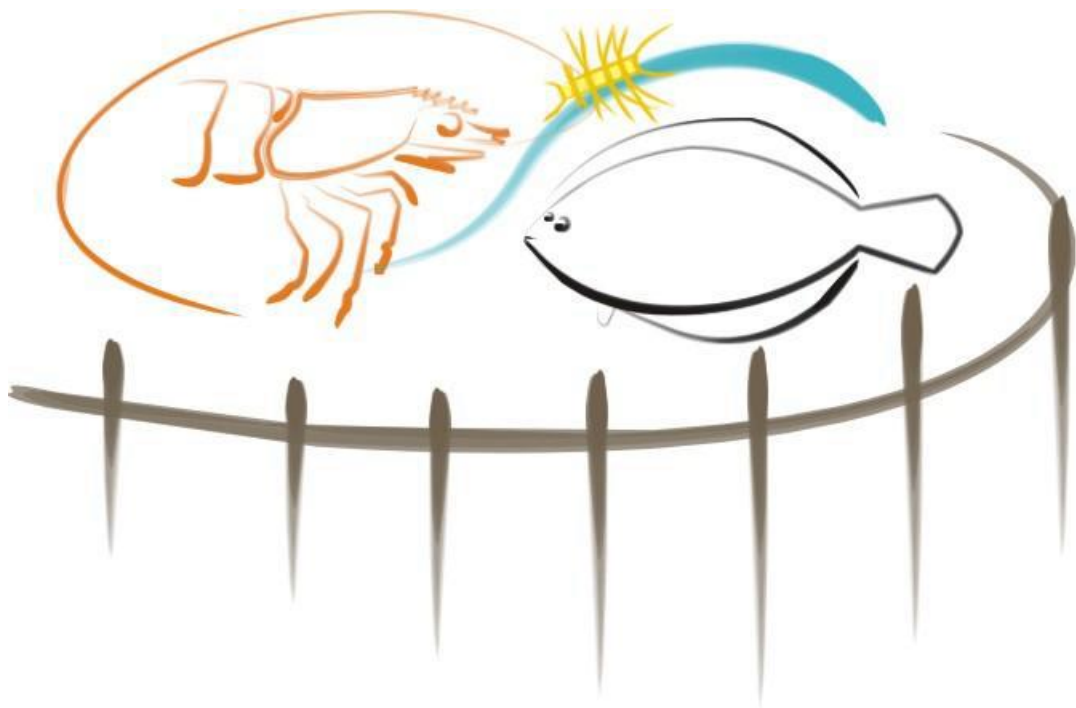


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE

INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



Efeitos da temperatura sobre o desempenho zootécnico, parâmetros metabólicos,  
hematológicos e de estresse oxidativo em pacu *Piaractus mesopotamicus*

Daniel de Sá Britto Pinto

Rio Grande/RS

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Efeitos da temperatura sobre o desempenho zootécnico, parâmetros metabólicos,  
hematológicos e de estresse oxidativo em pacu *Piaractus mesopotamicus*

**Orientador:** Prof. Dr. Luciano de Oliveira Garcia

**Co-orientador:** Prof. Dr. José Maria Monserrat

Tese apresentada como parte dos requisitos para  
obtenção do grau de Doutor em Aquicultura pelo  
Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da  
Universidade Federal do Rio Grande.

Rio Grande - RS – Brasil

Julho, 2019.

## Sumário

Epígrafe .....	IV
Dedicatória .....	V
Agradecimentos .....	VI
Resumo Geral.....	7
1. Introdução geral .....	11
1.1. Aquicultura.....	11
1.2. Pacu ( <i>Piaractus mesopotamicus</i> ) .....	14
1.3. Temperatura.....	16
1.3.1. Influência da temperatura sobre o crescimento de peixes.....	21
1.4. Sistema de defesa antioxidante e parâmetros de estresse oxidativo.....	24
1.5. Parâmetros hematológicos.....	29
2. Referências.....	33
3. Objetivos .....	53
3.1. Objetivo Geral .....	53
3.2. Objetivos específicos.....	53
Capítulo I .....	54
Capítulo II .....	71
Capítulo III.....	86
4. Considerações finais .....	98
5. Conclusões .....	99
6. Perspectivas futuras .....	100
7. Anexos .....	102

*“Comece fazendo o que é necessário,  
depois o que é possível, e de repente você  
estará fazendo o impossível.”*

*São Francisco de Assis*

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho aos meus pais, a minha esposa e a minha filha.

