terra, com dimensões de 20,0 m x 10,0 m. Os animais foram submetidos a condições de temperatura e fotoperíodo natural. A temperatura da água foi aferida diariamente utilizando um termômetro de mercúrio (mínima de 25,5°C e máxima de 28,0°C). O oxigênio (6,67 ± 0,16 mg · L⁻¹) e pH (7,11 ± 0,04) da água foram mensurados quinzenalmente, às 6h, utilizando um oxímetro YSI 550A (YSI Incorporated, Yellow Spring, EUA) e um pHmetro Tecnal Tec 5 (Tecnal Equipamentos Científicos, Piracicaba, Brasil).

3.2.3 Rações e manejo alimentar

As rações foram isoproteicas, com 36,2% de proteína bruta, e isoenergéticas, com 3.188,9 kcal de energia digestível kg⁻¹ de ração (Tabela1). Os valores de proteína e energia digestíveis foram calculados de acordo com Oliveira Filho e Fracalossi (2006). A formulação das dietas foi feita com base no conhecimento prévio da composição nutricional dos ingredientes (SANTOS; MEURER, 2020). Para a elaboração das rações, os ingredientes das dietas foram triturados em moinho de martelo, utilizando-se peneira de 0,5 mm (MEURER et al., 2005). Após a trituração, os ingredientes foram pesados, misturados e umedecidos com água (20% do peso total). A massa resultante foi peletizada em máquina de moer carne e, em seguida, as dietas foram secas em estufa com circulação de ar forçado entre 48 e 50 °C por 48 horas.

Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (às 10h e 16h) (SIDDIQUI et al., 1998; EL-SAYED et al., 2005), utilizando uma taxa de arraçoamento diário de 3% da biomassa, corrigida a partir de biometrias realizadas a cada 17 dias.

Tabela 1. Composição dos alimentos ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) e conteúdo de nutrientes das rações experimentais contendo níveis de inclusão de L-carnitina e diferentes fontes lipídicas utilizadas na alimentação do jundiá.

L-carnitina	0		150		450		750	
Óleo	Soja	Peixe	Soja	Peixe	Soja	Peixe	Soja	Peixe
Farinha de peixe* ¹	350	350	350	350	350	350	350	350
Farelo de soja ¹	352,7	352,7	352,7	352,7	352,7	352,7	352,7	352,7
Milho ¹	243,2	243,2	243,2	243,2	243,2	243,2	243,2	243,2
Óleo de soja ¹	40	-	40	-	40	-	40	-
Óleo de peixe ¹	-	40	-	40	-	40	-	40
Inerte ²	1	1	0,85	0,85	0,55	0,55	0,25	0,25
Premix – app ³	10	10	10	10	10	10	10	10
Sal comum	3	3	3	3	3	3	3	3
Antioxidante ⁴	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
L-carnitina	0	0	0,15	0,15	0,45	0,45	0,75	0,75
Nutrientes (%)								
Amido	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Cálcio	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
Cinzas	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Energia digestível ($\text{kcal} \cdot \text{kg}^{-1}$)	3188,9	3188,9	3188,9	3188,9	3188,9	3188,9	3188,9	3188,9
Energia bruta ($\text{kcal} \cdot \text{kg}^{-1}$)	4349,5	4349,5	4349,5	4349,5	4349,5	4349,5	4349,5	4349,5
Fibra bruta	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2
Fósforo total	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
Gordura	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7
Lisina total	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Met.+cistina total	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Proteína digestível	28,2	28,2	28,2	28,2	28,2	28,2	28,2	28,2
Proteína bruta	36,2	36,2	36,2	36,2	36,2	36,2	36,2	36,2

* Farinha integral de salmão. ¹Valores de digestibilidade para o jundiá determinados por Santos e Meurer (2020).

²Bentonita. ³Composição: Vitamina A: 1.000.000UI/kg, vitamina D3: 500.000UI/kg, vitamina E: 20.000UI/kg, vitamina K3: 500mg/kg, vitamina B1: 1.900mg/kg, vitamina B2: 2.000mg/kg, vitamina B6: 2.400mg/kg, vitamina B12: 3.500mcg/kg, vitamina C: 25g/kg, niacina: 5.000mg/kg, ácido pantotênico: 4.000mg/kg, ácido fólico: 200mg/kg, biotina: 40mg/kg, manganês: 7.500mg/kg, zinco: 25g/kg, ferro: 12,50g/kg, cobre: 2.000mg/kg, iodo: 200mg/kg, selênio: 70mg/kg, BHT: 300mg/kg. ⁴BHT.

3.2.4 Manejo reprodutivo

No período de maturação gonadal, ocorrido no mês de dezembro, todas as fêmeas foram submetidas ao protocolo de reprodução artificial. Os animais foram individualmente pesados, marcados e acondicionados (separados por tratamento) em caixas de água de 500 litros, dotadas de aeração e renovação constante de água, com temperatura mantida em $24 \pm 1,0$ °C.

Para a indução da ovulação, as fêmeas foram submetidas à manipulação hormonal, utilizando extrato de hipófise de carpa (CPE), o qual foi aplicado intramuscularmente, na região

dorsal do peixe, segundo a metodologia de Bombardelli et al. (2006). A aplicação do hormônio foi realizada em duas etapas, aplicando-se inicialmente uma dose de 0,5 mg de CPE kg de matriz⁻¹ e, após um período de doze horas, foi aplicada uma segunda dose de 5,0 mg de CPE kg de matriz⁻¹ (SANCHES et al., 2011).

Após um período de 240 unidades térmicas acumuladas (10 h, água a 24 ° C), contadas a partir da aplicação da segunda dose hormonal (SANCHES et al., 2011), foi realizada a coleta dos ovócitos a seco. Para a extrusão dos ovócitos, as fêmeas foram contidas e secas com pano e papel toalha, em seguida, foi aplicada massagem abdominal na direção cefalocaudal (WITECK et al., 2011), coletando os ovócitos com o uso de bacias secas. Após a desova, as fêmeas foram novamente estocadas em seus respectivos tanques-rede.

3.2.5 Coleta de sangue e tecidos para realização das análises

Ao final do período experimental, foi realizada a coleta de sangue e de órgãos de 120 fêmeas (5 fêmeas de cada unidade experimental), retiradas dos tanques-rede de forma aleatória.

Os jundiás foram anestesiados em benzocaína (100 mg·L⁻¹) e submetidos à coleta de 3 mL de sangue, por punção da veia caudal, utilizando seringas heparinizadas. Após, os animais foram eutanasiados por meio da imersão em benzocaína (250 mg·L⁻¹). Os peixes foram dissecados e extraídas as gônadas e o fígado, que foram armazenados em ultrafreezer a -80 °C até o momento de realização das análises.

3.2.6 Análise de parâmetros bioquímicos e enzimáticos

O sangue coletado foi submetido à separação do plasma, através de centrifugação (3.000 rpm, durante 3 minutos). Do plasma, foram analisados os parâmetros de glicose, triglicérides, colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e albumina, utilizando kits específicos para cada análise, todos da Gold Analisa Diagnóstica (Minas Gerais, Brasil). As análises foram realizadas conforme instruções do fabricante.

3.2.7 Análise da atividade enzimática

No fígado e nas gônadas, foram avaliadas a atividade de catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutatona S-transferase (GST). Antes da realização das análises, as amostras foram preparadas, sendo adicionado tampão fosfato salina e posteriormente homogeneizadas, centrifugadas a 11.000 rpm a 4 °C por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado, fracionado em microtubos, congelado e armazenado em ultra freezer a -80 °C para posteriores análises.

Uma fração da amostra preparada foi utilizada para a determinação da concentração de proteínas pelo método de Bradford (1976). Após a leitura da proteína, as amostras foram normalizadas para a concentração de 1 mg · mL⁻¹ para a realização dos ensaios posteriores.

Para a análise da atividade da enzima catalase seguiu-se a metodologia de Aebi (1984). Para a determinação da catalase em gônadas, foram utilizadas amostras brutas e posteriormente os resultados transformados para 1 mg de proteína por mL de amostra, devido à baixa atividade e dificuldade de leitura das amostras diluídas. A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada conforme Crouch et al. (1981). Para a determinação da atividade da glutatona S-transferase (GST), seguiu-se a metodologia descrita por Habig et al. (1976).

3.2.8 Histologia das gônadas e do fígado

De todas as fêmeas, amostras de fígado e das gônadas (porções medianas) foram fixadas em solução Karnovsky. Em seguida, o material foi desidratado pela passagem em séries crescentes de álcool, diafanizado em xilol e incluídos em parafina histológica. Os diferentes tecidos foram cortados em 7µm de espessura, os quais foram corados em hematoxilina e eosina (H.E.). As lâminas foram montadas em resina sintética Permout e fotografadas em microscopia óptica Eclipse E200 (Nikon, Tóquio, Japão).

Nas gônadas, foram avaliados os estágios de desenvolvimento do epitélio germinativo, (adaptado de TESSARO et al., 2014), sendo determinado o percentual de ovócitos vitelogênicos e não vitelogênicos.

No fígado, a avaliação se baseou na observação dos aspectos gerais do tecido hepático e verificação de alterações no padrão do tecido e especialmente quanto à presença de vacúolos citoplasmáticos. Foram utilizados como referência de avaliação do escore de vacuolização, os

trabalhos de Tessaro et al. (2014) e Caballero et al. (2004), com adaptações de acordo com o perfil das amostras. Foi atribuído um escore de vacuolização, onde 0= não observado, 1= poucos vacúolos, 2= vacuolização média, 3= vacuolização severa. O padrão considerado normal, ou com escore de vacuolização 0, foi aquele em que o tecido apresentava características e estruturas bem definidas, tais como vasos sanguíneos e biliares bem delimitados, hepatopâncreas e células sanguíneas bem marcadas, núcleos celulares evidentes. As avaliações do tecido hepático foram realizadas por meio da captura de imagens em objetiva de 40X, em campos aleatórios, em áreas adjacentes às veias centro lobulares.

3.2.9 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) bifatorial à um nível de 5% de significância, pelo procedimento Factorial Anova do *software* STATISTICA 7.1[®] (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Em caso de diferença significativa ($P \leq 0,05$), foi aplicado o teste de Duncan para verificar diferenças entre médias.

3.3 Resultados

3.3.1 Parâmetros bioquímicos e enzimáticos do sangue

Os resultados dos parâmetros de glicose, triglicerídeos, colesterol e lipoproteína de alta densidade (HDL) são apresentados na Tabela 2. Para a glicose plasmática, não houve efeito da interação entre L-carnitina e fontes lipídicas na dieta ($P > 0,05$), porém, a análise da L-carnitina isoladamente demonstrou que 750 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ de ração proporcionou maior nível de glicose plasmática, enquanto as dietas com 150 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ levaram ao menor nível de glicose sanguínea.

Para os triglicerídeos, foi observado efeito significativo ($P < 0,05$) da interação entre a L-carnitina e fontes lipídicas dietéticas, onde as dietas isentas de L-carnitina + óleo de peixe e a dieta contendo 450 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ + óleo de soja acarretaram em maior nível de triglicerídeos no sangue, enquanto as rações com 150 e 750 mg de L-carnitina + óleo de peixe

proporcionaram os menores níveis de triglicérides plasmáticos.

Também houve efeito da interação entre L-carnitina e fontes lipídicas dietéticas para os níveis de colesterol total e HDL ($P < 0,05$), onde a dieta contendo 450 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ + óleo de soja levou a maiores médias de colesterol e HDL. As matrizes alimentadas com a dieta contendo 750 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ + óleo de soja desenvolveram menor colesterol total.

A análise isolada da L-carnitina nas dietas mostrou que as fêmeas alimentadas com dietas contendo 450 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ apresentaram os maiores níveis de colesterol e HDL, enquanto a suplementação com 750 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ de ração levou às menores médias de colesterol e HDL ($P \leq 0,05$).

A análise isolada das fontes lipídicas levou a efeito significativo ($P < 0,05$) somente no nível de HDL, onde as dietas com óleo de soja proporcionaram matrizes com maior nível de HDL no sangue.

Tabela 2. Parâmetros bioquímicos (mg \cdot dL⁻¹) do sangue de fêmeas de jundiás alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.

L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)	Óleo	Glicose	Triglicerídeos	Colesterol	HDL
0	Soja	64,57±1,77	184,62±9,84 ab	137,15±9,95 bc	99,07±7,50 b
	Peixe	65,45±3,44	234,42±14,89 a	145,58±10,89 bc	84,31±1,40 b
150	Soja	60,06±3,61	163,01±15,92 b	135,57±6,37 bc	88,33±4,46 b
	Peixe	61,54±6,08	199,90±26,51 ab	157,51±7,45 b	91,11±8,18 b
450	Soja	69,49±3,63	250,62±50,41 a	183,87±6,50 a	123,75±5,83 a
	Peixe	73,33±2,72	198,55±11,43 ab	140,48±7,55 bc	83,93±3,71 b
750	Soja	72,89±2,73	216,60±11,55 ab	121,06±6,02 c	85,32±8,50 b
	Peixe	72,23±2,10	152,94±13,79 b	156,00±8,84 b	88,77±6,48 b
L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)					
0		65,05±1,95 bc	209,52±11,35	141,36±7,15 ab	91,69±4,50 ab
150		60,65±3,05 c	179,78±15,19	146,54±5,89 ab	89,16±3,73 ab
450		71,41±2,23 ab	221,69±23,31	159,76±9,00 a	99,86±7,17 a
750		72,63±1,75 a	181,23±14,15	138,53±7,70 b	86,88±5,26 b
Óleo					
	Soja	66,73±1,80	197,73±12,92	142,08±6,19	96,26±4,45 a
	Peixe	68,13±2,04	198,26±10,38	149,69±4,47	86,55±2,44 b
Efeitos					
Interação L-carnitina x óleo		0,9316	0,0136	0,0007	0,0044
L-carnitina		0,0053	0,1429	0,0561	0,0505
Óleo		0,5715	0,6206	0,3750	0,0119

HDL: Lipoproteína de alta densidade. Dados expressos em média \pm erro padrão. Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas, diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$)

A atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) são apresentadas na Tabela 3. Para a ALT, foi verificado efeito significativo da interação entre L-carnitina e fontes lipídicas ($P < 0,05$), onde dietas contendo 150 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ + óleo de soja levaram à maior atividade da ALT. Por outro lado, este mesmo nível associado ao óleo de peixe ocasionou em menor atividade da ALT no plasma sanguíneo das fêmeas de jundiá. O óleo de soja, isoladamente, acarretou maior ALT plasmático.

Para a AST não foi observada interação significativa entre L-carnitina e fontes lipídicas ($P > 0,05$), porém as análises isoladas tanto da L-carnitina como das fontes lipídicas foram significativas ($P \leq 0,05$). O nível de 150 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ de ração ocasionou em maior nível de AST em relação à dieta isenta de L-carnitina; enquanto o óleo de soja levou a peixes com menor nível de AST plasmática.

