



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA (CAUNESP)**

São Paulo State University - Aquaculture Center



**Fontes lipídicas e ácidos graxos essenciais no
desenvolvimento ovariano e desempenho reprodutivo de
jundiás *Rhamdia quelen***

**CLEONICE CRISTINA HILBIG
Engenheira de Pesca**

**JABOTICABAL – SP
2015**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA (CAUNESP)**

São Paulo State University - Aquaculture Center



**Fontes lipídicas e ácidos graxos essenciais no
desenvolvimento ovariano e desempenho reprodutivo de
jundiás *Rhamdia quelen***

Cleonice Cristina Hilbig

**Orientadora: Dra. Laura Satiko Okada Nakaghi
Coorientador: Prof. Dr. Robie Allan Bombardelli**

Tese apresentada ao Programa de Pós- graduação
em Aquicultura da UNESP–CAUNESP, Campus
de Jaboticabal, como parte das exigências para
obtenção do título de Doutor em Aquicultura.

**JABOTICABAL – SP
2015**

Hilbig, Cleonice Cristina
H641f Fontes lipídicas e ácidos graxos essenciais no desenvolvimento
ovariano e desempenho reprodutivo de jundiás *Rhamdia quelen* /
Cleonice Cristina Hilbig. -- Jaboticabal, 2015
xv, 50 p. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2015

Orientadora: Laura Satiko Okada Nakaghi

Coorientador: Robie Allan Bombardelli

Banca examinadora: Renata Guimarães Moreira Whitton, Luiz
Edvaldo Pezzato, George Yasui, José Augusto Senhorini

Bibliografia

1. Esteroides. 2. Lipídios. 3. Nutrição. 4. Peixe. 5. Reprodução. I.
Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3

“Mesmo quando tudo parece desabar, cabe a mim decidir entre rir ou chorar, ir ou ficar, desistir ou lutar; porque descobri, no caminho incerto da vida, que o mais importante é o decidir.”

Cora Coralina

Dedicatória

Dedico a realização deste trabalho...

*À minha família, amigos e a todas as pessoas que me
ajudaram neste experimento.*

Homenagem

*À minha orientadora, **Profa. Dra. Laura Satiko Okada Nakaghi**, pela oportunidade de orientação. Mais do que isso, pela honra de conhecê-la, e poder partilhar do seu convívio. Um convívio que me possibilitou perceber as várias qualidades que possui, cito aqui, a infinita generosidade de sua alma, a alegria que transmite por onde passa a fé e a força perante as adversidades, a elegância e descontração que naturalmente fluem em suas palavras. Tenho eterna gratidão por todas as coisas que me possibilitou ao longo desta caminhada.*

“Sempre fica um pouco de perfume nas mãos de quem oferece flores”.

*Ao meu coorientador, **Prof. Dr. Robie Allan Bombardelli**, por aceitar prontamente o convite de coorientação. Pela oportunidade de realizar o experimento no Instituto de Pesquisas em Aquicultura Ambiental, e dessa forma possibilitar um grande crescimento profissional e pessoal. Muito Obrigada!*

"Ninguém entra num mesmo rio uma segunda vez. Pois quando isso acontece, já não se é o mesmo; assim como as águas, que já serão outras."

Agradecimentos

À Professora Dra. Laura Satiko Okada Nakaghi pela oportunidade, compreensão e confiança a mim dispensadas.

Ao Professor Dr. Robie Allan Bombardelli, pela coorientação, pelo auxílio nos experimentos, e importantes contribuições ao longo desta pesquisa.

Ao Professor Dr. Fábio Meurer, pela formulação das rações, e disponibilidade do laboratório de nutrição da Universidade Federal do Paraná- Palotina, para confecção das rações extrusadas.

À Professora Dra. Renata Guimarães Moreira Whitton pelo inestimável auxílio e atenção para realização das análises dos esteroides plasmáticos.

Ao Professor Dr. Sérgio Ricardo Batlouni e ao Dr. Rafael Yutaka Kuradomi pela participação na banca de qualificação e pelas importantes considerações sugeridas para melhoria do trabalho.

À Professora Dra. Renata Guimarães Moreira Whitton, ao Professor Dr. Luiz Edvaldo Pezzato, ao Dr. George Yasui, ao Dr. José Augusto Senhorini, pelas valiosas sugestões e correções realizadas durante a defesa de Tese para aprimoramento do trabalho.

Ao meu grande amor, Nivaldo Ferreira do Nascimento, pela colaboração nos experimentos, sempre disposto a me ajudar, incentivar, apoiar e trabalhar muito ao meu lado, por ser tão compreensivo, amoroso, um ser iluminado: Obrigada por existir!

À família Ferreira do Nascimento, pela acolhida, alegrias, e momentos de descontração.

Aos companheiros do Laboratório de Histologia e Embriologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal pelo acolhimento, pela amizade, por serem tão especiais: Breno Manzini, Fernanda Nogueira Valentin, Lilian Cristina Makino, Maria do Carmo Faria Paes, Marcelo Henrique Correa Assunção, Matheus Pereira dos Santos, Nariane Perim Fernandes, Regiane Silva e Sheryll Corchuelo Chavarro.

Às minhas irmãs do coração, pela amizade e companheirismo durante nosso convívio no primeiro ano de Doutorado: Adriana Cristina Bordignon e Letícia Hayashi Higuchi.

Ao Instituto de Pesquisas em Aquicultura Ambiental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, por toda a estrutura cedida e possibilidade de execução deste trabalho.

A todos os integrantes do Laboratório de Tecnologia da Reprodução de Animais Aquáticos Cultiváveis (LATRAAC), pelo importante auxílio na condução desta pesquisa, principalmente nas estações reprodutivas: Alexandre Buzzi, Cesar Pereira Rebecchi de Toledo, Cintia Nara Buratto, Danielle Zaneratto Damasceno, Fabrício Antônio, Giovano Neumann, Lucélia Tessaro, Maurício Adams, Rogério Anderson Druzian, Vitor Sendin Magalhães.

Ainda, aos companheiros e agregados do LATRAAC, que estiveram comigo a maior parte do tempo, me auxiliando em todas as etapas e tornando assim este trabalho possível: Adriano Luiz Heinen, Andressa Fierli Dean, Ana Carolina Barni de Azevedo, Arno Juliano Butzge, Jacson Pablo Fungheto, Marcos Granville.

Ao colega, Aldo Tovo Neto e a todos do Laboratório de Nutrição da UFPR (Palotina) pelo auxílio na confecção das dietas extrusadas, onde foram sempre dispostos, prestativos e atenciosos.

Ao meu irmão, Odair Hilbig, pelo auxílio, na montagem dos experimentos, socorrendo-me sem hesitar todas as vezes que precisei.

Aos técnicos do laboratório de Histologia, Orandi Mateus e Edmar Delega da Silva pelo auxílio das confecções das lâminas e ao Breno Manzini, por ter iniciado e concluído o processamento histológico das amostras.

Ao Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) que me trouxe a oportunidade de ingressar no Doutorado, possibilitando-me um enriquecimento acadêmico e intelectual em Aquicultura.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pelo auxílio concedido na forma de Bolsa (Processo: 142751/2011-1).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo financiamento desta pesquisa concedido na forma Auxílio Pesquisa (Processo: 2012/23089-4).

À Diretoria, Coordenadores e Funcionários da Pós-Graduação do CAUNESP, especialmente à Veralice Cappatto e David Oliveira Lorente pela compreensão e atenção dispensados em todos os momentos necessários.

Às indústrias: Agropalma, pela doação do óleo de palma e Nicolluzi pela doação do óleo de pescado marinho.

Às técnicas da Universidade Federal da Grande Dourados: Arlene Ventura Sobrinho, Phaena Moraes e Tayane Miranda, pelo auxílio nas contagens das larvas e leitura das lâminas histológicas.

Às pessoas que me ajudaram neste trabalho e que por ventura não tenham sido citadas.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	12
LISTA DE ANEXOS	12
RESUMO GERAL	13
GENERAL ABSTRACT	14

Fontes lipídicas e ácidos graxos essenciais no desenvolvimento ovariano e desempenho reprodutivo de jundiás <i>Rhamdia quelen</i>.	15
1. Introdução Geral	15
2. Hipóteses e Objetivos	21
3. Referências Bibliográficas	22

ARTIGO: Óleo de palma refinado um potencial substituto para o óleo de peixe em dietas para reprodutoras de <i>Ramdia quelen</i>	27
Resumo	27
1. Introdução	28
2. Material e Métodos	29
3. Resultados	36
4. Discussão	52
5. Conclusão	56
6. Considerações finais	56
7. Agradecimentos	57
8. Referências Bibliográficas	57

LISTA DE FIGURAS

Introdução Geral

Figura 1. Biossíntese de ácidos graxos. Fonte: Izquierdo, 2005. 16

Artigo

Figura 1. Delineamento experimental. Sistema 1: composto por machos e fêmeas com peso médio inicial de 24,50 g distribuídos em tanques de concreto, com coletas bimestrais de quatro peixes por tanque para posterior análise histológica Sistema 2: Fêmeas redistribuídas em tanques-rede provenientes do sistema 1, com coletas bimestrais de dois peixes por tanque para posterior análise hormonal e histológica. 32

Figura2. Dados de temperatura da água aferidos pela manhã (06:00 h) e tarde (16:00 h) durante o período experimental. 39

Figura3. Índices somáticos de fêmeas de *R. quelen* alimentadas com diferentes fontes lipídicas nos diferentes meses. Letras diferentes apresentam diferenças significativas para os meses avaliados. * ($P < 0,05$). 41

Figura 4. Desenvolvimento ovariano de *R. quelen* alimentadas com diferentes fontes lipídicas. A: Imaturo/Jovem (Junho/13- SO), A' (40x); B: Maturação inicial (Agosto/13- PE), B' (20x); C: Maturação intermediária (Out/13- PA) C' (10x); D: Maturação final (Dezembro/13- SO), D' (40x); E: Maduro (Fevereiro/14- MIX) E' (10x); F: Regressão inicial (Abril/14-PA) F' (4x). Fases: og = oogônias; PV= pré-vitelogênicos; V= vitelogênicos; ac = alvéolo cortical. H-E. 43

Figura 5. Porcentagem média dos ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento para os diferentes tratamentos nos meses de dezembro de 2013, fevereiro e abril de 2014. ... 44

Figura 6. Estradiol (a) e 17α -hidroxiprogesterona (b) em fêmeas de *R. quelen* alimentadas com diferentes fontes lipídicas. Letras diferentes apresentam diferença significativa Tukey ($P < 0,05$). 51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação e valores médios da composição centesimal das dietas experimentais.	30
Tabela 2. Perfil de ácidos graxos (%) encontrados nos óleos e nas dietas experimentais com diferentes fontes lipídicas fornecidas as fêmeas de jundiá <i>R. quelen</i>	38
Tabela 3. Média $\pm$ erro padrão do comprimento total inicial e final, peso médio inicial e final, ganho em peso e sobrevivência das fêmeas de jundiás nos diferentes tratamentos. ..	40
Tabela 4. Características seminais de <i>R. quelen</i> utilizados para fertilização.	45
Tabela 5. Média $\pm$ erro padrão do desempenho reprodutivo e larval de fêmeas de jundiá <i>R. quelen</i> alimentadas com as diferentes dietas.	46
Tabela 6. Média $\pm$ erro padrão do perfil dos ácidos graxos totais (%) encontrados no fígado de fêmeas de <i>R. quelen</i> alimentadas com diferentes fontes lipídicas.	48
Tabela 7. Média $\pm$ erro padrão do perfil dos ácidos graxos (%) encontrados nos ovários de <i>R. quelen</i> alimentadas com diferentes fontes lipídicas.	49
Tabela 8. Média $\pm$ erro padrão do perfil dos ácidos graxos (%) encontrados nos ovócitos de fêmeas de <i>R. quelen</i> alimentadas com diferentes fontes lipídicas.	50

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. A: Preparo das dietas experimentais: extrusão; B: adição do óleo; C: “pellets” extrusados; D: Transferência das fêmeas de <i>R. quelen</i> dos tanques de concreto para os tanques-rede.	58
Anexo 2. A: Colheita de sangue por meio de punção caudal; B: centrifugação; C: plasma extraído; D: Seleção das fêmeas de <i>R. quelen</i> aptas a desova.	58
Anexo 3. A: Extrusão dos gametas das fêmeas; B: Extrusão dos gametas dos machos; Procedimento geral da fertilização artificial de <i>R. quelen</i> utilizando o método a “seco”; C: Ovócitos após extrusão; D: Volume de ovócitos para fertilização; E: Aplicação da dose inseminante ; F: Ativação dos gametas.	58
Anexo 4. A: Incubação dos ovos de <i>R. quelen</i> dos diferentes tratamentos fertilizados individualmente; Padrão de anormalidade larval: cauda (B, C, D); cabeça e coluna (E). ..	58

HILBIG, Cleonice Cristina. Fontes lipídicas e ácidos graxos essenciais no desenvolvimento ovariano e desempenho reprodutivo de jundiás cinza *Rhamdia quelen*. 2015. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

RESUMO GERAL

A nutrição de reprodutores é um dos principais aspectos relacionados com a qualidade dos ovos e larvas produzidos. Os lipídios e sua composição em ácidos graxos são considerados importantes para o desenvolvimento das gônadas, sobre hormônios gonadotrópicos e esteroidiais, bem como influencia a formação de estruturas biológicas incluindo membranas celulares. Os ácidos graxos essenciais para os peixes são o ácido linoleico e o ácido linolênico, que quando convertidos fornecem os ácidos graxos poli-insaturados, como ARA, EPA e DHA, respectivamente. O óleo de pescado marinho é considerado uma fonte ideal de ácidos graxos poli-insaturados, no entanto, os óleos vegetais são mais comumente utilizados em dietas de peixe. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o desenvolvimento ovariano e o desempenho reprodutivo de jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com diferentes fontes lipídicas (óleo de soja, óleo de peixe marinho, óleo de palma refinado e a mistura dos três óleos). As fontes lipídicas não influenciaram no desenvolvimento do ovário, nos níveis de estradiol e 17 α -hidroxypregesterona, e nos índices gonadossomáticos. No entanto, o ácido graxos influenciaram no perfil de ácidos encontrados no fígado, gônadas e oócitos. Adicionalmente dietas à base de o óleo de palma resultou em melhores taxas de fertilização, sendo recomendado sua utilização em substituição ao óleo de pescado marinho.

Palavras-chave: esteroides, histologia, nutrição, óleos, reprodução.

HILBIG, Cleonice Cristina. Lipid sources and essential fatty acids on ovarian development and reproductive performance of silver catfish *Rhamdia quelen* **2015. Thesis (Doctorate in Aquaculture) – Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.**

GENERAL ABSTRACT

Broodstock nutrition is one of the main aspects related with the quality of eggs and larvae produced. Lipids and its fatty acid composition are considered important on gonadal development, gonadotropic and steroid hormones, as well as influencing the formation of biological structures including cell membranes. In fish linoleic and linolenic are the essential fatty acids, which mabe converted into polyunsaturated fatty acids, like ARA, EPA and DHA, respectively. The marine fish oil are good sources of polyunsaturated fatty acids, however, vegetable oils are more comunly used in fish diets. Thus, the aim of this study was to evaluate the ovarian and reproductive development of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fed with lipid sources (soybean oil, marine fish oil, refined palm oil and a mixture). The lipid sources did not influence ovarian development, levels of estradiol, 17 α -hidroxypregesterona, and gonadosomatic index. However, the fatty acid changed fatty acid profile found in the liver, gonads and oocytes. Additionally, palm oil give rise to better fertilization rates and are recommended, suggesting that it may be used for fish oil replacement.

Key-words: catfish, histology, nutrition, oils, reproduction, steroids.

Fontes lipídicas e ácidos graxos essenciais no desenvolvimento ovariano e desempenho reprodutivo de jundiás *Rhamdia quelen*.

1.Introdução Geral

Algumas espécies de peixes nativas apresentam grande importância para a aquicultura nacional, pela sua resistência, crescimento e ajustes aos sistemas de cultivo, apresentam carne de excelente qualidade e elevada aceitação pelo consumidor. Entre as espécies nativas que merecem destaque, podemos citar o jundiá *Rhamdia quelen*, um siluriforme de ampla distribuição geográfica, encontrado desde o Sul do México até o Centro da Argentina (Froese e Pauly, 2014). Seu hábito alimentar é onívoro com tendência a carnívora (Ringuelet et al., 1967). Na natureza se alimenta de peixes, crustáceos, insetos, restos de vegetais, sementes e detritos orgânicos (Gomieiro et al., 2007). Este bagre apresenta crescimento rápido, carne de excelente qualidade e bom rendimento de carcaça, destacando-se no cenário aquícola da região Sul do Brasil (Melo et al., 2002). Além disso, por apresentar resistência, fácil reprodução e aceitação aos mais variados tipos de alimentos (Esquivel, 2005; Parra et al., 2008) torna-se uma espécie potencial para o cultivo.

No tocante a reprodução, esta espécie atinge maturação sexual com aproximadamente um ano de idade em ambos os sexos, sendo que em ambientes naturais, os machos iniciam o processo de maturação gonadal com 13,4cm e as fêmeas com 16,5cm (Narahara et al., 1985). O período reprodutivo do jundiá ocorre nos meses mais quentes do ano (agosto a março) dependendo do local onde está inserido (Gomes et al., 2000). São peixes que apresentam desenvolvimento ovocitário assincrônico, ou seja, os ovócitos amadurecem em lotes e são eliminados em intervalos regulares, portanto é uma espécie de desova parcelada (Ghiraldelli et al., 2007).

Para melhor aproveitar o potencial produtivo de espécies nativas, como o jundiá, e proporcionar uma criação sustentável, são necessários estudos que avaliem o controle do processo reprodutivo (Scorvo, 2008). Assim, os lipídios e a sua composição em ácidos graxos na dieta dos reprodutores têm sido avaliados como um dos fatores principais no sucesso da reprodução em peixes, pois estão relacionados com o desenvolvimento gonadal e a produção de hormônios gonadotrópicos e esteroidais (Izquierdo et al., 2001).

Uma vez fornecido na dieta, os ácidos graxos terão três destinos: serão incorporados aos fosfolípidios estruturais, depositados como triglicerídeos ou oxidados para geração de energia (Henderson, 1996). Contudo, a digestibilidade e a absorção dos ácidos graxos diminuem com o aumento do comprimento da sua cadeia, e aumenta com o aumento da sua saturação (Sigurgísladóttir et al., 1992).

Como os demais vertebrados (que não possuem as enzimas dessaturases $\Delta 12$ e $\Delta 15$), os peixes não conseguem realizar a síntese dos ácidos graxos linoleico (LA, C18:2n-6) e linolênico (LNA, C18:3n-3) *de novo*, assim, eles são considerados ácidos graxos essenciais e devem ser fornecidos na dieta para evitar deficiências nutricionais (Sargent et al., 2002).

A contrário dos peixes marinhos, em geral os peixes de água doce possuem a habilidade para converter o ácido linoleico (C18:2n-6) a araquidônico (ARA, C20:4n-6) e o linolênico (C18:3n-3) para eicosapentanoico (EPA, C20:5n-3) e finalmente, para docosahexanoico (DHA, C22:6n-3), através de uma rota que envolve uma série de enzimas de alongamento e dessaturação (Sargent et al., 2002; Turchini et al., 2006) (**Figura 1**).