## **Agradecimentos**

Primeiramente agradeço a Deus pela vida, saúde, coragem e determinação para enfrentar os desafios que surgiram ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus pais e demais familiares pelo amor, incentivo e compreensão da ausência durante esses últimos anos.

À minha esposa pelo carinho, incentivo e apoio em todas as etapas enfrentadas e à minha filha, que chegou durante esta fase de trabalho e com o seu olhar e sorriso puro e sincero sempre renovou meu ânimo.

Aos professores Luciano Garcia e José Monserrat pela amizade, orientação, ensinamentos, disponibilidade, auxílio com as análises e compreensão dos resultados, incentivo e por terem acreditado neste trabalho sempre possibilitando que fosse realizado da melhor forma possível.

Ao professor Luis Sampaio pela disponibilização de equipamentos do Laboratório de Piscicultura Estuarina e Marinha – LAPEM, ao professor Marcelo Tesser por disponibilizar o Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – LANOA para a realização das análises de composição proximal e ao professor Silvio da Costa pela disponibilidade para a realização das análises de fotomicroscopia das extensões sanguíneas no Departamento de Morfologia-UFSM.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura-FURG pela contribuição na minha formação.

Aos amigos do Laboratório de Aquacultura Continental - LAC, os quais eu tive o prestígio de conviver e foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos demais amigos que, mesmo distantes fisicamente, sempre se fizeram presentes através de suas palavras de carinho e incentivo.

O meu sincero obrigado.

Que um dia eu possa retribuir!

## Resumo Geral

O pacu *Piaractus mesopotamicus* é uma espécie nativa da América do Sul, que apresenta grande potencial para a aquicultura, sendo atualmente a segunda espécie nativa mais cultivada no Brasil. Entretanto, sua criação pode ser limitada pela ampla variação termal da região onde habita: tropical e subtropical. Dessa forma, a presente tese teve como objetivo determinar os efeitos da variação de temperatura a curto e longo prazo, avaliando parâmetros sanguíneos, de estresse oxidativo e de desempenho zootécnico. Foram realizados dois experimentos (E1 e E2), nos quais os peixes foram expostos a quatro variações de temperatura (E1 - de 24 °C para 18, 21, 27 e 30 °C) por um período de 5 dias e a cinco diferentes temperaturas (E2 - 18, 21, 24, 27 e 30 °C) durante 45 dias. No E1, ao final do período experimental, foram coletadas amostras de sangue, fígado e músculo de nove peixes por tratamento. Os níveis de glicose aumentaram e diminuíram quando a temperatura variou de 24 para 30 e 21 °C, respectivamente. Os níveis de lactato foram maiores quando a temperatura variou para 18 °C. O hematócrito aumentou em todas as variações de temperatura e os níveis de hemoglobina diminuíram e aumentaram quando a temperatura variou de 24 para 21 °C e 30 °C. No fígado, a atividade da Glutathione-S-Transferase (GST) foi reduzida nos animais expostos a 18 °C, enquanto a capacidade antioxidante total (ACAP) aumentou quando a temperatura variou para 30 °C. A concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), no fígado, aumentou quando a temperatura variou de 24 para 18, 21 e 27 °C. A concentração de grupos tióis não proteicos (NP-SH), no fígado, diminuiu quando a temperatura variou de 24 para 18, 27 e 30 °C, enquanto que a concentração de grupos tióis proteicos (P-SH) diminuiu e aumentou quando a temperatura variou de 24 para 21; e 27 e 30 °C, respectivamente. No músculo, a ACAP reduziu quando a temperatura variou de 24 para 27 e 30 °C, e o TBARS aumentou quando a temperatura variou de 24 para 30 °C. A concentração de NP-SH, no músculo, não apresentou variação, enquanto que a concentração de tióis proteicos aumentou quando a temperatura variou de 24 para 18 °C. No E2, ao final do período experimental (45 dias), foram realizadas análises biométricas e coletadas amostras de sangue, fígado e músculo de nove peixes por tratamento. Com as análises biométricas foi observado que o crescimento aumentou proporcionalmente com a temperatura. O consumo de alimento e a taxa de conversão alimentar aumentaram, enquanto que a taxa de eficiência proteica diminuiu com o aumento da temperatura. Na composição proximal do filé, o extrato etéreo aumentou e a umidade diminuiu com a temperatura. Além disso, o teor de proteína foi menor em 18 e 30