Na atividade da albumina, houve interação significativa ($P < 0,05$) entre a L-carnitina e as fontes lipídicas, onde o nível de 150 mg de L-carnitina associado ao óleo de peixe na dieta ocasionou em fêmeas com maior nível de albumina, em relação aos demais tratamentos.

Tabela 3. Atividade de enzimas metabólicas (ALT e AST em U/L) e albumina (g/dL) no sangue de fêmeas de jundiás alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.

L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)	Óleo	ALT	AST	Albumina
0	Soja	8,86±0,33 ab	50,47±14,85	1,11±0,06 b
	Peixe	5,99±0,64 bc	50,32±6,12	1,03±0,04 b
150	Soja	11,28±2,67 a	66,48±7,40	1,00±0,02 b
	Peixe	3,35±0,32 c	67,66±5,77	1,27±0,10 a
450	Soja	6,29±0,53 bc	50,24±12,97	1,12±0,04 b
	Peixe	5,55±0,44 bc	88,99±9,61	1,01±0,03 b
750	Soja	10,05±1,57 ab	43,57±4,73	1,07±0,05 b
	Peixe	8,85±0,94 ab	57,22±4,80	1,02±0,02 b
L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)				
0		7,66±0,53	50,38±6,08 b	1,07±0,04
150		7,68±1,88	67,00±4,56 a	1,10±0,06
450		5,87±0,34	64,77±10,96 ab	1,06±0,03
750		9,38±0,84	52,26±3,94 ab	1,05±0,03
Óleo		ALT	AST	Albumina
Soja		9,44±0,89 a	53,49±5,20 b	1,07±0,02
Peixe		5,96±0,56 b	62,62±4,12 a	1,07±0,03
Efeitos				
Interação L-carnitina x óleo		0,0487	0,1352	0,0009
L-carnitina		0,1531	0,0512	0,3342
Óleo		0,0031	0,0370	0,8044

ALT: Alanina aminotransferase; AST: Aspartato aminotransferase. Dados expressos em média \pm erro padrão. Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas, diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$)

3.3.2 Indicadores de estresse oxidativo

A interação entre L-carnitina e óleos levou a diferenças ($P < 0,05$) na atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) (Tabela 4). Para a SOD, as dietas contendo 450 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ de ração associada ao óleo de soja proporcionou maior atividade da SOD no fígado, e a ração contendo 450 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ associada ao óleo de peixe a atividade da SOD foi a menor entre as demais.

Tabela 4. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione s-transferase (GST) em fígado de fêmeas de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.

L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)	Óleo	SOD	CAT	GST
0	Soja	1,98±0,34 b	0,285±0,022 a	0,198±0,022
	Peixe	1,62±0,25 bc	0,165±0,023 b	0,168±0,019
150	Soja	1,35±0,19 bc	0,235±0,028 ab	0,191±0,016
	Peixe	1,32±0,13 bc	0,154±0,008 b	0,191±0,024
450	Soja	3,07±0,23 a	0,188±0,025 b	0,181±0,023
	Peixe	0,70±0,14 c	0,199±0,027 ab	0,187±0,024
750	Soja	1,67±0,19 bc	0,234±0,027 ab	0,173±0,015
	Peixe	1,76±0,25 b	0,264±0,028 a	0,189±0,017
L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)				
0		1,84±0,23	0,235±0,020	0,183±0,015
150		1,35±0,14	0,212±0,021	0,191±0,013
450		1,29±0,40	0,194±0,018	0,185±0,017
750		1,71±0,15	0,247±0,019	0,181±0,011
Óleo				
	Soja	1,78±0,16 a	0,243±0,014 a	0,186±0,009
	Peixe	1,37±0,14 b	0,202±0,015 b	0,183±0,010
Efeitos				
Interação L-carnitina x óleo		0,005	0,015	0,6782
L-carnitina		0,378	0,148	0,9720
Óleo		0,004	0,053	0,9060

SOD – superóxido dismutase (unidade de SOD.mg prot⁻¹); CAT – catalase (mmoles de H₂O₂ degradado.min⁻¹.mg prot⁻¹); GST – glutathione transferase (mM. min⁻¹.mg prot⁻¹). Dados expressos em média \pm erro padrão. Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas, diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$)

Para a atividade da CAT, as dietas isentas de L-carnitina + óleo de soja e 750 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ de ração + óleo de peixe apresentaram as maiores atividades desta enzima no

fígado, enquanto as dietas isentas de L-carnitina + óleo de peixe; 150 mg de L-carnitina · kg⁻¹ de ração + óleo de peixe e 450 mg de L-carnitina · kg⁻¹ de ração + óleo de soja proporcionaram as menores atividades da CAT.

Para SOD e CAT, a análise isolada dos óleos (soja e peixe) nas dietas demonstrou que o óleo de soja proporcionou maiores atividades enzimáticas, em relação ao óleo de peixe ($P \leq 0,05$).

No caso da enzima glutaciona-S-transferase (GST), sua atividade não foi diferente entre as fêmeas alimentadas com L-carnitina e óleos nas dietas ($P > 0,05$).

Na análise das enzimas antioxidantes nas gônadas das fêmeas, não foram observados efeitos significativos ($P > 0,05$) das dietas contendo níveis de L-carnitina e óleos de soja e peixe (Tabela 5).

Tabela 5. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutaciona s-transferase (GST) em ovários de fêmeas de jundiás alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.

L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)	Óleo	SOD	CAT	GST
0	Soja	0,058±0,011	0,296±0,026	0,066±0,005
	Peixe	0,056	0,351±0,040	0,053±0,003
150	Soja	1,332±0,648	0,275±0,022	0,054±0,004
	Peixe	2,252	0,312±0,044	0,056±0,005
450	Soja	0,900	0,290±0,016	0,057±0,006
	Peixe	0,544±0,50	0,281±0,034	0,063±0,004
750	Soja	0,499±0,002	0,270±0,030	0,058±0,003
	Peixe	0,537	0,267±0,023	0,057±0,004
L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)				
0		0,057±0,007	0,322±0,023	0,059±0,003
150		1,639±0,484	0,287±0,020	0,055±0,003
450		0,663±0,315	0,285±0,020	0,061±0,003
750		0,512±0,013	0,268±0,019	0,058±0,002
Óleo				
	Soja	0,668±0,248	0,283±0,012	0,059±0,002
	Peixe	0,787±0,411	0,303±0,018	0,057±0,002
Efeitos				
Interação L-carnitina x óleo		0,657	0,659	0,090
L-carnitina		0,097	0,275	0,699
Óleo		0,695	0,359	0,585

SOD – superóxido dismutase (unidade de SOD.mg prot⁻¹); CAT – catalase (mmoles de H₂O₂ degradado.min⁻¹ .mg prot⁻¹); GST – glutaciona transferase (mM. min⁻¹.mg prot⁻¹). Dados expressos em média ± erro padrão. Médias onde o erro padrão não é mostrado são resultado de somente um animal por tratamento.

3.3.3 Histologia dos ovários e do fígado

Todas as fêmeas avaliadas estavam “aptas a desovar” e as características desta fase incluem células germinativas em vários estágios de desenvolvimento, tais como ovogônias, ovócitos pré-vitelogênicos, ovócitos com deposição inicial de vitelo, mas há a predominância de ovócitos plenamente desenvolvidos (Figura 1). Ao analisar o percentual de ovócitos vitelogênicos, não foi observado efeito das dietas sobre este parâmetro ($P > 0,05$) (Tabela 6), e isto, possivelmente, está relacionado ao fato de que todas as fêmeas avaliadas estavam “aptas a desovar”.

Em relação aos ovócitos em crescimento primário ou pré-vitelogênicos, estes foram observados nos variados tamanhos e estágios, incluindo ovócitos com alvéolos corticais e nucléolos periféricos (perinucleolar) (Figura 2).

No citoplasma dos ovócitos desenvolvidos, foram visualizados glóbulos de vitelo em abundância e presença de alvéolos corticais que se concentraram na periferia das células. Ainda, houve um nítido espessamento da camada de células foliculares (Figura 3), quando comparado aos ovócitos em desenvolvimento inicial ou pré-vitelogênicos.

Em poucas amostras, foram observados ovócitos atrésicos (ovócitos que não foram ovulados e que serão reabsorvidos) (Figuras 4 e 5). Ainda na fase de apta a desovar, podem ocorrer complexos foliculares pós-ovulatórios, que indicariam “desova ativa”, mas esses não foram visualizados nas amostras observadas.

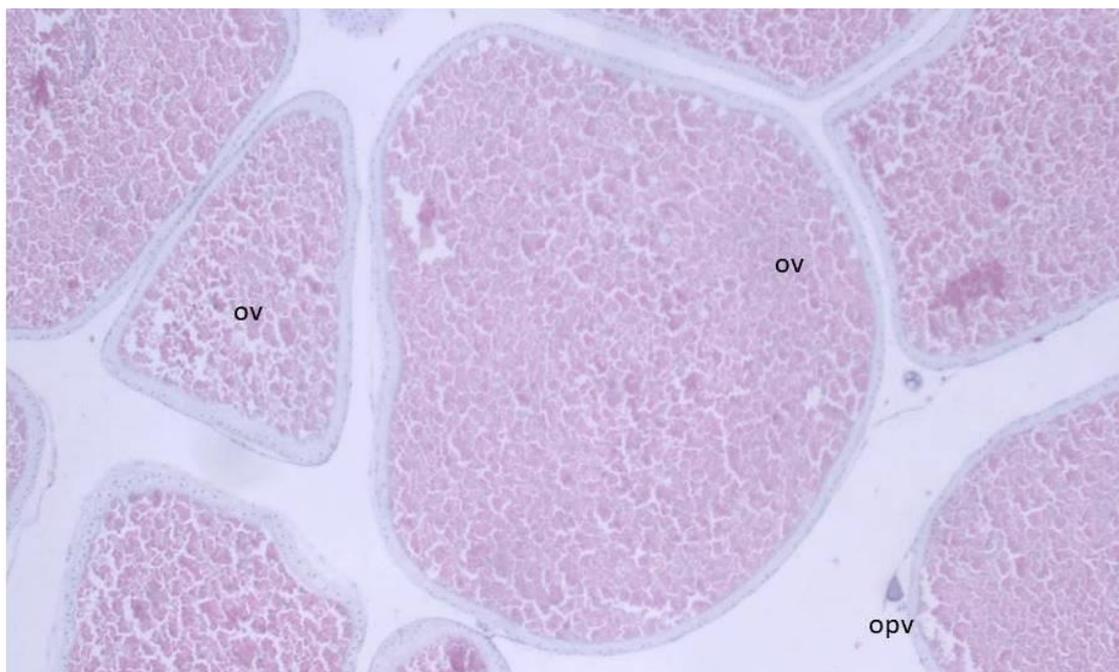


Figura 1. Ovário de fêmea de jundiá “apta a desovar”. Predominância de ovócitos vitelogênicos e presença de ovócitos em desenvolvimento. Ov= ovócito vitelogênico; opv= ovócito pré vitelogênico. H.E. 40x de aumento.

Tabela 6. Percentual de ovócitos vitelogênicos de fêmeas de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.

L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)	Óleo	Ovócitos vitelogênicos (%)
0	Soja	56,85±2,80
	Peixe	49,66±4,37
150	Soja	56,84±3,50
	Peixe	65,34±3,30
450	Soja	57,45±4,76
	Peixe	45,96±3,58
750	Soja	60,54±3,41
	Peixe	55,91±3,59
0		54,33±2,44
150		58,80±2,92
450		51,32±3,21
750		58,48±2,47
Óleo		
Soja		57,87±1,68
Peixe		52,25±2,25
Efeitos		
Interação L-carnitina x óleo		0,166
L-carnitina		0,107
Óleo		0,201

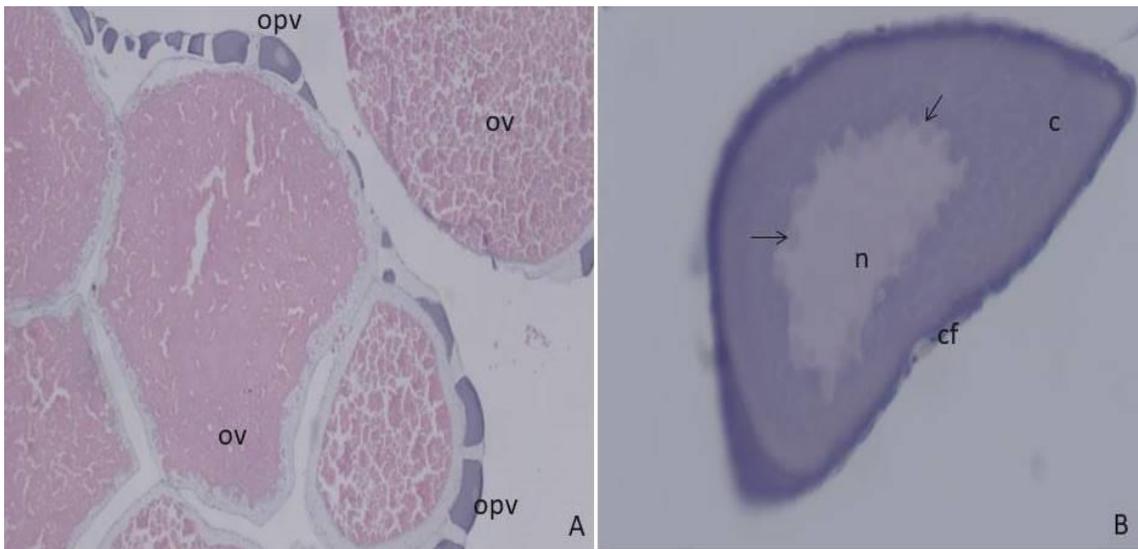


Figura 2. Ovócitos pré-vitelogênicos. A) opv= ovócito pré vitelogenico; ov= ovócito vitelogenico. H.E. 40x aumento. B) ovócito pré-vitelogenico perinucleolar. n=núcleo; c= citoplasma; cf= células foliculares; →nucléolos periféricos. H.E. 400x aumento.