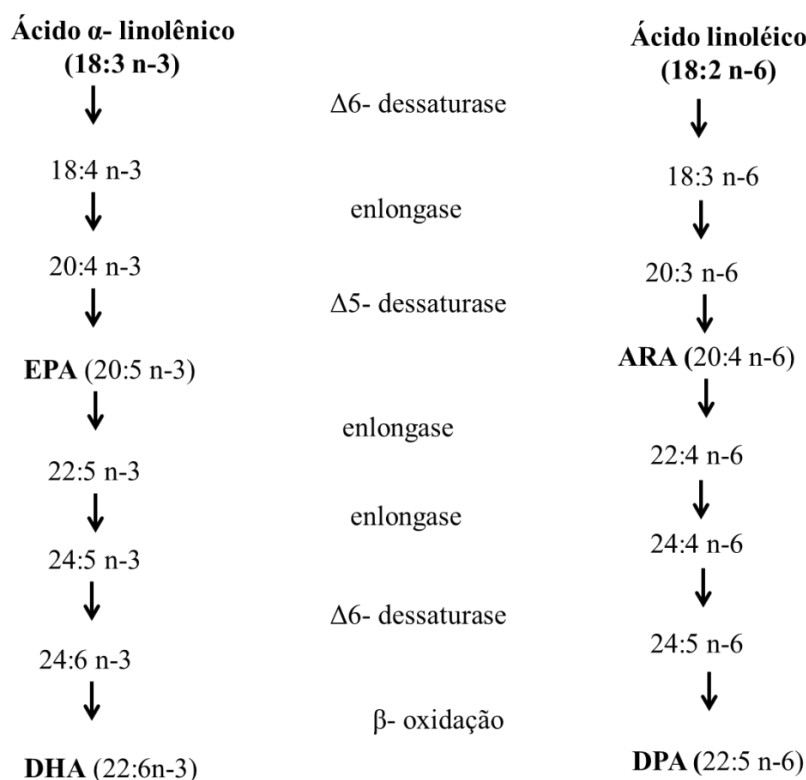


Figura 1. Biossíntese de ácidos graxos. Fonte: Izquierdo, 2005.

Esses três ácidos poli-insaturados (ARA, EPA e DHA) são necessários para o desenvolvimento normal dos peixes, incluindo crescimento e reprodução (Izquierdo et al., 2001). Dentre os ácidos polinsaturados, o ARA, é precursor de vários eicosanoides como prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, que em peixes podem influenciar em processos de crescimento, vitelogênese, reprodução, embriogênese, eclosão e regulação de respostas imune (Mustafa e Srivastava, 1989; Bell e Tocher, 1995). Enquanto que, o EPA e o DHA, participam de processos reprodutivos, influenciando a concentração de hormônios esteroides gonadais, além de serem importantes componentes de membranas celulares, principalmente de tecidos nervosos e visuais (Sorbera et al., 2001).

No caso do jundiá, Vargas et al. (2008) evidenciaram a capacidade de dessaturação e elongação pela presença de ácidos graxos altamente insaturados na composição corporal dos peixes alimentados com as rações que continham óleos vegetais. Contudo, a dessaturação dos ácidos graxos n-3 é mais efetiva que a dos ácidos graxos n-6, onde a enzima $\Delta 6$ -dessaturase atua preferencialmente nos ácidos graxos n-3 (Izquierdo, 2005).

Os peixes armazenam a gordura em diversos locais do corpo, como fígado, tecidos mesentéricos, pele, músculo e parede abdominal, sendo que todas as espécies armazenam lipídios nas gônadas (Contreras, 2002). Durante o período de maturação gonadal, as reprodutoras de peixe necessitam de grande disponibilidade de macro e micronutrientes para transferirem aos ovócitos (Cejas et al., 2004), e os lipídios e os ácidos graxos são transportados pelo sangue carreados por lipoproteínas específicas (Sargent, 1995).

O perfil de ácidos graxos nas gônadas de fêmeas de jundiá em ambiente natural apresentam certa estabilidade, sendo encontrados principalmente C16:0 (ácido palmítico), C18:1n7 (ácido oléico), C20:4n6 (ácido araquidônico) e C22:6n3 (ácido docosaexaenóico) (Vargas e Bessonart, 2007).

Assim, no processo de oogênese, os ácidos graxos são mobilizados a partir das reservas lipídicas, principalmente de origem hepática (no caso, durante a síntese da vitelogenina), que serão transferidos para o desenvolvimento dos ovócitos e incorporados como material nutritivo no vitelo, principal fonte endógena de alimento para os embriões durante o seu processo de desenvolvimento (Adams, 1999; Brooks et al., 1997).

Portanto, o perfil dos ácidos graxos dos ovos de peixes podem ser bem diferentes da composição corporal, devido a seletiva transferência de determinados ácidos graxos para

os ovócitos (Tocher et al. 2003). Assim, os ácidos graxos da série n-3 e n-6 (como o LA e ARA) podem ser encontrados em teores elevados nos ovócitos de peixes de água doce (Wiegand, 1996).

Os ácidos graxos, principalmente os poli-insaturados, também podem influenciar a fisiologia reprodutiva dos peixes, modulando as respostas dos hormônios esteroides que atuam no crescimento, desenvolvimento e maturação das gônadas (Navas et al., 1998, Zhang et al. 2013). Baeza et al. (2015) verificaram que, dependendo da fase do desenvolvimento da gônada, vários ácidos graxos influenciam o processo de espermatogênese na enguia *Anguilla anguilla* por meio da regulação da produção de esteroides. Esses autores verificaram que EPA, DHA e ARA modulam a síntese de andrógenos na fase final de maturação. Outro indício sobre a correlação entre ácidos graxos e os níveis de estrógenos pode ser verificada em um estudo onde tilápias (*Oreochromis mossambicus*) que receberam injeções de E2, apresentaram um aumento da atividade enzimática da enzima dessaturase e assim, uma diminuição dos AGS e um aumento nos AG monoinsaturados (Hsieh et al., 2004). Ainda, Araújo (2012) verificou que o nível de estradiol em fêmeas de zebrafish (*Danio rerio*) alimentadas com dietas contendo óleo de peixe foi superior quando comparadas as dietas a base de óleos vegetais (oliva, linhaça e milho), sendo o EPA relacionado a esse aumento.

A principal fonte de ácidos graxos das rações comerciais provém do óleo de pescado. No entanto, enquanto sua produção tem permanecido estável nas últimas três décadas, a produção de óleo vegetal continua crescendo consideravelmente (Turchini et al., 2009). De maneira geral, o óleo de pescado marinho possui de 15 a 30% do total de ácidos graxos insaturados, sendo que destes aproximadamente 25 a 35% são de cadeia longa C20 e C22.

Assim, os derivados do óleo de pescado marinho possuem alto teor de ácidos graxos docosahexanóico (DHA) e eicosapentanóico (EPA) (Contreras, 1994), e ainda quantidades significativas de ácido araquidônico (ARA), ausentes nos óleos vegetais (Bell e Sargent, 2003). Ademais, ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) com 20 ou mais átomos de carbono presentes nos óleos de peixe afetam diretamente ou através de seus metabólitos a maturação dos peixes e esteroidogênese (Fernandez-Palacios et al., 1995; Izquierdo et al., 2001),

Contudo, com o rápido crescimento da aquicultura mundial e o declínio dos estoques pesqueiros, tem se buscado nos óleos vegetais uma alternativa sustentável de substituição parcial ou total do óleo de pescado em dietas para peixes (Babalola et al., 2011). Os óleos vegetais são fontes ricas em ácidos graxos da família n-6 e n-9, e seu custo é baixo em relação ao óleo de pescado marinho. Dentre os principais óleos utilizados na nutrição de peixes estão o óleo de soja, e recentemente o óleo de palma ou dendê (Turchini et al., 2009). Esses óleos também são os mais produzidos mundialmente ocupando o segundo (óleo de soja com 22,4 %) e o primeiro lugar (óleo de palma com 32%), respectivamente (Ayisi e Zhao, 2014).

O óleo de soja apresenta 19 a 30% de ácido oléico (C18:1n-9), 44 a 62% de ácido linoleico (LA, C18:2n-6), principal representante da série de ácidos graxos ômega-6, e 4 a 11% de ácido linolênico (LNA, C18:3n-3), principal representante da série ômega-3 (ANVISA, 1999). Enquanto que o óleo de palma é considerado uma fonte superior de energia, pois contém grandes quantidades de ácidos graxos saturados (48%), representado principalmente pelo ácido palmítico (C16:0) e monoinsaturados (42%), representado pelo ácido oléico (C18:1n-9) (Ng, 2004; Ng e Wang, 2011). Estudos *in vitro* realizados sobre a β oxidação mitocondrial no fígado de trutas (*Salmo gairdneri*) sugerem que existe preferência de substratos de ácidos graxos saturados e monoinsaturados sobre os ácidos graxos poli-insaturados (Henderson e Sargent, 1985).

Trabalhos utilizando fontes de lipídios para jundiá foram realizados por Parra et al. (2008) testando fontes de energia de origem animal (banha suína) e vegetal (óleo de canola e girassol) sobre o desempenho reprodutivo de fêmeas de jundiá (*R. quelen*). Estes autores não observaram efeito sobre o desempenho, mas verificaram maior crescimento larval na prole de fêmeas alimentadas com a dieta contendo óleos vegetais. Ainda, testando dietas sem adição de óleo (controle) e rações contendo 5% de óleo de milho ou 5% de óleo de linhaça, Moreira et al. (2004) verificaram que fêmeas de jundiá (*R. quelen*) incorporam PUFA nos ovócitos. Nestes, o perfil de ácidos graxos foi alterado em função da dieta e os autores sugerem que ácidos graxos n-6 são preferencialmente mobilizados.

Atualmente, o nível de proteína bruta de 28% (Coldebella et al., 2011) e nível energético de 2850 Kcal. Kg⁻¹ na ração (Tessaro, 2014), foram sugeridos para reprodutores de jundiá. No entanto, trabalhos relacionados com desenvolvimento ovariano associado à nutrição são escassos. Gunasekera e Lam (1997) investigaram a importância da proteína na

maturação de fêmeas de tilápia (*Oreochromis niloticus*), enquanto que Andrade et al. (2010) testaram além dos níveis de proteína, a suplementação com óleo de milho (que contém maiores níveis de ácidos graxos n-6) para pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) criados em tanques-rede. No entanto, os autores observaram que as dietas não afetaram o desenvolvimento ovariano.

Shiranee e Natarajan (1996) relataram que dietas práticas contendo 4% de óleo bruto de palma com 1% de óleo de fígado de peixe tiveram uma influência positiva sobre o desenvolvimento dos ovários e maturação de “pearlspot” (*Etroplus suratensis*). Esses autores verificaram ainda, que peixes alimentados com esta dieta apresentaram maior índice gonadosomático, maior porcentagem de peixes maduros e ovos maiores.

Em recente estudo realizado por Ng e Wang (2011) testando fontes de lipídios na dieta de tilápias (*Oreochromis niloticus*), os autores verificaram que a inclusão de óleo bruto de palma apresentou melhores resultados no desempenho reprodutivo, como maior tamanho de gônadas, idade precoce da primeira desova, curto intervalo entre desovas, um período maior de fertilidade, maior produção de ovos, alta taxa de fertilização e baixa incidência de deformidades nas larvas, quando comparada apenas com dietas a base de óleo de peixe e de óleo de linhaça.

Embora hajam progressos conforme mencionado acima, ainda é pouco o que se sabe acerca dos efeitos das diferentes fontes lipídicas, principalmente no que se refere as fontes vegetais (perfil dos seus ácidos graxos) sobre o desenvolvimento ovariano e fisiologia reprodutiva dos peixes de água doce. Contudo, a escassez de ácidos graxos essenciais na alimentação de reprodutores causa significativa redução na produção de ovos e taxas de eclosão (Izquierdo et al., 2000), deformidades morfológicas e limita o número de larvas sobreviventes (Corraze, 2001).

Assim este trabalho visa aumentar informações a respeito da inclusão de óleos vegetais, sua combinação com óleo de pescado marinho, e seus diferentes perfis de ácidos graxos essenciais nas etapas de desenvolvimento ovariano e no desempenho reprodutivo de jundiás, e dessa forma fornecer subsídios à cadeia produtiva de peixes nativos, que está em crescente expansão e cada vez mais dependente de maior número de proles.

2. Hipóteses e Objetivos

Considerando a estagnação da produção de óleo de pescado marinho, e a grande oferta de óleos vegetais as hipóteses desta tese foram: “Os óleos vegetais (soja e palma) podem substituir o óleo de pescado marinho, sem acarretar prejuízos na fisiologia e desempenho reprodutivo das fêmeas de jundiás” e “O perfil de ácidos graxos encontrados na mistura de óleos vegetais e óleo de pescado marinho podem melhorar o desempenho reprodutivo”. Assim para verificar as hipóteses formuladas foram elaborados alguns objetivos:

- Avaliar a influencia das diferentes fontes lipídicas (vegetais e mistura dos óleos) e seus perfis de ácidos graxos sobre a maturação ovariana de jundiás através de análise dos índices gonadossomático, hepatossomático e morfologia dos ovários.
- Avaliar o efeito das diferentes dietas sobre o desempenho reprodutivo das fêmeas de jundiás quanto aos índices de fecundidade, taxas de fertilização, taxas de eclosão e percentual de larvas normais.
- Determinar o perfil de ácidos graxos encontrados nas dietas elaboradas, nas gônadas, nos ovócitos e fígado das fêmeas, e assim verificar a influência dos ácidos graxos no desempenho reprodutivo.
- Verificar a influencia dos diferentes perfis de ácidos graxos das dietas sobre os níveis plasmáticos de hormônios esteroides (β -estradiol e 17α -hidroxiprogesterona).

3. Referências Bibliográficas

ADAMS, S. M. Ecological role of lipids in the health and success of fish populations. In: ARTS, M.T.; WAINMAN, B.C. **Lipids in Freshwater Ecosystems**. 1ed. New York: Springer, 1999, p. 142-145.

ANDRADE, V.X.L.; HONJI, R.M.; ROMAGOSA, E. Processo de maturação das gônadas de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) alimentado com dois níveis proteicos e suplementados com óleo de milho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.2, p.332-342, 2010.

ARAÚJO, F.G. **Atuação dos ácidos graxos dietéticos sobre diferentes parâmetros reprodutivos de zebrafish (*Danio rerio*)**. 2012. 104f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal de Lavras.

AYISI, C.L.; ZHAO, J.L. Recent development in the use of palm oil in aquaculture feeds: a review. **International Journal of Scientific & Technology Research**, v. 3, n.6, p.259-264, 2014.

BABALOLA, T.O.; APATA, D.F.; OMOTOSHO, J.S.; ADEBAYO, M. Differential effects of dietary lipids on growth performance, digestibility, fatty acid composition and histology of African catfish (*Heterobranchus longifilis*) fingerlings. **Food and Nutrition Sciences**, v.2, p.11-21, 2011.

BAEZA, R.; PENARANDA, D.S.; VILCHEZ, M.C.; TVEITEN, H.; PEREZ, L.; ASTURIANO, J.F. Exploring correlations between sex steroids and fatty acids and their potential roles in the induced maturation of the male European eel. **Aquaculture**, v.435, p.328-335, 2015.

BARCELLOS, L.J.G.; WASSERMANN, G.F.; SCOTT, A.P.; WOHL, V.M.; QUEVEDO, R.M.; ITTZ, E.S., I., KRIEGER, M.H.; LULHIER, F. Steroid profiles in cultured female jundiá, the Siluridae *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pisces Teleostei), during the first reproductive cycle. **General and Comparative Endocrinology**, v. 121, p. 325–332, 2001.

BELL, J.G.; SARGENT, J.R. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. **Aquaculture**, v.218, p. 491-499, 2003.

BELL, M.V.; TOCHER, D.R. Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in aquatic ecosystems: General pathways and new directions. In: ARTS, M.T., BRET, M.T, KAINZ, M.J. (Ed). **Lipid in aquatic ecosystems**. Springer Science, New York, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n. 482, de 23 de setembro de 1999**. Republicada 20 jun. 2000. Brasília, DF, 1999. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/482_99.htm. Acesso em: 19 de setembro de 2014.

BROOKS S.; TYLER C.R.; SUMPTER, J.P. Egg quality in fish: what makes a good egg? **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.7, p. 387-416, 1997.

- BROWN-PETERSON, N., WYANSKI, D.M., SABORIDO-REY, F., MACEWICZ, B.J., LOWERRE-BARBIERI, S.K. A Standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science**, v. 3, p.52–70, 2011.
- CEJAS, J.S.; ALMANSA, E.; JÉREZ, S.; BOLANOS, A.; FELIPE, B.; LORENZO, A. Lipid and fatty acid composition of muscle and liver from wild and captive mature female broodstocks of white seabream, *Diplodus sargus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v.138, p.91–102, 2004.
- COLDEBELLA, I.J.; NETO RADUNZ, J.; MALLMANN, C.A.; VEIVERBERG, C.A.; BERGAMIN, G.T.; PEDRON, F.A.; FERREIRA, D.; BARCELLOS, L.J.G. The effects of different protein levels in the diet reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, v.312, p.137-144, 2011.
- CONTRERAS, E.S.G. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP, 1994, p. 315-324.
- CONTRERAS-GUZMÁN, E.S. **Bioquímica de pescados e invertebrados**. Santiago (Chile): CECTA-USACH, 2002, 308 p.
- CORRAZE, G. Lipid nutrition. In: **Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans** In: GUILLAUME, R., METAILLER, R., KAUSHIK, S. & BERGOT, P. eds.), pp. 111–129. Ed. Praxis Publishing Ltd., Chichester, UK.2001.
- ESQUIVEL, B.M. **Produção do jundiá (*Rhamdia quelen*) em áreas de entorno do parque Estadual da Serra do Tabuleiro em Paulo Lopes**. 2005. 102 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.
- FERNÁNDEZ-PALACIOS, H.; IZQUIERDO, M.S; ROBAINA, L.; VALENCIA, A.; SALHI, M.; VERGARA, J. Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture**, v.132, p.325-337, 1995.
- FROESE, R.; PAULY, D. **FishBase: World Wide Web electronic publication**. 2014. Disponível em: <<http://www.fishbase.org>>. Acesso em: 05 dez. 2014.
- GHIRALDELLI, L.; MACHADO, C.; FRACALOSSI, D.M., ZANIBONI-FILHO, E. Desenvolvimento gonadal do jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei, Siluriformes), em viveiros de terra, na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 349-356, 2007.
- GOMES, L.C.; GOLOMBIESKI, J.I.; GOMES, A.R.C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**. v.30, n.1, p.179-185, 2000.
- GOMIEIRO 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, p. 127-133, 2007.

- GUNASEKERA, R.M; LAM, T.J. Influence of dietary protein level on ovarian recrudescence in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v.149, p.57–69, 1997.
- HENDERSON, R J ; SARGENT, J R. Chain-length specificities of mitochondrial and peroxisomal β -oxidation of fatty acids in livers of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.82, p. 79-85, 1985.
- HENDERSON, R. J. Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular references to polyunsaturated fatty acids. **Archives of Animal Nutrition**, v.49, p. 5-22, 1996.
- HSIEH, S.L., CHANG, H.T., WU, C.H., KUO, C.M. Cloning, tissue distribution and hormonal regulation of stearoyl-CoA desaturase in tilapia, *Oreochromis mossambicus*. **Aquaculture**, v. 230, p. 527–546, 2004.
- IZQUIERDO, M.S., SOCORRO, J., ARANTZAMENDI, L.; HERNANDEZ-CRUZ, C. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.22, p. 97–107, 2000.
- IZQUIERDO, M.S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A.G.J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v.197, p. 25-42, 2001.
- IZQUIERDO, M. **Essential fatty acid requirements in Mediterranean fish species**. In : Montero D .(ed.), Basurco B. (ed.), Nengas I. (ed.), Alexis M. (ed.), Izquierdo M. (ed.). *Mediterranean fish nutrition*. Zaragoza: CIHEAM, p.91-102 (Cahiers Options Méditerranéennes; n. 63), 2005.
- MELO, J. F. B.; RADÜNZ NETO, J.; DA SILVA, H. S.; TROMBETTA, C.G. Desenvolvimento e composição corporal de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.2, p.323-327, 2002.
- MOREIRA, R.G.; OROZCO-ZAPATA, C.R.; SCHREINER, M.; COLQUHOUN, A.; SILVA, T.F.C.; MIMURA, O.M. M.. Influence of broodstock dietary fatty acids on egg lipid composition of the silver catfish *Rhamdia quelen* (Pisces, Teleostei, Pimelodidae). 6th International Congress on the Biology of Fish – Manaus, AM, Brazil, 2004.
- MUSTAFA, T., SRIVASTAVA, K.C., Prostaglandins (eicosanoids) and their role in ectothermic organisms. **Advances in Comparative and Environmental Physiology**. v.5, p.157–207, 1989.
- NAVAS, J.M., MANANOS, E., THRUSH, M., RAMOS, J., ZANUY, S., CARRILLO, M., ZOHAR, Y., BROMAGE, N. Effect of dietary lipid composition on vitellogenin, 17 β -estradiol and gonadotropin plasma levels and spawning performance in captive sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture**, v.165, p. 65–79, 1998.
- NARAHARA, M. Y., GODINHO, H. M., FENERICH-VERANI, N.; ROMAGOSA, E. Relação peso-comprimento e fator de condição de *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) (Osteichthyes, Siluriformes, Pimelodidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.12, n.4, p.13-22, 1985.

