

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 09/05/2024.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL



**Efeitos da restrição alimentar e da
realimentação sobre o metabolismo lipídico e
de ácidos graxos em juvenis de garoupa-
verdadeira, *Epinephelus marginatus*
(Perciformes: Serranidae)**

Ethiene Fernandes de Oliveira

Jaboticabal, São Paulo
2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Efeitos da restrição alimentar e da
realimentação sobre o metabolismo lipídico e
de ácidos graxos em juvenis de garoupa-
verdadeira, *Epinephelus marginatus*
(Perciformes: Serranidae)**

Ethiene Fernandes de Oliveira

Orientadora: Renata Guimarães Moreira Whitton

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Aquicultura do Centro
de Aquicultura da UNESP – CAUNESP,
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre.

Jaboticabal, São Paulo
2023



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Centro de Aquicultura da Unesp - CAUNESP



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Efeitos da restrição alimentar e da realimentação sobre o metabolismo lipídico e de ácidos graxos em juvenis de garoupa-verdadeira, *Epinephelus marginatus* (Perciformes: Serranidae)

AUTORA: ETHIENE FERNANDES DE OLIVEIRA

ORIENTADORA: RENATA GUIMARÃES MOREIRA WHITTON

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Aquicultura, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. RENATA GUIMARÃES MOREIRA WHITTON (Participação Virtual)
Departamento de Fisiologia Geral / Universidade de São Paulo, IB/USP, São Paulo-SP

Pesquisadora Científica CAMILA FERNANDES CORRÊA (Participação Virtual).
APTA Regional de Pariquera-Açu (APTA, SAA, SP), Pariquera-Açu-SP

Profa. Dra. ALINE DAL OLIO GOMES (Participação Virtual)
Departamento de Biodiversidade / IB/Unesp, Rio Claro-SP

Jaboticabal, 09 de novembro de 2023.

Oliveira, Ethiene Fernandes de
O48e Efeitos da restrição alimentar e da realimentação sobre o metabolismo
lipídico e de ácidos graxos em juvenis de garoupa-verdadeira, *Epinephelus
marginatus* (Perciformes:Serranidae) / Ethiene Fernandes de Oliveira. – –
Jaboticabal, 2024
xvi, 95 p. : il., tabs ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2024
Orientador: Renata Guimarães Moreira Whitton
Banca examinadora: Renata Guimarães Moreira Whitton, Aline Dal'Olio
Gomes, Camila Fernandes Corrêa
Bibliografia

1. Fisiologia. 2. Espécie marinha. 3. Beta oxidação. I. Título. II.
Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.043.13

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Jaboticabal/SP - Karina Gimenes Fernandes - CRB 8/7418

Sumário

<i>Índice de Figuras</i>	12
<i>Índice de Tabelas</i>	14
<i>Dedicatória</i>	17
<i>Agradecimentos</i>	19
<i>Apoio Financeiro</i>	21
<i>Resumo</i>	22
<i>Abstract</i>	23
1. Introdução	24
2. Material e métodos	31
2.1. Delineamento experimental	31
2.2. Desempenho de crescimento, parâmetros corporais e sobrevivência	34
2.3. Análises metabólicas	34
2.3.1. Lipídeos totais	34
2.3.2. Perfil de ácidos graxos	34
2.4. Análise molecular	35
2.5. Análise estatística	37
3. Resultados	37
3.1. Seção 1: Desempenho de crescimento, parâmetros corporais e sobrevivência para todos os dias, horários de coleta e tratamento	38
3.2. Seção 2: Lipídeos totais, ácidos graxos e expressão de genes do metabolismo lipídico nos tratamentos <i>alimentação, realimentação e restrição alimentar</i> aos 7, 15, 22 e 30 dias	41
3.2.1. Lipídeos totais dos tecidos hepático e muscular	41
3.2.2. Ácidos graxos totais do plasma	44
3.2.3. Ácidos graxos da fração de triglicerídeos (TG) dos tecidos hepático e muscular	47

3.2.4. Expressão gênica.....	53
3.3. Seção 3: Pós-prandial.....	56
3.3.1. Lipídeos totais dos tecidos hepático e muscular	56
3.3.2. Ácidos graxos totais do plasma.....	58
3.3.3. Ácidos graxos da fração de triglicerídeos (TG) dos tecidos hepático e muscular	60
4. Discussão	65
4.1. Seção 1: Desempenho de crescimento, parâmetros corporais e sobrevivência para todos os dias, horários de coleta e tratamentos	65
4.2. Seção 2: Lipídeos totais, ácidos graxos e expressão de genes do metabolismo lipídico nos tratamentos <i>alimentação, realimentação e restrição alimentar</i> aos 7, 15, 22 e 30 dias	67
4.2.1. Lipídeos totais dos tecidos hepático e muscular	67
4.2.2. Ácidos graxos totais do plasma.....	69
4.2.3. Ácidos graxos da fração de triglicerídeos (TG) dos tecidos hepático e muscular	72
4.2.4. Expressão gênica.....	74
4.3. Seção 3: Pós-prandial	76
5. Conclusões.....	79
6. Referências.....	80
Anexo I.....	89
Anexo II.....	115
Anexo III.....	119

Índice de Figuras

Figura 1: Desenho experimental com os diferentes dias e tempos de coleta para os 3 tratamentos experimentais: <i>tratamento alimentação</i> ; <i>tratamento realimentação</i> e <i>tratamento restrição alimentar</i>	32
Figura 2: Efeitos da realimentação e restrição alimentar sobre a porcentagem de sobrevivência de juvenis de garoupa-verdadeira, <i>Epinephelus marginatus</i>	38
Figura 3: Efeitos da realimentação e restrição alimentar no desempenho de crescimento e parâmetros corporais de juvenis de garoupa-verdadeira, <i>Epinephelus marginatus</i>	40
Figura 4: Lipídeos totais (mg g ⁻¹ de massa úmida) do A) músculo e do B) fígado de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i> , submetidos a diferentes tratamentos alimentares (<i>alimentação</i> , <i>realimentação</i> e <i>restrição alimentar</i>) em diferentes dias.	43
Figura 5: Perfil de ácidos graxos totais do plasma de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i> , submetidos a diferentes tratamentos alimentares (<i>alimentação</i> , <i>realimentação</i> e <i>restrição alimentar</i>) em diferentes dias.	47
Figural 6: Perfil de ácidos graxos da fração TG do fígado de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i> , submetidos a diferentes tratamentos alimentares (<i>alimentação</i> , <i>realimentação</i> e <i>restrição alimentar</i>) em diferentes dias.	51
Figura 7: Perfil de ácidos graxos da fração TG do músculo de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i> , submetidos a diferentes tratamentos alimentares (<i>alimentação</i> , <i>realimentação</i> e <i>restrição alimentar</i>) em diferentes dias.....	53
Figura 8: Expressão gênica dos genes <i>fas</i> (A e B), <i>cpt</i> (C e D), <i>acox</i> (E e F), <i>acadvl</i> (G e H) e <i>scd</i> (I e F) do fígado e músculo de garoupa-verdadeira, <i>Epinephelus marginatus</i>	56
Figura 9: Lipídeos totais (mg g ⁻¹ de massa úmida) do A) músculo e do B) fígado de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i> , submetidos a diferentes tratamentos alimentares (<i>alimentação</i> , <i>realimentação</i> e <i>restrição alimentar</i>) durante o período pós-prandial.....	57
Figura 10: Perfil de ácidos graxos totais do plasma de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i> , submetidos a diferentes tratamentos alimentares (<i>alimentação</i> , <i>realimentação</i> e <i>restrição alimentar</i>) no período pós-prandial.....	60

Figura 11: Perfil de ácidos graxos da fração TG do fígado de juvenis de *Epinephelus marginatus*, submetidos a diferentes tratamentos alimentares (*alimentação, realimentação e restrição alimentar*) durante o período pós-prandial.....63

Figura 12: Perfil de ácidos graxos da fração TG do músculo de juvenis de *Epinephelus marginatus*, submetidos a diferentes tratamentos alimentares (*alimentação, realimentação e restrição alimentar*) durante o período pós-prandial.....65