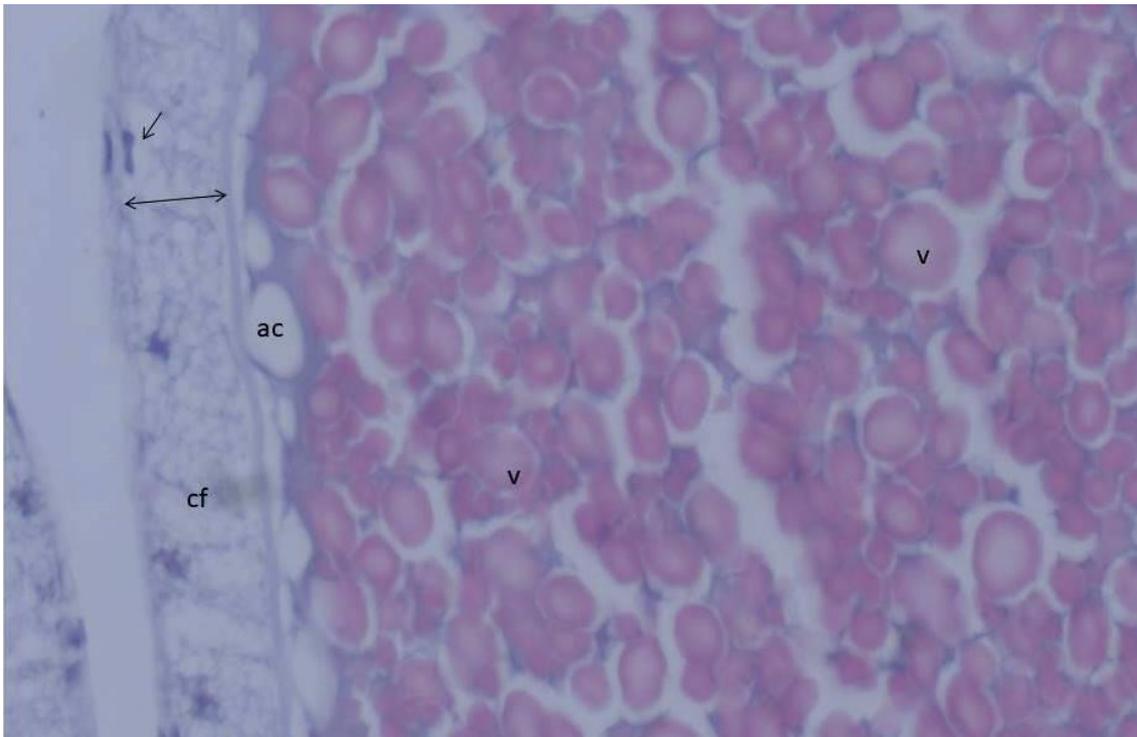


Figura 3. Ovócito vitelogenico. Glóbulos de vitelo bem definidos e ocupando todo o citoplasma e alvéolos corticais na periferia. v= Glóbulo de vitelo; ac= alvéolo cortical; cf= célula folicular; → núcleo da célula folicular; ↔= camada de célula folicular, notar espessura. H.E. 400x de aumento.

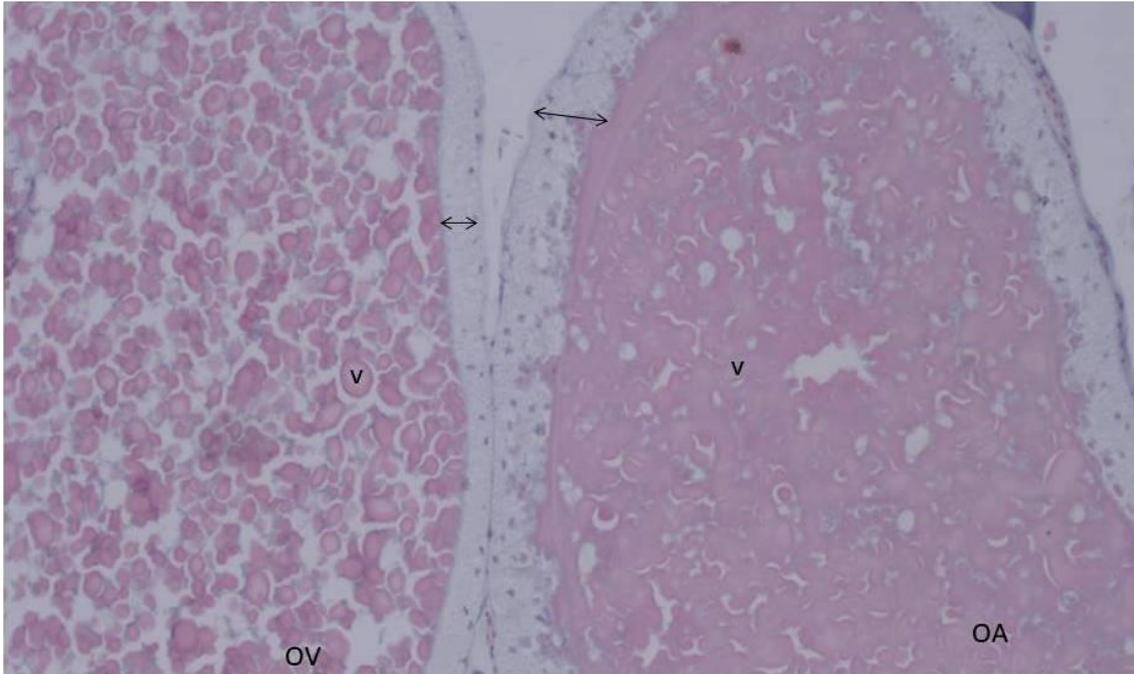


Figura 4. Diferença entre ovócito vitelogênico completamente desenvolvido e ovócito em atresia. Reparar a espessura e definição da camada de células foliculares e diferente aspecto dos glóbulos de vitelo. OV= ovócito vitelogênico; OA=ovócito em atresia; v= vitelo; ↔ camada de células foliculares. H.E. 100x aumento.

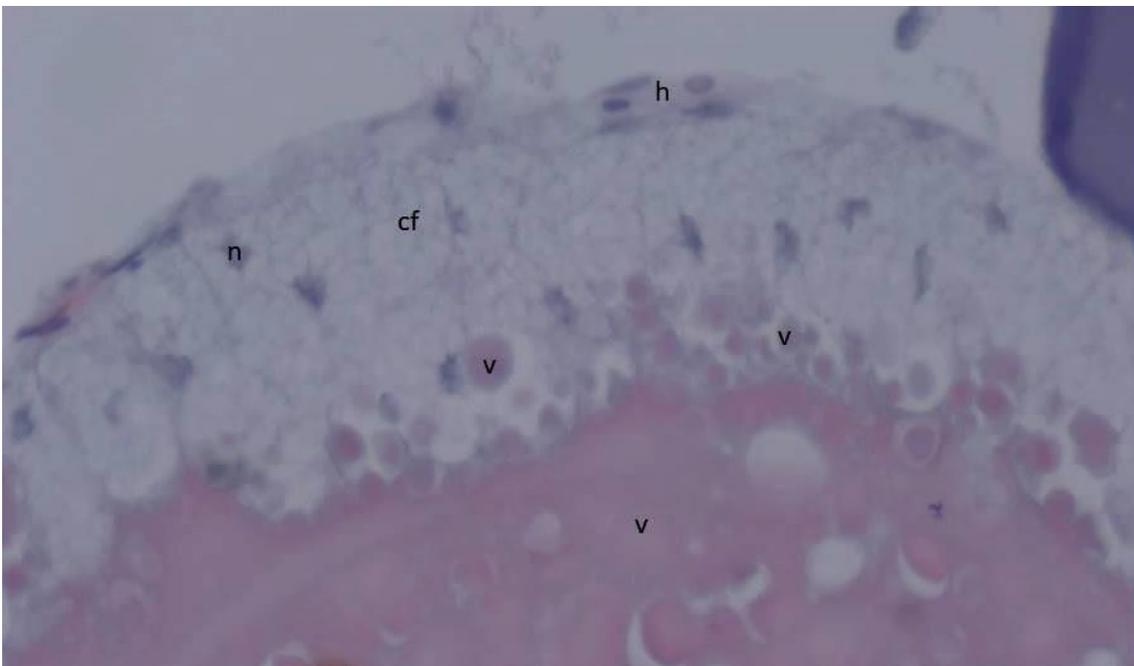


Figura 5. Ovócito em atresia. Nota-se o vitelo liquefeito e a perda de definição das camadas do folículo pela atividade das células foliculares hipertróficas englobando o vitelo. v= vitelo; cf= célula folicular; n= núcleo da célula folicular; h= hemácia. H.E. 400x de aumento.

As amostras de fígado das fêmeas apresentaram alguns problemas no processamento

e/ou armazenagem que afetaram a quantidade e a qualidade das lâminas. No que foi possível visualizar, o tecido hepático pareceu normal, sem a presença de vacúolos (Figura 6).

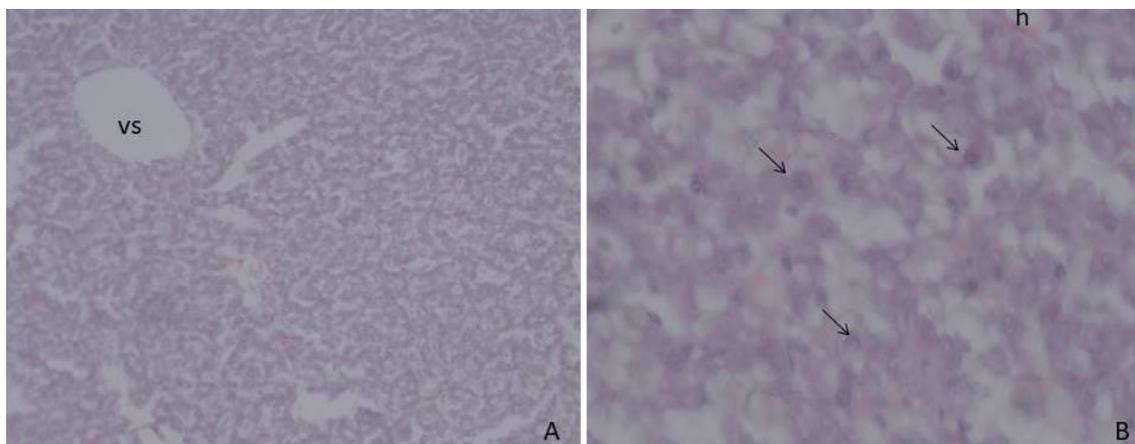


Figura 6. Tecido hepático de fêmea. A) Aspecto geral do tecido. vs= vaso sanguíneo. H.E. 100x de aumento. B) Detalhe do tecido. Células poliédricas e núcleos marcados (\rightarrow); vaso sanguíneo marcado pela presença de hemácias (h). H.E. 400x aumento.

3.4 Discussão

3.4.1 Parâmetros bioquímicos e enzimáticos

O aumento dos níveis de suplementação com L-carnitina elevou os níveis de glicose plasmática, o que sugere que as fêmeas alimentadas com maiores níveis de L-carnitina tinham menor capacidade de descarte de glicose, mostrando que a suplementação com L-carnitina possivelmente reduziu a utilização dos carboidratos (LI et al., 2020). A diminuição na utilização de glicose após a suplementação com L-carnitina em peixes é um mecanismo para neutralizar o aumento da β -oxidação de ácidos graxos, juntamente com a concentração reduzida de acil-CoA nos tecidos (LI et al., 2019). Estes resultados são condizentes com os obtidos para o linguado japonês (GAO et al., 2012), poleiro de prata (YANG et al., 2012), carpa comum (SABZI et al., 2017) e tilápia do Nilo (LI et al., 2020). Ao modular a razão acetil - CoA / CoA, a L-carnitina afeta o catabolismo de carboidratos e lipídios e a taxa do ciclo de Krebs em peixes. Assim, o catabolismo lipídico aumentado diminui a porção de energia proveniente da degradação da glicose e aumenta as concentrações dos intermediários metabólicos, resultando

em aumento da gliconeogênese e síntese de glicogênio em peixes (LI et al., 2019), o que é refletido no aumento dos níveis de glicose sanguínea após a suplementação com L-carnitina.

A suplementação com L-carnitina no maior nível testado (750 mg de L-carnitina · kg⁻¹ de ração), independentemente do tipo de óleo utilizado, demonstrou que tanto o colesterol total quanto a lipoproteína de alta densidade (HDL) foram menores. De fato, dietas com concentrações maiores de L-carnitina diminuíram as concentrações de colesterol e lipoproteína de baixa densidade (LDL), porém aumentaram as concentrações de glicose e HDL para a carpa comum (SABZI et al., 2017) e também para a tilápia do Nilo (CHEN et al., 2009). Sabe-se que em humanos e animais terrestres, a L-carnitina suplementar reduz triacilgliceróis séricos, colesterol, fosfolipídios e ácidos graxos livres (REBOUCHE, 1992). Aumentos no nível de L-carnitina no fígado e no soro podem acelerar o transporte da acetil-CoA desidrogenase para as mitocôndrias e, portanto, aumentar a oxidação dos ácidos graxos e diminuir os níveis sanguíneos de triglicerídeos (HARPAZ, 2005; CHEN et al., 2009).

Por outro lado, no presente estudo, observou-se um efeito interativo dos níveis de L-carnitina na ração com as diferentes fontes lipídicas testadas, mostrando, de forma geral, que o nível de 450 mg de L-carnitina associada ao óleo de soja proporcionou maiores níveis de triglicerídeos, colesterol total e HDL. As interações entre as diferentes fontes de gordura e doses de L-carnitina nas dietas podem provocar variações no metabolismo lipídico, que atuam modulando a gordura corporal dos peixes (LI et al., 2019). Esta variabilidade nas respostas dos parâmetros bioquímicos do sangue por diferentes níveis de L-carnitina e fontes de lipídios na dieta pode estar relacionada à capacidade de oxidação de ácidos graxos da L-carnitina (SABZI et al., 2017).

Sabe-se que a biossíntese de colesterol requer produção de sua molécula precursora, acetil-Co-A, enquanto a biossíntese de triglicerídeos também utiliza acetil-Co-A como substrato (SHARPE et al., 2006). Considerando que uma das funções da L-carnitina é modular a proporção de acetil-coenzima A (CoA)/CoA (OZÓRIO, 2009; ALTAMIMI et al., 2018), provavelmente o nível de 450 mg de L-carnitina associado ao óleo de soja levou a um aumento na razão acetil-CoA/CoA, alterando o metabolismo lipídico e, também, aprimorando o desempenho de crescimento, visto que as fêmeas que receberam rações com 450 mg de L-carnitina. kg⁻¹ de ração com o óleo de soja também apresentaram os maiores valores para os parâmetros de peso médio final, ganho em peso médio, maior índice hepatossomático e maior taxa de fertilização dos ovócitos (CARVALHO, 2019).

Os níveis das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) no sangue dos peixes são considerados importantes caracteres de diagnóstico (COZ-

RAKOVAC et al., 2005), sendo seus valores frequentemente usados na estimativa da saúde e condição dos peixes (XU et al., 2013). Níveis elevados de AST e ALT no sangue podem ser causados por danos no fígado, mas outros órgãos também podem ser afetados, como rins e guelras (SHAHSAVANI et al., 2010). Para a atividade da ALT, no presente estudo foi observado um efeito interativo dos níveis de L-carnitina com as fontes lipídicas. O menor nível de L-carnitina estudado (150 mg kg⁻¹ de ração) associado ao óleo de soja, levou a uma maior atividade da ALT no sangue, enquanto este mesmo nível associado ao óleo de peixe, acarretou menor concentração de ALT. A dieta com 150 mg de L-carnitina · kg⁻¹ associada ao óleo de peixe também induziu em maior concentração de albumina, em relação aos demais tratamentos.