NG, W.K. Palm oil as a novel dietary lipid source in aquaculture feeds. **Palm Oil Development**, v.41, p.14-18, 2004.

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, p. 122-131, 2011.

PARRA, J.E.G.; RADÜNZ NETO, J.; VEIVERBERG, C.A.; LAZARRI, R.; BERGAMIN, G.T.; PEDRON, F.A.; ROSSATO, S.; SUTILI, F.J. Alimentação de fêmeas de jundiá com fontes lipídicas e sua relação com o desenvolvimento embrionário e larval. **Ciência Rural**, vol.38, no7, p.2011-2017, 2008.

RINGUELET, R.A; ARAMBURU, R.H.; DE ARAMBURU, A.A. Los peces argentinos de agua Dulce. **La Plata: Dirección de Impresiones Del estado y Boletim Oficial**. 600p. 1967.

SARGENT J.R. Origins and functions of egg lipid: nutritional implications. In: **Broodstock Management and Egg and Larval Quality** (ed. by N.R. Bromage & R.J. Roberts), Blackwell Science, Oxford, UK, p.353-372, 1995.

SARGENT, J.R.; TOCHER, D.R.; BELL, J.G. The Lipids. In: HALVER, J.E.; HARDY R.W. **Fish Nutrition**. Elsevier Science: San Diego, 2002, p.181-257.

SHIRANEE, P.; NATARAJAN, P. Crude palm oil as a source of carotenoids and tocopherols to enhance reproductive potential in pearlspot *Etroplus suratensis* (Bloch). **Asian Fisheries Science**, v.9, p. 35-44, 1996.

SIGURGÍSLADÓTTIR, S., LALL, S. P., PARRIS, C. C., ACKMAN, R. G. Cholestane as a digestibility marker in the absorption of polyunsaturated fatty acid ethyl ester in Atlantic salmon. **Lipids**, v. 27, p.418-424, 1992.

SORBERA, L.A.; AUSTURIANO, J.F.; CARILLO, M. et al. Effects of polyunsaturated fatty acids and prostaglandins on oocyte maturation in marine teleost, the european sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Biology of Reproduction**, v.64, p.382-389, 2001.

TACON, A.G.J.; METIAN, M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. **Aquaculture**, v. 285, p. 146–158, 2008.

TESSARO, L.; TOLEDO, C. P. R.; NEUMANN, G.; KRAUSE, R. A.; MEURER, F.; NATALI, M.R.M.; BOMBARDELLI, R. A. 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 teleosts fish. **Reviews in Fisheries Science**, v.11, n.2, p.107-184, 2003.

TURCHINI, G.M.; FRANCIS, D.S.; DE SILVA, S.S. Fatty acid metabolism in the freshwater fish Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) deduced by the whole-body fatty acid balanced method. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v. 144, p. 110-118, 2006.

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

VARGAS, R.J.; BESSONART, M. Análisis preliminares de la composición lipídica de las gónadas de bagre negro, *Rhamdia quelen* (Siluriformes; Quoy y Gaimard, 1824) de dos poblaciones en diferentes estaciones del año. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.33, n.01, p.93-98, 2007.

VARGAS, R.J.; SOUZA, S.M.G.; KESSLER, A.M; BAGGIO, S.R. Replacement of fish oil with vegetable oils in diets for jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard 1824): effects on performance and whole body fatty acid composition. **Aquaculture Research**, v.39, p.657-665, 2008.

WIEGAND, M.D. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. **Fish Biology and Fisheries**, v. 6, p. 259–286, 1996.

ZHANG, M.Z., LI, G.L.; ZHU, C.H., DENG, S.P. Effects of fish oil on ovarian development in spotted scat (*Scatophagus argus*). **Animal Reproduction Science**, v.141, p. 90-97, 2013.

ARTIGO: Óleo de palma refinado um potencial substituto para o óleo de peixe em dietas para reprodutoras de *Ramdia quelen*

Artigo a ser submetido ao periódico Aquaculture (ISSN: 0044-8486)

Resumo

O estudo avaliou os efeitos de fontes lipídicas sobre o desempenho reprodutivo em fêmeas de *R. quelen* de primeira maturação. Quatro dietas foram formuladas a base de óleo de pescado marinho, óleo de palma refinado, óleo de soja e a mistura dos três óleos. Durante onze meses fêmeas de *R. quelen* foram alimentadas com as diferentes dietas, e avaliados os perfis dos ácidos graxos (fígado, ovários e ovócitos) e os níveis de esteroides gonadais (17β -estradiol e 17α -hydroxiprogesterona). O perfil dos ácidos graxos da dieta afetaram o perfil de ácidos graxos encontrados no fígado, ovários e ovócitos das fêmeas de jundiá, fornecendo informações sobre a preferência na conservação de alguns ácidos graxos envolvidos na reprodução. As análises histológicas demonstraram desenvolvimento ovariano similar para todas as dietas testadas, assim como os índices gonadossomáticos. No entanto, no mês de dezembro, menores índices gonadossomáticos foram obtidos para fêmeas que receberam dietas contendo apenas óleo de palma, coincidindo com os menores níveis de estradiol, ademais não houve influencia para os demais meses avaliados. Todas as dietas testadas forneceram excelentes resultados de fecundidade, mas o desempenho reprodutivo, sobretudo as taxas de fertilização obtidos para dietas a base de óleo de palma foram similares aos encontrados para fêmeas nutridas com óleo de pescado, sugerindo que esta fonte lipídica pode ser utilizada em substituição ao óleo de pescado em dietas para reprodutoras de *R. quelen*.

Palavras-chave: ácidos graxos, fêmeas, hormônios, jundiá cinza, lipídios, reprodutores.

1.Introdução

A melhor fonte de ácidos graxos das rações comerciais provém do óleo de pescado. No entanto, a produção desse tem permanecido estável nas últimas três décadas, causando um entrave na nutrição e reprodução de peixes de água doce (Turchini et al., 2009). Assim, tem se buscado nos óleos vegetais uma alternativa sustentável de substituição parcial ou total do óleo de pescado em dietas para peixes, incluindo a nutrição de reprodutores (Babalola et al., 2011).

Os ácidos graxos derivados do óleo de pescado marinho possuem alto teor de ácidos docosahexanóico (DHA), eicosapentanóico (EPA), e quantidades significativas de ácido araquidônico (ARA), ausentes nos óleos vegetais (Bell e Sargent, 2003). Esses três ácidos polinsaturados (ARA, EPA e DHA) são necessários para o desenvolvimento normal dos peixes, incluindo crescimento e reprodução (Izquierdo et al., 2001). Adicionalmente, também podem atuar modulando as respostas dos hormônios esteroides que atuam no crescimento, desenvolvimento e maturação das gônadas (Navas et al., 1998, Zhang et al., 2013).

Mesmo estando ausentes nos óleos vegetais, os ácidos graxos poli-insaturados (ARA, EPA e DHA) podem ser produzidos nos peixes de água doce através do ácido graxo linoleico (LA, C18:2n-6) e linolênico (LNA, C18:3n-3), considerados essenciais. Assim, com dietas contendo óleos vegetais os peixes convertem o ácido linoleico (C18:2n-6) a araquidônico (ARA, C20:4n-6) e o linolênico (C18:3n-3) para eicosapentanóico (EPA, C20:5n-3) e finalmente, para docosahexanóico (DHA, C22:6n-3), empregando uma série de enzimas de alongamento e dessaturação (Sargent et al., 2002; Turchini et al., 2006).

No entanto, interações competitivas podem ocorrer entre EPA/ARA (formação de eicosanoides) e DHA/EPA (incorporação de fosfolípidios estruturais) que competem pelas mesmas enzimas para sua biossíntese (Sargent, 1999). Ainda, a proporção de ácidos graxos n3/n6 em dietas para reprodutores também devem ser levadas em consideração (Furuita et al., 2007). Estas relações (EPA/ARA/DHA, n3/n6) refletem diretamente na composição e qualidade dos ovos produzidos, embora sejam espécie-específicas (Ng e Wang, 2011).

O óleo proveniente da palma é o mais produzido mundialmente, e a substituição do óleo de pescado pelo mesmo seria uma alternativa bem interessante (Ayisi e Zhao, 2014),

pois em tilápias (*Oreochromis niloticus*), dietas a base de óleo de palma garantiram excelentes índices reprodutivos (Ng e Wang, 2011). O segundo óleo produzido mundialmente, o óleo de soja (Aysi e Zhao, 2014), também está sendo estudado, e sua substituição ao óleo de pescado em dietas para reprodutores de peixes vem alcançando resultados satisfatórios (Berenjestanaki et al., 2014; Liang et al., 2014). Portanto, o óleo de palma e de soja são candidatos promissores na substituição do óleo de pescado e dentre as vantagens em usá-los está a crescente oferta e baixo custo.

O jundiá cinza (*Rhamdia quelen*) é uma espécie de peixe muito importante na aquicultura de climas temperado e subtropical da América do Sul (Ittzés et al., 2014). Atinge a maturação sexual com um ano de idade e seu desenvolvimento ovocitário é assincrônico, portanto, é uma espécie de desova parcelada (Ghiraldelli et al., 2007). Também apresenta um longo período reprodutivo que vai de agosto a março (Gomes et al., 2000). Pesquisas comprovam a eficiente conversão de ácidos graxos C18 em ácidos graxos poli-insaturados desta espécie quando alimentadas com óleos vegetais (Vargas et al., 2014).

Muitos estudos avaliaram os efeitos dos óleos vegetais sobre o desempenho reprodutivo em peixes. No entanto, poucas pesquisas estão voltadas para os efeitos que esses óleos e seus perfis de ácidos graxos exercem sobre a maturação ovariana e esteroidogênese. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar além do desempenho reprodutivo, o desenvolvimento ovariano e as respostas hormonais das fêmeas de jundiás de primeira maturação alimentados com fontes lipídicas de origem vegetal (soja e palma) e a mistura dos óleos vegetais com o óleo de pescado.

2. Material e Métodos

Todos os procedimentos envolvendo os animais foram conduzidos de acordo com o protocolo aprovado pelo comitê de ética no uso de animais (CEUA), da Universidade Estadual Paulista (Protocolo no 6728/12). O trabalho foi realizado no Instituto de Pesquisa em Aquicultura Ambiental (INPAA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil (24°46'48.31"S; 53°43'25.77"W) no período de maio de 2013 a abril de 2014.

2.1 Dietas experimentais

Foram elaboradas quatro dietas isoprotéicas e isolipídicas (38% de proteína bruta e 7% de extrato etéreo) (Tabela 1).

Tabela 1. Formulação e valores médios da composição centesimal das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	Dietas Experimentais			
	SO	PA	PE	MIX
Farelo de soja	30	30	30	30
Milho (grão)	25,56	25,56	25,56	25,56
Farinha de salmão	20	20	20	20
Glúten trigo	9,359	9,359	9,359	9,359
Fosfato bicálcico	7,571	7,571	7,571	7,571
Óleo de soja	5	-	-	1,66
Óleo de palma	-	5	-	1,66
Óleo de peixe	-	-	5	1,66
Premix*	2	2	2	2
Sal comum (NaCl)	0,5	0,5	0,5	0,5
BHT (antioxidante)	0,02	0,02	0,02	0,02
Antifúngico (ácido propiônico)	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Nutrientes (%)				
Matéria seca	95,62	95,11	93,49	96,35
Proteína bruta	38,46	38,51	37,92	38,84
Energia Bruta				
Extrato etéreo	6,36	7,74	7,20	6,07
Fibra bruta	1,72	2,61	2,19	2,27
Matéria mineral	12,93	12,93	12,81	13,20
Extrato não nitrogenado	36,15	33,32	33,37	35,97

SO= dieta elaborada com óleo de soja; PA= dieta elaborada com óleo de palma refinado; PE= dieta elaborada com óleo de peixe; MIX= dieta elaborada com a mistura dos três óleos. *Composição básica: vitamina A: 1.000.000 UI/kg; vitamina D3: 500.000 UI/kg; vitamina E: 20.000 UI/kg; vitamina K3: 500 mg/kg; vitamina B1: 1.900 mg/kg; vitamina B2: 2.000 mg/kg; vitamina B6: 2.400 mg/kg; vitamina B12: 3.500 mcg/kg; vitamina C: 50 g/kg; niacina: 5.000 mg/kg; ácido pantotênico: 4.000 mg/kg; ácido fólico: 200 mg/kg; biotina: 40 mg/kg; Manganês: 7.500 mg/kg; zinco: 25 g/kg; ferro 12,5 g/kg; sulfato de cobre: 2.000 mg/kg; iodo: 200 mg/kg; Selênio: 70 mg/kg; BHT 300 mg/kg.

Para o preparo das rações, inicialmente os ingredientes foram pesados e misturados em um misturador por quinze minutos. Em seguida, adicionou-se água (20% do peso total), e misturaram-se novamente os ingredientes, passando a mistura em peneira para retirar os

grumos. As rações experimentais foram extrusadas no Laboratório de nutrição da Universidade Federal do Paraná, Campus de Palotina, em extrusora modelo Ex-micro (Exteec) (**Anexo 1A**), e levadas à estufa com ventilação forçada de ar, a 55 °C por 12 horas. Os grânulos de ração foram retirados da estufa, e quando alcançaram a temperatura ambiente, foram pesados para proporção de óleo a ser adicionada. Após a pesagem, o óleo foi adicionado lentamente com a betoneira em movimento por trinta minutos (**Anexo 1B**), resultando em “pellets” de 4 mm (**Anexo 1C**).

2.2 Animais e delineamento experimental

Dois mil juvenis de jundiá cinza *R. quelen* com 60 dias de idade (proveniente de uma piscicultura comercial) foram distribuídos em vinte tanques de concreto (área = 12 m²). Após dois meses de aclimação, 100 peixes de cada unidade experimental (120 dias de idade) foram pesados e mensurados quanto ao comprimento total e padrão. O peso médio inicial apresentado pelos peixes foi de 24,50 ± 0,78 g, o comprimento total médio de 14,10 ± 0,41 cm e o comprimento padrão médio de 11,54 ± 0,26, valores sem diferença significativa entre tratamentos ($P > 0,05$).

Logo após a biometria inicial, procedeu-se a alimentação com as diferentes dietas, perfazendo-se assim, quatro tratamentos e cinco repetições. A taxa de arraçoamento adotada foi de 2% sobre a biomassa total, sendo fornecida em duas refeições diárias as 10:00 e as 16:00 horas, sendo realizadas biometrias mensais para a correção da taxa de arraçoamento. Em outubro de 2013, quando os peixes estavam com oito meses de idades (~240 dias) foram selecionadas aleatoriamente, vinte fêmeas de cada tanque de concreto. Estas foram pesadas e medidas (comprimento total) e transferidas para vinte tanques-rede (com dimensões de 4x2x1 m), com densidade de 2,5 peixes por m² (**Anexo 1 D**). Assim como anteriormente nos tanques de concreto, as fêmeas continuaram sendo arraçadas com 2% de ração sobre a biomassa total no mesmo horário com a mesma dieta fornecida no sistema anterior (Figura 1).

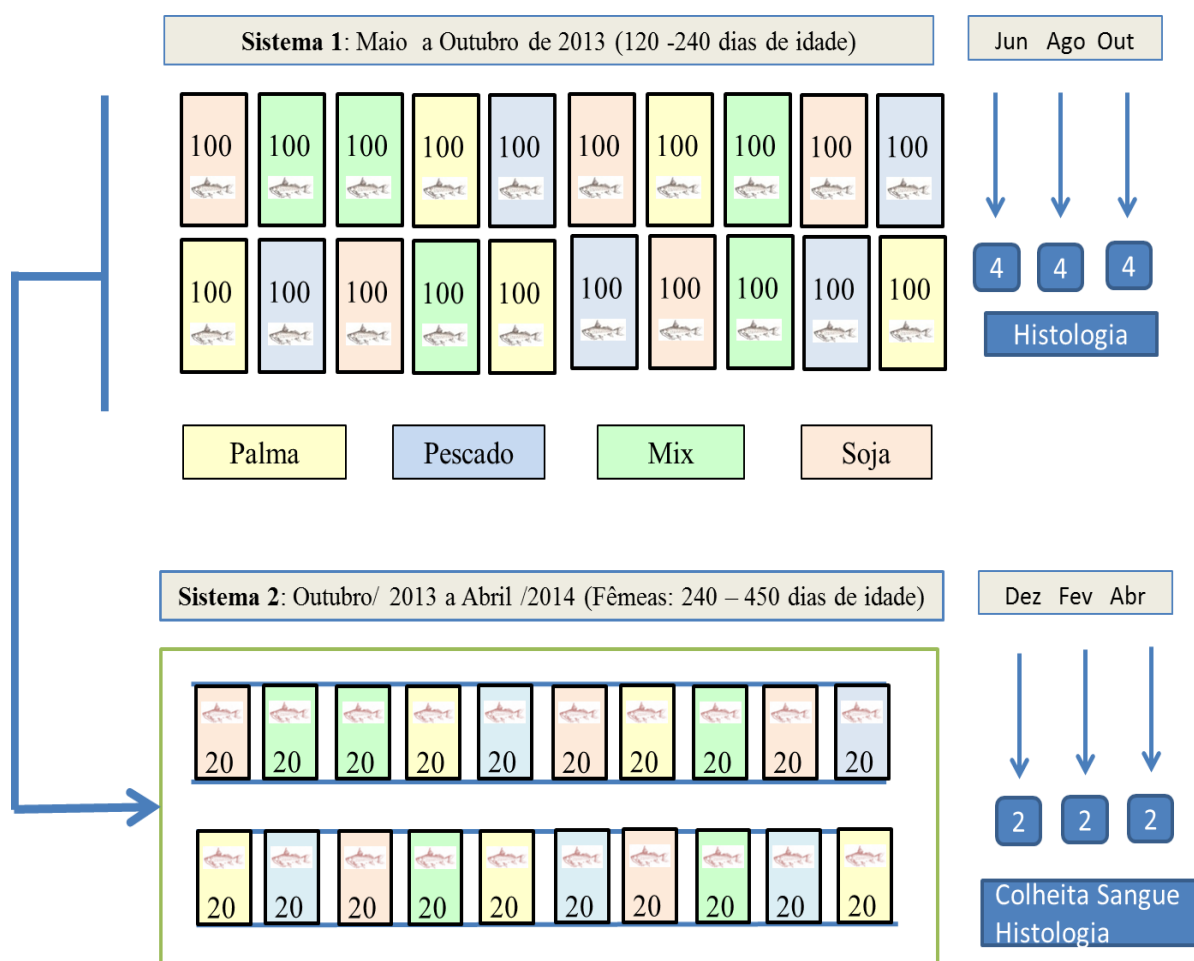


Figura 1. Delineamento experimental. Sistema 1: composto por machos e fêmeas com peso médio inicial de 24,50 g distribuídos em tanques de concreto, com coletas bimestrais de quatro peixes por tanque para posterior análise histológica Sistema 2: Fêmeas redistribuídas em tanques-rede provenientes do sistema 1, com coletas bimestrais de dois peixes por tanque para posterior análise hormonal e histológica.