Índice de Tabelas

Tabela 1: Sequência de nucleotídeos dos primers utilizados para amplificação quantitativa em tempo real (qPCR).	36
Tabela 2: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a massa corpórea (g) de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	89
Tabela 3: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre o ganho em massa corpórea (g) de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	90
Tabela 4: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre o comprimento (cm) de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	91
Tabela 5: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a taxa de crescimento específico (%) de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	92
Tabela 6: Lipídeos totais (mg g ⁻¹ de massa úmida) do fígado de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i> , submetidos a diferentes tratamentos alimentares (alimentação, realimentação e restrição alimentar) em diferentes dias e horário de coleta.	93
Tabela 7: Lipídeos totais (mg g ⁻¹ de massa úmida) do músculo de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i> , submetidos a diferentes tratamentos alimentares (alimentação, realimentação e restrição alimentar) em diferentes dias e horário de coleta.	94
Tabela 8: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ SFA (em porcentagem – %) no plasma de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	95
Tabela 9: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ MUFA (em porcentagem – %) no plasma de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	96
Tabela 10: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ PUFA (%) no plasma de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	97
Tabela 11: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ LC-PUFA (%) no plasma de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	98
Tabela 12: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ n-3 (%) no plasma de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	99
Tabela 13: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ n-6 (%) no plasma de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	100
Tabela 14: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a razão n-3/n-6 no plasma de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	101

Tabela 15: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ SFA (%) sobre a fração TG do fígado de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	102
Tabela 16: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ MUFA (%) sobre a fração TG do fígado de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	103
Tabela 17: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ PUFA (%) sobre a fração TG do fígado de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	104
Tabela 18: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ LC-PUFA (%) sobre a fração TG do fígado de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	105
Tabela 19: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ n-3 (%) sobre a fração TG do fígado de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	106
Tabela 20: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ n-6 (%) sobre a fração TG do fígado de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	107
Tabela 21: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a razão n-3/n-6 sobre a fração TG do fígado de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	108
Tabela 22: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ SFA (%) sobre a fração TG do músculo de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	109
Tabela 23: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ MUFA (%) sobre a fração TG do músculo de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	109
Tabela 24: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ PUFA (%) sobre a fração TG do músculo de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	111
Tabela 25: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ LC-PUFA (%) sobre a fração TG do músculo de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	112
Tabela 26: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ n-3 (%) sobre a fração TG do músculo de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	113
Tabela 27: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a Σ n-6 (%) sobre a fração TG do músculo de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	114
Tabela 28: Efeito da restrição alimentar e realimentação sobre a razão n-3/n-6 sobre a fração TG do músculo de juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	115
Tabela 29: Percentuais de AG Bacterianos no plasma total das juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	116
Tabela 30: Percentuais de AG Bacterianos na fração TG do fígado das juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	117
Tabela 31: Percentuais de AG Bacterianos na fração TG do músculo das juvenis de <i>Epinephelus marginatus</i>	118

Tabela 32: Perfil de ácidos graxos da dieta ofertada aos de juvenis de <i>E. marginatus</i> nos tratamentos que foram alimentados.....	119
--	-----

Dedicatória

Aos meus avós, Rita Maria e José Fernandes. Sei que mesmo de longe, continuam presentes em todas as minhas conquistas. Os amarei eternamente.

“[...] O tempo é irrealizável. Provisoriamente o tempo parou para mim. Provisoriamente.

Mas eu não ignoro as ameaças que o futuro encerra, como também não ignoro que é o meu passado que define a minha abertura para o futuro. O meu passado é a referência que me projeta e que eu devo ultrapassar. Portanto, ao meu passado, eu devo o meu saber e a minha ignorância, as minhas necessidades, as minhas relações, a minha cultura e o meu corpo.

Hoje, que espaço o meu passado deixa para a minha liberdade hoje?

Não sou escrava dele.

O que eu sempre quis foi comunicar unicamente da maneira mais direta o sabor da minha vida. Unicamente o sabor da minha vida.

Acredito que eu consegui fazê-lo. [...]”

- Simone de Beauvoir

Agradecimentos

Presto meus sinceros agradecimentos ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) e responsáveis, pelo suporte e disponibilidade em auxiliar-me. Aos professores e colaboradores do programa, pelas aulas e ensinamentos.

Agradeço ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB/USP), ao Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Organismos Aquáticos (LAMEROA) e ao Centro de Biologia Marinha da USP (CEBIMar/USP) pela estrutura cedida para o desenvolvimento deste estudo. Agradeço aos integrantes do LAMEROA, particularmente ao Vagner Alberto, por todo suporte e conversas enquanto trabalhávamos juntos no LAMEROA.

A partir daqui, quero agradecer de forma mais íntima a todos que estiveram comigo nesses últimos dois anos e três meses. Pensei em ser sucinta e direta, mas acredito que depois de tantas horas me dedicando a este trabalho, não seria justo não agradecer desta forma. Então, começo agradecendo a pessoa que esteve nos bastidores, administrando contratempos e indicando o melhor caminho a seguir: Professora Renata Guimarães. Você é a melhor profissional e um dos mais brilhantes seres humanos que tive a oportunidade de conhecer, você é fundamental na vida de todos os seus alunos. Obrigada por ter acreditado em mim todos esses anos. Você mudou minha vida.

As próximas pessoas a quem devo meus sinceros agradecimentos são minha família. Minha mãe, Claudia Aparecida, e meu pai, Erison Fernandes, que me permitiram seguir meus caminhos, mesmo sem conhecê-los. Agradeço a Bruna Fernandes, minha irmã do meio e, principalmente, a minha irmã mais velha, Thamiris Fernandes – a Thata, que me ouve, me acolhe e que me ajuda sem nem se questionar se estou certa ou errada. Obrigada por me enxergar e compreender. Amo vocês, e agradeço por terem me feito quem sou hoje.

Agradeço à Deus por ter colocado em meu caminho pessoas especiais, que tive a oportunidade de escolher viver ao lado. Malu Fernandes, Julia Schaefer, Lyon Soares e Rahvi Soares (nossos pais têm gostos peculiares para nomes), amigos que estão comigo desde sempre. Vocês são o meu mundo alternativo, sem

conversas sobre amostras, ácidos graxos e cromatógrafo, obrigada por isso e tudo mais que já vivemos e viveremos.

Além dos meus amigos, o Cara foi muito bacana comigo, e colocou no meu caminho alguém que tenho certeza de que passarei todos os próximos dias da minha vida. Com o Andrew Rosa, sei que estou segura para ser eu. Obrigada por me entender, acolher e me fazer alguém mais leve e feliz. Ao seu lado sou melhor e espero te retribuir isso todos os dias. Obrigada por sempre me dizer que sou suficiente e capaz de chegar nos lugares que desejo. Te amo.

Aos meus parceiros de trabalho e amigos que ganhei dentro desse mundo que é a academia, agradeço pelos ensinamentos e momentos de descontração. Fernanda de Mello, Micheli Zaminhan, Paulo de Mello e sua família, vocês são pessoas incríveis, que me ensinaram e ensinam coisas maravilhosas sobre o trabalho, e sobretudo, sobre a vida. Assim como o Daniel Alonso, a Marcella Verderame, o Guilherme Aguiar e a Jennifer Lima. Obrigada pelas colaborações, conversas, pelas risadas bem dadas e por me ensinarem muito.

Agradeço também a Luiza Grassi, que durante todo o período que eu estive em São Sebastião para realizar meu experimento, foi uma pessoa muito prestativa e amiga. Nesse período a Luiza foi uma das pessoas mais respeitadas e atenciosas que já conheci. Obrigada por estar comigo e me ajudar, mesmo com tão pouco tempo de amizade!

Ao Bruno Araújo, agradeço por ter me ensinado muito do que sei. Você foi fundamental em tudo que fiz até hoje. Obrigada pela paciência, amizade e por sempre estar disposto a ajudar e ensinar.

E ao final desse trabalho, agradeço a minha mente, que parece ser algo avulso de mim. Sou grata por finalizar algo que nunca imaginei conseguir começar. Que minha mente esteja comigo, de forma amigável, para iniciar novas etapas (e mesmo que ela diga que não, serei teimosa até conseguir muito mais vezes).