°C. O crescimento e o consumo de alimento apresentaram correlação positiva ( $R^2 = 0,95$ ), enquanto que o consumo de alimento e a taxa de eficiência proteica apresentaram correlação negativa ( $R^2 = 0,89$ ). A curva de ajuste robusta entre a taxa de eficiência proteica e o teor de proteína no filé foi melhor a 21 °C. Com as análises hematológicas foi observado que os níveis de glicose, o hematócrito e a hemoglobina foram maiores em 27 e 30 °C. Já os níveis de lactato foram maiores nas temperaturas extremas de 18 e 30 °C. Pacus criados a 18, 21 e 27 °C apresentaram menor ACAP no fígado e no músculo. A atividade da GST no fígado foi menor nos peixes criados a 18 °C, enquanto que no músculo não houveram diferenças. Com base no método de regressão linear, o teor de P-SH e NP-SH no fígado apresentou relação positiva com a temperatura da água: P-SH ( $R^2 = 0,90$ ) e NP-SH ( $R^2 = 0,90$ ). Entretanto, no músculo os grupos tióis apresentaram menor e maior concentração nos peixes criados em 27 e 30 °C e 18 °C (P-SH), e 21 °C (NP-SH), respectivamente. O conteúdo de TBARS, no músculo e fígado, apresentou relação com a temperatura da água. Com base no método de regressão polinomial, a temperatura na qual os níveis de lipoperoxidação são menores é de 24,09 e 22,16 °C, para músculo e fígado, respectivamente. Os resultados obtidos na exposição de variação na temperatura da água a curto prazo indicam que variações de temperatura superiores a 3 °C podem induzir maiores alterações nos parâmetros hematológicos e causar danos oxidativos em juvenis de pacu. Quanto à exposição prolongada a diferentes temperaturas foi observado que, embora as alterações nos parâmetros hematológicos permitam a criação do pacu entre 21 e 27 °C, contudo, a fim de preservar o músculo, órgão de maior importância comercial, a melhor temperatura é de 24,09 °C, onde a peroxidação lipídica é menor. Apesar dos juvenis de pacu apresentarem uma relação de crescimento positiva com a temperatura, a melhor eficiência proteica em relação ao consumo alimentar fica entre 21 e 27 °C, refletindo uma melhor qualidade da carne. Assim, concluímos que variações na temperatura da água acima de 3 °C são prejudiciais para o pacu e a melhor temperatura de criação fica entre 24 e 27 °C.