Os dados de temperatura foram mensurados diariamente pela manhã e pela tarde, o oxigênio dissolvido (oxímetro YSI 500 A) e o pH (pHmetro de bancada), semanalmente pela manhã (6 horas) e a tarde (16 horas), enquanto que a amônia foi verificada mensalmente pelo método colorimétrico de Korollef et al., (1976).

2.3 Coletas para os índices somáticos, histologia e análise de esteroides

Nos meses de dezembro/13, fevereiro e abril/14 coletaram-se aleatoriamente duas fêmeas de cada tanque-rede. Em seguida as mesmas foram anestesiadas (benzocaína 0,75 mg/l), e mensurou-se o comprimento total e padrão utilizando-se ictiomêtro, e balança

semi-analítica para medida da massa corpórea. Com os peixe anestesiados, foram coletadas amostras de sangue com auxílio de seringas heparinizadas por punção das veias caudais (**ANEXO 2A**). As amostras foram centrifugadas (3200 rpm por 20 minutos) (**ANEXO 2B**) obtendo-se o plasma (**ANEXO 2C**), armazenando-as em seguida em freezer (-20 °C) para análises posteriores dos esteroides gonadais (17 β -estradiol e 17 α hidroxiprogesterona). Após a coleta de sangue, os peixes foram dissecados e foram retiradas as vísceras (exceto o rim) e separou-se o fígado e as gônadas, para determinar os índices gonadossomático (IGS), hepatossomático (IHS) e víscerossomático (IVS).

Para avaliar a qualidade do processo de formação dos ovócitos, fragmentos (~ 0,5 cm) dos ovários foram retirados do terço médio de um dos pares do ovário (preferencialmente o esquerdo) e fixados em Bouin por 24 horas. Posteriormente, foram lavadas em água e mantidas em etanol 70%, para então seguirem com as técnicas histológicas de rotina para microscopia de luz, inclusão em parafina, cortadas com espessura de 3.0 μ m e coradas com Hematoxilina-Eosina. O processamento das amostras foi realizado no laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia UNESP/Jaboticabal/SP.

Excetuando-se a coleta sanguínea os mesmos procedimentos para analisar os índices somáticos (IGS, IHS e IVS) e histologia foram adotados para avaliar o desenvolvimento ovariano inicial, ou seja, realizaram-se coletas nos meses de junho, agosto e outubro de 2013. Porém foram coletados aleatoriamente quatro peixes de cada tanque de concreto, sendo apenas as fêmeas selecionadas para tais análises.

Os cortes dos ovários foram visualizados em microscópio de luz e classificados quanto ao estágio de maturação gonadal (Ghirardelli et al., 2007; Reidel et al., 2010). Além disso, a porcentagem de ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento (pré-vitelogênicos, aveolo cortical e vitelogênicos) foi avaliada a partir da contagem de cem células por corte, avaliadas em microscopia de luz (4x), nas coletas realizadas em dezembro, fevereiro e abril.

2.4 Desempenho reprodutivo

No mês de fevereiro de 2014, nove meses após o início do experimento foram selecionadas cinco fêmeas (agora com um ano de idade) de cada tanque-rede (**ANEXO**

2D) aptas à reprodução, estas foram acondicionadas em caixas de 500 litros e submetidas ao protocolo de reprodução artificial.

A indução hormonal para sincronização da ovulação foi conduzida por meio do protocolo empregando extrato hipofisário de carpa (EHC). A dosagem hormonal empregada foi de 5,5mg EHC.kg de reprodutor⁻¹, distribuída em duas aplicações (Bombardelli et al., 2006), sendo 0,5 mg na primeira aplicação e o restante (5,0 mg) 12 horas após a primeira. A coleta dos ovócitos das fêmeas foi realizada por meio de extrusão, após 240 horas–grau (10 horas, água a 24°C) contadas a partir da segunda aplicação hormonal (**ANEXO 3A**). A massa de ovócitos liberados por cada fêmea foi mensurada em balança analítica, e em seguida separadas e pesadas alíquotas de 0,1 g de ovócitos para quantificar o número de ovócitos presentes em um grama de ovócitos liberados, e assim verificar a fecundidade absoluta (número total de ovócitos liberados por cada fêmea) e a fecundidade relativa (número de ovócitos liberados em relação ao peso corporal).

Ao mesmo tempo, foram utilizados machos de jundiá, que ficaram acondicionados separadamente às fêmeas, e receberam ração comercial. Estes foram submetidos ao mesmo protocolo de reprodução que as fêmeas, porém, induzidos com dose única de hormônio contendo 3,0 mg EHC.kg de reprodutor⁻¹, juntamente com a segunda dose aplicada as fêmeas. Foram utilizados quatro machos, sendo realizada a coleta individual do sêmen por meio de extrusão (**ANEXO 3B**) e no momento da coleta foram mensurados volume de sêmen liberado por meio de tubos de ensaio graduados ($\pm 0,1$ mL). Posteriormente, aproximadamente 2 ml de sêmen de cada macho foi misturado, obtendo-se um “pool” de sêmen. Retirou-se uma amostra deste “pool” para análise de concentração espermática em câmara hematómica de Neubauer (diluição, sêmen: formol, 1:1000) e a motilidade espermática pelo método CASA (*Computer-Assisted Sperm Analysis*), padronizado para a espécie (Sanches et al., 2010). No total foram utilizados vinte machos para realização de cinco “pools”.

Para a fertilização artificial foram utilizados 2 mL de ovócitos (**ANEXO 3C**) de cada fêmea e fertilizados individualmente com uma dose inseminante padrão (100 µl de sêmen (**ANEXO 3D**)). A ativação dos gametas foi realizada em recipientes de plástico (150 mL) com 20 mL de água (**ANEXO 3E**). Os ovos foram hidratados por um minuto durante a fertilização, e em seguida, acondicionados em incubadoras de formato cônico (2,5 L) (**ANEXO 4A**).

A taxa de fertilização foi aferida 11 horas pós-fertilização em cada unidade experimental (incubadora) coletando-se três amostras de 1 mL de ovos com auxílio de pipeta e tubo Falcon de vidro graduado, em seguida transferiu-se para uma placa de petri para a contagem. Foram contados os ovos fertilizados, ou seja, aqueles que se apresentavam translúcidos e com desenvolvimento embrionário aparentemente normal e também os ovos supostamente não-fertilizados (brancos, opacos). Após eclosão dos ovos (36 horas pós-fertilização com temperatura controlada da água de incubação de 27 °C), todas as larvas recém eclodidas foram retiradas da incubadora e fixadas em Karnovsky, em seguida foi realizado o percentual de deformidade, onde 300 larvas foram observadas em microscópio estereoscópio e classificadas em normais de acordo com Amorin et al. (2009) e anormais (**ANEXO 4B-E**). Posteriormente realizou-se a contagem de todas as larvas fixadas para aferir a taxa de eclosão.

As amostras de ovócitos e larvas fixadas também foram utilizadas para mensurar o tamanho dos mesmos e verificar possível influência das dietas. Assim, utilizou-se um estereomicroscópio (Nikon , SMZ 1500, Tokyo, Japão) com uma câmera conectada (DS-Fi, Nikon, Japão) imagens digitais foram tomadas por meio do programa Nis- Ar elements, foram realizadas as medidas do diâmetro em dez ovócitos e o comprimento total em dez larvas, provenientes de cada fêmea.

2.5 Análises de Ácidos graxos

Determinou-se os perfis de ácidos graxos dos óleos, das dietas, fígado, gônadas e ovócitos. Estas análises foram realizadas no Departamento de Tecnologia, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP/ Jaboticabal. O método de extração de lipídeos totais foi realizado de acordo com Bligh & Dyer (1959). O método de metilação foi de acordo com Official method Ce2-66: Preparation of Methyl Esters of Long Chain Fatty Acids: AOCS, 1977. O perfil dos ácidos graxos foi encontrado utilizando-se Cromatógrafo a Gás CG-14B, Shimadzu, com coluna capilar de sílica fundida OMEGAWAX250 (30m x 0,25 mm x 0,25um) n° cat. 24136-SUPELCO. A programação de temperatura da coluna foi de 100°C por 2 minutos, aquecimento 4°C/min até 220 °C permanecendo nesta temperatura por mais 25 minutos. A temperatura do injetor foi de 250 °C e a temperatura do detector foi de 280 °C. A vazão do gás de arraste (H₂): 1ml/min (SPLIT: 1/100), o

volume de injeção: 1µL, o detector FID (Detector de Ionização de Chama). O padrão utilizado foi o padrão de ácidos graxos Sigma : no. cat 189-19 e 47015-U.

2.6 Análise dos esteroides gonadais

As amostras do plasma sanguíneo coletado das fêmeas foram armazenadas em freezer à -20°C. Em seguida avaliou-se os hormônios esteroides (17β- estradiol e 17α OH progesterona) aplicando-se a técnica de imunoensaio enzimático (ELISA-*enzyme-linked immunosorbent assay*) em duplicata segundo as recomendações do fabricante, Cayman Chemical® para níveis de estradiol e IBL International®, para 17α OH progesterona. Os valores médios do coeficiente de variação intra-específicos foram de 8 a 11%, os resultados foram comparados aos padronizados por Barcellos et al. (2001).

2.7 Análises Estatísticas

O delineamento utilizado para o experimento foi inteiramente casualizado e os dados obtidos submetidos à análise de variância. Quando observadas diferenças aplicou-se o teste de comparação múltipla de médias de Tukey a 5% de probabilidade por meio do programa STATISTICA 10. Os dados dos índices somáticos e níveis hormonais, foram submetidos à análise fatorial onde foram avaliados o tempo (meses) em relação as dietas, seguida de teste de comparação de médias Tukey (5%).

3. Resultados

3.1 Composição centesimal e perfil de ácidos graxos totais na dieta

A composição centesimal das dietas foram similares (Tabela 1). A composição em ácidos graxos das dietas refletiu a composição dos ácidos graxos presentes nas diferentes fontes lipídicas utilizadas (Tabela 2). A dieta PE apresentou níveis de ácidos monoinsaturados e poli-insaturados iguais (34,19%), com ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) da família n-3 de 10,31%, do total da composição de ácidos graxos, essa quantidade está representada principalmente por EPA (2,58%) e DHA (3,81%), sendo a maior proporção de ácidos graxos da n-3 em relação as demais dietas. A dieta SO, apresenta grandes quantidades de ácidos graxos poli-insaturados (49,32%), representados

principalmente pelo LA (43,18%), e LNA (3,86%) e monoinsaturados (29,66%), tendo menor quantidade de saturados (19,09%). Os ácidos graxos contidos na dieta PA, contém maiores níveis de ácidos graxos saturados (36,20%) representado principalmente pelo C16:0 (29,43%) e os monoinsaturados somam (39,21%), com o ácido graxo C18:1n-9 (37,92%) o principal componente, contudo representa o menor valor de n-3 (2,79%). Ao misturar-se as três fontes lipídicas encontra-se maior equilíbrio na proporção dos ácidos graxos sendo, os saturados (27,45%), monoinsaturados (33,99%) e poli-insaturados (35,84%). A razão n3/n6, foi maior em dietas com óleo de pescado, e as dietas PA e SO, ficaram com a mesma proporção (0,13).

Tabela 2. Perfil de ácidos graxos (%) encontrados nos óleos e nas dietas experimentais com diferentes fontes lipídicas fornecidas as fêmeas de jundiá *R. quelen*.

Ácido Graxo (%)	Óleos			Dietas			
	SO	PA	PE	SO	PA	PE	MIX
C12:0 (Láurico)	-	-	-	0,00	0,21	0,11	0,11
C14:0 (Mirístico)	0,07	0,78	3,20	0,45	0,97	2,13	1,20
C15:0 (Pentadecanoico)	-	-	0,65	0,00	0,11	0,34	0,11
C16:0 (Palmítico)	10,47	35,86	21,93	13,86	29,43	18,61	21,24
C17:0 (Heptadecanoico)	0,10	0,10	1,82	0,11	0,11	0,34	0,22
C18:0 (Estearico)	4,96	4,84	6,99	3,98	4,19	3,92	4,03
C 20:0 (Araquídico)	0,58	0,42	0,60	0,34	0,32	0,34	0,33
C22:0 (Beheênico)	0,58	0,08	0,45	0,34	0,11	0,11	0,22
C24:0 (Lignocérico)	0,21	0,10	0,64	0,00	0,75	0,00	0,00
Σ Saturados	16,97	42,18	36,28	19,09	36,20	25,90	27,45
C16:1n7 (Palmitoléico)	0,10	0,20	8,21	0,57	0,64	4,15	1,74
C 17:1 (Heptadecenoico)	0,06	0,04	0,85	0,00	0,00	0,22	0,11
C18:1n9 (Oléico)	26,84	45,31	23,73	28,30	37,92	28,48	31,37
C20:1n11	-	-	-	0,45	0,43	0,90	0,54
C22:1	-	-	-	0,00	0,00	0,11	0,00
C24:1 (Nervônico)	-	-	-	0,34	0,21	0,34	0,22
Σ monoinsaturados	27,00	45,55	32,79	29,66	39,21	34,19	33,99
C18:2n6 (Linoleico)	48,80	10,87	6,40	43,18	20,62	23,21	28,87
C18:3n3 (α -Linolênico)	5,82	0,25	1,33	3,86	1,50	2,91	2,83
C20:2n6	-	-	-	0,23	0,21	0,45	0,33
C20:3n6	-	-	-	0,11	0,11	0,22	0,11
C20:3n3	-	-	-	0,00	0,00	0,11	0,11
C20:5n3 (EPA)	-	-	6,12	0,68	0,00	2,58	1,31
C 22:6n3 (DHA)	-	-	5,55	1,02	0,97	3,81	1,85
C22:5n3	-	-	2,88	0,23	0,32	0,90	0,44
Σ Poli-insaturados	54,62	11,12	14,55	49,32	23,74	34,19	35,84
Σ Omega 3	5,82	0,25	15,89	5,80	2,79	10,31	6,54
Σ Omega 6	4,48	10,87	8,11	43,41	20,84	23,65	29,19
n-3/n-6	0,11	0,03	1,96	0,13	0,13	0,44	0,22
Lipídios totais (g/100 g)	100	100	100	9,17	9,73	9,33	9,61

EPA: Ácido eicosapentanoico; DHA: Ácido docosahexanoico. SO =óleo de soja; PA = óleo de palma; PE =óleo de pescado marinho e MIX = mistura dos três óleos.

3.2 Qualidade de água e desempenho zootécnico

Os parâmetros médios da água aferidos para oxigênio dissolvido e pH foram de: $5,64 \pm 0,15$ e $6,67 \pm 0,16$ mg/L; $7,11 \pm 0,04$ e $7,37 \pm 0,08$, respectivamente. Os níveis mensais de amônia apresentaram valor médio de $0,03 \pm 0,01$ mg/L. Enquanto que a temperatura encontra-se no gráfico abaixo (Figura 2).

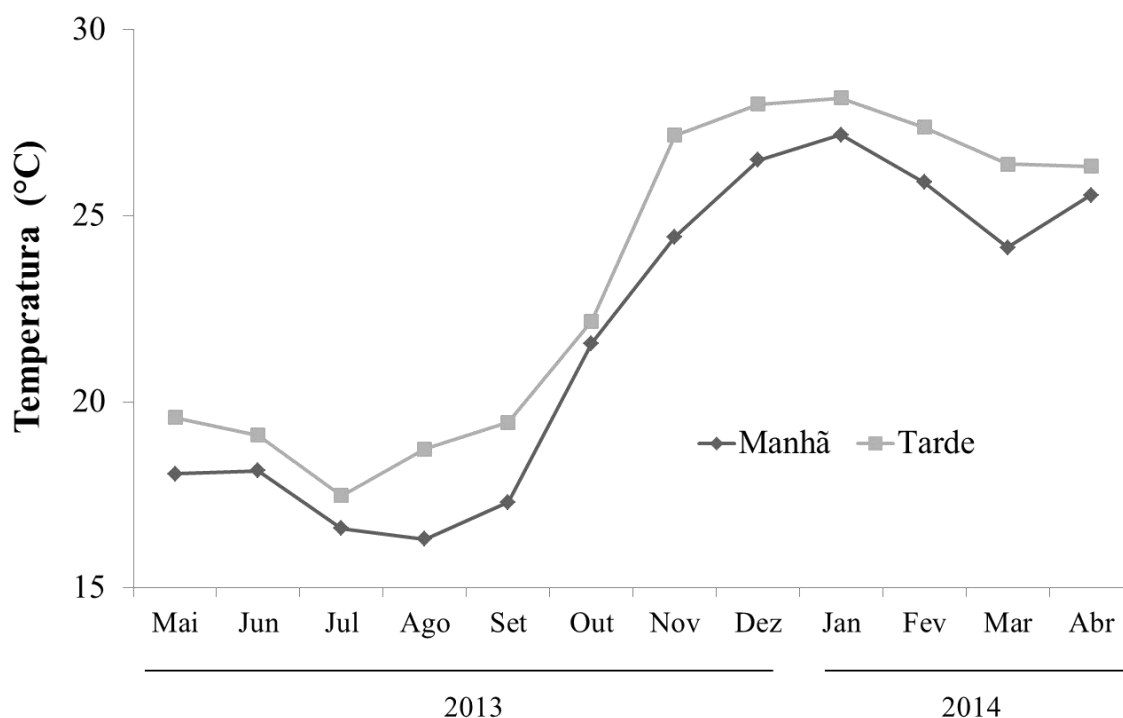


Figura2. Dados de temperatura da água aferidos pela manhã (06:00 h) e tarde (16:00 h) durante o período experimental.

Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) nos parâmetros zootécnicos avaliados para as diferentes dietas fornecidas às fêmeas de jundiá *R. quelen* (Tabela 3).

Tabela 3. Média $\pm$ erro padrão do comprimento total inicial e final, peso médio inicial e final, ganho em peso e sobrevivência das fêmeas de jundiás nos diferentes tratamentos.

Parâmetros*	Tratamentos			
	Soja	Palma	Pescado	Mix
CTI (cm)	24,85 $\pm$ 0,46	25,37 $\pm$ 0,43	24,99 $\pm$ 0,32	24,94 $\pm$ 0,43
PMI (g)	160,70 $\pm$ 13,14	171,80 $\pm$ 8,20	158,40 $\pm$ 7,15	159,20 $\pm$ 13,39
CTF (cm)	31,95 $\pm$ 0,65	32,28 $\pm$ 0,50	31,77 $\pm$ 0,41	32,00 $\pm$ 0,68
PMF (g)	355,77 $\pm$ 24,10	377,46 $\pm$ 21,11	353,44 $\pm$ 16,07	357,13 $\pm$ 26,86
GP (g)	195,07 $\pm$ 19,87	205,66 $\pm$ 16,78	195,04 $\pm$ 18,26	197,93 $\pm$ 14,87
SOB (%)	84,29 $\pm$ 8,86	90,00 $\pm$ 6,22	94,29 $\pm$ 2,67	90,00 $\pm$ 6,62

CTI (comprimento total inicial); PMI (peso médio inicial); CTF (comprimento total final); PMF (peso médio final); GP (ganho em peso); SOB (sobrevivência) *($P > 0,05$).

3.3 Índices Somáticos

Os índices gonadossomáticos, hepatossomáticos e viscerossomáticos estão representados na Figura 2. Em relação ao IVS para as diferentes dietas testadas não houve efeito significativo ($P > 0,05$) exceto para o mês de agosto e para o IVS que foi maior em fêmeas nutridas com óleo de palma em relação ao óleo de soja. Apesar da média superior dos IGS para PA e SO, no mês de outubro não foram obtidas diferenças significativas ($P > 0,05$). Avaliando o IGS para os tratamentos PA e PE, pode-se verificar índices bem inferiores no mês de dezembro, em relação aos tratamentos SO e MIX, mas que em fevereiro este foram similares. Os IHS não diferiram entre as dietas avaliadas ($P > 0,05$), no entanto, em fevereiro dietas SO apresentaram maiores valores em relação às demais dietas.