Resultado parecido foi obtido em um estudo recente com o robalo (*Micropterus salmoides*), onde a substituição total do óleo de peixe por óleo de soja, aliado à suplementação de 0,02% de L-carnitina, levou à uma maior atividade da ALT plasmática (CHEN et al., 2020a). Portanto, o uso do óleo de soja pode causar danos à função hepática dos peixes, uma vez que tanto a ALT quanto a AST são indicadores comumente usados para avaliar a função hepática normal, e níveis elevados geralmente indicam dano às células hepáticas (PENG et al., 2016). Porém, neste estudo, para a atividade da AST no sangue, não foi observado efeito interativo da L-carnitina e fontes lipídicas, porém a análise isolada da L-carnitina demonstrou que houve maior atividade desta enzima nas fêmeas alimentadas com rações contendo 150 mg de L-carnitina. Apesar disso, Chen et al (2020a) ressaltam que a suplementação com L-carnitina melhorou a morfologia hepática, sugerindo que, apesar do óleo de soja causar danos na função hepática dos peixes, a suplementação dietética de L-carnitina pode melhorar a saúde hepática dos peixes.

3.4.2 Indicadores de estresse oxidativo

A reprodução é uma atividade que eleva a taxa metabólica por um longo período e provavelmente induz um aumento na produção de espécies reativas ao oxigênio (EROS) (ALONSO-ALVAREZ et al., 2004), e níveis intracelulares elevados de EROs causam danos aos lipídios, proteínas e DNA (SCHIEBER; CHANDEL, 2014). O sistema antioxidante SOD-CAT representa duas enzimas antioxidantes integradas que se relacionam alternadamente contra a produção excessiva de EROs (ABDEL-KHALEK et al., 2018). A superóxido dismutase (SOD) é uma enzima antioxidante que atua na linha de frente do combate às EROS,

transformando os nocivos radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que é um composto menos reativo (ROTLLANT et al., 2013). Então, a enzima catalase (CAT) atua convertendo o H_2O_2 produzido em compostos não reativos, como água e oxigênio (AHMED et al., 2006). Desta forma, essas enzimas exercem um efeito protetor contra o estresse oxidativo e a sua atividade serve como indicador do equilíbrio redox (LIMA, 2018).

Assim, normalmente se espera que as enzimas SOD e CAT apresentem um comportamento associado (ABDEL-KHALEK et al., 2018). Porém, no presente estudo, de forma geral, foi observada uma relação inversa entre a atividade da SOD e da CAT no fígado, onde os tratamentos com maior atividade da SOD apresentaram menor atividade da CAT. Este comportamento pode ser atribuído à uma superprodução de peróxido de hidrogênio pela enzima SOD (ABDEL-KHALEK et al., 2018), fato que possivelmente gerou um aumento das atividades de outra enzima antioxidante, a glutathiona peroxidase (GPx), que tem uma forte ação defensiva contra o H_2O_2 (ATLI et al., 2006; MANI et al., 2014). Além disso, a diminuição das atividades de CAT pode ser devida à ligação direta de íons metálicos aos grupos $-SH$ no sítio ativo da molécula de CAT (MANI et al., 2014). A relação inversa entre a atividade da SOD e da CAT no fígado de peixes já foi relatada por outros autores, como Abdel-Moneim et al. (2016), Okogwu et al. (2014), Saglam et al. (2014), Abdel-Khalek et al. (2018), entre outros.

Geralmente, o aumento dos antioxidantes enzimáticos nos tecidos corporais é relacionado com um melhor status antioxidante do indivíduo (SABZI et al., 2017; CHEN et al., 2020b). No fígado das fêmeas, o nível de 450 mg de L-carnitina $\cdot kg^{-1}$ de ração com o óleo de soja acarretou maior atividade da SOD, fato que demonstra que neste nível os animais sofreram menos estresse oxidativo que nos demais.

O papel da L-carnitina como antioxidante foi mencionado por Mohseni e Ozorio (2014) e Du et al. (2006). De fato, a suplementação com L-carnitina também foi eficaz para aumentar antioxidantes enzimáticos nos tecidos da dourada (MA et al., 2008), tilápias do Nilo da variedade GIFT (GOU et al., 2016) e carpa comum (SABZI et al., 2017). Além disso, a L-carnitina reduziu o conteúdo de produtos de peroxidação lipídica no sargo (MA et al., 2008) e na carpa comum (SABZI et al., 2017).

Os mecanismos para diminuição da peroxidação lipídica após a suplementação de L-carnitina estão relacionados à sua capacidade de reduzir o conteúdo de gordura nos tecidos, aumentando a oxidação de ácidos graxos, o que, por sua vez, melhora a capacidade antioxidante, que aumenta a imunidade e melhora a resistência a infecções bacterianas (DIAS et al., 2011; GOU et al., 2016).

O aumento da capacidade antioxidante nas fêmeas que receberam rações com 450 mg

de L-carnitina. kg^{-1} de ração com o óleo de soja se relacionou com o seu desempenho zootécnico e reprodutivo. As matrizes deste tratamento também apresentaram os maiores valores para os parâmetros de peso médio final e ganho em peso médio, além do maior índice hepatossomático e maior taxas de fertilização dos ovócitos (CARVALHO, 2019).

Para SOD e CAT, a análise isolada dos óleos (soja e peixe) nas dietas demonstrou que o óleo de soja proporcionou maiores atividades enzimáticas em relação ao óleo de peixe ($P < 0,05$).

As matrizes alimentadas com as rações contendo óleo de soja possivelmente estavam em situação de menor estresse oxidativo, uma vez que a atividade da SOD e da CAT no fígado das fêmeas que receberam estas dietas foi significativamente maior, em relação às alimentadas com rações contendo óleo de peixe. De fato, as menores taxas de fertilização foram registradas para as fêmeas alimentadas com as dietas contendo óleo de peixe (CARVALHO, 2019). Estes resultados indicam que o óleo de soja é um potencial substituto para o óleo de peixe na alimentação das matrizes de jundiá. Trabalho anterior também havia demonstrado que fêmeas de jundiá alimentadas com óleos vegetais (palma e soja) nas dietas apresentaram bom desempenho reprodutivo (HILBIG et al., 2019).

Apesar dos efeitos significativos das enzimas antioxidantes SOD e CAT no fígado, este comportamento não foi observado nas gônadas das fêmeas. Possivelmente, se deve ao fato de que, entre os tecidos, o fígado apresenta maiores ações diante do estresse oxidativo, por possuir as mais altas atividades de enzimas antioxidantes, fato que pode estar relacionado a este órgão ser o local de múltiplas reações oxidativas e geração máxima de radicais livres (ATLI et al. 2006). De fato, durante a execução da análise da SOD nas gônadas das fêmeas, foi verificado que diversos animais em cada tratamento apresentaram atividade da SOD não detectada (não foi verificada a inibição da oxidação do azul de nitrotetrazólio), o que pode ter influenciado na dispersão dos dados e ausência de efeitos significativos, visto que de alguns tratamentos só houve um animal onde foi detectada atividade da SOD. Um estudo anterior não observou atividade desta enzima em ovários de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de nucleotídeos (LIMA, 2018). Entretanto, sabe-se que a expressão da superóxido dismutase na gônada pode servir como um mecanismo de proteção dos ovos contra o aumento repentino das concentrações de espécies reativas ao oxigênio, decorrentes do metabolismo oxidativo após a fertilização (WILHELM FILHO et al., 1993). A atividade da superóxido dismutase foi verificada em ovários de diferentes espécies de peixes teleósteos marinhos (WILHELM FILHO et al., 1993) e em vieiras (*Chlamys farreri*) (WANG et al., 2018).

No caso da enzima glutationala-S-transferase (GST), sua atividade não foi diferente entre

as fêmeas alimentadas com L-carnitina e óleos nas dietas tanto no fígado quanto nas gônadas. A GST é uma enzima multicomponente envolvida na desintoxicação de muitos xenobióticos, bem como compostos reativos endógenos do metabolismo celular (MANI et al., 2014), desempenhando um papel importante na proteção dos tecidos contra o estresse oxidativo (FOURNIER et al., 1992). As células geralmente se adaptam ao estresse oxidativo, aumentando a síntese das defesas antioxidantes na tentativa de restaurar o equilíbrio oxidante/antioxidante; no entanto, nem sempre os mecanismos de adaptação envolvem o aumento de todas as defesas antioxidantes (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

3.5 Conclusão

A suplementação de 450 mg de L-carnitina · kg⁻¹ de ração, associada ao óleo de soja, pode alterar o metabolismo lipídico e influenciar positivamente o *status* antioxidante de fêmeas de jundiá (*R. quelen*).

3.6 Referências

- ABDEL-KHALEK, A.A.; ELHADDAD, E.; MAMDOUH, S. et al. The chronic exposure to discharges of sabal drain induces oxidative stress and histopathological alterations in *Oreochromis niloticus*. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v.101, n.1, p.92-98, 2018.
- ABDEL-MONEIM, A.M.; ESSAWY, A.E.; EL-DIN, N.K.B. et al. Biochemical and histopathological changes in liver of the Nile tilapia from Egyptian polluted lakes. **Toxicology and industrial health**, v.32, n.3, p.457-467, 2016.
- AEBI, H. Catalase in Vitro. **Methods in enzymology**, v.105, p.121-126, 1984.
- AHMED R.S.; SUKE S.G.; SETH V. et al. Impact of oral vitamin E supplementation on oxidative stress and lipid peroxidation in patients with polymorphous light. **Indian Journal of Medical Research and Pharmaceutical Sciences**, v.123, p.781-787, 2006.
- ALONSO-ALVAREZ, C.; BERTRAND, S.; DEVEVEY, G. et al. Increased susceptibility to oxidative stress as a proximate cost of reproduction. **Ecology letters**, v.7, n.5, p.363-368, 2004.
- ALTAMIMI, T.R.; THOMAS, P.D.; DARWESH, A.M. et al. Cytosolic carnitine acetyltransferase as a source of cytosolic acetyl-CoA: a possible mechanism for regulation of cardiac energy metabolism. **The Biochemical Journal**, v.475, n.5, p.959-976, 2018.

- ATLI, G.; ALPTEKIN, Ö.; TÜKEL, S. et al. Response of catalase activity to Ag⁺, Cd²⁺, Cr⁶⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v.143, n.2, p.218-224, 2006.
- AYISI, C.L.; YAMEI, C.; ZHAO, J. L. Genes, transcription factors and enzymes involved in lipid metabolism in fin fish. **Agri Gene**, v.7, p.7-14, 2018.
- BOMBARDELLI, R.A.; MÖRSCHBÄCHER, E.F.; CAMPAGNOLO, R. et al. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá cinza, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimardm, 1824). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1251-1257, 2006.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, n.1/2, p.248-254, 1976.
- CABALLERO, M.J.; IZQUIERDO, M.S.; KJRSVIK, E. 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**, v.27, p.531–541, 2004.
- CARVALHO, K.I.F.S. **Aspectos reprodutivos e zootécnicos de jundiá *Rhamdia quelen* alimentados com dietas contendo L-carnitina e diferentes fontes lipídicas**. 2019. 62f. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo.
- CHEN, G.; ZHANG, M.; ZHANG, J. et al. The effects of different levels of dietary protein and L-carnitine on blood sugar and lipids of the new GIFT strain of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **The Scientific World Journal**, v.9, p.1197-1205, 2009.
- CHEN, Y.; SUN, Z.; LIANG, Z. et al. Effects of dietary fish oil replacement by soybean oil and l-carnitine supplementation on growth performance, fatty acid composition, lipid metabolism and liver health of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. **Aquaculture**, v.516, p.734596. 2020a.
- CHEN, Y.; SUN, Z.; LIANG, Z. et al. Addition of l-carnitine to formulated feed improved growth performance, antioxidant status and lipid metabolism of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. **Aquaculture**, v.518, p.734434, 2020b.
- COZ-RAKOVAC, R.; STRUNJAK-PEROVIC, I.; HACMANJEK, M. et al. Blood chemistry and histological properties of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the North Adriatic Sea. **Veterinary research communications**, v.29, n.8, p.677-687, 2005.
- CROUCH, R. K.; GANDY, S. E.; KIMSEY, G. The inhibition of islet superoxide dismutase by diabetogenic drugs. **Diabetes**, v.35, p.235-41, 1981.
- DIAS, S.; OZÓRIO, R.O.A.; GONÇALVES, J. et al. Dietary L-carnitine supplementation protected Turbot (*Scophthalmus maximus*) against *Streptococcus parauberis* infection. **Journal of Applied Aquaculture**, v.23, n.4, p. 299– 303, 2011.

- DU, Z.U.; CLOUET, P.; ZHENG, W.H. et al. Biochemical hepatic alterations and body lipid composition in the herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed high-fat diets. **British Journal of Nutrition**, v.95, n.5, p. 905-915, 2006.
- EL-SAYED, A.F.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A. Effects of dietary lipid source on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.248, p.187–196, 2005.
- EMERY, J.A.; NORAMBUENA, F.; TRUSHENSKI, J. et al. Uncoupling EPA and DHA in fish nutrition: Dietary demand is limited in Atlantic salmon and effectively met by DHA alone. **Lipids**, v.51, n.4, p.399-412, 2016.
- WILHELM FILHO, D.; GIULIVI, C.; BOVERIS, A. Antioxidant defences in marine fish—I. Teleosts. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 106, n. 2, p. 409-413, 1993.
- FOURNIER, D.; BRIDE, J.M.; POIRIE, M. et al. Insect glutathione S-transferases. Biochemical characteristics of the major forms from houseflies susceptible and resistant to insecticides. **Journal of Biological Chemistry**, v.267, n.3, p.1840-1845, 1992.
- GAO, X.Q.; TIAN, Q.J.; SHI, H.Y. et al. Effects of dietary L-carnitine on growth performance, body composition and blood parameters of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) juvenile. **Journal of Guangdong Ocean University**, v.32, n.1, p. 39–46, 2012.
- GOU, G.W.; JIANG, M.; WEN, H. et al. Effects of dietary L-carnitine supplementation on growth, hepatic lipid metabolism and antioxidant ability in GIFT, *Oreochromis niloticus*. **Freshwater Fisheries**, v.46, n.5, p.81–88, 2016.
- GUILOSKI, I.C.; PIANCINI, L.D.S.; DAGOSTIM, A.C. et al. Effects of environmentally relevant concentrations of the anti-inflammatory drug diclofenac in freshwater fish *Rhamdia quelen*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.139, p.291-300, 2017.
- HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JACOBY, W. B. Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry**, v.249, p.7130-7139, 1976.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M. **Free radicals in biology and medicine**. 4 ed. Oxford University Press: Oxford, 2007.
- HARPAZ, S. L-Carnitine and its attributed functions in fish culture and nutrition—a review. **Aquaculture**, v.249, p. 3– 21, 2005.
- HILBIG, C.C.; NASCIMENTO, N.F.D.; HEINEN, A. L. et al. Effects of dietary fatty acids on the reproduction of South American female catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). **Latin american journal of aquatic research**, v.47, n.3, p.456-466, 2019.
- IZQUIERDO, M.S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A.G.J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v. 197, n. 1-4, p. 25-42, 2001.
- JOBLING, M. Fish nutrition research: past, present and future. **Aquaculture international**, v. 24,