Apoio Financeiro

CNPq, Bolsa de Mestrado, Processo 131512/2021-8.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, Programa de Apoio à Pós-Graduação (PROAP).

Resumo

A garoupa-verdadeira (*Epinephelus marginatus*) é uma espécie com potencial para a aquicultura marinha brasileira, mas seus aspectos fisiológicos ainda são pouco estudados. Investigar os efeitos de diferentes períodos de restrição alimentar e a realimentação são informações importantes para entender a fisiologia desta espécie em cativeiro. Os animais foram divididos em 3 tratamentos: *tratamento alimentação* (30 dias de alimentação), *tratamento realimentação* (15 dias de restrição alimentar e 15 dias de realimentação) e *tratamento restrição alimentar* (30 dias sem alimentação). Foram coletados o total de 9 animais/tratamento e coleta, e os respectivos dias de coleta foram: 7d; 15d; 15d+12 horas; 22d e 30d. Obtivemos 100% de sobrevivência em todos os grupos. Após a análise estatística dos dados observou-se que no *tratamento realimentação*, os parâmetros corporais, perfil lipídico e de ácidos graxos (AG) do plasma, do tecido hepático e muscular mantiveram-se preservados durante jejum de 15 dias. Os animais apresentaram maiores concentrações lipídicas no músculo e no fígado após 7 dias da realimentação, enquanto no *tratamento alimentação* a maior deposição passou a ocorrer apenas 22 dias depois da alimentação. No *tratamento restrição alimentar* o gene *cpt* foi mais expresso nos tecidos hepático e muscular, os animais perderam massa corpórea e usaram AG fisiologicamente importantes, como ômega-3. Concluiu-se que a garoupa-verdadeira possui capacidade de reajustar o metabolismo lipídico, inclusive de AG durante 15 dias de restrição alimentar conciliado a 15 dias de realimentação, mas esta capacidade diminui após 30 dias de restrição alimentar, e que a alimentação constante deve ser repensada para a espécie.

Palavras-chave: Fisiologia, espécie marinha, metabolismo energético, β -oxidação, jejum.

Abstract

The dusky grouper (*Epinephelus marginatus*) is a species with potential for Brazilian marine aquaculture, but physiological aspects of the species are still poorly studied. Investigating the effects of long periods of food restriction and refeeding periods are relevant information to understand physiology of this species in captivity and is the goal of this study. The juveniles were divided into 3 treatments: *feeding treatment* (30 days of constant feeding), *refeeding treatment* (15 days of fasting and 15 days of refeeding) and *fasting treatment* (30 days without food). A total of 9 animals/treatment and collection were sampled, in the respective days: 7d; 15d; 15d+12 hours; 22d and 30d. We obtained 100% survival in all groups. After statistical analysis of the data, we observed that in the *refeeding treatment*, body parameters, lipid profile and fatty acids (FA) in plasma, liver and muscle tissue remained preserved during the 15-day fasting. The animals showed higher lipid concentrations in muscle and liver after 7 days of refeeding, while in the *feeding treatment* the greatest deposition began to occur only 22 days after feeding. In *fasting treatment*, the *cpt* gene was more expressed in liver and muscle tissues, the animals lost body mass and used physiologically important FAs, such as omega 3. It was concluded that the dusky grouper has capacity to readjust lipid, including FA metabolism during 15 days of fasting combined with 15 days of refeeding, but this capacity decreased after 30 days of fasting, and that constant feeding should be rethought for this species.

Keywords: Physiology, marine species, energy metabolism, β -oxidation, fasting

1. Introdução

O metabolismo energético pode ser definido como um conjunto de reações anabólicas e catabólicas que atuam em diversas moléculas importantes para a manutenção da vida, como os carboidratos, as proteínas e os lipídeos (Nelson e Cox, 2019). Estes últimos, são substratos derivados de hidrocarbonetos, que possuem como principal característica a insolubilidade em água e são componentes estruturais importantes para as membranas celulares, possuem alto valor energético e realizam funções de sinalização intracelular (Tocher, 2003; Nelson e Cox, 2019).

Os lipídeos, em sua maioria, são compostos por moléculas de ácidos graxos (AG), que são ácidos carboxílicos com cadeias de 4 a 36 carbonos e que podem ser classificados em lipídeos de armazenamento ou estruturais, e são diferenciados por suas funções e estruturas moleculares. Os principais lipídeos de armazenamento são os triglicerídeos (TG, do inglês *triglycerides*), cujas principais funções são reserva de energia e isolamento térmico. Já dentre os lipídeos estruturais, os principais são os fosfolipídeos (PL, do inglês *phospholipids*) que possuem função de estruturação das membranas celulares e podem atuar como sinalizadores biológicos (Tocher, 2003; Moyes et al., 2009; Nelson e Cox, 2019).

Os AG podem ser divididos de acordo com características das cadeias de carbonos, por exemplo, os AG com cadeias saturadas (sem insaturações – duplas ligações) são denominados AG saturados (SFA, do inglês *saturated fatty acids*); AG com cadeias de carbono contendo apenas uma insaturação são denominados AG monoinsaturados (MUFA, do inglês *monounsaturated fatty acids*); e AG contendo duas ou três insaturações na cadeia são denominados AG polinsaturados (PUFA, do inglês *polyunsaturated fatty acids*). Os PUFA que possuem mais de três insaturações e cadeias longas são ainda denominados de PUFA de cadeia longa (LC-PUFA, do inglês *long chain polyunsaturated fatty acids*) (Nelson e Cox, 2019).

Os LC-PUFA fisiologicamente mais importantes são o ácido docosaheptaenoico (22:6n3; DHA), o ácido eicosapentaenoico (20:5n3; EPA) e o ácido araquidônico (20:4n6; ARA) (Glencross, 2009, Turchini, 2009 Tocher, 2015; Sprague et al., 2016; Nelson e Cox, 2019). Estes AG participam de inúmeros processos importantes em um organismo, como reprodução, desenvolvimento e

crescimento. Além do mais, tais moléculas são fundamentais para a estruturação das membranas celulares, e de forma geral, os AG das diferentes classes de lipídeos fazem parte do processo de oxidação e geração de energia, que ocorre através da β -oxidação (Glencross 2009; Turchini et al., 2009; Tocher, 2008; Tocher, 2015; Nelson e Cox, 2019). Além disso, pode-se dizer que a composição de AG presente na dieta, influenciará no perfil de AG nos tecidos dos animais, incluindo as membranas biológicas (Calder, 2008), uma vez que alguns PUFA, como o ácido linoleico (18:2n6) e ácido linolênico (18:3n3), não podem ser sintetizados pelos animais devido à ausência de enzimas como a delta (Δ)-12 e a Δ -15-dessaturase, que bioconvertem o AG 18:1n9 em PUFA. Desta forma, estes AG são classificados como essenciais para a maioria dos animais e, portanto, precisam ser obtidos através da dieta (Sargent et al., 2002; Tocher, 2010).

No metabolismo de AG, diversas enzimas estão envolvidas na síntese, transporte e degradação destes AG (Nelson e Cox, 2019). O DNA destas enzimas é transcrito, sendo a expressão gênica o processo pelo qual a informação contida em um gene é utilizada para produzir uma proteína funcional (Alberts et al., 2017). Algumas enzimas, transcritas por esses genes, importantes nesse processo são:

- FAS (do inglês *fatty acid synthase*), enzima que catalisa a síntese de AG de cadeia longa a partir de acetil-CoA e malonil-CoA. O gene desta enzima é expresso principalmente no fígado e tecido adiposo, e é importante para a produção de triglicerídeos e armazenamento de gordura (Wakil, 1998);

- CPT (do inglês *carnitine palmitoyltransferase*), uma enzima que catalisa a entrada de AG de cadeia longa nas mitocôndrias para oxidação beta. O gene é expresso principalmente no fígado, músculo esquelético e tecido adiposo, e é importante para a utilização de gordura como fonte de energia (McGarry, 1997),

- ACOX (do inglês *Acyl-CoA Oxidase*), enzima que catalisa a oxidação de AG de cadeia longa no peroxissomo. O gene desta enzima é expresso principalmente no fígado, músculo esquelético e rins, e é importante para a oxidação de AG e produção de energia (Van e Mannaerts, 1999),

- ACADVL (do inglês *Acyl CoA dehydrogenase very long chain*), enzima que catalisa a oxidação de AG de cadeia muito longa na mitocôndria. O gene desta

enzima é expresso principalmente no fígado, músculo esquelético e coração, e é importante para a utilização de AG de cadeia muito longa como fonte de energia (Wanders et al 2001);

- SCD (do inglês *Stearoyl CoA desaturase – delta9*), catalisa a dessaturação de SFA em MUFA. O gene é expresso principalmente no fígado, tecido adiposo e músculo esquelético, e é importante para a regulação da composição de AG nas membranas celulares e síntese de lipídeos (Ntambi e Miyazaki 2004).