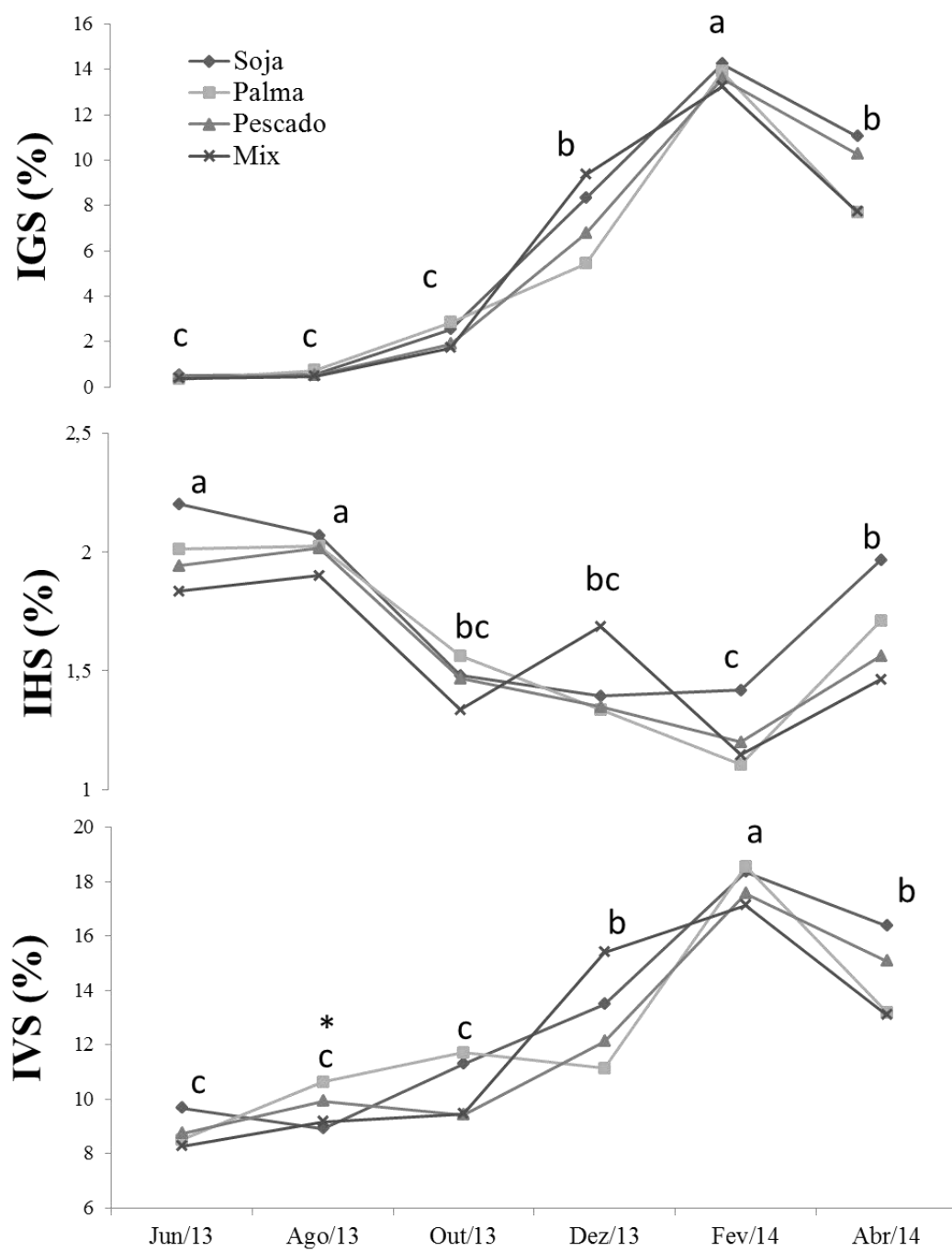


Figura3. Índices somáticos de fêmeas de *R. quelen* alimentadas com diferentes fontes lipídicas nos diferentes meses. Letras diferentes apresentam diferenças significativas para os meses avaliados. * ($P < 0,05$).

3.4 Desenvolvimento Ovariano

Ao longo do seu desenvolvimento os ovários apresentaram mudanças macroscópicas em relação à coloração, volume e vascularização. Histologicamente foi possível acompanhar o processo de maturação. A Figura 4A representa fêmeas no seu estágio inicial de desenvolvimento, sendo consideradas: imaturas/jovem (ovários pequenos, translúcidos, com vasos sanguíneos não distinguíveis, seguida da histologia (Figura 4A'): presença de oogônias e ovócitos pré-vitelogênicos em crescimento primário. Estas foram coletadas após um mês da administração das dietas (junho/13), sendo que todas as fêmeas (150 dias de idade) das diferentes dietas apresentavam-se da mesma forma. A partir do mês de agosto as fêmeas (210 dias de idade) entraram em maturação inicial (Figura 4B), apresentando ovários amarelo pálido com poucos ovócitos evidentes, e microscopicamente (Figura 4B') a maioria dos ovócitos se encontravam em crescimento primário com ovócitos pré-vitelogênicos, enquanto que as oogônias apresentavam-se em menor proporção, embora ovócitos em estágio de aoveolo cortical e vitelogênicos poderiam ser visualizados. No mês de outubro, quando as fêmeas estavam com aproximadamente 10 meses de idade (Figura 4C), as fêmeas encontravam-se em maturação intermediária apresentando ovários de maior tamanho, amarelos e ovócitos visíveis mais numerosos, já a histologia (Figura 4C') mostra ovócitos em todas as fases de desenvolvimento, contudo proporção maior de alvéolo corticais e vitelogênicos. Em dezembro, ao atingirem um ano de idade, os ovários em sua maioria se encontravam em maturação final ou maduro, os ovários apresentavam-se volumosos, com membrana mais fina e transparente, vasos sanguíneos centrais e periféricos evidentes, de coloração amarela (Figura 4D). Microscopicamente, observou-se o predomínio de ovócitos vitelogênicos, mas também visualizou-se a presença de ovócitos pré-vitelogênicos, e atrésicos (Figura 4D'). No mês de Fevereiro os ovários estavam maduros (Figura 4E), no entanto, além de ovócitos vitelogênicos, pode ser notada a presença de ovócitos em estádios pré-vitelogênicos, poucos alvéolos corticais e atrésicos (Figura 4E'). No mês de abril, os ovários estavam em início de regressão, com o tamanho reduzido em comparação a fevereiro, apresentando flacidez e vascularização (Figura 4F), contudo ainda apresentam considerável proporção de ovócitos vitelogênicos, bem como ovócitos pré-vitelogênicos e atrésicos (Figura 4F').

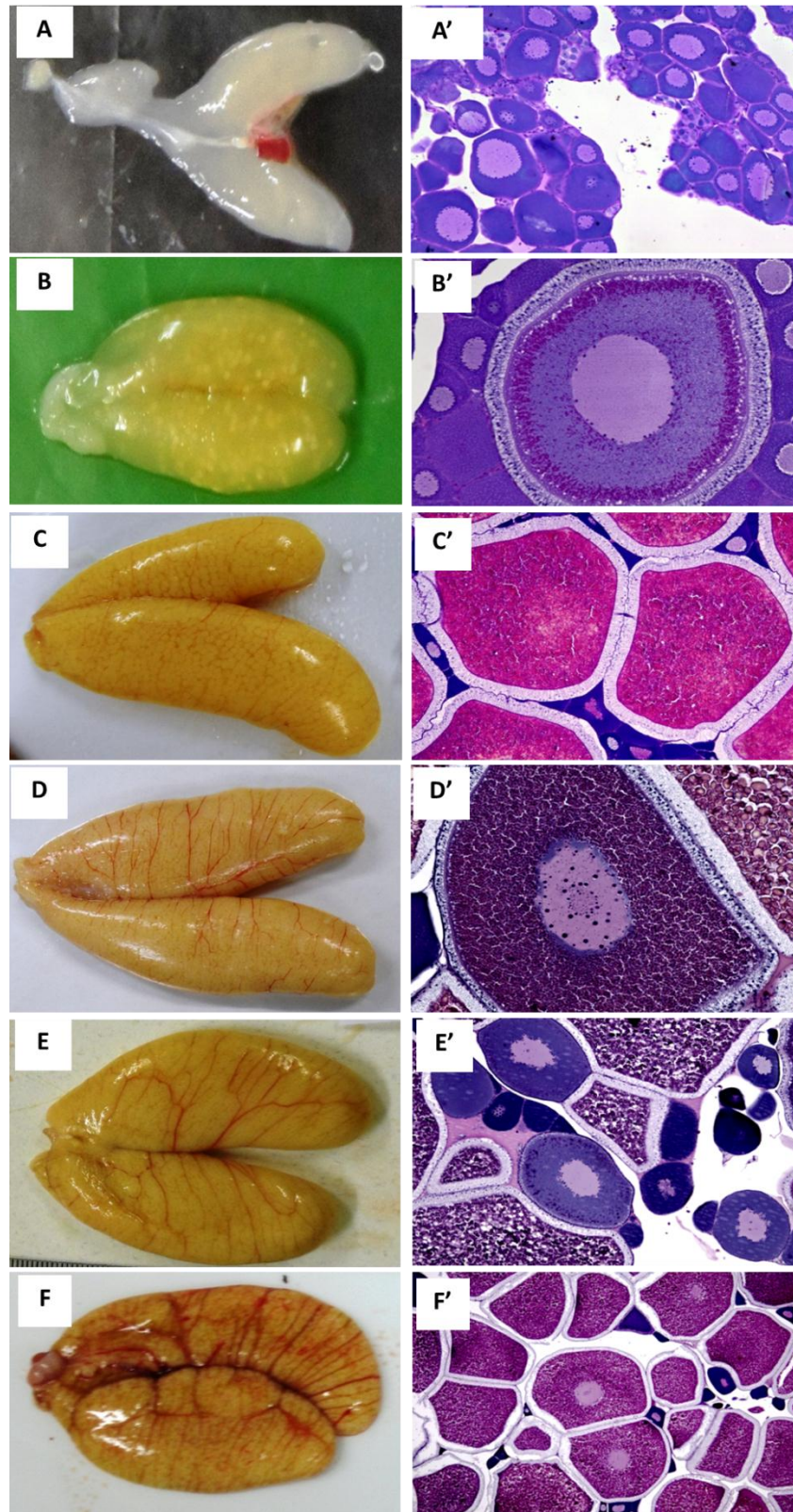


Figura 4. Desenvolvimento ovariano de *R. quelen* alimentadas com diferentes fontes lipídicas. A: Imaturo/Jovem (Junho/13- SO), A' (40x); B: Maturação inicial (Agosto/13- PE), B' (20x); C: Maturação intermediária (Out/13- PA) C' (10x); D: Maturação final (Dezembro/13- SO), D' (40x); E: Maduro (Fevereiro/14- MIX) E' (10x); F: Regressão inicial (Abril/14-PA) F' (4x). Fases: og = oogônias; PV= pré-vitelogênicos; V= vitelogênicos; ac = alvéolo cortical. H-E.

Não foram verificadas diferenças significativas na maturação das fêmeas com as diferentes fontes de óleos utilizadas, contudo, verificou-se no mês de dezembro maior porcentagem de fêmeas maduras e consequentemente de ovócitos vitelogênicos em fêmeas alimentadas com dietas à base de óleo de soja (Figura 5). Porém os ovócitos atresícos foram encontrados em maior proporção em ovários de fêmeas alimentadas com óleo de pescado no final do período reprodutivo, apresentando diferença significativa ($P < 0,05$) em relação aos ovários das fêmeas nutridas com óleo de palma.

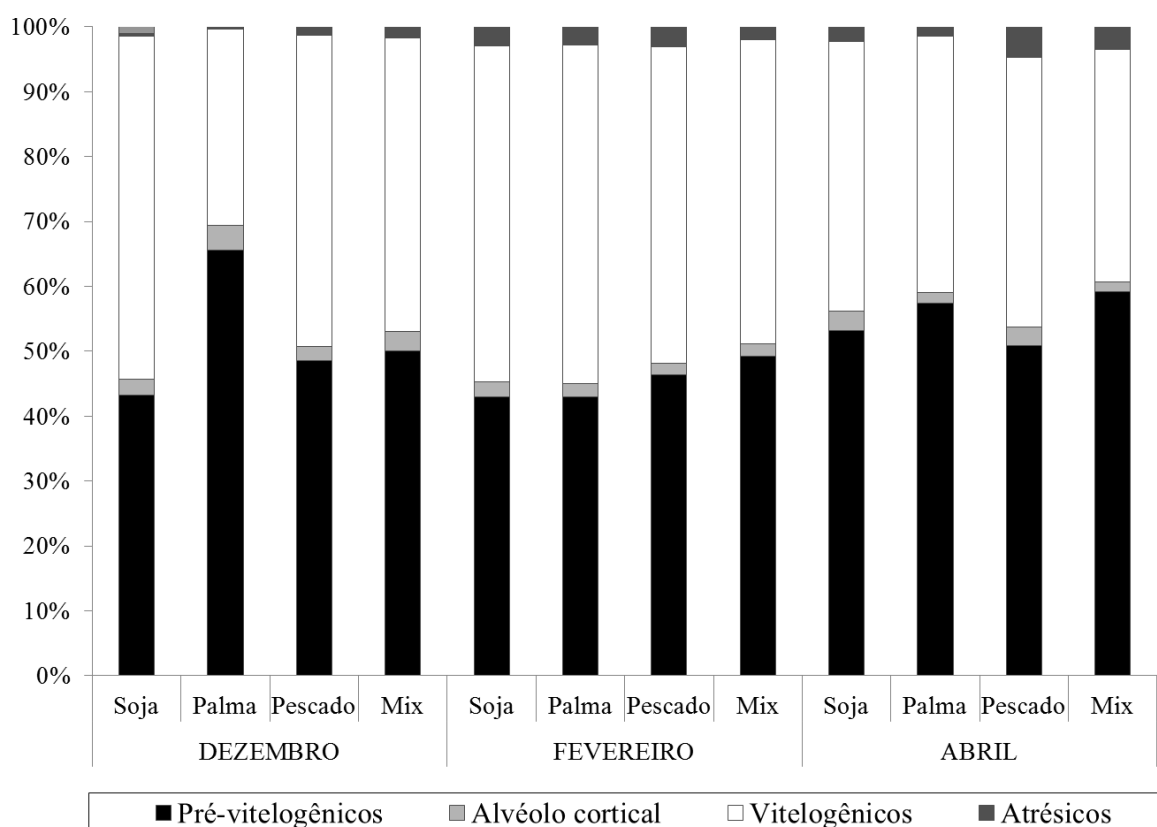


Figura 5. Porcentagem média dos ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento para os diferentes tratamentos nos meses de dezembro de 2013, fevereiro e abril de 2014.

3.5 Desempenho reprodutivo

Todas as fêmeas submetidas ao tratamento hormonal desovaram, porém, a fertilização não foi verificada para todas as fêmeas desovantes. Das 25 fêmeas utilizadas por tratamento, obteve-se sucesso na fertilização para 23 fêmeas alimentadas com dietas a base de óleo de palma, 17 fêmeas (dietas à base de óleo de soja e mix), e 15 para dietas à base de pescado. Um dos fatores identificados como possível interferência para essas respostas negativas na fertilização foram relacionados com a visualização do aspecto dos ovócitos liberados no momento da extrusão, pois estes possuíam um fluído de aspecto oleoso, sendo de fácil liberação quando da realização da massagem. Contudo, um número pequeno de fêmeas desovou antecipadamente nas caixas, contribuindo para a redução do número de fêmeas por tratamento.

A avaliação da qualidade dos “pools” de sêmen formados para a fertilização das desovas está descrita abaixo (Tabela 4).

Tabela 4. Características seminais de *R. quelen* utilizados para fertilização.

“Pool”	Volume médio (mL)	Concentração (SPZ/mL)	Motilidade (%)
1 (n=4)	6,42	$8,50 \times 10^9$	60,53
2 (n=4)	5,5	$1,85 \times 10^{10}$	81,79
3 (n=4)	2,57	$1,96 \times 10^{10}$	87,81
4 (n=4)	6,52	$1,83 \times 10^{10}$	69,38
5 (n=4)	5,07	$6,20 \times 10^9$	84,50

As dietas fornecidas às fêmeas de jundiá *R. quelen* influenciaram apenas na taxa de fertilização. Os melhores resultados obtidos foram para as dietas a base de óleo de pescado, óleo de palma, seguido da mistura dos óleos. A ração utilizando-se o óleo de soja teve a menor taxa de fertilização e foi significativamente inferior ($P < 0,05$) aos demais tratamentos, exceto para a mistura de todos os óleos (Mix) (Tabela 5).

Tabela 5. Média $\pm$ erro padrão do desempenho reprodutivo e larval de fêmeas de jundiá *R. quelen* alimentadas com as diferentes dietas.

Parâmetros	Dietas			
	Soja	Palma	Pescado	Mix
Peso (g) ¹	333,21 $\pm$ 37,44	318,91 $\pm$ 11,85	297,05 $\pm$ 21,90	300,47 $\pm$ 26,35
Fecundidade Absoluta ²	110994,3 $\pm$ 21251,78	92638,3 $\pm$ 6332,53	94600,7 $\pm$ 16424,43	98410,5 $\pm$ 12034,10
Fecundidade Relativa ³	319,55 $\pm$ 35,21	289,77 $\pm$ 23,90	323,31 $\pm$ 38,45	312,68 $\pm$ 13,76
Total de ovócitos ⁴	1656191,01	2169510,10	1669237,13	1841933,82
Tamanho ovócitos (μ m)	880,28 $\pm$ 5,32	881,81 $\pm$ 7,04	892,01 $\pm$ 4,37	889,64 $\pm$ 18,29
Fertilização (%)	60,14 $\pm$ 5,66 ^b	77,15 $\pm$ 3,97 ^a	78,65 $\pm$ 3,60 ^a	65,46 $\pm$ 4,57 ^{ab}
Eclosão (%)	45,68 $\pm$ 7,71	61,00 $\pm$ 5,40	61,29 $\pm$ 6,72	45,22 $\pm$ 6,23
Tamanho larvas (μ m)	3766,77 $\pm$ 55,26	3842,58 $\pm$ 50,55	3830,13 $\pm$ 54,12	3814,88 $\pm$ 70,50
Deformidade larval (%)	13,81 $\pm$ 4,59	8,73 $\pm$ 2,72	13,85 $\pm$ 3,45	9,45 $\pm$ 1,35

¹ Peso médio das fêmeas desovantes; ² número total de ovócitos/fêmea; ³ ovócitos/grama de fêmea. ⁴ Soma total dos ovócitos liberados e que chegaram a fertilizar. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

3.6 Composição de ácidos graxos totais no fígado, gônadas e ovócitos de fêmeas de *R. quelen*

As dietas fornecidas para as fêmeas de jundiá refletiram na composição dos ácidos graxos encontrados no fígado, ovários e ovócitos (Tabelas 6, 7 e 8). O perfil de ácidos graxos do fígado foi o que se manteve mais estável, pois apresentou menor variação significativa entre os diferentes ácidos graxos, quando comparadas com os ovários e ovócitos analisados. No fígado a diferença obtida foi para os ácidos graxos saturados, com maiores valores encontrados para peixes alimentados com dieta a base de óleo de palma, sendo o ácido palmítico (C16:0) o mais representativo (40,76%). Os ácidos monoinsaturados e poli-insaturados totais do fígado não diferiram entre as dietas ($P > 0,05$), assim como os ácidos ARA, DHA, e a soma dos n-3 (Tabela 7), enquanto que nos ovários e ovócitos esses ácidos graxos apresentam-se com diferentes níveis (Tabela 7 e 8). A composição dos ácidos graxos encontrados nos ovócitos foi semelhante aos das gônadas, e houve diferenças nos ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados totais. Nas gônadas, assim como nos ovócitos, maiores teores de ácidos graxos saturados e monoinsaturados foram encontrados em maior quantidade para fêmeas que receberam a

dieta PA onde, os ácidos C16:0 e 18:1n-9 foram os mais representativos. Os ácidos graxos n-3 totais, foram encontrados em maiores teores nos ovários/ovócitos de fêmeas alimentadas com a dieta PE (15,86% e 15,17%), e consequentemente, maiores níveis de EPA e DHA foram encontrados. ARA foi encontrado em maiores quantidades nos ovários/ovócitos de fêmeas nutridas com SO, assim como maiores teores de n-6 totais (24,59% nos ovários e 24,33% nos ovócitos). A menor relação n3/n6 foi verificada no fígado, ovários e ovócitos, para a dieta SO. A mistura de todos os óleos (MIX) apresenta um equilíbrio entre os ácidos graxos, o óleo de pescado contribuiu com aumento de EPA, DHA, e ácidos n-3, enquanto que o óleo de soja aumentou os níveis de ácidos graxos n-6 (18%).