- n. 3, p. 767-786, 2016.
- LI, J.M.; LI, L.Y.; QIN, X. et al. Systemic regulation of L-carnitine in nutritional metabolism in zebrafish, *Danio rerio*. **Scientific reports**, v.7, n.1, p.1-14, 2017.
- LI, L.Y.; LIMBU, S.M.; MA, Q. et al. The metabolic regulation of dietary L-carnitine in aquaculture nutrition: present status and future research strategies. **Reviews in Aquaculture**, v.11, n.4, p.1228-1257, 2019.
- LI, L.Y.; LU, D.L.; JIANG, Z.Y. et al. Dietary L-carnitine improves glycogen and protein accumulation in Nile tilapia via increasing lipid-sourced energy supply: An isotope-based metabolic tracking. **Aquaculture Reports**, v.17, p.100302, 2020.
- LIMA, S.A. **Nucleotídeos purificados na dieta de fêmeas de tilápia do Nilo em reprodução**. 2018. 59 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo.
- MA, J.J.; XU, Z.R.; SHAO, Q.J. et al. Effect of dietary supplemental L-carnitine on growth performance, body composition and antioxidant status in juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*. **Aquaculture Nutrition**, v.14, n.5, p. 464–471, 2008.
- MANI, R., MEENA, B., VALIVITTAN, K. et al. Glutathione-S-transferase and catalase activity in different tissues of marine catfish *Arius arius* on exposure to cadmium. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.6, n.1, 326-332, 2014.
- MEURER, F.; BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C. et al. Grau de moagem dos alimentos em rações para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. **Acta Scientiarum**, v.27, n.1, p.81-85, 2005.
- MOHSENI, M.; OZORIO, R.O.S. Effects of dietary l-carnitine level on growth performance, body composition and antioxidant status beluga (*Huso huso* L. 1758). **Aquaculture Nutrition**, v.20, p. 477-485, 2014.
- OKOGWU, O.I.; XIE, P.; ZHAO, Y. et al. Organ-dependent response in antioxidants, myoglobin and neuroglobin in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to MC-RR under varying oxygen level. **Chemosphere**, v.112, p. 427-434, 2014.
- OLIVEIRA FILHO, P.R.C.; FRACALOSSO, D.M. Coeficientes de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1581-1587, 2006.
- OZÓRIO, R.O. Dietary L-carnitine supplementation to cultivated fish: a mini-review. **Current Nutrition & Food Science**, v.5, n.1, p. 40-48, 2009.
- PENG, X.; LI, F.; LIN, S. et al. Effects of total replacement of fish oil on growth performance, lipid metabolism and antioxidant capacity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture international**, v.24, n.1, p.145-156, 2016.
- PRICE, P.T.; NELSON, C.M.; CLARKE, S.D. Omega-3 polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. **Current opinion in lipidology**, v.11, n.1, p.3-7, 2000.

- REBOUCHE, C. J. Carnitine function and requirements during the life cycle. **The FASEB Journal**, v.6, n.15, p.3379-3386, 1992.
- ROTLLANT, G.; ROQUE, A.; SOLÉ, M. et al. Assessment of the effects of confinement in the spider crab *Maja brachydactyla* Blass, 1922 broodstock. **Aquaculture Research**, v.44, n.3, p.412-426, 2013.
- SABZI, E.; MOHAMMADIAZARM, H.; SALATI, A.P. Effect of dietary l-carnitine and lipid levels on growth performance, blood biochemical parameters and antioxidant status in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, v.480, p.89-93, 2017.
- SAGLAM, D.; ATLI, G.; DOGAN, Z. et al. Response of the antioxidant system of freshwater fish (*Oreochromis niloticus*) exposed to metals (Cd, Cu) in differing hardness. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.14, n.1, p.43-52, 2014.
- SANCHES, E.A.; BAGGIO, D.M.; PIANA, P.A. et al. Artificial fertilization of oocytes and sperm activation in pacu: effects of the spermatozoa:oocyte ratio, water volume, and in natura semen preservation, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.1, p.1-6, 2011.
- SANTOS, H.K.D.; MEURER, F. Nutrition and feeding aspects for jundiá (*Rhamdia quelen*) nutrition and feeding. **Reviews in Aquaculture**, v.12, n.1, p. 299-309, 2020.
- SCHIEBER, M.; CHANDEL, N.S. ROS function in redox signaling and oxidative stress. **Current biology**, v.24, n.10, p.453-462, 2014.
- SHARPE, R. L.; DROLET, M.; MACLATCHY, D. L. Investigation of de novo cholesterol synthetic capacity in the gonads of goldfish (*Carassius auratus*) exposed to the phytosterol beta-sitosterol. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.4, n.1, p.60, 2006.
- SHAHSAVANI, D.; MOHRI, M.; KANANI, H. G. Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. **Fish physiology and biochemistry**, v.36, n.1, p.39-43, 2010.
- SIDDIQUI, A.Q.; AL-HARBI, A.H.; AL-HAFEDH, Y.S. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, v.29, p.349–358, 1998.
- TESSARO, L.; TOLEDO, C.P.R.; NEUMANN, G. et al. Animal performance and reproductive aspects of female *Rhamdia quelen* fed on different levels of digestible energy. **Aquaculture Research**, v.45, p.1425–1433, 2014.
- TOCHER, D.R. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. **Aquaculture Research**, v.41, n.5, p.717-732, 2010.
- VARGAS, R.J.; GARCIA, A.S.; BAGGIO, S. R. A combination of plant oils promotes adequate growth of the freshwater catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824). **Aquaculture research**, v.46, n.12, p.3046-3055, 2015.
- WANG, M.; WANG, B.; JIANG, K. et al. A mitochondrial manganese superoxide dismutase involved in innate immunity is essential for the survival of *Chlamys farreri*. **Fish and Shellfish**

Immunology, v.72, p.282–290, 2018.

WITECK, L.; BOMBARDELLI, R.A.; SANCHES, E.A. et al. Sperm motility, oocyte fertilization and egg hatching on Jundiá catfish in cadmium contaminated water. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 3, p. 477-481, 2011.

YANG, S.D.; LIU, F.G.; LIOU, C.H. Effects of dietary L-carnitine, plant proteins and lipid levels on growth performance, body composition, blood traits and muscular carnitine status in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). **Aquaculture**, v.342, p.48-55, 2012.

YILDIZ, M.; EROLDUĞAN, T.O.; OFORI-MENSAH, S. et al. The effects of fish oil replacement by vegetable oils on growth performance and fatty acid profile of rainbow trout: Re-feeding with fish oil finishing diet improved the fatty acid composition. **Aquaculture**, v.488, p.123-133, 2018.

XU, W.N.; LI, J.Y.; LI, X.F. et al. Alterations of liver histology and blood biochemistry in blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* fed high-fat diets. **Fisheries Science**, v.79, n.4, p.661-671, 2013.

4 L-CARNITINA E FONTES LIPÍDICAS NA DIETA SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS E *STATUS* ANTIOXIDANTE DE REPRODUTORES DE JUNDIÁS

RESUMO: Objetivando-se avaliar o efeito de rações com inclusão de L-carnitina e fontes lipídicas sobre parâmetros bioquímicos, atividade de enzimas do sistema antioxidante e histologia de fígado e gônadas de reprodutores de jundiá, foi conduzido um experimento em esquema fatorial 4x2, sendo quatro níveis de inclusão de L-carnitina (0, 150, 450, 750 mg·kg⁻¹ de ração) e duas fontes lipídicas (óleos de soja e de peixe marinho), totalizando oito tratamentos com três repetições. Os machos (167,33±9,24 g) foram alimentados por 153 dias com as dietas isoprotéicas (36,2% de proteína bruta) e isoenergéticas (3188,9 kcal de energia digestível·kg⁻¹). Foram analisados glicose, triglicérides, colesterol, lipoproteína de alta densidade (HDL), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e albumina plasmáticos. No fígado e gônadas, foram analisadas a histologia e a atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase e glutathione S-transferase. A dieta com 750 mg de L-carnitina + óleo de peixe levou à menor média de HDL e maiores glicose plasmática e atividade da SOD nos testículos. O maior nível de colesterol foi observado nas dietas contendo 150 mg de L-carnitina. As dietas contendo óleo de peixe proporcionaram animais com maiores médias para glicose, triglicérides, colesterol, ALT e albumina, e menor AST. Não houve efeito das dietas sobre a atividade das enzimas antioxidantes no fígado. Conforme análise histológica, todos os machos estavam aptos a espermiar, e no fígado não foi verificada a presença de vacúolos. Conclui-se que a utilização do óleo de peixe induziu respostas negativas no metabolismo lipídico; porém, a associação de 750 mg de L-carnitina · kg⁻¹ de ração com o óleo de peixe, pode influenciar positivamente o *status* antioxidante de machos de jundiá.

Palavras-chave: aquicultura; enzimas antioxidantes, metabolismo lipídico, *Rhamdia quelen*.

L-CARNITINE AND LIPID SOURCES IN THE DIET ON BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS AND ANTIOXIDANT STATUS OF JUNDIÁ MALES

ABSTRACT: In order to evaluate the effect of diets with inclusion of L-carnitine and lipid sources on biochemical parameters, activity of antioxidant enzymes, and histology of liver and gonads of jundiá males, an experiment was conducted in a 4x2 factorial arrangement, with four inclusion levels of L-carnitine (0, 150, 450, 750 mg kg⁻¹ feed) and two lipid sources (soybean oil and marine fish oil), totaling eight treatments with three repetitions. Glucose, triglycerides, cholesterol, high-density lipoprotein (HDL), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and plasma albumin were analyzed. Liver and gonads were analyzed for histology and activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione S-transferase (GST). The diet with 750 mg L-carnitine combined fish oil resulted in the lowest mean value of HDL and higher mean levels of plasma glucose and SOD activity in testicles. The highest cholesterol level was found with diets containing 150 mg L-carnitine. Diets containing fish oil provided animals with higher averages for glucose, triglycerides, cholesterol, ALT and albumin, and lower AST. There was no effect of diets on the activity of antioxidant enzymes in the liver. According to histological analysis, all males were able to spermiate, and their liver cells showed no vacuoles. The supplementation with fish oil induced negative responses in lipid metabolism; however, the combination of 750 mg L-carnitine kg⁻¹ feed and fish oil can positively influence the antioxidant status of jundiá males.

Key Words: aquaculture; antioxidant enzymes, lipid metabolism, *Rhamdia quelen*.

4.1 Introdução

Os ácidos graxos atuam no metabolismo como fonte de energia para crescimento e movimento, sendo também a principal fonte de energia metabólica na reprodução (TOCHER, 2003). A importância dos lipídios alimentares na reprodução tem sido amplamente descrita na literatura, no entanto, os experimentos nutricionais geralmente se concentram na qualidade das larvas e reprodução das fêmeas, ignorando os efeitos da dieta no desempenho reprodutivo dos machos (BAEZA et al., 2014). Nos machos, a composição dietética de ácidos graxos fornece fluidez à membrana espermática, necessária para a funcionalidade da membrana e ao processo de fertilização (WATHES et al., 2007).

Como os peixes não podem sintetizar todos os ácidos graxos, é necessário suplementar os ácidos graxos essenciais na dieta para o crescimento e a reprodução normais (PENG et al., 2016). Os óleos de peixes marinhos são ricos em ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) de cadeia longa da série n-3, sendo estes componentes essenciais das membranas biológicas de todas as células e tecidos e desempenhando papel crucial na reprodução (NAYAK et al., 2017). Porém, a produção global limitada de óleo de peixe pode não atender à crescente demanda da aquicultura, tornando necessária a procura de fontes lipídicas adequadas para substituir o óleo de peixe, a fim de promover o desenvolvimento sustentável da aquicultura (CHEN et al., 2020a).

Os principais substitutos do óleo de peixe em rações para animais aquáticos são os óleos vegetais. Os óleos vegetais são ricos em AGPI de 18 carbonos, como ácido α -linolênico (ALA) e ácido linoleico (LA), mas baixos em AGPI de cadeia longa da série n-3 (TURCHINI et al., 2009). O uso dos óleos vegetais em peixes de água doce é possível pois, em geral, estes animais têm alta capacidade de converter os AGPI de 18 carbonos em AGPIs de cadeia longa, como ácido araquidônico, ácido eicosapentaenoico e ácido docosaenoico (REN et al., 2012). Dentre os óleos vegetais mais comuns utilizados, o óleo de soja oferece preços competitivos, alta disponibilidade no mercado mundial e é rico em ácido linoleico (NG; WANG, 2011).

Durante o período reprodutivo, a substituição do óleo de peixe por óleos vegetais tem sido relatada com sucesso para algumas espécies (NG; WANG, 2011; AGH et al., 2019; SARAMEH et al., 2019), incluindo para fêmeas de jundiás (HILBIG et al., 2019). Porém, os efeitos da substituição do óleo de peixe por óleos vegetais para peixes reprodutores ainda não estão completamente elucidados. Assim, mais estudos são necessários para explorar possíveis maneiras de melhorar o metabolismo lipídico e mitigar ou eliminar os efeitos da substituição

do óleo de peixe pelo óleo vegetal (CHEN et al., 2020a).

Nesse sentido, a L-carnitina desempenha um papel importante na regulação do metabolismo lipídico em peixes, atuando no transporte de ácidos graxos de cadeia longa para a mitocôndria, local onde ocorre o processo de beta oxidação (OZÓRIO, 2009). Diversos benefícios têm sido atribuídos à suplementação de L-carnitina nas dietas para peixes, como promoção do crescimento, redução no teor de gordura corporal, proteção contra agentes estressores e melhora do sistema imunológico (LI et al., 2019). A L-carnitina também vem sendo estudada por sua capacidade de aumentar antioxidantes enzimáticos, promovendo uma melhora no *status* antioxidante do animal (MA et al., 2008; CHEN et al., 2020b).

Considerando que uma das funções da L-carnitina é atuar no metabolismo lipídico, sua suplementação em dietas com diferentes composições de ácidos graxos (como as dietas contendo óleo de soja ou peixe), pode ser benéfica, melhorando os parâmetros bioquímicos e a resistência ao estresse em animais submetidos à reprodução artificial. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar parâmetros bioquímicos sanguíneos, a atividade de enzimas do sistema antioxidante e histologia do fígado e gônadas de reprodutores de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com rações contendo níveis crescentes de L-carnitina e diferentes fontes lipídicas (óleos de soja e de peixe marinho).