Todo esse processo é controlado por fatores regulatórios, como hormônios e fatores de transcrição, que se ligam ao DNA e ativam ou reprimem a transcrição dos genes envolvidos no metabolismo de AG. A expressão gênica e o controle do metabolismo de AG são essenciais para manter o equilíbrio energético e a homeostase no organismo (Nelson e Cox, 2019).

As células podem obter energia dos AG através de três fontes conhecidas: a) lipídeos consumidos na dieta; b) lipídeos armazenados nas células; c) lipídeos sintetizados em um tecido e direcionados para outro (Nelson e Cox, 2019). Os vertebrados, geralmente, obtêm os lipídeos da dieta e ainda mobilizam os lipídeos armazenados a partir de tecidos especializados, como o tecido adiposo e fígado, convertendo o excesso, recebido através da dieta, em lipídeos a serem armazenados ou transformados (Nelson e Cox, 2019). Os AG são utilizados de acordo com a necessidade apresentada, por exemplo, no músculo os AG são oxidados para gerar energia, já no tecido adiposo, eles são re-esterificados e armazenados na forma de TG (Stubhaug et al., 2007, Tocher, 2010; Nelson e Cox, 2019). Quando há alta demanda energética (como entre os períodos de refeições ou por longo período de jejum), os triglicerídeos armazenados no tecido adiposo são catabolizados e mobilizados aos tecidos alvo para a produção de energia através da β -oxidação (Nelson e Cox, 2019).

Alguns animais utilizam os lipídeos armazenados para obter energia em períodos de hibernação, migração ou em situações que envolvam ajustes metabólicos extremos, como mudança de temperatura e restrição alimentar (Ali et al., 2003; Bar et al., 2012; Fávero et al., 2019). A restrição alimentar é um processo, natural ou induzido, no qual um organismo passa por um período curto ou até mesmo longo, sem alimentação (Moen et al., 2012; Nebo et al., 2017, 2018;

Cardona et al., 2019; Favero et al., 2019; Lin et al., 2019; Liu et al., 2019). McCue (2010) descreve que os períodos (frequência e duração) podem ser definidos de acordo com os eventos naturais que ocorrem: a) Breve e frequente (ciclos de marés); b) Breve e pouco frequente (condições meteorológicas agudas); c) Longo e pouco frequentes (ciclos sazonais); d) Longo e frequente (condições climáticas crônicas). Diferentes espécies se comportam de díspares maneiras durante o período de restrição alimentar, e os animais submetidos a este processo podem apresentar desde boa recuperação após a realimentação (Nebo et al., 2017; Cardona et al., 2019; Tamadoni et al, 2020) até problemas com o crescimento e desregulação metabólica durante o período (Moen et al., 2012; Lin et al., 2019; Liu et al., 2019; Tamadoni et al, 2020; Salgado-Ismodes et al., 2020).

O processo fisiológico da restrição alimentar é bem conhecido em aves e mamíferos e foi categorizado em 3 estágios/fases, que são caracterizados pelo tipo de substrato (como carboidratos, lipídeos ou proteínas) que está sendo catabolizado em um período de restrição alimentar. Eles são descritos da seguinte maneira nestes grupos de vertebrados: 1º) FASE I – é um estágio curto de transição, no qual as proteínas e reservas de lipídeos são mobilizadas; 2º) FASE II – é o estágio estacionário, considerado longo, no qual a mobilização de lipídeos é a principal fonte de energia, sendo permanente até o final destes estoques; 3º) FASE III – neste estágio a mobilização começa a ocorrer dos tecidos musculares, ou seja, é iniciado o consumo de proteínas, sendo esta a principal fonte de energia (Cherel et al., 1991; Groscolas e Robin, 2001, Bar e Volkoff, 2012).

Bar e Volkoff (2012), descrevem as fases da restrição alimentar em teleósteos da seguinte maneira: 1º) FASE I – Alterações hormonais e fisiológicas ocorrem neste período, sendo o catabolismo de glicogênio, proteínas e lipídeos as principais alterações fisiológicas; 2º) FASE II – Neste estágio a mobilização de proteínas é reduzida e os lipídeos são a principal fonte de energia; 3º) FASE III – A partir deste período, as reservas de lipídeos apresentam esgotamento e as proteínas começam a ser catabolizadas. Níveis plasmáticos de hormônios e amônia também são estudados. Entretanto, são escassos os trabalhos que investigam os estágios fisiológicos do catabolismo energético, sendo assim estes estágios são abordados de forma semelhante aos endotérmicos, com as fases descritas para estes organismos (Bar e Volkoff, 2012).

Em diferentes fases da vida, os peixes em ambiente natural passam pela restrição alimentar por diversos fatores, sejam eles naturais (cadeia alimentar e migração) ou devido às condições ambientais extremas e/ou antrópicas (mudanças climáticas, oscilação de temperatura, poluição ambiental, destruição de habitat, entre outras) (McCue, 2010). Os peixes ainda podem ser expostos à restrição alimentar no cativeiro, em cultivos que têm objetivos comerciais ou de conservação. E diante desse quadro, a fisiologia desempenha um papel central para entender como diferentes espécies de peixes respondem à restrição alimentar (Moen et al., 2012; Cardona et al., 2019; Lin et al., 2019; Tamadoni et al., 2020; Salgado-Ismodes et al., 2020), seja ela em ambiente natural ou em cativeiro.

Para viabilizar a produção comercial em cativeiro diversos são os fatores que devem ser levados em consideração: a espécie, o local de produção, o crescimento, a eficiência alimentar, a saúde do animal, o manejo adequado, o produto de qualidade, entre outros (Rombenso et al., 2016; Mata-Sotres et al., 2018; FAO, 2020). A composição nutricional do pescado é um dos fatores mais importantes para a criação e produção em cativeiro, uma vez que os peixes possuem como uma de suas características mais importantes sua composição lipídica rica em LC-PUFA, sendo os peixes marinhos, ricos em ômega 3, ácidos graxos importantes para a saúde dos seres humanos (Simopoulos et al., 2002; Saravanan et al., 2010; Tocher et al., 2015; Lauritzen et al., 2016). Entretanto, o custo para fornecer todas essas condições é elevado, uma vez que a alimentação envolve percentuais que podem atingir até 70% do valor produtivo total (FAO, 2020). Desta forma, um dos desafios para viabilizar a produção envolve reduzir os custos nutricionais, mas adequando as dietas às necessidades nutricionais das espécies. Essa prática, se bem-sucedida, proporciona o crescimento desejado dos peixes, assim como um produto de qualidade (ex. rico em ômega 3), podendo além disso, gerar menor impacto ambiental (Turchini et al., 2009; Rombenso et al., 2016; Mata-Sotres et al., 2018; Araújo et al., 2019).