Tabela 6. Média $\pm$ erro padrão do perfil dos ácidos graxos totais (%) encontrados no fígado de fêmeas de *R. quelen* alimentadas com diferentes fontes lipídicas.

Ácido graxo (%)	Dietas			
	Soja	Palma	Pescado	Mix
C14:0	1,14 $\pm$ 0,18 ^b	1,37 $\pm$ 0,14 ^{ab}	1,92 $\pm$ 0,17 ^a	1,44 $\pm$ 0,08 ^{ab}
C15:0	0,20 $\pm$ 0,01 ^b	0,18 $\pm$ 0,01 ^b	0,37 $\pm$ 0,03 ^a	0,26 $\pm$ 0,01 ^b
C16:0	33,18 $\pm$ 1,12 ^c	40,76 $\pm$ 1,11 ^a	35,92 $\pm$ 1,23 ^{bc}	38,47 $\pm$ 0,79 ^{ab}
C17:0	0,33 $\pm$ 0,02 ^{bc}	0,21 $\pm$ 0,01 ^c	0,48 $\pm$ 0,06 ^a	0,36 $\pm$ 0,01 ^{ab}
C18:0	10,54 $\pm$ 0,68 ^a	8,30 $\pm$ 0,65 ^a	8,79 $\pm$ 1,05 ^a	8,92 $\pm$ 0,68 ^a
C 20:0	0,17 $\pm$ 0,02 ^a	0,12 $\pm$ 0,00 ^a	0,16 $\pm$ 0,02 ^a	0,15 $\pm$ 0,01 ^a
Σ Saturados	45,58 $\pm$ 0,74 ^b	50,97 $\pm$ 0,84 ^a	47,66 $\pm$ 0,75 ^{ab}	49,62 $\pm$ 0,94 ^a
C16:1	1,24 $\pm$ 0,14 ^b	2,08 $\pm$ 0,23 ^{ab}	3,70 $\pm$ 0,95 ^a	2,00 $\pm$ 0,12 ^{ab}
C 17:1	0,08 $\pm$ 0,02 ^a	0,08 $\pm$ 0,01 ^a	0,18 $\pm$ 0,10 ^a	0,12 $\pm$ 0,01 ^a
C18:1n7	2,98 $\pm$ 0,20 ^b	2,73 $\pm$ 0,29 ^b	4,31 $\pm$ 0,21 ^a	3,51 $\pm$ 0,08 ^b
C18:1n9	23,80 $\pm$ 1,85 ^a	29,17 $\pm$ 2,70 ^a	22,09 $\pm$ 2,41 ^a	23,38 $\pm$ 1,44 ^a
C20:1n9	0,91 $\pm$ 0,02 ^b	1,11 $\pm$ 0,04 ^{ab}	1,17 $\pm$ 0,06 ^a	1,14 $\pm$ 0,07 ^a
C24:1n9	0,48 $\pm$ 0,13 ^a	0,32 $\pm$ 0,13 ^a	0,63 $\pm$ 0,15 ^a	0,43 $\pm$ 0,07 ^a
Σ Monoinsaturados	29,50 $\pm$ 1,68 ^a	35,50 $\pm$ 2,50 ^a	32,12 $\pm$ 3,03 ^a	30,58 $\pm$ 1,47 ^a
C18:2n6	8,21 $\pm$ 0,48 ^a	3,34 $\pm$ 0,36 ^c	4,95 $\pm$ 0,60 ^{bc}	5,62 $\pm$ 0,50 ^b
C18:3n6	2,26 $\pm$ 0,21 ^a	0,81 $\pm$ 0,08 ^b	0,66 $\pm$ 0,11 ^b	1,03 $\pm$ 0,10 ^b
C18:3n3	0,18 $\pm$ 0,00 ^a	0,07 $\pm$ 0,01 ^b	0,19 $\pm$ 0,02 ^a	0,14 $\pm$ 0,02 ^{ab}
C20:2	1,63 $\pm$ 0,21 ^a	0,80 $\pm$ 0,16 ^b	1,13 $\pm$ 0,22 ^{ab}	1,20 $\pm$ 0,11 ^{ab}
C20:3n6	3,08 $\pm$ 0,35 ^a	1,80 $\pm$ 0,41 ^{ab}	1,63 $\pm$ 0,27 ^b	2,29 $\pm$ 0,19 ^{ab}
C20:4n6 (ARA)	2,47 $\pm$ 0,59 ^a	1,59 $\pm$ 0,55 ^a	1,44 $\pm$ 0,35 ^a	1,65 $\pm$ 0,19 ^a
C20:3n3	0,22 $\pm$ 0,03 ^a	0,10 $\pm$ 0,02 ^a	0,22 $\pm$ 0,04 ^a	0,17 $\pm$ 0,02 ^a
C20:5n3 (EPA)	0,42 $\pm$ 0,09 ^{ab}	0,32 $\pm$ 0,09 ^b	0,97 $\pm$ 0,20 ^a	0,53 $\pm$ 0,09 ^{ab}
C22:4n6	0,32 $\pm$ 0,06 ^{ab}	0,15 $\pm$ 0,03 ^b	0,40 $\pm$ 0,06 ^a	0,27 $\pm$ 0,03 ^{ab}
C 22:5n6	0,48 $\pm$ 0,13 ^a	0,34 $\pm$ 0,10 ^a	0,30 $\pm$ 0,08 ^a	0,31 $\pm$ 0,05 ^a
C22:6n3 (DHA)	5,48 $\pm$ 1,26 ^a	4,13 $\pm$ 1,33 ^a	8,24 $\pm$ 1,97 ^a	6,50 $\pm$ 0,96 ^a
Σ C18	10,66 $\pm$ 0,68 ^a	4,23 $\pm$ 0,36 ^c	5,80 $\pm$ 0,69 ^{bc}	6,79 $\pm$ 0,58 ^b
Σ C20-22	14,12 $\pm$ 2,71 ^a	9,24 $\pm$ 2,68 ^b	14,33 $\pm$ 3,15 ^a	12,93 $\pm$ 1,58 ^a
Σ Polinsaturados	24,77 $\pm$ 2,23 ^a	13,47 $\pm$ 3,01 ^a	20,13 $\pm$ 3,38 ^a	19,72 $\pm$ 1,61 ^a
n3	6,30 $\pm$ 1,38 ^a	4,63 $\pm$ 1,43 ^a	9,62 $\pm$ 2,20 ^a	7,34 $\pm$ 1,07 ^a
n6	16,84 $\pm$ 0,73 ^a	8,04 $\pm$ 1,43 ^b	9,37 $\pm$ 1,13 ^b	11,17 $\pm$ 0,68 ^b
n3/n6	0,37 $\pm$ 0,07 ^b	0,54 $\pm$ 0,09 ^b	1,00 $\pm$ 0,15 ^a	0,65 $\pm$ 0,08 ^{ab}
DHA/EPA	13,28 $\pm$ 0,91 ^a	12,75 $\pm$ 1,60 ^a	8,23 $\pm$ 0,46 ^b	12,42 $\pm$ 0,36 ^a
EPA/ARA	0,17 $\pm$ 0,01 ^a	0,21 $\pm$ 0,03 ^a	0,71 $\pm$ 0,05 ^b	0,32 $\pm$ 0,02 ^a

Resultados obtidos do “pool” do fígado retirados de duas fêmeas por tanque, provenientes da coleta do material para histologia. Letras diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$).

Tabela 7. Média $\pm$ erro padrão do perfil dos ácidos graxos (%) encontrados nos ovários de *R. quelen* alimentadas com diferentes fontes lipídicas.

Ácido graxo (%)	Dietas			
	Soja	Palma	Pescado	Mix
C14:0	0,92 $\pm$ 0,06 ^c	1,07 $\pm$ 0,06 ^{bc}	1,73 $\pm$ 0,04 ^a	1,15 $\pm$ 0,02 ^a
C15:0	0,18 $\pm$ 0,00 ^{bc}	0,15 $\pm$ 0,01 ^c	0,33 $\pm$ 0,02 ^a	0,23 $\pm$ 0,01 ^b
C16:0	24,70 $\pm$ 0,28 ^c	29,32 $\pm$ 0,38 ^a	27,91 $\pm$ 0,20 ^b	27,59 $\pm$ 0,26 ^b
C17:0	0,23 $\pm$ 0,02 ^b	0,16 $\pm$ 0,00 ^c	0,38 $\pm$ 0,04 ^a	0,26 $\pm$ 0,01 ^b
C18:0	9,99 $\pm$ 0,27 ^a	9,44 $\pm$ 0,40 ^a	9,29 $\pm$ 0,31 ^a	9,20 $\pm$ 0,24 ^a
C 20:0	0,10 $\pm$ 0,01 ^{ab}	0,08 $\pm$ 0,00 ^b	0,11 $\pm$ 0,01 ^a	0,09 $\pm$ 0,00 ^{ab}
Σ Saturados	36,14 $\pm$ 0,41 ^c	40,24 $\pm$ 0,40 ^a	39,77 $\pm$ 0,27 ^{ab}	38,54 $\pm$ 0,25 ^b
C16:1	1,07 $\pm$ 0,15 ^b	1,55 $\pm$ 0,01 ^b	2,74 $\pm$ 0,21 ^a	1,68 $\pm$ 0,11 ^b
C 17:1	0,06 $\pm$ 0,00 ^c	0,06 $\pm$ 0,00 ^c	0,22 $\pm$ 0,01 ^a	0,10 $\pm$ 0,00 ^b
C18:1n7	2,53 $\pm$ 0,11 ^{bc}	2,36 $\pm$ 0,17 ^c	3,54 $\pm$ 0,13 ^a	2,94 $\pm$ 0,09 ^b
C18:1n9	20,57 $\pm$ 0,36 ^{bc}	25,58 $\pm$ 0,34 ^a	19,67 $\pm$ 0,38 ^c	21,55 $\pm$ 0,17 ^b
C20:1n9	0,77 $\pm$ 0,44 ^b	1,13 $\pm$ 0,06 ^a	1,10 $\pm$ 0,06 ^a	1,05 $\pm$ 0,03 ^a
C24:1n9	1,35 $\pm$ 0,04 ^{ab}	1,06 $\pm$ 0,04 ^c	1,40 $\pm$ 0,06 ^a	1,25 $\pm$ 0,04 ^b
Σ Monoinsaturados	26,37 $\pm$ 0,53 ^c	31,77 $\pm$ 0,27 ^a	28,67 $\pm$ 0,62 ^b	28,57 $\pm$ 0,17 ^b
C18:2n6	12,09 $\pm$ 0,55 ^a	6,77 $\pm$ 0,24 ^c	7,31 $\pm$ 0,38 ^{bc}	8,79 $\pm$ 0,31 ^b
C18:3n6	2,31 $\pm$ 0,29 ^a	1,05 $\pm$ 0,08 ^b	0,68 $\pm$ 0,06 ^b	1,11 $\pm$ 0,09 ^b
C18:3n3	0,45 $\pm$ 0,07 ^a	0,19 $\pm$ 0,01 ^c	0,36 $\pm$ 0,04 ^b	0,31 $\pm$ 0,02 ^b
C20:2	2,39 $\pm$ 0,19 ^a	1,58 $\pm$ 0,05 ^b	1,60 $\pm$ 0,09 ^b	2,07 $\pm$ 0,08 ^a
C20:3n6	5,65 $\pm$ 0,27 ^a	4,86 $\pm$ 0,07 ^b	3,17 $\pm$ 0,08 ^c	4,46 $\pm$ 0,10 ^b
C20:4n6 (ARA)	3,06 $\pm$ 0,14 ^a	2,61 $\pm$ 0,03 ^{ab}	1,78 $\pm$ 0,10 ^c	2,32 $\pm$ 0,12 ^b
C20:3n3	0,34 $\pm$ 0,02 ^a	0,20 $\pm$ 0,01 ^b	0,29 $\pm$ 0,01 ^a	0,30 $\pm$ 0,02 ^a
C20:5n3 (EPA)	0,52 $\pm$ 0,04 ^c	0,51 $\pm$ 0,04 ^c	1,30 $\pm$ 0,05 ^a	0,77 $\pm$ 0,03 ^b
C22:4n6	0,53 $\pm$ 0,06 ^a	0,38 $\pm$ 0,02 ^b	0,53 $\pm$ 0,02 ^a	0,44 $\pm$ 0,02 ^a
C 22:5n6	0,95 $\pm$ 0,10 ^a	0,85 $\pm$ 0,04 ^{ab}	0,54 $\pm$ 0,01 ^c	0,66 $\pm$ 0,04 ^{bc}
C22:6n3 (DHA)	9,25 $\pm$ 0,36 ^c	8,89 $\pm$ 0,30 ^c	13,86 $\pm$ 0,43 ^a	11,53 $\pm$ 0,09 ^b
Σ C18	14,85 $\pm$ 0,82 ^a	8,00 $\pm$ 0,25 ^c	8,36 $\pm$ 0,42 ^{bc}	10,21 $\pm$ 0,39 ^b
Σ C20-22	22,70 $\pm$ 0,80 ^a	19,90 $\pm$ 0,24 ^b	23,07 $\pm$ 0,53 ^a	22,57 $\pm$ 0,23 ^a
Σ Polinsaturados	37,56 $\pm$ 0,08 ^a	27,91 $\pm$ 0,38 ^c	31,43 $\pm$ 0,86 ^b	32,78 $\pm$ 0,21 ^b
n3	10,57 $\pm$ 0,40 ^c	9,80 $\pm$ 0,30 ^c	15,82 $\pm$ 0,46 ^a	12,92 $\pm$ 0,10 ^b
n6	24,59 $\pm$ 0,54 ^a	16,53 $\pm$ 0,24 ^b	14,01 $\pm$ 0,47 ^c	17,79 $\pm$ 0,24 ^b
n3/n6	0,43 $\pm$ 0,02 ^d	0,59 $\pm$ 0,02 ^c	1,13 $\pm$ 0,03 ^a	0,73 $\pm$ 0,01 ^b
DHA/EPA	18,07 $\pm$ 1,74 ^a	17,56 $\pm$ 1,03 ^a	10,70 $\pm$ 0,31 ^b	14,98 $\pm$ 0,54 ^a
EPA/ARA	0,17 $\pm$ 0,01 ^c	0,20 $\pm$ 0,03 ^c	0,73 $\pm$ 0,03 ^a	0,34 $\pm$ 0,02 ^b

Resultados obtidos pelo "pool" de dois ovários por tanque (material separado no momento da coleta de fevereiro para histologia). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

Tabela 8. Média $\pm$ erro padrão do perfil dos ácidos graxos (%) encontrados nos ovócitos de fêmeas de *R. quelen* alimentadas com diferentes fontes lipídicas.

Ácido graxo (%)	Dietas			
	Soja	Palma	Pescado	Mix
C14:0	1,1 $\pm$ 0,03 ^c	1,37 $\pm$ 0,04 ^b	1,76 $\pm$ 0,04 ^a	1,39 $\pm$ 0,08 ^b
C15:0	0,18 $\pm$ 0,01 ^{bc}	0,15 $\pm$ 0,00 ^c	0,33 $\pm$ 0,01 ^a	0,22 $\pm$ 0,01 ^b
C16:0	25,18 $\pm$ 0,16 ^c	30,08 $\pm$ 0,10 ^a	27,91 $\pm$ 0,39 ^b	27,93 $\pm$ 0,38 ^b
C17:0	0,22 $\pm$ 0,00 ^c	0,16 $\pm$ 0,00 ^d	0,37 $\pm$ 0,01 ^a	0,26 $\pm$ 0,01 ^b
C18:0	9,83 $\pm$ 0,22 ^a	9,81 $\pm$ 0,23 ^a	9,09 $\pm$ 0,17 ^a	9,80 $\pm$ 0,43 ^a
C 20:0	0,09 $\pm$ 0,00 ^a	0,07 $\pm$ 0,01 ^a	0,09 $\pm$ 0,00 ^a	0,08 $\pm$ 0,00 ^a
Σ Saturados	36,61 $\pm$ 0,31 ^c	41,67 $\pm$ 0,24 ^a	39,56 $\pm$ 0,37 ^b	39,69 $\pm$ 0,62 ^b
C16:1	1,17 $\pm$ 0,05 ^c	1,80 $\pm$ 0,09 ^b	2,67 $\pm$ 0,14 ^a	1,76 $\pm$ 0,18 ^b
C 17:1	0,07 $\pm$ 0,00 ^c	0,07 $\pm$ 0,01 ^c	0,18 $\pm$ 0,01 ^a	0,11 $\pm$ 0,01 ^b
C18:1n7	2,44 $\pm$ 0,09 ^a	2,24 $\pm$ 0,06 ^b	3,64 $\pm$ 0,11 ^a	2,65 $\pm$ 0,14 ^b
C18:1n9	21,42 $\pm$ 0,32 ^b	25,98 $\pm$ 0,29 ^a	20,20 $\pm$ 0,33 ^c	22,05 $\pm$ 0,19 ^b
C20:1n9	0,79 $\pm$ 0,03 ^b	1,18 $\pm$ 0,04 ^a	1,13 $\pm$ 0,03 ^a	1,02 $\pm$ 0,04 ^a
C24:1n9	1,18 $\pm$ 0,02 ^b	1,05 $\pm$ 0,02 ^b	1,47 $\pm$ 0,09 ^a	1,23 $\pm$ 0,02 ^b
Σ Monoinsaturados	27,08 $\pm$ 0,39 ^c	32,33 $\pm$ 0,37 ^a	29,32 $\pm$ 0,44 ^b	28,85 $\pm$ 0,27 ^b
C18:2n6	12,21 $\pm$ 0,27 ^a	6,18 $\pm$ 0,12 ^d	7,28 $\pm$ 0,14 ^c	8,47 $\pm$ 0,20 ^b
C18:3n6	2,65 $\pm$ 0,26 ^a	1,10 $\pm$ 0,07 ^b	0,74 $\pm$ 0,05 ^b	1,34 $\pm$ 0,06 ^b
C18:3n3	0,46 $\pm$ 0,02 ^a	0,18 $\pm$ 0,01 ^c	0,33 $\pm$ 0,01 ^b	0,32 $\pm$ 0,01 ^b
C20:2	2,40 $\pm$ 0,13 ^a	1,45 $\pm$ 0,03 ^c	1,67 $\pm$ 0,09 ^{bc}	1,84 $\pm$ 0,04 ^b
C20:3n6	5,50 $\pm$ 0,11 ^a	4,57 $\pm$ 0,05 ^b	3,29 $\pm$ 0,09 ^c	4,58 $\pm$ 0,06 ^b
C20:4n6 (ARA)	2,74 $\pm$ 0,08 ^a	2,53 $\pm$ 0,05 ^{ab}	1,81 $\pm$ 0,10 ^c	2,39 $\pm$ 0,04 ^b
C20:3n3	0,35 $\pm$ 0,02 ^a	0,20 $\pm$ 0,01 ^c	0,28 $\pm$ 0,01 ^b	0,28 $\pm$ 0,01 ^b
C20:5n3 (EPA)	0,49 $\pm$ 0,04 ^c	0,42 $\pm$ 0,01 ^c	1,24 $\pm$ 0,07 ^a	0,69 $\pm$ 0,04 ^b
C22:4n6	0,43 $\pm$ 0,02 ^a	0,40 $\pm$ 0,01 ^a	0,50 $\pm$ 0,01 ^a	0,47 $\pm$ 0,06 ^a
C 22:5n6	0,79 $\pm$ 0,07 ^a	0,96 $\pm$ 0,05 ^a	0,54 $\pm$ 0,02 ^b	0,72 $\pm$ 0,05 ^{ab}
C22:6n3 (DHA)	8,05 $\pm$ 0,33 ^c	7,93 $\pm$ 0,14 ^c	13,32 $\pm$ 0,39 ^a	10,18 $\pm$ 0,31 ^b
Σ C18	15,33 $\pm$ 0,48 ^a	7,46 $\pm$ 0,17 ^c	8,35 $\pm$ 0,17 ^c	10,13 $\pm$ 0,24 ^b
Σ C20-22	20,76 $\pm$ 0,68 ^{ab}	18,46 $\pm$ 0,23 ^b	22,64 $\pm$ 0,71	19,88 $\pm$ 0,65 ^b
Σ Polinsaturados	36,08 $\pm$ 0,33 ^a	25,92 $\pm$ 0,21 ^c	30,99 $\pm$ 0,80 ^b	31,32 $\pm$ 0,50 ^b
n3	9,35 $\pm$ 0,34 ^c	8,72 $\pm$ 0,13 ^c	15,17 $\pm$ 0,47 ^a	11,47 $\pm$ 0,34 ^b
n6	24,33 $\pm$ 0,27 ^a	15,74 $\pm$ 0,15 ^c	14,16 $\pm$ 0,30 ^d	18,00 $\pm$ 0,16 ^b
n3/n6	0,39 $\pm$ 0,02 ^d	0,55 $\pm$ 0,01 ^c	1,07 $\pm$ 0,02 ^a	0,64 $\pm$ 0,02 ^b
DHA/EPA	16,91 $\pm$ 1,29 ^{ab}	18,93 $\pm$ 0,55 ^a	10,82 $\pm$ 0,35 ^c	14,78 $\pm$ 0,50 ^b
EPA/ARA	0,18 $\pm$ 0,01 ^c	0,17 $\pm$ 0,01 ^c	0,68 $\pm$ 0,02 ^a	0,29 $\pm$ 0,01 ^b

Resultados obtidos do “pool” de ovócitos proveniente de cinco fêmeas por tanque por tratamento. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($P < 0,05$).