**Palavras Chave:** eficiência proteica, eritrócitos, estresse térmico, peroxidação lipídica, piscicultura.



## Abstract

Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) is a native species from South America, which presents great potential for aquaculture, being currently the second most cultivated native species in Brazil. However, its creation can be limited by the wide thermal variation of the region where it inhabits: tropical and subtropical. Thus, the present thesis aimed to determine the effects of temperature variation in the short and long term, evaluating blood, oxidative stress, and growth performance parameters. Two experiments were performed (E1 and E2), in which the fish were exposed to four temperature variations (E1 - from 24 °C to 18, 21, 27 and 30 °C) for a period of 5 days and at five different temperatures (E2 -18, 21, 24, 27 and 30 °C) for 45 days. At E1, at the end of the experimental period, blood, liver and muscle samples from nine fish were collected per treatment. Glucose levels increased and decreased as the temperature ranged from 24 to 30 and 21 °C, respectively. Lactate levels were higher when the temperature ranged from 24 to 18 °C. Hematocrit increased at all temperature variations and hemoglobin levels decreased and increased when the temperature ranged from 24 to 21 °C and 30 °C, respectively. In the liver, glutathione-S-transferase (GST) activity was reduced when the temperature ranged from 24 to 18 °C, while total antioxidant capacity (ACAP) increased when the temperature ranged from 24 to 30 °C. The concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in the liver increased when the temperature ranged from 24 to 18, 21 and 27 °C. The concentration of non-protein thiol groups (NP-SH) in the liver decreased when the temperature ranged from 24 to 18, 27 and 30 °C, while the concentration of protein-thiol groups (P-SH) decreased and increased when the temperature ranged from 24 to 21; and 27 and 30 °C, respectively. In muscle, ACAP decreased when the temperature ranged from 24 to 27 and 30 °C, and TBARS increased when the temperature ranged from 24 to 30 °C. The concentration of NP-SH in muscle did not change, whereas the concentration of protein thiols increased when the temperature ranged from 24 to 18 °C. At E2, at the end of the experimental period (45 days), biometric analyses were performed and blood, liver and muscle samples from nine fish were collected per treatment. With the biometric analysis, was observed that the growth increased proportionally with the temperature. Food intake and feed conversion rate increased, while protein efficiency decreased with increasing temperature. In the proximal fillet composition, the ethereal extract increased and the humidity decreased with temperature. In addition, the protein content was lower at 18 and 30 °C. Growth and feed intake showed a positive correlation ( $R^2 = 0.95$ ), while food consumption and protein efficiency showed a negative correlation ( $R^2 = 0.89$ ). The robust fit curve between the protein

efficiency ratio and the protein content in fillet was best at 21 °C. With the hematological analysis, was observed that the levels of glucose, hematocrit and hemoglobin were higher at 27 and 30 °C. Lactate levels were higher at extreme temperatures of 18 and 30 °C. Pacu raised at 18, 21 and 27 °C showed lower ACAP in liver and muscle. GST activity in the liver was lower in fish raised at 18 °C, while in the muscle there were no differences. Based on the linear regression method, the content of P-SH and NP-SH in the liver had a positive relationship with water temperature: P-SH ( $R^2 = 0.90$ ) and NP-SH ( $R^2 = 0.90$ ). However, in the muscle, the thiol groups presented lower and higher concentration in the fish grown at 27 and 30 °C and 18 °C (P-SH), and 21 °C (NP-SH), respectively.. The content of TBARS, in muscle and liver, was related to water temperature. Based on the polynomial regression method, the temperature at which the lipoperoxidation levels are lower is 24.09 and 22.16 °C for muscle and liver, respectively. The results obtained in the exposure of variation in the temperature of the water in the short term indicate that temperature variations above 3 °C can induce major changes in hematological parameters and cause oxidative damages in pacu juveniles. Regarding the prolonged exposure to different temperatures, it was observed that, although the alterations in the hematological parameters allow the creation of pacu at 21 to 27 °C, however, in order to preserve the muscle, organ of greater commercial importance, the best temperature is 24.09 °C, where the lipid peroxidation is lower. Although pacu juveniles show a positive growth relationship with temperature, the best protein efficiency in relation to food consumption is between 21 and 27 °C, reflecting a better meat quality. Thus, we conclude that variations in water temperature above 3 °C are detrimental to pacu and the best breeding temperature is between 24 and 27 °C.

**Keywords:** thermal stress, fish farming, erythrocytes, lipid peroxidation, protein efficiency.

## **1. Introdução geral**

### **1.1. Aquicultura**

A aquicultura é uma atividade de produção animal caracterizada pela criação de organismos aquáticos de forma que seja possível controlar e manipular a população de animais através da aplicação de tecnologias de manejo, sanidade e nutrição visando alcançar melhores índices produtivos de forma ambientalmente correta e sustentável. É considerada uma atividade de grande importância, capaz de proporcionar a população bem-estar nutricional, econômico e social (FAO, 2010; Morgan *et al.*, 2017). Com o aumento da população mundial e a projeção de um déficit na disponibilidade de alimentos, a aquicultura surge como uma alternativa para o fornecimento de proteínas de alta qualidade (FAO, 2016; Henschion *et al.*, 2017).