Visando solucionar os desafios no cultivo, alguns estudos vêm abordando a restrição alimentar, que se baseia em *períodos de jejum e realimentação*, a fim de compreender a fisiologia da espécie-alvo estudada de maneira mais aprofundada, tornando esse tipo de estudo essencial para entender as necessidades metabólicas de diferentes espécies. Os estudos de restrição alimentar vêm sendo conduzidos

em diferentes espécies, com destaques para o pacu *Piaractus mesopotamicus* (Favero et al., 2017 e 2020); tambaqui *Colossoma macropomum* (Assis et al., 2020); garoupa híbrida *Epinephelus fuscoguttatus* × *E. lanceolatus* (Liu et al., 2020) e salmão rei *Oncorhynchus tshawytscha* (Araújo et al., 2022). Além disso, outros estudos demonstram que diferentes espécies, como o salmão do Atlântico *Salmo salar* (Moen et al., 2012); tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Nebo et al., 2017; 2018; Liu et al., 2019); truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Cardona et al., 2019); pacamã *Lophiosilurus alexandri* (Favero et al., 2019); esturjão verde *Acipenser medirostris* (Lin et al., 2019), podem ser submetidas a diferentes intervalos de restrição alimentar, possibilitando conhecer os limites dos indivíduos e adequar os protocolos de alimentação de acordo com as características apresentadas, sejam os resultados esperados ou não. Os dados obtidos vêm demonstrando que as respostas fisiológicas são espécie-específicas e demandam mais estudos, visando entender a estratégia de alimentação ideal para as espécies utilizadas na aquicultura.

A garoupa-verdadeira (*Epinephelus marginatus*) vem sendo considerada uma espécie com potencial para a aquicultura marinha, pois possui grande importância ecológica e comercial nas regiões onde ocorre, mas ainda assim, nos dias atuais é cultivada por apenas um produtor privado no Brasil. Em seu ambiente natural, é encontrada principalmente em costas rochosas rasas (até 300 metros de profundidade) (Andrade et al., 2003), possui hábito alimentar estritamente carnívoro, e apresenta crescimento e reprodução tardios (Reñones et al., 2010). Estas características inserem a espécie na condição vulnerável na lista vermelha da *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) (Rodrigues-Filho et al., 2009; Pollard et al., 2018) aumentando a importância do cultivo, evitando a pressão da pesca predatória sobre os estoques naturais.

A garoupa-verdadeira possui diversas características que a tornam uma espécie potencial para a aquicultura, como a resistência ao manejo (Spandri et al., 2020), ciclo produtivo conhecido e produto (filé) de ótimo sabor, apesar de ainda apresentar alguns entraves nas fases iniciais de larvicultura (Mello et al., 2019) e nutrição (Araújo et al., 2018; Oliveira et al., 2023). Os estudos, principalmente, sobre a fisiologia da espécie são escassos, e mostram que a garoupa-verdadeira possui capacidade muito limitada em sintetizar DHA, AG essencial para peixes

marinhos e um dos principais quando se leva em consideração a qualidade do pescado (Araújo et al., 2018). Sabemos também que juvenis de garoupa aceitam dieta comercial e que a suplementação desta dieta com lipídeos aumenta o desempenho em cativeiro (Sanches et al., 2014). No entanto, mesmo com as características positivas da espécie para o cultivo em cativeiro, escassas são as informações sobre o metabolismo lipídico da espécie, principalmente durante a restrição alimentar.

Investigar os efeitos de longos períodos de restrição alimentar e o período de realimentação da garoupa-verdadeira trará respostas importantes sobre o metabolismo lipídico e de ácidos graxos e permitirá, futuramente, traçar os estágios/fases específicos do processo fisiológico da restrição alimentar. O conhecimento destas informações possibilitará investir em novos estudos que ampliem o conhecimento da fisiologia da espécie alvo. A associação do conhecimento do metabolismo lipídico e seu desempenho zootécnico em diferentes protocolos nutricionais adequados à fisiologia da espécie, certamente, será importante para avançar no cultivo desta espécie.

Tendo em vista todas as informações supracitadas sobre restrição alimentar e realimentação, este trabalho investigou as respostas do metabolismo lipídico e de ácidos graxos da garoupa-verdadeira, espécie marinha com alto potencial de cultivo e pouco estudada no Brasil (Andrade et al., 2003; Rodrigues-Filho et al., 2009, 2020, 2022; Reñones et al., 2010; Garcia et al., 2013; Sanches et al., 2014; Araújo et al., 2018; Mello et al., 2019; Oliveira et al., 2023). As hipóteses desta proposta são:

Hipótese 1: A restrição alimentar durante o período de 30 dias irá desencadear redução na concentração de lipídios hepáticos, pois espera-se que os lipídios do tecido muscular sejam preservados durante este período.

Hipótese 2: Os AG totais e da fração TG, principalmente os SFA e MUFA, serão mobilizados em maiores proporções pelo plasma e depositados no tecido hepático e muscular, nos peixes que passarão por restrição alimentar de 30 dias. Além disso, espera-se que o maior catabolismo (nos tecidos analisados) de AG totais ocorra nos peixes que passaram por restrição alimentar em algum momento do experimento. Entretanto, para juvenis da espécie que foram realimentadas,

espera-se ajustes do metabolismo lipídico (visualizados através da expressão de genes e maior deposição de AG nos tecidos hepático e muscular) e recuperação dos parâmetros corporais.

Hipótese 3: Os parâmetros corporais não serão afetados, apesar das reservas energéticas se modificarem nos peixes em período de restrição alimentar.

5. Conclusões

Considerando os parâmetros analisados é possível de afirmar que o período de 30 dias de restrição alimentar não é viável para o cultivo de jovens da garoupa-verdadeira, uma vez que animais deste tratamento (*restrição alimentar*) tiveram sua massa corpórea diminuída possivelmente pela falta de alimentação e apresentaram mobilizações importantes de suas reservas energéticas, como de ômega-3 e 6, entre 22 e 30 dias do estudo. A alta porcentagem de SFA no plasma dos animais do *tratamento restrição alimentar* sugere elevada mobilização destes AG no período sem ingestão de alimento, corroborado pela expressão do gene *cpt* que também sugere uma adequação do metabolismo lipídico, principalmente no tecido muscular.

A restrição alimentar de 15 dias (*tratamento realimentação*) não apresentou alterações significativas nos parâmetros corporais dos animais, que quando realimentados, mostraram capacidade de se recuperar do jejum, considerando as reservas energéticas, como foi visto no perfil lipídico a partir do dia 22, principalmente no tecido muscular. É possível afirmar que os animais realimentados foram capazes de depositar maiores percentuais de AG, principalmente MUFA, PUFA e n-6 no tecido hepático, e que o período de 15 dias de restrição alimentar não afetou a espécie. Já nos animais no *tratamento alimentação* foi possível observar maior deposição de SFA e MUFA em dias específicos se comparado aos outros tratamentos. Considerando que os animais do *tratamento realimentação* obtiveram um

bom desempenho, se ajustaram e mantiveram suas reservas energéticas até 15 dias de jejum, e apresentaram resultados similares ao *tratamento alimentação*, sugere-se que a alimentação constante para as juvenis de *E. marginatus* não é necessária. O período pós-prandial, apesar de necessitar de mais investigações, mostrou um reflexo da dieta no tecido muscular das juvenis de *E. marginatus* realimentadas. Além disso, a espécie parece mobilizar diferentes classes de AG para o fornecimento de energia, como visto no *tratamento restrição alimentar*.