3.7 Análises dos esteroides gonadais

Os níveis de 17β -estradiol plasmático não diferiram para as diferentes dietas testadas, exceto para o mês de dezembro, quando fêmeas arraçadas com rações à base de óleo de palma apresentaram valores mais baixos em relação às dietas à base de óleo de soja (352,28 pg/mL) (Figura 6a). No entanto, em relação ao tempo, o mês de dezembro representou os menores níveis de estradiol (639,08 pg/mL) em relação ao mês de abril (1145,49 pg/mL) ($P < 0,05$). Enquanto que os níveis de 17α hidroxiprogesterona não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) (Figura 6b).

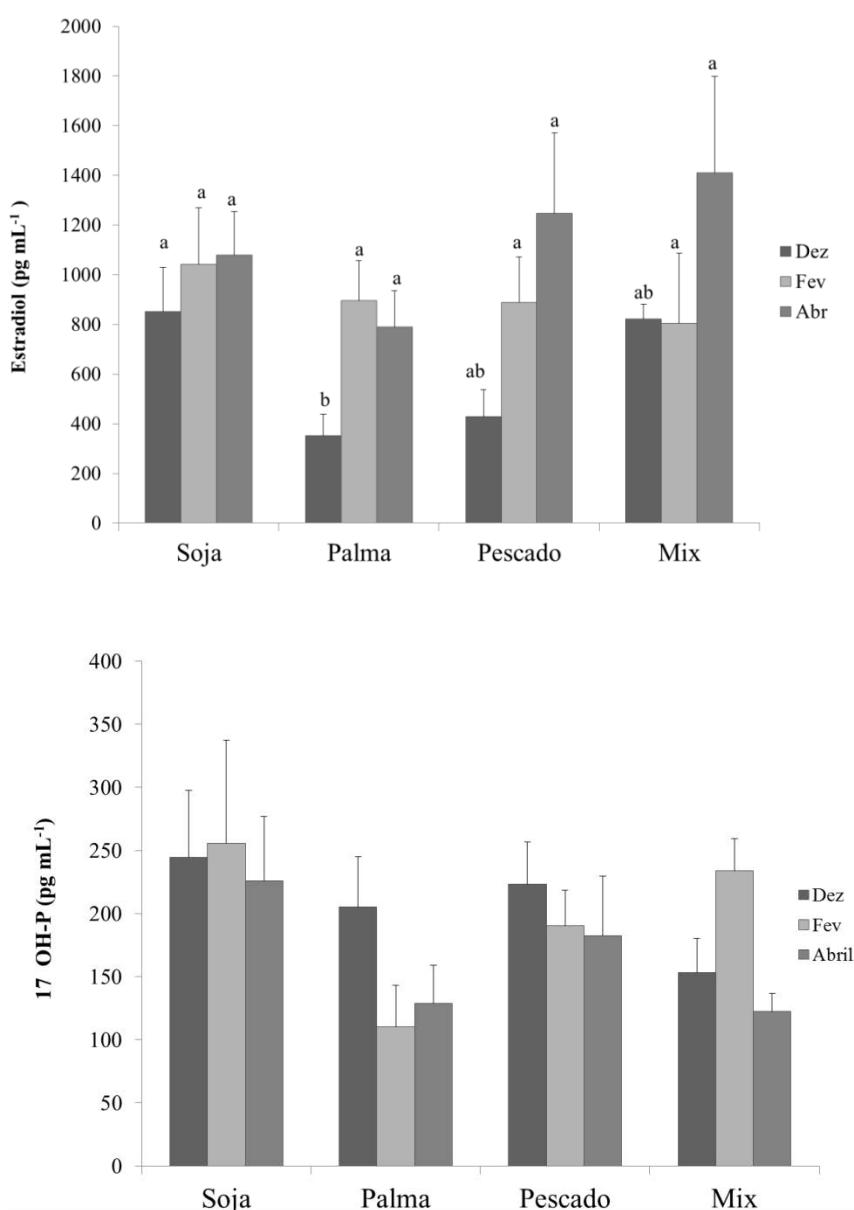


Figura 6. Estradiol (a) e 17α -hidroxiprogesterona (b) em fêmeas de *R. quelen* alimentadas com diferentes fontes lipídicas. Letras diferentes apresentam diferença significativa Tukey ($P < 0,05$).

4. Discussão

A nutrição dos reprodutores é essencial para garantir ovos e larvas de qualidade e os lipídios e os ácidos graxos atuam de forma direta no metabolismo para fornecer energia necessária para o crescimento e reprodução. Após seis meses de alimentação nos tanques-rede não foi observada nenhuma diferença significativa para o comprimento total, peso médio, ganho em peso e sobrevivência das fêmeas de jundiá submetidas às dietas experimentais.

O período reprodutivo e os picos de desenvolvimento gonadal do jundiá podem variar a cada ano e de um lugar para o outro (Gomes et al., 2000). No presente trabalho, o desenvolvimento ovariano foi crescente ao longo do tempo e acompanhou o aumento da temperatura da água, assim como o período reprodutivo da espécie. As diferentes rações fornecidas não afetaram os IHS, contudo podemos observar que sua relação com o IGS é inversamente proporcional. O fígado do peixe é o principal órgão de síntese de ácidos graxos e durante a maturação ovariana, a vitelogenina e as proteínas da zona radiata são sintetizadas pelos hepatócitos e transportadas pela corrente sanguínea aos ovários, onde são incorporados por micropinocitose seletiva (Arukwe e Goksoyr, 2003). A participação do fígado na maturação ovocitária reflete no aumento do IHS na maturação inicial e redução na maturação avançada (Bazzoli et al., 1998; Ribeiro et al., 2006).

Embora os índices somáticos não tenham demonstrado efeitos representativos nos tratamentos avaliados, dietas à base de óleo de palma afetaram positivamente o desempenho reprodutivo de fêmeas de *R. quelen*, pois foi verificado maior número de fêmeas que desovaram (23 fêmeas) e ovos que apresentaram fertilidade, o que também resultou em maior quantidade de ovócitos. A não fertilização dos ovócitos provenientes das fêmeas dos demais tratamentos pode estar relacionada ao aumento do estresse oxidativo nas gônadas, depois da indução hormonal. Os ácidos graxos altamente insaturados são facilmente oxidados e levam a liberação de radicais livres que podem prejudicar os ovócitos (Lavens et al., 1999). No entanto, o óleo de palma apresenta em sua composição tocoferóis, tocotrienóis e vitamina E, potentes antioxidantes que atuam contra os radicais livres que catalisam a peroxidação lipídica, protegendo assim as membranas celulares (Ayisi e Zhao, 2014). Portanto, este fato pode explicar o resultado positivo para este óleo para fêmeas de jundiá.

A fecundidade absoluta e relativa, foram superiores aos valores encontrados por Tessaro et al. (2014) para a mesma espécie que avaliaram diferentes níveis de energia digestível para reprodutoras utilizando o óleo de soja. Esses autores encontraram médias de 51000 a 71000 ovócitos liberados por fêmea e uma fecundidade relativa de 246 a 301 ovócitos/g.

Apesar da falta de diferenças na morfologia dos ovócitos e larvas oriundas da dieta de óleo de palma, estas apresentaram taxas de fertilização e eclosão similares às fêmeas que receberam a dieta (PE). Pesquisas com nutrição de reprodutores de peixes tem destacado a utilização do óleo de palma como um interessante ingrediente para substituição parcial ou total ao óleo de pescado e apesar de não conter grandes quantidades de ácidos poli-insaturados, principalmente (n-3), se apresenta como uma fonte superior de energia para o desenvolvimento gonadal e sucesso reprodutivo (Ng e Wang, 2011). Essa energia provém da β - oxidação mitocondrial dos ácidos graxos saturados (16:0) e moinsaturados (18: 1n-9), que são substratos preferidos para a produção de energia em peixes (Henderson, 1996). De modo geral, evidências indicam que a β - oxidação dos ácidos graxos em fêmeas é essencial para a maturação dos ovócitos e durante as primeiras fases de desenvolvimento do embrião (Dunning e Robker, 2012).

Na natureza, os ácidos graxos encontrados nos ovários de jundiá foram principalmente o C16:0 (ácido palmítico), C18:1n9 (ácido oléico), C20:4n6 (ARA) e C22:6n3 (DHA) (Vargas e Bessonart, 2007). A menor porcentagem do ácido palmítico (C16:0) nas dietas PA, PE e MIX fez com que esse ácido graxo fosse preferencialmente conservado nos ovários das fêmeas.

A maior quantidade de 18:1n-9 verificada na composição dos ovários e ovócitos das fêmeas nutridas com PA pode explicar as taxas de fertilização semelhantes à dieta PE, pois esse ácido graxo é necessário para o desenvolvimento embrionário normal dos peixes (Fernandes-Palacios et al., 1997). Resultado semelhante foi obtido por Sink e Lochmann (2008), quando testaram gordura de aves na reprodução do bagre americano (*Ictalurus punctatus*), recomendando essa fonte de gordura saturada para aumentar a produção e qualidade de ovos e larvas. No jundiá, maiores teores de ácidos graxos saturados na dieta (banha suína) apresentaram um desenvolvimento embrionário e larval normal (Parra et al., 2008).

Fêmeas nutridas com a dieta SO tiveram taxas de fertilização inferiores às demais dietas e esse efeito pode estar relacionado aos níveis elevados de ácidos graxos poli-insaturados n-6 (18:3n-6) presente nos ovócitos. Esses resultados são corroborados por Barreto et al. (2014), que atribuíram a não fertilização dos ovos de *Seriolla dumerili* (peixe marinho) ao alto nível do ácido graxo (C18:2n6, linoleico) encontrados nas gônadas e ovários provenientes da dieta. Além disso, altos níveis de 18:2n6 podem ser convertidos à ARA (20:4n6), que embora seja essencial para o desempenho reprodutivo, quando em altas quantidades pode afetar negativamente a qualidade dos ovos e das larvas produzidos (Furuita et al., 2003).

Embora pesquisas apontem a necessidade de ácidos graxos da série n-3 menor que os da série n-6 para os peixes de água doce (Sargent et al., 2002), observou-se neste estudo, assim como foi verificado por Coldebella et al. (2013), que houve maior metabolização celular para a produção de n-3 (principalmente de DHA), do que de n-6 nos ovários e ovócitos das fêmeas de jundiá, quando estes são comparados à concentração desses ácidos graxos essenciais presente nas dietas. Esses dados colaboram com a preferência e seleção por determinados ácidos graxos que são mobilizados dos tecidos para os ovócitos (Tocher et al., 2003).

Mesmo a dieta PA apresentando baixos níveis de 18:3n-3, as reprodutoras de jundiá conseguiram converter a pouca quantidade em ácidos graxos poli-insaturados como EPA e DHA. Este último foi encontrado em maiores quantidades, pois têm taxas de oxidação celular mais baixas em relação as taxas de outros ácidos graxos (como EPA por exemplo) (Madsen et al., 1999), assim eles foram preferencialmente conservados nas gônadas e ovócitos. Além disso, todas as dietas apresentavam DHA na sua composição, então provavelmente o DHA proveniente da farinha de pescado deve ter sido utilizado para estruturação de fosfolipídios de membranas.

Verificou-se que apesar dos baixos teores do ácido linoleico (18:3n-6) nas dietas de PA, as fêmeas arraçadas com esse tratamento foram capazes de convertê-lo eficientemente à ARA, pois a quantidade desse ácido graxo encontrado nos ovários e ovócitos foi semelhante à dieta SO. Além disso, o que pode ter auxiliado essa conversão foi os menores níveis do ácido graxo linolênico (18:3n-3), deixando que a enzima Δ -6 dessaturase atuasse na conversão do linoleico para ARA (18:3n-6 para 20:4n-6) (Ng e Wang, 2011).

Foram encontradas nos ovários diferentes razões de DHA/EPA e EPA/ARA e n3/n6. Alguns autores sugerem razões ótimas entre esses ácidos graxos para garantir a qualidade dos ovos e larvas produzidos (Liang et al., 2014). Dietas à base de óleo de PA apresentaram maiores razões de DHA/EPA, e uma razão n3/n6 de (0,59) e representou resultados similares ao PE e MIX. Enquanto que a dieta SO apresentou a menor razão n3/n6 (0,43) nas gônadas e menores ainda nos ovócitos (0,39). Por tanto, é necessário um melhor entendimento dessas razões nas dietas, pois a mesma razão n3/n6 (0,13) nas dietas de PA e SO, resultou em diferentes razões nas gônadas e ovócitos. Provavelmente essa diferença se deve às especificidades e competições que existe no metabolismo dos ácidos graxos.

No presente estudo, os níveis de estradiol não foram influenciados pelas dietas, exceto no mês de dezembro, onde esses níveis foram menores em fêmeas arraçadas com (PA) em relação à dieta (SO). Esses valores inferiores podem estar relacionados ao IGS, que foi inferior nesse período para fêmeas deste tratamento, as quais apresentavam maior proporção de ovócitos pré-vitelogênicos. Esses resultados são corroborados por Sabet et al., (2009), que correlaciona o aumento dos níveis de E2 com o aumento do IGS.

Os níveis de estradiol foram crescentes ao longo do tempo, sendo os maiores níveis observados em abril. Esses valores são semelhantes aos obtidos por outros autores para a mesma espécie (Barcellos et al., 2001), demonstrando que as fontes vegetais não alteraram os níveis de estradiol e nem prejudicaram a maturação gonadal das fêmeas do presente estudo. No entanto, outros pesquisadores relacionaram o aumento dos níveis de estradiol com o aumento nos níveis de ácidos graxos poli-insaturados (n-3) na dieta (Navas et al., 1998).

Em estudo realizado por Zhang et al. (2013), a substituição do óleo de peixe por óleo de milho em dietas para *Scatophagus argus* (peixe ornamental eurialino) propiciou índices reduzidos nos níveis de estradiol e atrasou a maturação gonadal em fêmeas desta espécie de peixe. Esses autores justificam esse resultado pela falta de EPA e DHA nesse óleo vegetal. Wassef et al. (2012) também relacionam menores níveis de estradiol em fêmeas nutridas com dietas à base de óleos vegetais (soja e linhaça) em relação ao óleo de peixe em fêmeas de dourada (*Sparus aurata*). Porém, as exigências de ácidos graxos são diferentes para peixes marinhos, que necessitam de maior quantidade de ácidos graxos

poli-insaturados (n-3), e a dieta com óleos vegetais podem alterar a esteroidogênese nesses peixes de maneira mais expressiva.

O desenvolvimento ovariano é dependente de energia para seu crescimento normal e maturação, as dietas elaboradas com as diferentes fontes lipídicas foram eficientes para atender as necessidades das reprodutoras, e de maneira geral não apresentaram diferenças quanto aos índices somáticos. A maturação ovariana aconteceu similarmente, contudo verificou-se um maior número de fêmeas maduras no mês de dezembro para fêmeas arraçadas com dietas à base de óleo de soja. Pode-se sugerir que as fêmeas de *R. quelen* converteram eficientemente os ácidos graxos linoleico e linolênico em ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) em todas as dietas testadas. E também foi possível observar a preferência e conservação de alguns ácidos graxos para o melhor desempenho reprodutivo, que foi alcançado em dietas à base de óleo de palma e pescado, sendo as taxas de fertilização e eclosão semelhantes.

Os níveis de esteroides gonadais não foram afetados de maneira significativa pelos óleos testados, contudo, no mês de dezembro as fêmeas alimentadas com óleo de palma obtiveram níveis de estradiol abaixo quando comparados às fêmeas alimentadas com óleo de soja.

5. Conclusão

O óleo de palma pode ser um substituto do óleo de pescado marinho nas dietas para fêmeas de *R. quelen*, visto que os resultados reprodutivos alcançados foram similares.

6. Considerações finais

A nutrição é uma área de estudo essencial para os reprodutores de peixes. Dieta à base de óleos de origem vegetal para reprodutores vem sendo estudada por muitos pesquisadores. O presente estudo demonstrou que óleo de palma pode ser utilizado como uma fonte alternativa ao óleo de pescado, pois não afetaram a fisiologia reprodutiva. Trabalhos relacionando os lipídios com esteróides gonadais e a maturação ovariana são escassos e necessitam de maior compreensão.

7. Agradecimentos

Esta pesquisa recebeu apoio financeiro por meio do Auxílio à Pesquisa da FAPESP (2012/23089-4) e CNPq em forma de bolsa de doutorado (142751/2011-1). Os autores são gratos ao Instituto de Pesquisa em Aquicultura Ambiental- Unioeste/PR por toda estrutura fornecida durante o experimento e às indústrias Nicoluzzi e Agropalma, pela doação de óleo de pescado marinho e óleo de palma refinado.

8. Referências Bibliográficas

AMORIM, M.P.; GOMES, B.V.C.; MARTINS, Y.S.; SATO, Y.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Early development of the silver catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Pisces:Heptapteridae) from the São Francisco River Basin, Brazil. **Aquaculture Research**, v. 40, p. 172-180, 2009.

ARUKWE, A.; GOKSOYR, A. Eggshell and egg yolk proteins in fish: hepatic proteins for the next generation: oogenetic, population, and evolutionary implications of endocrine disruption. **Comparative Hepatology**, p. 1-21, 2003.

AYISI, C.L.; ZHAO, J.L. Recent development in the use of palm oil in aquaculture feeds: a review. **International Journal of Scientific & Technology Research**, v. 3, n.6, p.259-264, 2014.

BABALOLA, T.O.; APATA, D.F.; OMOTOSHO, J.S.; ADEBAYO, M. Differential effects of dietary lipids on growth performance, digestibility, fatty acid composition and histology of African catfish (*Heterobranchus longifilis*) fingerlings. **Food and Nutrition Sciences**, v.2, p.11-21, 2011.