Esta atividade tem se destacado devido ao seu crescimento constante (Figura 1) que pode ser atribuído a estabilização dos estoques pesqueiros e aumento da demanda por pescados (FAO, 2018), que consequentemente vem de encontro com a geração de emprego e renda. A partir da incorporação de uma atividade aquícola em uma determinada região, é possível propiciar capacidade de custear as despesas com alimentação e ainda permitir o acesso a itens não alimentares, como vestuário, saúde, educação, moradia e transporte (Haque & Dey, 2016).

De acordo com os dados publicados pela FAO (2018), no ano de 1994 a pesca e captura ultrapassou os 90 milhões de toneladas (mi Ton) e atingiu o pico máximo registrado de 93.83 mi Ton. em 1996, mantendo uma variação entre 85.76 mi Ton. em 1998 e 90.91 mi Ton no ano de 2016. Enquanto isso, ao partir do ano base onde a atividade pesqueira estabiliza, a aquicultura apresenta um crescimento constante que totalizou 301,54% (26.54 em

1994 para 80.03 mi Ton em 2016), ao longo de 22 anos na produção de organismos aquáticos, excluindo mamíferos aquáticos, crocodilos, jacarés, algas e outras plantas aquáticas.

Observando o crescimento da atividade a cada década (Tabela 1), a partir da década de 1980, embora o volume produzido (mi Ton.) apresente valores crescentes, ocorre um decréscimo percentual/ano de 16,16 para 13,47% (anos 90), 7,18% (anos 2000) e 5,11% (2010 a 2016). Este declínio está relacionado com a maior pressão imposta pela legislação ambiental, uso restrito da terra, competitividade com outras atividades de produção animal e vegetal (CONAMA, 2012; Schader *et al.*, 2015; Diaz *et al.*, 2017; Lima-Junior *et al.*, 2018). Isto reforça a necessidade de otimização das técnicas de criação, desde a análise do local onde será implementada a atividade até o aumento da produtividade aliada à sustentabilidade.

Tabela 1: Produção e crescimento da aquicultura mundial a cada década (1950 – 2016)

Incremento da produção por período (mi Ton.)			Crescimento percentual	
Período (anos)	Inicial	Final	% década	% médio/ano
1950 – 1959	0.6	1.65	175	17.5
1960 – 1969	1.66	2.36	42.17	4.22
1970 – 1979	2.57	4.34	68.87	6.89
1980 – 1989	4.71	12.32	161.57	16.16
1990 – 1999	13.09	30.73	134.75	13.47
2000 – 2009	32.42	55.69	71.78	7.18
2010 – 2016*	58.96	80.03	35.73	5.11

Dados obtidos em SOFIA - State of fisheries aquaculture 2018 online (Figure 1).

Disponível em: <http://www.fao.org/state-of-fisheries-aquaculture>

No Brasil, todas as 27 Unidades da Federação apresentam informações sobre produtos oriundos da aquicultura. Na Tabela 2, podemos observar que a criação de peixes (cerca de 507 mil Ton) representa 70,9% do valor total da produção aquícola (IBGE, 2016). Deste total da produção nacional (507 mil Ton), 225 mil Ton são provenientes da pesca de interior (FAO 2018).

Tabela 2: Quantidade produzida e valor da produção dos principais produtos da aquicultura, em ordem decrescente de valor de produção – Brasil – 2016.

Principais produtos da aquicultura, em ordem decrescente de valor da produção.	Quantidade produzida	Valor da produção	
		Total (1000 R\$)	Percentual (%)
Total	--	4.607.533	100,0
Peixes (Kg)	507.121.920	3.264.611	70,9
Camarões (Kg)	52.118.709	888.933	19,3
Alevinos (milheiros)	1.134.219	265.884	5,8
Larvas e pós-larvas de camarões (milheiros)	12.611.705	115.263	2,5
Ostras, vieiras e mexilhões (Kg)	20.828.670	68.480	1,5
Outros animais (1)	--	2.526	0,1
Sementes de ostras, vieiras e mexilhões (milheiros)	66.702	1.836	0,0

Editado a partir da Tabela 1 disponível em: PPM – Produção da Pecuária Municipal 2016.