6. Referências

- Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Morgan, D.; Raff, M.; Roberts, K.; Hunt, T. 2017. *Biologia molecular da Célula*. Artmed Editora: Courier Corporation.
- Ali, M.; Nicieza, A.; Wootton, R. J. 2003. Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and Fisheries*, 4(2):147-190. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2979.2003.00120.x>
- Andrade, A. B.; Machado, L. F.; Hostim-Silva, M.; Barreiros, J. P. 2003. Reproductive biology of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (LOWE, 1834). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46:373–381. <https://doi.org/10.1590/s1516-89132003000300009>
- Araújo, B. A.; Wade, N. W.; Mello, P. H.; Rodrigues-Filho, J. A.; Garcia, C. E. O.; Campos, M. F.; Botwright, N. A.; Hashimoto, D. T.; Moreira, R. G. 2018. Characterization of lipid metabolism genes and the influence of fatty acid supplementation in the hepatic lipid metabolism of dusky grouper (*Epinephelus marginatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular e Integrative Physiology*, 219–220. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.01.018>
- Araújo, B. C.; Barbosa, D. A.; Honji, R. M.; Branco, G. S.; Menegidio, F. B.; Marques, V. H.; Moreira, R. G.; Kitahara, M. V.; Rombenso, A. N.; de Mello, P. H.; Hilsdorf, A. W. 2023. Post-feeding molecular responses of cobia (*Rachycentron canadum*): RNA-sequencing as a tool to evaluate postprandial effects in hepatic lipid metabolism. *Marine Biotechnology*, 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10126-023-10209-4>
- Araújo, B. C.; Symonds, J. E.; Walker, S. P.; Miller, M. R. 2022. Effects of fasting and temperature on the biological parameters, proximal composition, and fatty acid profile of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) at different life stages. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 264–111113. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2021.111113>
- Araújo, B.; Honji, R. M.; Rombenso, A. N.; Souza, G. B.; Mello, P. H.; Hilsdorf, A. W. S.; Moreira, R. G. 2019. Influence of different arachidonic acid levels

- and temperature on the growth performance, fatty acid profile, liver morphology and expression of lipid genes in cobia (*Rachycentron canadum*) juveniles. *Aquaculture*, 511–734245. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734245>
- Araújo, B.; Salini, M.; Glencross, B.; Wade, N. 2017. The influence of dietary fatty acid and fasting on the hepatic lipid metabolism of barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture Research*, 48(7):3879–3893. <https://doi.org/10.1111/are.13215>
- Assan, D.; Huang, Y.; Mustapha, U. F.; Addah, M. N.; Li, G.; Chen, H. 2021. Fish feed intake, feeding behavior, and the physiological response of apelin to fasting and refeeding. *Frontiers in Endocrinology*, 12–798903. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.798903>
- Assis, Y. P. A. S.; de Assis Porto, L.; de Melo, N. F. A. C.; Palheta, G. D. A.; Luz, R. K.; Favero, G. C. 2020. Feed restriction as a feeding management strategy in *Colossoma macropomum* juveniles under recirculating aquaculture system (RAS). *Aquaculture*, 529–735689. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735689>
- Bar, N.; Volkoff, H. 2012. Adaptation of the Physiological, Endocrine, and Digestive System Functions to Prolonged Food Deprivation in Fish. *Comparative Physiology of Fasting, Starvation, and Food Limitation*, 69–89. https://doi.org/10.1007/978-3-642-29056-5_6
- Behmer, O. A.; Tolosa, E. M. C.; Neto, A. G. F. 1976. Manual de técnicas para histologia 12 normal e patológica. EDART. São Paulo. Livraria Editora Ltda, 239.
- Bell, J. G.; Henderson, R. J.; Tocher, D. R.; McGhee, F.; Dick, J. R.; Porter, A.; Smullen, R. P.; Sargent, J. R. 2002. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *The Journal of nutrition*, 132(2):222–230. <https://doi.org/10.1093/jn/132.2.222>
- Bell, J. G.; McEvoy, J.; Tocher, D. R.; McGhee, F.; Campbell, P. J.; Sargent, J. R. 2001. Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. *The Journal of nutrition*, 131(5):1535–1543. <https://doi.org/10.1093/jn/131.5.1535>
- Bell, J. G.; McGhee, F.; Campbell, P. J.; Sargent, J. R. 2003. Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil “wash out”. *Aquaculture*, 218(1 – 4):515–528. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00462-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00462-3)
- Bower, N. I.; Taylor, R. G.; Johnston, I. A. 2009. Phasing of muscle gene expression with fasting-induced recovery growth in Atlantic salmon. *Frontiers in Zoology*, 6–18. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-6-18>
- Calder, P.C. 2008. The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 79(3-5):101-108.

- Cardona, E.; Bugeon, J.; Guivarc'h, F.; Goardon, L.; Panserat, S.; Labbé, L.; Corraze, G.; Skiba-Cassy, S.; Bobe, J. 2019. Positive impact of moderate food restriction on reproductive success of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 502:280–288. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.057>
- Cherel, Y.; Le Maho, Y. 1991. Refeeding after the late increase in nitrogen excretion during prolonged fasting in the rat. *Physiology & Behavior*, 50(2):345–349. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(91\)90076-z](https://doi.org/10.1016/0031-9384(91)90076-z)
- Christie W. W. Lipid Analysis. 3^a ed. Oily Press; 2003
- Condini, V. M.; Seyboth, J. P.; Garcia, A. M. 2010. Garoupa-verdadeira *Mycteroperca marginata* (Pisces, Serranidae) nos molhes da barra de rio grande. Universidade Federal de Rio Grande, Instituto de Oceanografia, Laboratório de Ictiologia, Campus Carreiros, Caixa Postal 474, Rio Grande, RS. Volume 5(2).
- FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome. 2020.
- Favero, G. C.; Boaventura, T. P.; Ferreira, A. L.; Silva, A. C. F.; Porto, L. A.; Luz, R. K. 2019. Fasting/re-feeding and water temperature promote the mobilization of body reserves in juvenile freshwater carnivorous catfish *Lophiosilurus alexandri*. *Aquaculture*, 734223. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734223>
- Favero, G. C.; dos Santos, F. A. C.; Costa Júlio, G. S.; Pedras, P. P. C.; Ferreira, A. L.; Silva, W. D. S.; Ferreira, N. S.; Neves, L. C.; Luz, R. K. 2021. Effects of short feed restriction cycles in *Piaractus brachipomus* juveniles. *Aquaculture*, 536–736465. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736465>
- Favero, G. C.; Gimbo, R. Y.; Franco Montoya, L. N.; Zanuzzo, F. S.; Urbinati, E. C. 2018. Fasting and refeeding lead to more efficient growth in lean pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture Research*, 49(1):359–366. <https://doi.org/10.1111/are.13466>
- Favero, G.; Gimbo, R. Y.; Montoya, L. N. F.; Carneiro, D. J.; Urbinati, E. C. 2020. A fasting period during grow-out make juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) leaner but does not impair growth. *Aquaculture*, 524–735242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735242>
- Folch, J.; Lees, M.; Sloane Stanley, G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226:497–509.
- Frings, C. S.; Fendley, T. W.; Dunn, R. T.; Queen, C. A. 1972. Improved determination of total serum lipids by the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Clinical Chemistry*, 18:673–674.
- Furné, M.; Morales, A. E.; Trenzado, C. E.; García-Gallego, M.; Hidalgo, M. C.; Domezain Rus, A. S. 2012. The metabolic effects of prolonged starvation and refeeding in sturgeon and rainbow trout. *Journal of Comparative Physiology B. Biochemical, Systems, and Environmental Physiology*, 182(1):63–76. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-328>