BARCELLOS, L.J.G.; WASSERMANN, G.F.; SCOTT, A.P.; WOHL, V.M.; QUEVEDO, R.M.; ITTIZ, E.S., I., KRIEGER, M.H.; LULHIER, F. Steroid profiles in cultured female jundiá, the Siluridae *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pisces Teleostei), during the first reproductive cycle. **General and Comparative Endocrinology**, v. 121, p. 325–332, 2001.

BARRETO, D.R.; JEREZ, S.; CEJAS, J.R.; MARTIN, M.V.; ACOSTA, N.G.; BALANOS, A.; LORENZO, A. Ovary and egg fatty acid composition on greater amberjack broodstock (*Seriola dumerili*) fed different dietary fatty acids profiles. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 116, p. 584-595, 2014.

BAZZOLI, N.; MESQUITA, T.L.; SANTOS, G.B.; RIZZO, E. Análise comparativa da reprodução de *Astyanax bimaculatus* (Pisces, Characidae) nos Reservatórios de Furnas, Marimbondo e Itumbiara. **Bios**, v.6, p.99-112, 1998.

BELL, J.G.; SARGENT, J.R. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. **Aquaculture**, v.218, p. 491-499, 2003.

- BERENJESTANAKI, S.S.; FEREDOUNI, A.E.; OURAJI, H.; KHALILI, K.J. Influence of dietary lipid sources on growth, reproductive performance and fatty acid compositions of muscle and egg in the three-spot gourami (*Trichopodus trichopterus*) (Pallas, 1770). **Aquaculture Nutrition**, v.20, p.494-504, 2014.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, n.8, p.911-917, 1959.
- BOMBARDELLI, R.A.; MÖRSCHBÄCHER, E.F.; CAMPAGNOLO, R.; SANCHES, E.A.; SYPPERRECK, M.A. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá cinza, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p.1251-1257, 2006.
- CERDÁ, J., ZANUY, S., CARRILLO, M., RAMOS, J., SERRANO, R. Short and long-term dietary effects on female sea bass (*Dicentrarchus labrax*): seasonal changes in plasma profiles of lipids and sex steroids in relation to reproduction. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**, v. 111, p. 83-91, 1995.
- COLDEBELLA, I.J.; EMANUELLI, T.; VEIVERBERG, C.A.; PRETTO, A.; ROSSATO, S.; FERREIRA, D.; BARCELLOS, L.J.T.; RADUNZ-NETO, J. Effect of different dietary lipid levels on the reproduction of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). **Aquaculture Nutrition**, v.19, p. 751-764, 2013.
- DUNNING, K.R., ROBKER, R.L. Promoting lipid utilization with l-carnitine to improve oocyte quality. *Animal Reproduction Science*, v. 134, p. 69-75, 2012.
- FERNANDEZ-PALACIOS, H., IZQUIERDO, M., ROBAINA, L., VALENCIA, A., SALHI, M., MONTERO, D. The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, v. 148, p.233-246, 1997.
- FURUITA, H., YAMAMOTO, T., SHIMA, T., SUZUKI, N., TAKEUCHI, T., Effect of arachidonic acid levels in broodstock diet on larval and egg quality of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v.220, p.725-735, 2003.
- FURUITA, H.; HORI, K.; SUZUKI, SUGITA, T.; YAMAMOTO, T. Effect of n-3 and n-6 fatty acids in broodstock diet on reproduction and fatty acid composition of broodstock and eggs in the Japanese eel *Anguilla japonica*. **Aquaculture**, v. 267, p.55-61, 2007.
- GHIRALDELLI, L.; MACHADO, C.; FRACALOSSO, D.M., ZANIBONI-FILHO, E. Desenvolvimento gonadal do jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei, Siluriformes), em viveiros de terra, na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 349-356, 2007.
- GOMES, L.C.; GOLOMBIESKI, J.I.; GOMES, A.R.C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**. v.30, n.1, p.179-185, 2000.

- HENDERSON, R.J., Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. **Archives of Animal Nutrition**, v.49, p. 5–22, 1996.
- ITTZÉS I.; SZABÓ T.; KRONBAUER E. C.; URBÁNYI B. Ovulation induction in jundiá (*Rhamdia quelen*, Heptapteridae) using carp pituitary extract or salmon GnRH analogue combined with dopamine receptor antagonists. **Aquaculture Research**, p. 1-5, 2014.
- IZQUIERDO, M.S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A.G.J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v.197, p. 25-42, 2001.
- LAVENS, P.; LEREGUE, E.; JAUNET, H.; BRUNEL, A.; DHERT, P.H.; SORGELOOS, P., Effect of dietary essential fatty acids and vitamins on egg quality in turbot broodstocks. **Aquaculture International**, v. 7, p.225–240, 1999.
- LIANG, M.Q.; LU, Q.K.; QIAN, C.; ZHENG, K.K.; WANG, X.X. Effects of dietary n-3 to n-6 fatty acid ratios on spawning performance and larval quality in tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. **Aquaculture Nutrition**, v.20, p.79-89, 2014.
- MADSEN, L., RUSTAN-ARILD, C., VAAGENES, H., BERGE, K., DYROY, E. AND BERGE, R.K. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. **Lipids**, v. 34, n. 9, p. 951-963, 1999.
- NAVAS, J.M., MANANOS, E., THRUSH, M., RAMOS, J., ZANUY, S., CARRILLO, M., ZOHAR, Y., BROMAGE, N. Effect of dietary lipid composition on vitellogenin, 17 β -estradiol and gonadotropin plasma levels and spawning performance in captive sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture**, v.165, p. 65–79, 1998.
- 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, p. 122-131, 2011.
- PARRA, J.E.G.; RADÜNZ NETO, J.; VEIVERBERG, C.A.; LAZZARI, R.; BERGAMIN, G.T.; PEDRON, F.A.; ROSSATO, S.; SUTILI, F.J. Alimentação de fêmeas de jundiá com fontes lipídicas e sua relação com o desenvolvimento embrionário e larval. **Ciência Rural**, vol.38, no7, p.2011-2017, 2008.
- REIDEL, A.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A.; ROMAGOSA, E. The effect of diets with different levels of protein and energy on the process of final maturation of the gametes of *Rhamdia quelen* stocked in cages. **Aquaculture**, v. 298, p. 354-359, 2010.
- RIBEIRO, V. M. A.; BAZZOLI, N.; MARIA, T. A.; SANTOS, G. B. Ultrastructural changes in female hepatocytes during ovarian maturation of *Steindachnerina insculpta* (Pisces: Curimatidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, n.4, p. 957-962, 2006.
- SABET, S.S, REZA, I.M., BAGHER, A.F., SAEED, G. Study on sexual maturity and levels of gonad steroid hormones in female kutum *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901)

during spawning season from river Sefid-Rood of the Southern Caspian Sea. **Journal Cell and Animal Biology**, v.3, p. 208–215, 2009.

SANCHES, E. A.; BOMBARDELLI, R. A.; MARCOS, R. M.; NEUMANN, G.; TOLEDO, C. P. R.; ROMAGOSA, E. Sperm motility of *Rhamdia quelen* studied using computer-assisted analysis by open-source software. **Aquaculture Research** (Print), v. 42, p. 153-156, 2010.

SARGENT, J.R.; TOCHER, D.R.; BELL, J.G. The Lipids. In: HALVER, J.E.; HARDY R.W. **Fish Nutrition**. Elsevier Science: San Diego, 2002, p.181-257.

SINK, T; LOCHMANN, R. Effects of dietary lipid source and concentration on channel catfish (*Ictalurus punctatus*) egg biochemical composition, egg and fry production, and egg and fry quality. **Aquaculture**, v. 283, p.68–76, 2008.

TESSARO, L.; TOLEDO, C. P. R.; NEUMANN, G.; KRAUSE, R. A.; MEURER, F.; NATALI, M.R.M.; BOMBARDELLI, R. A. 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 teleosts fish. **Reviews in Fisheries Science**, v.11, n.2, p.107-184, 2003.

TURCHINI, G.M.; FRANCIS, D.S.; DE SILVA, S.S. Fatty acid metabolism in the freshwater fish Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) deduced by the whole-body fatty acid balanced method. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v. 144, p. 110-118, 2006.

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

TURCHINI, G.M.; NG, W.K.; TOCHER, D.R. **Fish oil replacement alternative lipid sources in aquaculture feeds**. 2010. 541p.

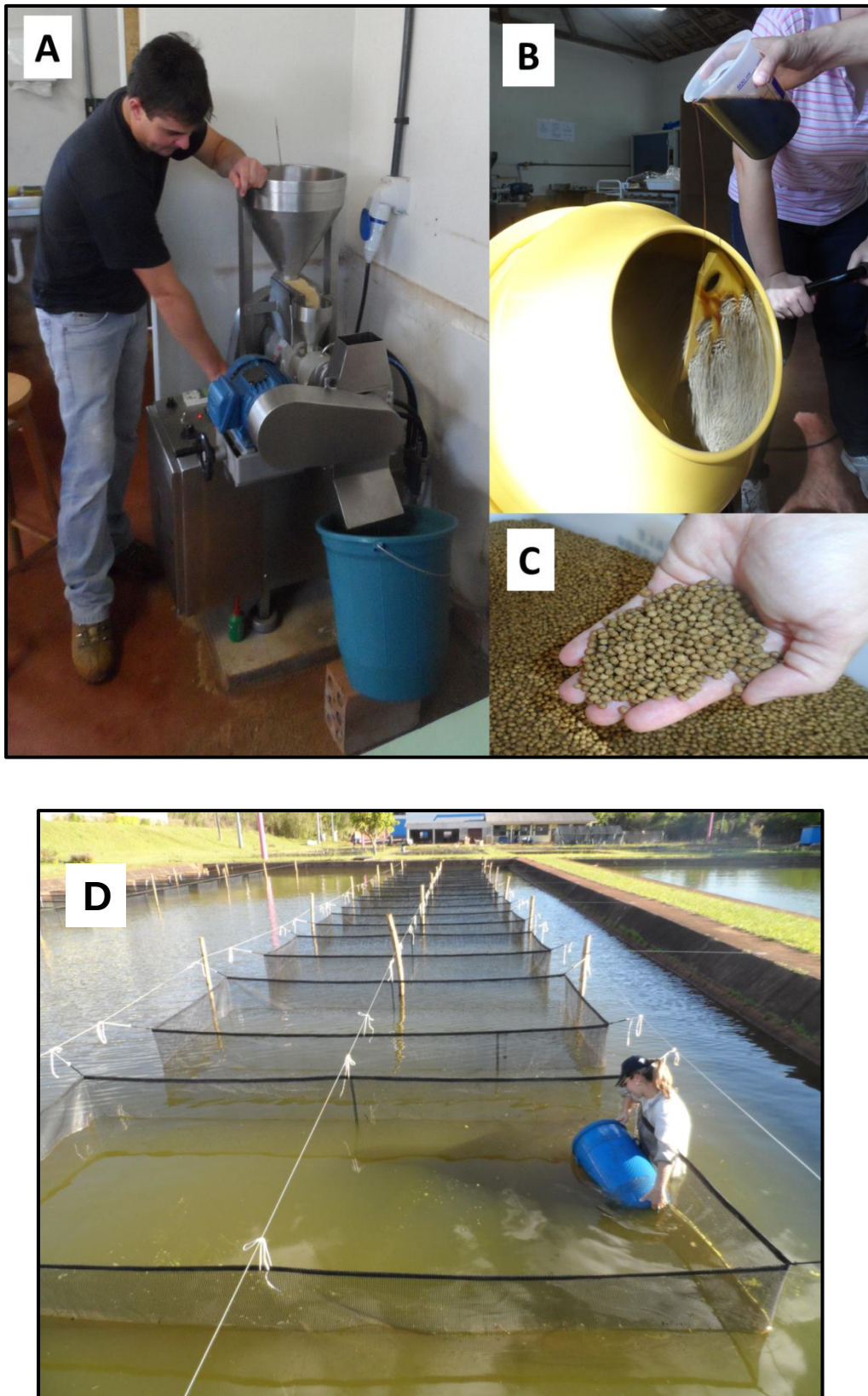
VARGAS, R.J; BESSONART, M. Análisis preliminares de la composición lipídica de las gónadas de bagre negro, *Rhamdia quelen* (Siluriformes; Quoy y Gaimard, 1824) de dos poblaciones en diferentes estaciones del año. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.33, n.01, p.93-98, 2007.

VARGAS, R.J.; GARCIA, A.S.; BAGGIO, S.R.; CARGININ-FERREIRA, E.; FRACALOSSO, D.M. A combination of plant oils promotes adequate growth of the freshwater catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824). **Aquaculture Research**, p. 1-10, 2014.

WASSEF, E.A.; WAHBI, O.M.; SHALABY, H.S. Effects of dietary vegetable oils on liver and gonad fatty acid metabolism and gonad maturation in gilthead seabream (*Sparus aurata*) males and females. **Aquaculture International**, v.20, p.250-281, 2012.

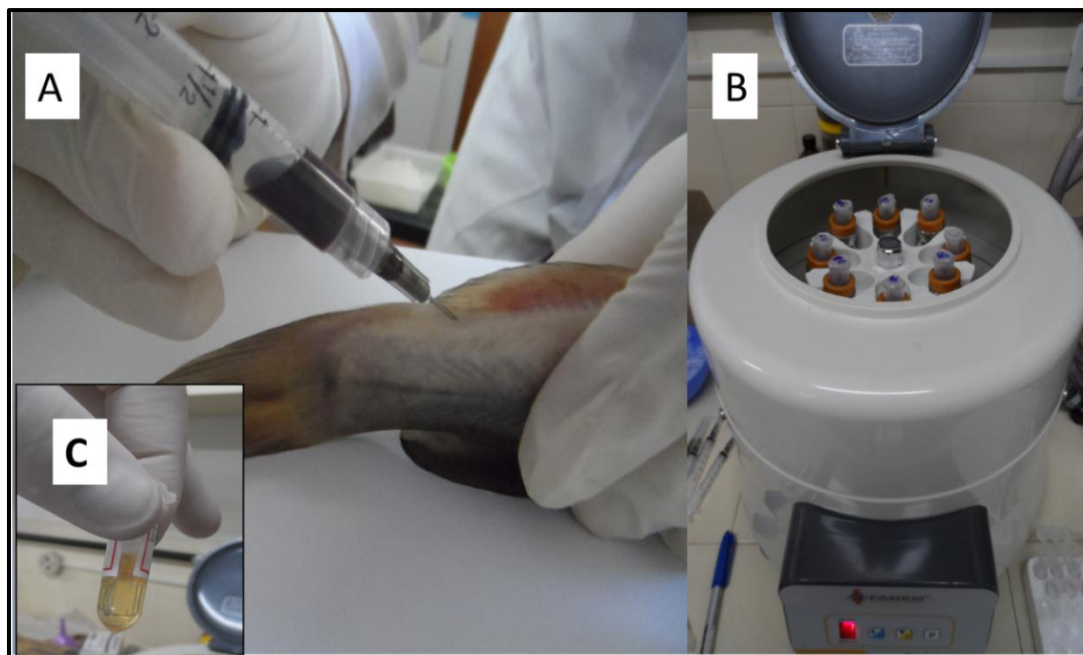
ZHANG, M.Z., LI, G.L.; ZHU, C.H., DENG, S.P. Effects of fish oil on ovarian development in spotted scat (*Scatophagus argus*). **Animal Reproduction Science**, v.141, p. 90-97, 2013.

ANEXO 1



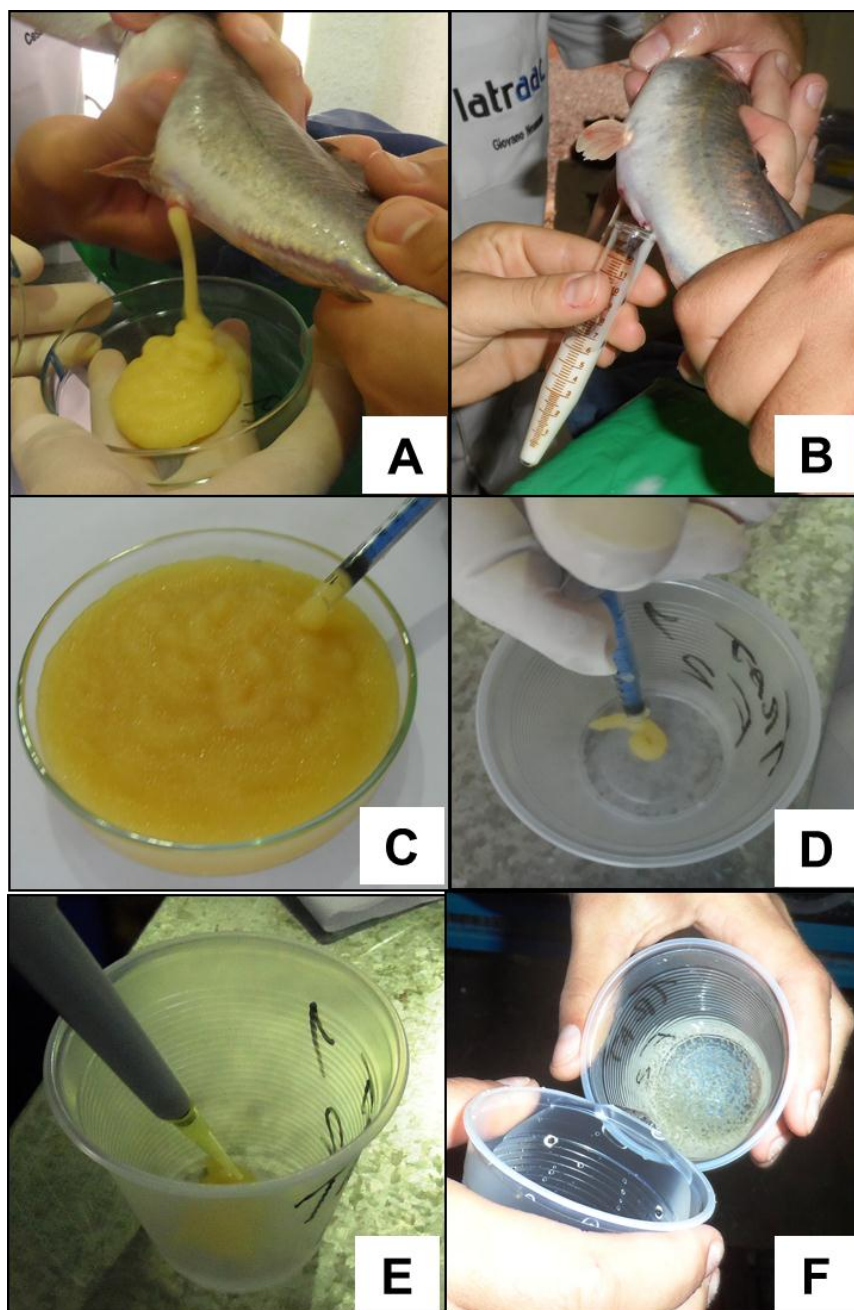
Anexo 1. **A:** Preparo das dietas experimentais: extrusão; **B:** adição do óleo; **C:** “pellets” extrusados; **D:** Transferência das fêmeas de *R. quelen* dos tanques de concreto para os tanques-rede.

ANEXO 2



Anexo 2. A: Colheita de sangue por meio de punção caudal; B: centrifugação; C: plasma extraído; D: Seleção das fêmeas de *R. quelen* aptas a desova.

ANEXO 3



Anexo 3. A: Extrusão dos gametas das fêmeas; B: Extrusão dos gametas dos machos; Procedimento geral da fertilização artificial de *R. quelen* utilizando o método a “seco”: C: Ovócitos após extrusão; D: Volume de ovócitos para fertilização; E: Aplicação da dose inseminante ; F: Ativação dos gametas.

ANEXO 4



Anexo 4. A: Incubação dos ovos de *R. quelen* dos diferentes tratamentos fertilizados individualmente; Padrão de anormalidade larval: cauda (**B, C, D**); cabeça e coluna (**E**).