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Local e período de experimentação

O experimento foi realizado no Instituto de Pesquisa em Aquicultura Ambiental (InPAA) vinculado a Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *Campus* de Toledo, Paraná, Brasil (24°46'48.31"S; 53°43'25.77"W), durante 153 dias, no período de setembro de 2018 a janeiro de 2019. Os procedimentos laboratoriais foram realizados no Laboratório de Tecnologia da Reprodução de Animais Aquáticos (LATRAAC). Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Uso de Animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná-Unioeste (CEUA/Unioeste).

4.2.2 Animais, instalações e delineamento experimental

Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, em estrutura bi-fatorial 4 x 2, sendo quatro níveis de inclusão de L-carnitina (0, 150, 450, 750 mg kg⁻¹ de ração) e dois tipos de óleos nas rações (óleo de soja e óleo de peixe marinho), resultando em oito tratamentos com três repetições.

Foram utilizados 360 juvenis, machos e fêmeas, de jundiá *R. quelen*, com peso inicial médio 167,33 ± 9,24 g. Os peixes foram alojados em 24 tanques-redes (malha 3 mm, e dimensões 4,0 m x 2,0 m), com 15 peixes por unidade experimental, na densidade de 2,5 animais · m⁻². Os tanques-redes foram distribuídos aleatoriamente em dois viveiros escavados, revestidos em alvenaria e com o fundo de terra, com dimensões de 20,0 m x 10,0 m. Os animais foram submetidos a condições de temperatura e fotoperíodo natural. A temperatura da água foi aferida diariamente, utilizando um termômetro de mercúrio (mínima de 25,5°C e máxima de 28,0°C). O oxigênio (6,67 ± 0,16 mg · L⁻¹) e pH (7,11 ± 0,04) da água foram mensurados quinzenalmente, às 6h, utilizando um oxímetro YSI 550A (YSI Incorporated, Yellow Spring, EUA) e um pHmetro Tecnal Tec 5 (Tecnal Equipamentos Científicos, Piracicaba, Brasil).

4.2.3 Rações e manejo alimentar

As rações foram isoproteicas (36,2% de proteína bruta) e isoenergéticas (3.188,9 kcal de energia digestível kg⁻¹ de ração) (Tabela 1), sendo os valores de proteína e energia digestíveis calculados conforme Oliveira-Filho e Fracalossi (2006). A formulação das dietas foi feita com base no conhecimento prévio da composição nutricional dos ingredientes (SANTOS; MEURER, 2020). Para a elaboração das rações, os ingredientes das dietas foram triturados em moinho de martelo, com peneira de 0,5 mm (MEURER et al., 2005). Após moagem, os ingredientes foram pesados, misturados e umedecidos com 20% de água. A massa resultante foi peletizada em moedor de carne e posteriormente as rações foram secas em estufa com circulação de ar forçado (entre 48 e 50 °C) por 48 horas.

Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, às 10h00 e às 16h00 (SIDDIQUI et al., 1998; EL-SAYED et al., 2005), utilizando uma taxa de arraçoamento diário de 3% da biomassa, calculada a partir de biometrias realizadas a cada 17 dias.

Tabela 1. Composição dos alimentos ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) e conteúdo de nutrientes das rações experimentais contendo níveis de inclusão de L-carnitina e diferentes fontes lipídicas utilizadas na alimentação do jundiá.

L-carnitina	0		150		450		750	
Óleo	Soja	Peixe	Soja	Peixe	Soja	Peixe	Soja	Peixe
Farinha de peixe* ¹	350	350	350	350	350	350	350	350
Farelo de soja ¹	352,7	352,7	352,7	352,7	352,7	352,7	352,7	352,7
Milho ¹	243,2	243,2	243,2	243,2	243,2	243,2	243,2	243,2
Óleo de soja ¹	40	-	40	-	40	-	40	-
Óleo de peixe ¹	-	40	-	40	-	40	-	40
Inerte ²	1	1	0,85	0,85	0,55	0,55	0,25	0,25
Premix – app ³	10	10	10	10	10	10	10	10
Sal comum	3	3	3	3	3	3	3	3
Antioxidante ⁴	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
L-carnitina	0	0	0,15	0,15	0,45	0,45	0,75	0,75
Nutrientes (%)								
Amido	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Cálcio	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
Cinzas	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Energia digestível ($\text{kcal} \cdot \text{kg}^{-1}$)	3188,9	3188,9	3188,9	3188,9	3188,9	3188,9	3188,9	3188,9
Energia bruta ($\text{kcal} \cdot \text{kg}^{-1}$)	4349,5	4349,5	4349,5	4349,5	4349,5	4349,5	4349,5	4349,5
Fibra bruta	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2
Fósforo total	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
Gordura	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7
Lisina total	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Met.+cistina total	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Proteína digestível	28,2	28,2	28,2	28,2	28,2	28,2	28,2	28,2
Proteína bruta	36,2	36,2	36,2	36,2	36,2	36,2	36,2	36,2

* Farinha integral de salmão. ¹Valores de digestibilidade para o jundiá (SANTOS; MEURER, 2020). ²Bentonita.

³Composição: Vitamina A: 1.000.000UI/kg, vitamina D3: 500.000UI/kg, vitamina E: 20.000UI/kg, vitamina K3: 500mg/kg, vitamina B1: 1.900mg/kg, vitamina B2: 2.000mg/kg, vitamina B6: 2.400mg/kg, vitamina B12: 3.500mcg/kg, vitamina C: 25g/kg, niacina: 5.000mg/kg, ácido pantotênico: 4.000mg/kg, ácido fólico: 200mg/kg, biotina: 40mg/kg, manganês: 7.500mg/kg, zinco: 25g/kg, ferro: 12,50g/kg, cobre: 2.000mg/kg, iodo: 200mg/kg, selênio: 70mg/kg, BHT: 300mg/kg. ⁴BHT.

4.2.4 Manejo reprodutivo

No período de maturação gonadal, ocorrido no mês de dezembro, todos os machos das unidades experimentais foram submetidos a reprodução artificial. Os animais foram individualmente pesados, marcados e acondicionados (separados por tratamento) em caixas de água de 500 litros, dotadas de aeração e renovação constante de água. Para a indução da espermiacção, foi realizada aplicação de 3,0 mg de extrato de hipófise de carpa $\cdot \text{kg}$ de reprodutor⁻¹ (BOMBARDELLI et al., 2016).

A coleta do sêmen foi realizada individualmente após o período correspondente a 240 unidades térmicas acumuladas (dez horas, água a 24 °C), contadas a partir do momento da aplicação do hormônio (SANCHES et al., 2010). Após a coleta de sêmen, os machos foram novamente estocados em seus respectivos tanques-rede.

4.2.5 Coleta de órgãos para realização das análises

Ao final do período experimental, foi realizada a coleta de sangue e de órgãos de 120 machos (5 machos de cada unidade experimental), retirados dos tanques-rede de forma aleatória.

Os jundiás foram anestesiados em benzocaína (100 mg · L⁻¹) e submetidos à coleta de 3 mL de sangue, por punção da veia caudal, utilizando seringas heparinizadas. Após, os animais foram eutanasiados por imersão em benzocaína (250 mg · L⁻¹). Os peixes foram dissecados e extraídas as gônadas e o fígado, que foram armazenados em ultrafreezer a -80 °C até o momento da realização das análises.

4.2.6 Análise de parâmetros bioquímicos e enzimáticos

O sangue coletado foi submetido a separação do plasma, através de centrifugação (3.000 rpm, durante 3 minutos). Do plasma, foram analisados os parâmetros de glicose, triglicérides, colesterol total, colesterol HDL, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e albumina, utilizando kits específicos para cada análise, todos da Gold Analisa Diagnóstica (Minas Gerais, Brasil). As análises foram realizadas conforme instruções do fabricante.

4.2.7 Análise da atividade de enzimas antioxidantes

No fígado e nas gônadas, foram avaliadas a atividade de catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutatona S-transferase (GST). Antes da realização das análises, as

amostras foram preparadas, sendo adicionado tampão fosfato salina e homogeneizadas, sendo posteriormente centrifugadas a 11.000 rpm a 4 °C por dez minutos. O sobrenadante foi coletado, fracionado em microtubos, congelado e armazenado em ultrafreezer a -80 °C para posteriores análises.

Uma fração da amostra preparada foi utilizada para a determinação da concentração de proteínas pelo método de Bradford (1976). Após a leitura da proteína, as amostras foram normalizadas para a concentração de 1 mg · mL⁻¹ para a realização dos ensaios posteriores.

A análise da atividade da enzima catalase foi conforme metodologia de Aebi (1984). Para a determinação da catalase nas gônadas, foram utilizadas amostras brutas e posteriormente os resultados transformados para 1 mg de proteína por mL de amostra, devido à baixa atividade e dificuldade de leitura das amostras diluídas.

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada conforme Crouch et al. (1981), e para a determinação da atividade da glutathione transferase (GST) seguiu-se a metodologia descrita por Habig et al. (1976).

4.2.8 Histologia das gônadas e do fígado

De todos os machos, amostras de fígado e das gônadas (porções medianas) foram fixadas em solução Karnovsky. Em seguida, o material foi desidratado pela passagem em séries crescentes de álcool, diafanizado em xilol e incluídos em parafina histológica. Os diferentes tecidos foram cortados em 7µm de espessura, os quais foram corados em hematoxilina e eosina (H.E.). As lâminas foram montadas em resina sintética Permount e fotografadas em microscopia óptica Eclipse E200 (Nikon, Tóquio, Japão).

As gônadas dos machos foram avaliadas segundo as fases reprodutivas citadas por Brown-Peterson et al. (2011).

No fígado, a avaliação se baseou na observação dos aspectos gerais do tecido hepático e verificação de alterações no padrão do tecido e especialmente quanto à presença de vacúolos citoplasmáticos. Foram utilizados como referência de avaliação do escore de vacuolização os trabalhos de Tessaro et al. (2014) e Caballero et al. (2004), com adaptações de acordo com o perfil das amostras recebidas. Foi atribuído um escore de vacuolização, onde 0= não observado, 1= poucos vacúolos, 2= vacuolização média, 3= vacuolização severa. O padrão considerado normal, ou com escore de vacuolização 0, foi aquele em que o tecido apresentava características

e estruturas bem definidas, tais como vasos sanguíneos e biliares bem delimitados, hepatopâncreas e células sanguíneas bem marcadas, núcleos celulares evidentes. As avaliações do tecido hepático foram realizadas por meio da captura de imagens em objetiva de 40X, em campos aleatórios, em áreas adjacentes às veias centro lobulares.

4.2.9 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) bifatorial à um nível de 5% de significância, pelo procedimento Factorial Anova do *software* STATISTICA 7.1[®] (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Em caso de diferença significativa ($P \leq 0,05$) foi aplicado o teste de Duncan para verificar diferenças entre médias.

4.3 Resultados

4.3.1 Parâmetros bioquímicos e enzimáticos

Os níveis de glicose, triglicerídeos, colesterol e lipoproteína de alta densidade (HDL) são apresentados na Tabela 2. A interação entre a L-carnitina e as fontes lipídicas foi significativa ($P \leq 0,05$) somente para a glicose e HDL, onde os maiores níveis de glicose foram observados nas dietas com 0 e 750 mg de L-carnitina associadas ao óleo de peixe, e o menor nível de glicose foi observado na dieta isenta de L-carnitina com óleo de soja. A dieta com 750 mg de L-carnitina + óleo de peixe levou à menor média de HDL, enquanto a dieta com 450 mg de L-carnitina + óleo de peixe apresentou o maior valor de HDL. De forma geral, as maiores médias de HDL foram observadas nos animais alimentados com 450 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ de ração, enquanto o nível de 750 mg de L-carnitina proporcionou menor HDL.

O maior nível de colesterol foi observado nas dietas contendo 150 mg de L-carnitina, independentemente do tipo de fonte lipídica utilizada ($P < 0,05$).

A análise das fontes lipídicas isoladamente demonstrou que as dietas contendo óleo de peixe proporcionaram animais com maiores médias para glicose, triglicerídeos e colesterol ($P < 0,05$).

Tabela 2. Parâmetros bioquímicos (mg/dL) do sangue de machos de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.

L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)	Óleo	Glicose	Triglicerídeos	Colesterol	HDL
0	Soja	44,58±3,22 c	165,40±0,73	166,25±4,17	241,01±15,53 ab
	Peixe	68,96±4,44 a	185,23±6,26	176,90±3,23	218,60±14,46 ab
150	Soja	57,76±5,09 abc	192,56±22,64	188,34±5,31	203,70±9,04 bc
	Peixe	54,72±1,92 bc	182,88±12,12	195,24±7,92	219,47±7,38 ab
450	Soja	59,33±5,82 ab	156,74±27,39	168,61±10,05	222,58±20,73 ab
	Peixe	61,34±4,05 ab	198,80±9,68	188,90±3,21	266,27±21,03 a
750	Soja	55,01±5,76 abc	193,61±10,17	161,74±8,99	204,65±11,91 bc
	Peixe	69,03±1,88 a	219,23±10,96	170,46±4,29	163,85±16,74 c
L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)					
0		55,42±4,95	175,32±4,75	172,06±2,97 b	229,80±10,70 ab
150		56,55±3,06	187,72±12,03	191,48±4,50 a	211,59±6,17 bc
450		60,33±3,30	183,03±13,15	178,75±6,21 b	249,89±16,37 a
750		62,79±3,55	205,26±8,14	166,10±4,91 b	184,25±12,24 c
Óleo					
	Soja	54,04±2,67 b	180,22±8,13 b	172,22±4,09 b	217,68±7,52
	Peixe	63,84±2,05 a	197,92±5,81 a	182,27±3,22 a	219,94±11,93
Efeitos					
Interação L-carnitina x óleo		0,0156	0,3195	0,7497	0,0585
L-carnitina		0,4841	0,0759	0,0011	0,0057
Óleo		0,0051	0,0490	0,0126	0,9338

Dados expressos em média ± erro padrão. Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas, diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$)

Na análise da atividade das enzimas alanina aminotransferase (AST), aspartato aminotransferase (AST) e da albumina (Tabela 3), houve efeito interativo da L-carnitina com as fontes lipídicas somente para a ALT, onde a dieta isenta de L-carnitina associada ao óleo de peixe levou a uma maior atividade da ALT plasmática em relação aos demais tratamentos ($P < 0,05$).

As dietas, contendo óleo de peixe, proporcionaram animais com maior atividade da ALT, menor AST e maior nível de albumina, em relação aos animais alimentados com dietas contendo óleo de soja ($P < 0,05$).

Tabela 3. Atividade de enzimas metabólicas (ALT e AST em U/L) e albumina (g/dL) no sangue de fêmeas de jundiás alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.