- Garaffo, M. A.; Vassallo-Agius, R.; Nengas, Y.; Lembo, E.; Rando, R.; Maisano, R.; Giuffrida, D. 2011. Fatty Acids Profile, Atherogenic (IA) and Thrombogenic (IT) Health Lipid Indices, of Raw Roe of Blue Fin Tuna (*Thunnus thynnus* L.) and Their Salted Product "Bottarga." Food and Nutrition Sciences, 02(07):736–743. <https://doi.org/doi:10.4236/fns.2011.27101>
- Garcia, C. E. O.; Mello, P. H.; Araújo, B. C.; Narcizo, A. M.; Rodrigues-Filho, J. A.; Medrado, A. T.; Zampieri, R. A.; Floeter-Winter, L. M.; Moreira, R. G. 2013. Involvement of pituitary gonadotropins, gonadal steroids and breeding season in sex-change of protogynous dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Teleostei: Serranidae), induced by a non-steroidal aromatase inhibitor. General Comparative Endocrinology, 192:170–180. <https://doi:10.1016/j.ygcen.2013.06.012>
- Glencross, D. B. 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. Reviews in Aquaculture, 1:71–124. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2009.01006.x>
- Gonçalves, L. U.; Rodrigues, A. P. O.; Moro, G. V.; Cargnin-Ferreira, E.; Cyrino, J. E. P. 2016. Morfologia e fisiologia do sistema digestório de peixes. Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. Florianópolis: aquabio.
- Gong, Y.; Chen, W.; Han, D.; Zhu, X.; Yang, Y.; Jin, J.; Liu, H.; Xie, S. 2017. Effects of food restriction on growth, body composition and gene expression related in regulation of lipid metabolism and food intake in grass carp. Aquaculture, 469:28–35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.12.003>
- Gou, N.; Wang, K.; Jin, T.; Yang, B. 2023. Effects of Starvation and Refeeding on Growth, Digestion, Nonspecific Immunity and Lipid-Metabolism-Related Genes in *Onychostoma macrolepis*. Animals, 13(7):1168. <https://doi.org/10.3390/ani13071168>
- Groscolas, R.; Robin, J. P. 2001. Long-term fasting and re-feeding in penguins. Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular e Integrative Physiology, 128(3):645–655. [https://doi:10.1016/s1095-6433\(00\)00341-x](https://doi:10.1016/s1095-6433(00)00341-x)
- Kerber, C. E.; Azevedo Silva, H. K.; Santos, P. A.; Sanches, E. G. 2012. Reproduction and larviculture of dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834) in Brazil. Journal of Agricultural Sciences and Technology, 2:229–234.
- Lall, S. P.; Tibbetts, S. M. 2009. Nutrition, feeding, and behavior of fish. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, 12(2):361–372. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2009.01.005>
- Lauritzen, L.; Brambilla, P.; Mazzocchi, A.; Harsløf, L. B. S.; Ciappolino, V.; Agostoni, C. 2016. DHA Effects in Brain Development and Function. Nutrients, 8(1):6. <https://doi.org/10.3390/nu8010006>
- Lin, C-Y.; Huang, L-H.; Deng, D-F.; Lee, S-H.; Liang, H-J.; Hung, S. S. O. 2019. Metabolic adaptation to feed restriction on the green sturgeon (*Acipenser medirostris*) fingerlings. Science of The Total Environment, 684:78–88. <https://doi:10.1016/j.scitotenv.2019.05.044>

- Liu, W.; Lu, X.; Jiang, M.; Wu, F.; Tian, J.; Yang, C.; Yu, L.; Wen, H. 2019. Effects of dietary manipulation on compensatory growth of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 45:1. <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0531-z>
- Liu, X.; Shi, H.; He, Q.; Lin, F.; Wang, Q.; Xiao, S.; Dai, Y.; Zhang, Y.; Yang, H.; Zhao, H. 2020. Effect of starvation and refeeding on growth, gut microbiota and non-specific immunity in hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatus*♂). *Fish and Shellfish Immunology*, 97:182–193. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.055>
- Lowry O. H.; Rosebrough N. J.; Farr A. L.; Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. 1951. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1):265–75. PMID: 14907713.
- Marques, V. H.; Moreira, R. G.; Branco, G. S.; Honji, R. M.; Rombenso, A. N.; Viana, M. T.; de Mello, P. H.; Mata-Sotres, J. A.; Araujo, B. C. 2021. Different saturated and monounsaturated fatty acids levels in fish oil-free diets to cobia (*Rachycentron canadum*) juveniles: Effects in growth performance and lipid metabolism. *Aquaculture*, 541–736843. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736843>
- Mata-Sotres, J. A.; Marques, V. H.; Barba, D.; Braga, A.; Araujo, B.; Viana, M. T.; Rombenso, A. N. 2021. Increasing dietary SFA: MUFA ratio with low levels of LC-PUFA affected lipid metabolism, tissue fatty acid profile and growth of juvenile California Yellowtail (*Seriola dorsalis*). *Aquaculture*, 543–737011. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737011>
- Mata-Sotres, J. A.; Tinajero-Chavez, A.; Barreto-Curiel, F.; Pares-Sierra, G.; Rio-Zaragozab, O. B. D.; Viana, M. T.; Rombenso, A. N. 2018. DHA (22:6n-3) supplementation is valuable in *Totoaba macdonaldi* fish oil-free feeds containing poultry by-product meal and beef tallow. *Aquaculture*, 497:440–451. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.015>
- McCue, M. D. 2006. Specific dynamic action: a century of investigation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 144(4):381–394. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.03.011>
- McCue, M. D. 2010. Starvation physiology: reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, Molecular e Integrative Physiology*, 156(1):1–18. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.01.002>
- McCue, M. D. 2012. *Comparative physiology of fasting, starvation, and food limitation*, 103-131. New York: Springer.
- McGarry, J. D.; Brown, N. F. 1997. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system. From concept to molecular analysis, *European Journal of Biochemistry*, 244(1):1–14. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1997.00001.x>
- Mello, P. H.; Araújo, B. C.; Campos, M. F.; Rodrigues-Filho, J. A.; Garcia C. E. O.; Moreira, R. G. 2018. Embryonic and larval development and fatty acid profile of the dusky grouper (*Epinephelus marginatus*) reproduced in

- captivity: tools applied to captive rearing. *Journal of Fish Biology*, 92:1126–1148. <https://doi.org/10.1111/jfb.13577>
- Milligan, C. L.; Girard, S. S.; 1993. Lactate metabolism in rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*, 180:175–193. <https://doi.org/10.1242/jeb.180.1.175>
- Moen, A-G. G.; Finn, R. N. 2012. Short-term, but not long-term feed restriction causes differential expression of leptins in Atlantic salmon. *General and Comparative Endocrinology*, 183:83–88. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2012.09.027>
- Morash, A. J.; Bureau, D. P.; McClelland, G. B. 2009. Effects of dietary fatty acid composition on the regulation of carnitine palmitoyltransferase (CPT) I in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 152(1):85–93. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2008.10.005>
- Moyes, C. D.; Schulte, P. M. 2009. *Princípios de Fisiologia Animal*. Artmed Editora.
- National Research Council (NRC). 1993. *Nutrient requirements of fish*. National Academy Press, Washington.
- Nebo, C.; Gimbo, R. Y.; Kojima, J. T.; Overturf, K.; Dal-Pai-Silva, M.; Portella, M. C. 2018. Depletion of stored nutrients during fasting in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Journal of Applied Aquaculture*, 30(2):157–173. <https://doi.org/10.1080/10454438.2017.1420516>
- Nebo, C.; Overturf, K.; Brezas, A.; Dal-Pai-Silva, M.; Portella, M. C. 2017. Alteration in expression of atrogenes and IGF-1 induced by fasting in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles. *International Aquatic Research* 9:361–372. <https://doi.org/10.1007/s40071-017-0182-1>
- Nelson, D. L.; Cox, M. M. 2019. *Lehninger: Principles of Biochemistry*. Freeman, New York, 1119.
- Ntambi, J. M.; Miyazaki, M. 2004. Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Progress in Lipid Research*, 43(2):91–104. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(03\)00039-0](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(03)00039-0)
- Oliveira, E. F. D.; Araújo, B. C.; Marques, V. H.; de Mello, P. H.; Moreira, R. G.; Honji, R. M. 2023. Influence of Docosaehaenoic and Eicosapentaenoic Acid Ratio and Temperature on the Growth Performance, Fatty Acid Profile, and Liver Morphology of Dusky Grouper (*Epinephelus marginatus*) (Teleostei: Serranidae) Juveniles. *Animals*, 13(20):3212. <https://doi.org/10.3390/ani13203212>
- Pérez-Jiménez, A.; Guedes, M. J.; Morales, A. E.; Oliva-Teles, A. 2007. Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture*, 265(1-4):325–335. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.01.021>
- Pollard, D. A.; Afonso, P.; Bertoncini, A. A.; Fennessy, S.; Francour, P.; Barreiros, J. 2018. *Epinephelus marginatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T7859A100467602>