L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)	Óleo	ALT	AST	Albumina
0	Soja	4,85±0,54 b	29,93±4,72	0,79±0,02
	Peixe	8,79±0,45 a	32,30±3,86	0,96±0,03
150	Soja	6,22±0,63 b	40,23±4,79	0,82±0,04
	Peixe	6,23±0,53 b	28,31±2,68	0,82±0,03
450	Soja	4,60±0,75 b	38,50±8,57	0,77±0,06
	Peixe	6,21±0,51 b	30,26±1,01	0,84±0,03
750	Soja	6,53±0,75 b	38,18±4,22	0,76±0,05
	Peixe	4,77±0,61 b	25,15±2,32	0,84±0,04
L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)				
0		7,04±0,76	30,98±2,97	0,89±0,03
150		6,23±0,40	36,66±3,81	0,82±0,02
450		5,67±0,47	33,92±3,82	0,81±0,03
750		5,75±0,56	31,66±3,14	0,79±0,03
Óleo				
	Soja	5,75±0,37 b	36,96±2,67 a	0,78±0,02 b
	Peixe	6,56±0,39 a	28,89±1,32 b	0,87±0,02 a
Efeitos				
Interação L-carnitina x óleo		0,0008	0,3584	0,1322
L-carnitina		0,1541	0,8521	0,1141
Óleo		0,0402	0,0278	0,0033

ALT: Alanina aminotransferase; AST: Aspartato aminotransferase. Dados expressos em média ± erro padrão. Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas, diferem entre si pelo teste de Duncan (P<0,05)

4.3.2 Indicadores do estresse oxidativo

Para a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona S-transferase (GST) no fígado dos machos (Tabela 4), não foram observadas diferenças (P > 0,05) para a interação entre os níveis de L-carnitina e o tipo de óleo, bem como a análise isolada dos fatores não acarretou em diferença (P > 0,05) para as variáveis analisadas.

Tabela 4. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST) em fígados de machos de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.

L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)		FÍGADO		
	Óleo	SOD	CAT	GST
0	Soja	1,401±0,251	0,422±0,023	0,291±0,031
	Peixe	1,392±0,377	0,371±0,015	0,255±0,036
150	Soja	0,708±0,157	0,341±0,013	0,279±0,030
	Peixe	1,018±0,385	0,379±0,031	0,235±0,015
450	Soja	1,292±0,000	0,345±0,031	0,242±0,030
	Peixe	1,153±0,042	0,339±0,022	0,277±0,034
750	Soja	0,866±0,247	0,348±0,017	0,309±0,037
	Peixe	1,458±0,165	0,378±0,023	0,291±0,035
L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)				
0		1,397±0,203	0,397±0,014	0,272±0,024
150		0,885±0,223	0,358±0,016	0,259±0,018
450		1,222±0,044	0,340±0,018	0,266±0,025
750		1,162±0,177	0,364±0,014	0,301±0,025
Óleo				
	Soja	1,084±0,136	0,372±0,012	0,286±0,017
	Peixe	1,270±0,154	0,369±0,011	0,264±0,016
Efeitos				
Interação L-carnitina x óleo		0,622	0,103	0,708
L-carnitina		0,319	0,114	0,557
Óleo		0,397	0,879	0,513

SOD – superóxido dismutase (unidade de SOD.mg prot⁻¹); CAT – catalase (mmoles de H₂O₂ degradado.min⁻¹.mg prot⁻¹); GST – glutathione transferase (mM. min⁻¹.mg prot⁻¹). Dados expressos em média ± erro padrão.

Na atividade da SOD, CAT e GST nos testículos (Tabela 5), houve efeito significativo ($P < 0,05$) somente para a SOD, onde a interação entre L-carnitina e fontes lipídicas acarretou em maior atividade da SOD nos machos alimentados com dietas contendo 750 mg de L-carnitina· kg⁻¹ de ração + óleo de peixe. As dietas isentas de L-carnitina + óleo de soja, e 450 mg de L-carnitina kg⁻¹ de ração associada ao óleo de peixe, acarretaram em menor atividade da SOD. A análise isolada da L-carnitina demonstrou que as dietas, contendo 750 mg kg⁻¹ de ração de L-carnitina, levaram a uma maior atividade da SOD, em relação às demais.

Tabela 5. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona S-transferase (GST) em gônadas de machos de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina e óleos.

L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)		GÔNADAS		
	Óleo	SOD	CAT	GST
0	Soja	0,064±0,001 c	0,034±0,001	0,104±0,017
	Peixe	0,316±0,077 ab	0,034±0,002	0,083±0,012
150	Soja	0,199±0,043 bc	0,026±0,001	0,092±0,014
	Peixe	0,335±0,001 ab	0,034±0,002	0,110±0,015
450	Soja	0,304±0,012ab	0,030±0,002	0,127±0,033
	Peixe	0,051±0,001 c	0,033±0,002	0,116±0,021
750	Soja	0,358±0,113 ab	0,032±0,002	0,080±0,014
	Peixe	0,396±0,058 a	0,032±0,002	0,092±0,012
L-carnitina (mg kg ⁻¹ de ração)				
0		0,190±0,079 b	0,034±0,001	0,093±0,010
150		0,267±0,043 ab	0,030±0,001	0,101±0,010
450		0,178±0,073 b	0,032±0,001	0,120±0,017
750		0,382±0,051 a	0,032±0,002	0,085±0,010
Óleo				
	Soja	0,246±0,052	0,030±0,001	0,096±0,009
	Peixe	0,308±0,048	0,033±0,001	0,100±0,008
Efeitos				
Interação L-carnitina x óleo		0,049	0,097	0,605
L-carnitina		0,045	0,125	0,245
Óleo		0,443	0,087	0,968

SOD – superóxido dismutase (unidade de SOD.mg prot⁻¹); CAT – catalase (mmoles de H₂O₂ degradado.min⁻¹.mg prot⁻¹); GST – glutatona transferase (mM. min⁻¹.mg prot⁻¹). Dados expressos em média ± erro padrão. Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas, diferem entre si pelo teste de Duncan (P<0,05)

4.3.3 Histologia dos testículos e fígados

Todos os machos estavam aptos a espermiar, o que consiste na presença de todos os estágios de desenvolvimento celular (espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozoides), mas com predominância de espermatozoides (Figuras 1, 2 e 3).

Por apresentar testículos tubulares anastomosados, foi comum observar maior predominância dos estágios anteriores aos espermatozoides na periferia do testículo, ou franjas, e maior abundância de espermatozoides na região média do órgão, onde túbulos se fundem e se abrem para liberar os espermatozoides.

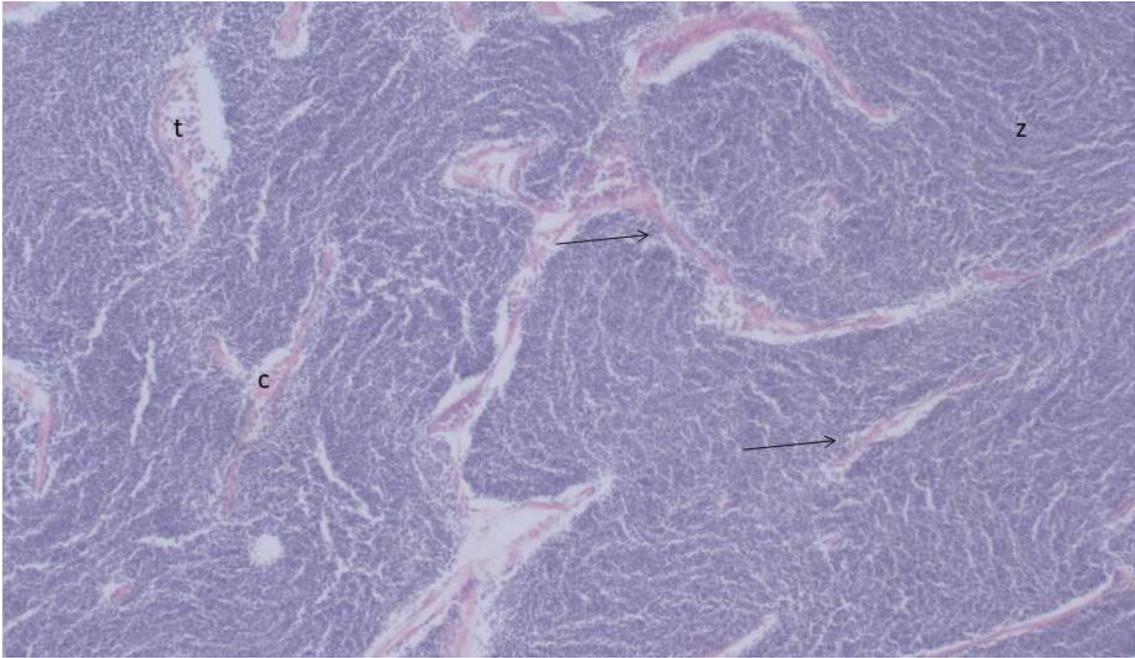


Figura 1. Macho de jundiá apto a espermiar. Abundância de espermatozoides (z), espermatócitos (c) e espermátides (t) presentes. → túbulos seminíferos. H.E. 100x de aumento.

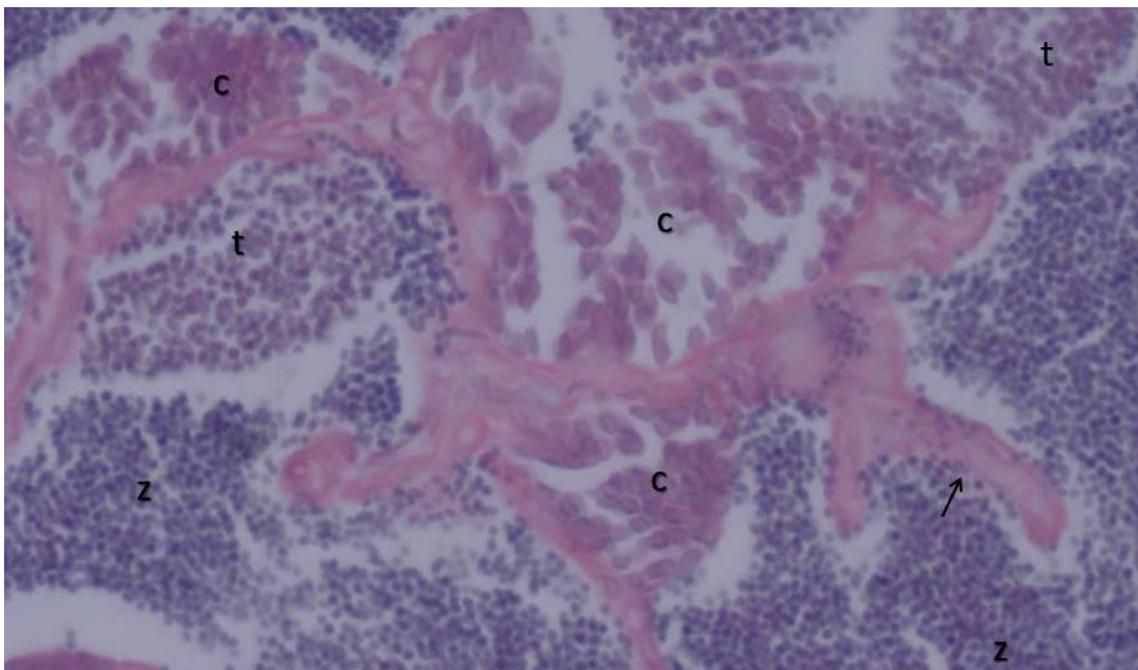


Figura 2. Estágios de desenvolvimento espermático. c= espermatócito; t= espermátide; z= espermatozoides; → túbulo seminífero. H.E. 400x de aumento.

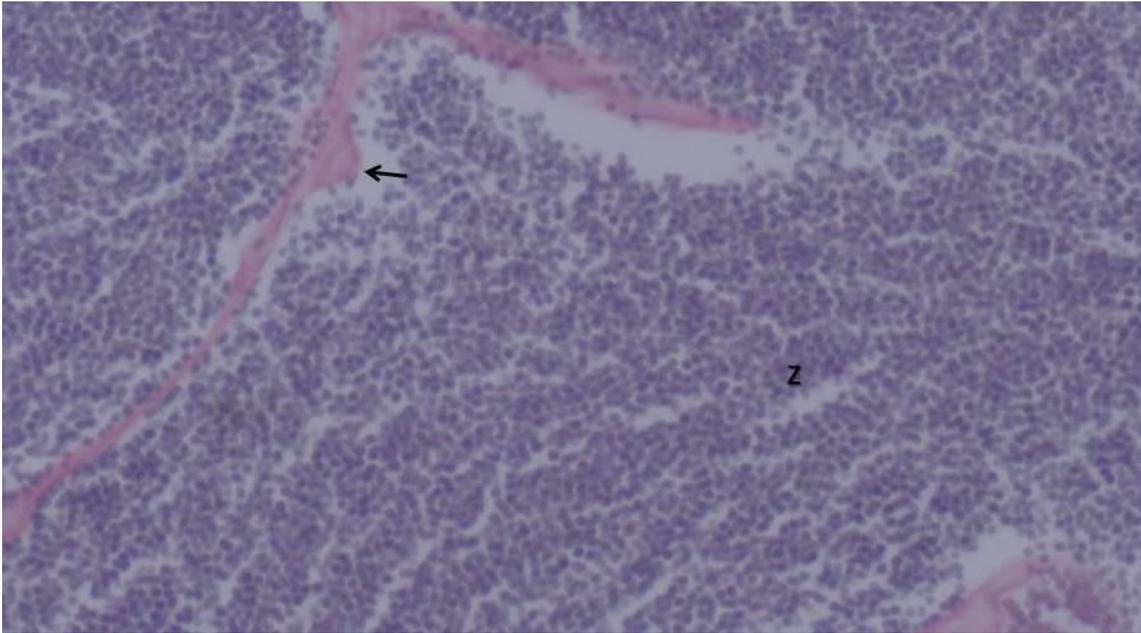


Figura 3. Macho apto a espermiar. Abundância de espermatozoides e presença de espermatogônia. z= espermatozoides e espermatogônia (→). H.E. 400x de aumento.

No fígado dos machos, não foi verificada a presença de vacúolos citoplasmáticos (Figura 4). Algumas amostras apresentaram variações similares a vacúolos, mas não se encaixavam no padrão de vacuolização de acúmulo de gordura, pois a delimitação da célula não estava definida, bem como a posição do núcleo não estava bem identificada. Além disso, demais estruturas também apareciam fora de padrão ou mal delimitadas. Por isso, é provável a ocorrência de artefato de técnica e não alteração celular citoplasmática.