- Price, E. R.; Valencak, T. G. 2012. Changes in fatty acid composition during starvation in vertebrates: mechanisms and questions. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. Comparative physiology of fasting, starvation, and food limitation, 237–255. https://doi.org/10.1007/978-3-642-29056-5_15
- Py, C.; Elizondo-González, R.; Peña-Rodríguez, A. 2022. Compensatory growth: Fitness cost in farmed fish and crustaceans. *Reviews in Aquaculture*, 14(3): 1389–1417. <https://doi.org/10.1111/raq.12656>
- Reñones, O.; Grau, A.; Mas, X.; Riera, F.; Saborido-Rey, F. 2010. Reproductive pattern of an exploited dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834) (Pisces: Serranidae) population in the western Mediterranean. *Scientia Marina*, 74:523–537. <https://doi.org/10.3989/scimar.2010.74n3523>
- Rodrigues-Filho, J. A.; Araújo, B. C.; Mello, P. H.; Garcia, C. E. O.; Silva, V. F. D.; Li, W.; Levavi-Sivan, B.; Moreira, R. G. 2023. Hormonal profile during the reproductive cycle and induced breeding of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Teleostei: Serranidae) in captivity. *Aquaculture*, 566, 739150. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.739150>
- Rodrigues-Filho, J. A.; Sanches, E. G.; Garcia, C. E. O.; Sebastiani, E. F.; Pannuti, C. V.; Moreira, R. G. 2009. Threatened fishes of the world: *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834) (Serranidae: Epinephelinae). *Environmental Biology of Fishes*, 85:301–302. <https://doi.org/10.1007/s10641-009-9502-7>
- Rodrigues-Filho, J. D. A.; Garcia, C. E. D. O.; Chehade, C. G.; Sanches, E. G.; Borella, M. I.; Nostro, F. L.; Araújo, B. C.; Branco, G. S.; Moreira, R. G. 2020. Gonadal remodeling and hormonal regulation during sex change of juvenile dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Teleostei, Serranidae), an endangered protogynous hermaphrodite fish. *Fish physiology and biochemistry*, 46, 1809-1824. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00830-8>
- Rombenso, A. N.; Trushenski, J. T.; Jirsa, D.; Drawbridge, M. 2016. Docosahexaenoic acid (DHA) and arachidonic acid (ARA) are essential to meet LC-PUFA requirements of juvenile California Yellowtail (*Seriola dorsalis*). *Aquaculture*, 463:123–134. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.004>
- Rust, M. B. 2003. Nutritional physiology. Academic Press, Fish nutrition, 367–452. <https://doi.org/10.1016/B978-012319652-1/50008-2>
- Salem, M.; Silverstein, J.; Rexroad, C. E.; Yao, J. 2007. Effect of starvation on global gene expression and proteolysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *BMC Genomics*, 8:328. <https://doi.org/10.1007/s00360-011-0596-9>
- Salgado-Ismodes, A.; Taipale, S.; Pirhonen, J. 2019. Effects of progressive decrease of feeding frequency and re-feeding on production parameters, stomach capacity and muscle nutritional value in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 734919. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734919>

- Sanches, E. G.; Silva, F. C.; Leite, J. R.; Silva, P. K. A.; Kerber, C. E.; Santos, P. A. 2014. Can fish oil incorporation in diet improve the growth performance of dusky grouper *Epinephelus marginatus*? Boletim do Instituto De Pesca, 40:147–155. <https://doi.org/10.1111/are.14259>
- Saravanan, P.; Davidson, N. C.; Schmidt, E. B.; Calder, P. C. 2010. Cardiovascular effects of marine omega-3 fatty acids. Lancet, 376(9740):540–550. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60445-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60445-X)
- Sargent, J.R.; Tocher, D.R.; Bell, J.G. 2002. In: Halver JE, Hardy RW (eds) Fish nutrition, 3rd ed. Academic Press, London
- Secor, S. M. 2009. Specific dynamic action: a review of the postprandial metabolic response. Journal of Comparative Physiology B, 179:1–56. <https://doi.org/10.1007/s00360-008-0283-7>
- Simopoulos, A. P. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. Biomed Pharmacother, 56(8):365–379. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(02\)00253-6](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(02)00253-6)
- Soengas, J. L. 2014. Contribution of glucose-and fatty acid sensing systems to the regulation of food intake in fish. A review. General and comparative endocrinology, 205:36–48. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2014.01.015>
- Spandri, V. C.; Takatsuka, V.; Mesquita de Sousa, O.; Kuhnen, V. V.; Sanches, E. G. 2021. Can compensatory growth be used as feed management for dusky grouper? Aquaculture Research, 52(6):2891–2895. <https://doi.org/10.1111/are.15088>
- Sprague, M.; Dick, J. R.; Tocher, D.R. 2016. Impact of sustainable feeds on omega-3 long-chain fatty acid levels in farmed Atlantic salmon 2006-2015. Scientific Reports, 6:21892. <https://doi.org/10.1038/srep21892>
- Stubhaug, I.; Lie, O.; Torstensen, B. E. 2007. Fatty acid productive value and b-oxidation capacity in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed on different lipid sources along the whole growth period. Aquaculture Nutrition, 13:145–155. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00462.x>
- Sun, J.; Wu, W.; Ji, H. 2021. Effect of overwintering on body composition, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, glucose and lipid-metabolic related gene expression of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). Aquaculture, 545–737125. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737125>
- Tamadoni, R.; Nafisi Bahabadi, M.; Morshedi, V.; Bagheri, D.; Torfi Mozanzadeh, M. 2020. Effect of short-term fasting and re-feeding on growth, digestive enzyme activities and antioxidant defense in yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus* (Houttuyn, 1782). Aquaculture Research, 51:1437–1445. <https://doi.org/10.1111/are.14489>
- Tocher, D. R. 2015. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. Aquaculture, 449:94–107. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.010>
- Tocher, D. R. (2003) Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish, Reviews in Fisheries Science, 11(2):107–184. <https://doi.org/10.1080/713610925>

- Tocher, D.R. 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*, 41:717–732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02150.x>
- Tocher, D.R. 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*, 41: 717 -732. Turchini, G. M.; Torstensen, B. E.; Ng, W.K. 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture*, 1:10–57. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2008.01001>
- Ulbricht, T. L. V.; Southgate, D. A. T. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338(8773):985–992. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)91846-m](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91846-m)
- Urbinati, E. C.; Sarmiento, S. J.; Takahashi, L. S. 2014. Short-term cycles of feed deprivation and refeeding promote full compensatory growth in the Amazon fish matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Aquaculture*, 433:430–433. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.06.030>
- Van Veldhoven, P. P.; Mannaerts, G. P. 1999. Peroxisomal fatty acid oxidation: unraveling the enzymatic machinery and the diversity of functions. *FEBS Letters*, 452(3):61-65. https://doi.org/10.1007/978-3-030-60204-8_5
- Volkoff, H.; Hoskins, L. J.; Tuziak, S. M. 2010. Influence of intrinsic signals and environmental cues on the endocrine control of feeding in fish: potential application in aquaculture. *General and Comparative Endocrinology*, 167(3):352–359. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.09.001>
- Wade, N. M.; Skiba-Cassy, S.; Dias, K.; Glencross, B. D. 2014. Postprandial molecular responses in the liver of the barramundi, *Lates calcarifer*. *Fish physiology and biochemistry*, 40:427–43. <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9854-y>
- Wakil, S. J. Fatty acid synthase, a proficient multifunctional enzyme. *Biochemistry*. 1989;28(11):4523–4530. <https://doi.org/10.1021/bi00437a001>
- Wanders, R. J.; Vreken, P.; Ferdinandusse, S.; Jansen, G. A.; Waterham, H. R.; Van Roermund, C. W. 2001. Peroxisomal fatty acid alpha- and beta-oxidation in humans: enzymology, peroxisomal metabolite transporters and peroxisomal diseases. *Biochemical Society Transactions*, 29(2):250–267. <https://doi.org/10.1042/bst0290250>
- Yang, M.; Deng, K.; Pan, M.; Gu, Z.; Liu, D.; Zhang, Y.; Mai, K. 2019. Glucose and lipid metabolic adaptations during postprandial starvation of Japanese founder *Paralichthys olivaceus* previously fed different levels of dietary carbohydrates. *Aquaculture*, 501:416–429. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.003>
- Yang, Z. 1995. Development of a gas chromatographic method for profiling neutral lipids in marine samples. MSc Thesis, Memorial University of Newfoundland St. John's, Newfoundland.