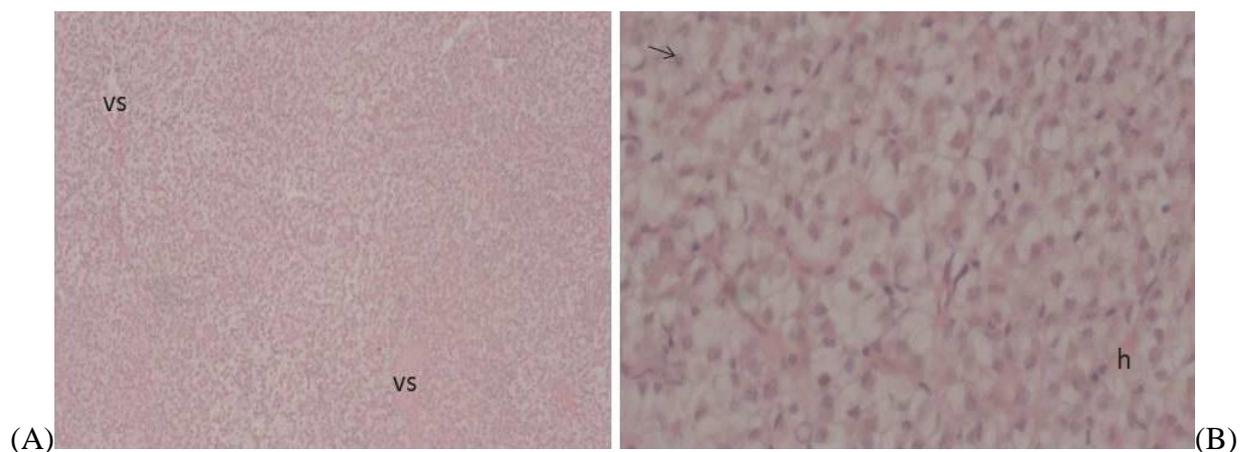


Figura 4. Tecido hepático de macho de jundiá. A) Aspecto geral do tecido. vs= vaso sanguíneo. H.E. 100x de aumento. B) Detalhe do tecido. Células poliédricas e núcleos marcados (→); vaso sanguíneo marcado pela presença de hemácias (h). H.E. 400x aumento.

4.4 Discussão

Este trabalho avaliou os efeitos da suplementação com L-carnitina e de diferentes óleos sobre diversos parâmetros metabólicos em machos de jundiá. De forma geral, foi observada uma influência consistente do tipo de fonte lipídica sobre os metabólitos analisados, visto que os animais alimentados com dietas contendo óleo de peixe marinho apresentaram maiores níveis de glicose, triglicerídeos e colesterol no plasma; além de maior atividade da ALT, menor atividade da AST e maior nível de albumina no sangue, comparados com os resultados dos peixes que receberam dietas com óleo de soja. De fato, a substituição total do óleo de peixe por óleos vegetais leva a uma diminuição do colesterol plasmático, em diversas espécies de peixes (TURCHINI et al., 2009; LUO et al., 2014; LIU et al., 2018). Isto pode ser atribuído à menor quantidade de colesterol nos óleos vegetais, em comparação com o óleo de peixe (TURCHINI et al., 2009), e também por uma possível redução na biossíntese de colesterol no fígado dos peixes alimentados com óleo de soja, resultando na diminuição do nível de colesterol total no sangue (LIU et al., 2018).

Os altos níveis de glicose e triglicerídeos plasmáticos encontrados nos peixes alimentados com dietas contendo óleo de peixe são contraditórios. No caso da glicose, apesar de estudos sugerirem que os níveis de lipídios podem ter um papel importante na modulação do metabolismo de carboidratos (FIGUEIREDO-SILVA et al., 2012), existem poucos estudos relacionando os efeitos da fonte lipídica na dieta no metabolismo de carboidratos (CASTRO et al., 2015). Foi relatada ausência de efeitos da substituição do óleo de peixe por óleos vegetais sobre diversos metabólitos séricos, incluindo glicose e triglicerídeos (MENOYO et al., 2006; CASTRO et al., 2015). Porém, alguns estudos relatam que dietas com substituição total do óleo de peixe por óleo vegetal resultam em maior glicemia sérica, como resultado do comprometimento da mobilização da glicose (AGH et al., 2019) e maior estímulo das atividades das enzimas da via da pentose fosfato, em função das dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados da série n-6 (JORDAL et al., 2007).

A atividade das enzimas ALT e AST normalmente são utilizadas como indicadoras de dano hepatocelular (KIM et al., 2008). Este estudo mostrou que o uso do óleo de soja nas dietas foi eficaz para reduzir os níveis de ALT, indicando que o uso do óleo de peixe pode ter levado a danos ao fígado, assim como reportado anteriormente por Peng et al. (2016). Porém, estes resultados não são conclusivos, uma vez que o óleo de peixe também induziu a menor média da AST plasmática. Além disso, as médias encontradas para ALT e AST permanecem dentro

da faixa normal para peixes saudáveis (SANDNES et al., 1988).

A dieta contendo 750 mg de L-carnitina e óleo de peixe produziu animais com maiores níveis de glicose, menor HDL e maior atividade da SOD nos testículos. Aparentemente, a maior inclusão de L-carnitina na dieta diminuiu a peroxidação lipídica e melhorou a resistência dos reprodutores de jundiá ao estresse oxidativo, visto que a atividade da SOD nos testículos foi aumentada nas dietas com maior inclusão de L-carnitina. A SOD constitui o primeiro antioxidante enzimático, que desempenha um papel fundamental no controle dos radicais ânion superóxido (O_2^-), uma das espécies reativas ao oxigênio (EROs) que causam danos aos lipídios, proteínas e DNA (SCHIEBER; CHANDEL, 2014). Estudos indicam que, em peixes, a suplementação de L-carnitina diminui o conteúdo de peróxidos lipídicos e aumenta a atividade de antioxidantes enzimáticos, como SOD, CAT e glutathione peroxidase (GPx) (DU et al. 2006; MOHSENI; OZÓRIO, 2014; SABZI et al., 2017). Possivelmente, os mecanismos para diminuição da peroxidação lipídica após a suplementação de L-carnitina estão relacionados à sua capacidade de reduzir o conteúdo de gordura nos tecidos, aumentando a oxidação de ácidos graxos, o que, por sua vez, melhora a capacidade antioxidante (LI et al., 2019).

Interessante observar que o melhor status antioxidante dos machos alimentados com 750 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ e óleo de peixe, também se refletiu no seu desempenho reprodutivo, pois estas dietas promoveram efeito positivo sobre a concentração de espermatozoides e as fecundidades relativa e absoluta dos machos de jundiá (CARVALHO, 2019). Além disso, as dietas contendo a inclusão de 750 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹, que apresentaram maior atividade da SOD, também promoveram os maiores índices gonadossomáticos (CARVALHO, 2019).

4.5 Conclusão

A utilização do óleo de peixe induziu a respostas negativas no metabolismo lipídico de reprodutores de jundiá; porém a associação de 750 mg de L-carnitina \cdot kg⁻¹ de ração com o óleo de peixe, pode influenciar positivamente o *status* antioxidante de machos de jundiá (*R. quelen*).

4.6 Referências

- AGH, N.; JAFARI, F.; JALILI, R. et al. Replacing dietary fish oil with vegetable oil blends in female rainbow trout brood stock does not affect breeding quality. **Lipids**, v.54, n.2-3, p.149-161, 2019.
- BAEZA, R.; MAZZEO, I.; VÍLCHEZ, M.C. et al. Effect of thermal regime on fatty acid dynamics in male European eels (*Anguilla anguilla*) during hormonally-induced spermatogenesis. **Aquaculture**, v. 430, p. 86-97, 2014.
- BOMBARDELLI, R.A.; NEUMANN, G.; TOLEDO, C. P. R. et al. Sperm motility, fertilization, and larval development of silver catfish (*Rhamdia quelen*) in copper-contaminated water. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 3, p. 1667-1678, 2016.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, n.1/2, p.248-254, 1976.
- BROWN-PETERSON, N.; WYANSKI, D.M., SABORIDO-REY, F. et al. A Standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management and Ecosystem Science**, v.3, p.52–70, 2011.
- CABALLERO M.J.; IZQUIERDO M.S.; KJRSVIK E., 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**, v.27, p.531–541, 2004.
- CARVALHO, K.I.F.S. Aspectos reprodutivos e zootécnicos de jundiá *Rhamdia quelen* alimentados com dietas contendo L-carnitina e diferentes fontes lipídicas. 2019. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo.
- CASTRO, C.; CORRAZE, G.; PANSERAT, S. et al. Effects of fish oil replacement by a vegetable oil blend on digestibility, postprandial serum metabolite profile, lipid and glucose metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, v.21, n.5, p. 592-603, 2015.
- CHEN, Y.; SUN, Z.; LIANG, Z. et al. Effects of dietary fish oil replacement by soybean oil and l-carnitine supplementation on growth performance, fatty acid composition, lipid metabolism and liver health of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. **Aquaculture**, v.516, p.734596. 2020a.
- CHEN, Y.; SUN, Z.; LIANG, Z. et al. Addition of l-carnitine to formulated feed improved growth performance, antioxidant status and lipid metabolism of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. **Aquaculture**, v.518, p.734434, 2020b.
- CROUCH, R. K.; GANDY, S. E.; KIMSEY, G. The inhibition of islet superoxide dismutase by diabetogenic drugs. **Diabetes**, v.35, p.235-41, 1981.
- DU, Z.Y.; CLOUET, P.; ZHENG, W. H. et al. Biochemical hepatic alterations and body lipid composition in the herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed high-fat diets. **British**

- Journal of Nutrition**, v. 95, n. 5, p. 905-915, 2006.
- EL-SAYED, A.F.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A. Effects of dietary lipid source on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.248, p.187–196, 2005.
- FIGUEIREDO-SILVA, A.C.; PANSEERAT, S.; KAUSHIK, S. et al. High levels of dietary fat impair glucose homeostasis in rainbow trout. **Journal of Experimental Biology**, v.215, n. 1, p.169-178, 2012.
- HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JACOBY, W. B. Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mescapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry**, v.249, p.7130-7139, 1976.
- HILBIG, C.C.; NASCIMENTO, N.F.D.; HEINEN, A. L. et al. Effects of dietary fatty acids on the reproduction of South American female catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). **Latin american journal of aquatic research**, v.47, n.3, p.456-466, 2019.
- JORDAL, A.; LIE, Ø.; TORSTENSEN, B. 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**, v.13, p. 114–130, 2007.
- KIM, W.R.; FLAMM, S.L.; DI BISCEGLIE, A.M. et al. Serum activity of alanine aminotransferase (ALT) as an indicator of health and disease. **Hepatology**, v.47, p.1363–1370, 2008.
- LI, L.Y.; LIMBU, S.M.; MA, Q. et al. The metabolic regulation of dietary L-carnitine in aquaculture nutrition: present status and future research strategies. **Reviews in Aquaculture**, v.11, n.4, p.1228-1257, 2019.
- LIU, C.; WANG, J.; MA, Z. et al. Effects of totally replacing dietary fish oil by linseed oil or soybean oil on juvenile hybrid sturgeon, *Acipenser baeri* Brandt♀ × *A. schrenckii* Brandt♂. **Aquaculture Nutrition**, v.24, n.1, p.184-194, 2018.
- LUO, L.; XUE, M.; VACHOT, C. et al. Dietary medium chain fatty acids from coconut oil have little effects on postprandial plasma metabolite profiles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.420, p.24-31, 2014.
- MA, J.J.; XU, Z.R.; SHAO, Q.J. et al. Effect of dietary supplemental L-carnitine on growth performance, body composition and antioxidant status in juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*. **Aquaculture Nutrition**, v.14, n.5, p. 464–471, 2008.
- MENOYO, D.; DIEZ, A.; LOPEZ-BOTE, C.J. et al. Dietary fat type affects lipid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and differentially regulates glucose transporter GLUT4 expression in muscle. **Aquaculture**, v.261, n. 1, p. 294-304, 2006.
- MEURER, F.; BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C. et al. Grau de moagem dos alimentos em rações para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. **Acta Scientiarum**, v.27, n.1, p.81-85, 2005.
- MOHSENI, M.; OZORIO, R.O.S. Effects of dietary l-carnitine level on growth performance, body

- composition and antioxidant status beluga (*Huso huso* L. 1758). **Aquaculture Nutrition**, v.20, p. 477-485, 2014.
- NAYAK, M.; SAHA, A.; PRADHAN, A. et al. Dietary fish oil replacement by linseed oil: Effect on growth, nutrient utilization, tissue fatty acid composition and desaturase gene expression in silver barb (*Puntius gonionotus*) fingerlings. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 205, p. 1-12, 2017.
- NG WK, WANG Y. Inclusion of crude palm oil in the broodstock diets of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, resulted in enhanced reproductive performance compared to broodfish fed diets with added fish oil or linseed oil. **Aquaculture**, v.314, p.122-31, 2011.
- OLIVEIRA FILHO, P.R.C.; FRACALOSSO, D.M. Coeficientes de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1581-1587, 2006.
- OZÓRIO, R. O. Dietary L-carnitine supplementation to cultivated fish: a mini-review. **Current Nutrition & Food Science**, v.5, n.1, p.40-48, 2009.
- PENG, X.; LI, F.; LIN, S. et al. Effects of total replacement of fish oil on growth performance, lipid metabolism and antioxidant capacity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture international**, v. 24, n. 1, p. 145-156, 2016.
- REN, H.T.; YU, J.H.; XU, P. et al. Influence of dietary fatty acids on muscle fatty acid composition and expression levels of $\Delta 6$ desaturase-like and Elovl5-like elongase in common carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 163, n. 2, p. 184-192, 2012.
- SABZI, E.; MOHAMMADIAZARM, H.; SALATI, A.P. Effect of dietary l-carnitine and lipid levels on growth performance, blood biochemical parameters and antioxidant status in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, v.480, p.89-93, 2017.
- SANCHES, E.A.; BOMBARDELLI, R.A.; MARCOS, R.M. et al. Sperm motility of *Rhamdia quelen* studied using computer-assisted analysis by open-source software. **Aquaculture Research**, v. 42, p.153–156, 2010.
- SANDNES, K.; LIE, Ø.; WAAGBØ, R. Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Journal of Fish Biology**, v. 32, n. 1, p. 129-136, 1988.
- SANTOS, H.K.D.; MEURER, F. Nutrition and feeding aspects for jundiá (*Rhamdia quelen*) nutrition and feeding. **Reviews in Aquaculture**, v.12, n.1, p. 299-309, 2020.
- SARAMEH, S.P.; BAHRI, A.H.; SALARZADEH, A., et al. Effects of fish oil replacement with vegetable oil in diet of sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) broodstock on expression of lipid metabolism related genes in eggs. **Aquaculture**, v.505, p.441-449, 2019.
- SIDDIQUI, A.Q.; AL-HARBI, A.H.; AL-HAFEDH, Y.S. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, v.29, p.349–358, 1998.

TESSARO, L.; TOLEDO, C.P.R.; NEUMANN, G. et al. Animal performance and reproductive aspects of female *Rhamdia quelen* fed on different levels of digestible energy. **Aquaculture Research**, v.45, p.1425–1433, 2014.

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

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

WATHES, D.C.; ABAYASEKARA, D.R.E.; AITKEN, R.J. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. **Biology of reproduction**, v. 77, n. 2, p. 190-201, 2007.