(1) Foi pesquisado apenas o valor de produção por incluir diferentes espécies de animais, não sendo aplicável a unidade de medida da produção.

Na região sul do Brasil, o clima subtropical pode impactar fortemente sobre a produção, principalmente devido à biologia das espécies nativas, contudo, os números indicam um forte crescimento da piscicultura, principalmente no Paraná (77,22%) e Santa Catarina (63,39%), enquanto que no Rio Grande do Sul este crescimento se manteve estagnado ou mesmo com um leve declínio (Tabela 3).

Tabela 3: Produção de peixes na Região Sul do Brasil

Estados	Ton/ano				
	2013	2014	2015	2016	2017
Total	88.062.986	104.144.303	117.368.298	125.452.812	143.540.658
PR	51.143.124	57.340.461	69.264.343	90.636.090	98.003.730
RS	15.679.569	15.194.173	14.792.849	14.689.248	13.740.876
SC	21.240.293	31.602.919	33.744.141	34.706.177	31.796.052

Variável - Produção da aquicultura (valores expressos em quilogramas). Fonte: <https://sidra.ibge.gov.br/>

Este crescimento está relacionado com as políticas públicas que de acordo com a legislação vigente permitem a criação das espécies exóticas de tilápia *Oreochromis spp.* (IBGE, 2016). Isto reforça a necessidade de desenvolvimento de pacotes tecnológicos para a criação de espécies nativas da América do Sul, em especial as presentes no Sul do Brasil como o pacu, *Piaractus mesopotamicus*.

## 1.2. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (Figura 1) é uma espécie da família Characidae que apresenta grande importância comercial e social para comunidades pesqueiras no Brasil (Bombardelli *et al.*, 2007; Biassi *et al.*, 2018).



Figura 1: Exemplar juvenil da espécie *Piaractus mesopotamicus*. Fonte: Arquivo pessoal – Daniel Pinto. Voucher 2929, Coleção de Peixes da FURG.

Tem se destacado no cenário da piscicultura nacional sendo a 6<sup>a</sup> espécie mais produzida, totalizando junto com seu híbrido, a patinga (*Piaractus mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus*), 13.154,260 toneladas (Sidra-IBGE) (Tabela 4).

Tabela 4: Dados de produção das espécies de peixes mais produzidas na Região Sul do Brasil comparadas com o pacu e seus híbridos em 2017.

Brasil/estados	Tilápia	Carpa	Pacu/Patinga	Tambacu/tambatinga
Brasil	283.249.263	18.874.829	13.154.260	42.298.500
Paraná	91.720.618	2.968.083	1.935.794	155.260
Santa Catarina	24.155.419	5.810.484	99.063	33.250
Rio Grande do Sul	3.086.110	9.546.756	66.445	- ND

Tabela 3940 - Produção da aquicultura, por tipo de produto. Variável - Produção da aquicultura (quilogramas) no ano de 2017. \*ND = não disponível (19/06/2019). Fonte: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940>

É uma espécie que apresenta ampla distribuição em toda a Bacia do Prata (Figura 2), a qual compreende as bacias dos Rios Paraná, Paraguai e Uruguai (Saint-Paul, 1989). Devido ao ambiente onde se encontra, está exposta a uma grande variação de fotoperíodo e amplitude térmica, o que lhe confere boa tolerância ao clima tropical e subtropical (Petreere 1989; Urbinati *et al.*, 2010). Esta característica da espécie lhe propicia ser explorada em países da América do Sul como Argentina, Brasil e Paraguai (Valladão *et al.*, 2016). Trata-se de um peixe com bom potencial zootécnico, hábito alimentar onívoro, rusticidade, com fácil adaptação à criação intensiva, e boa qualidade de carne, e assim uma relevante aceitação pelo mercado consumidor (Abimorad & Carneiro 2004; Jomori *et al.*, 2005).

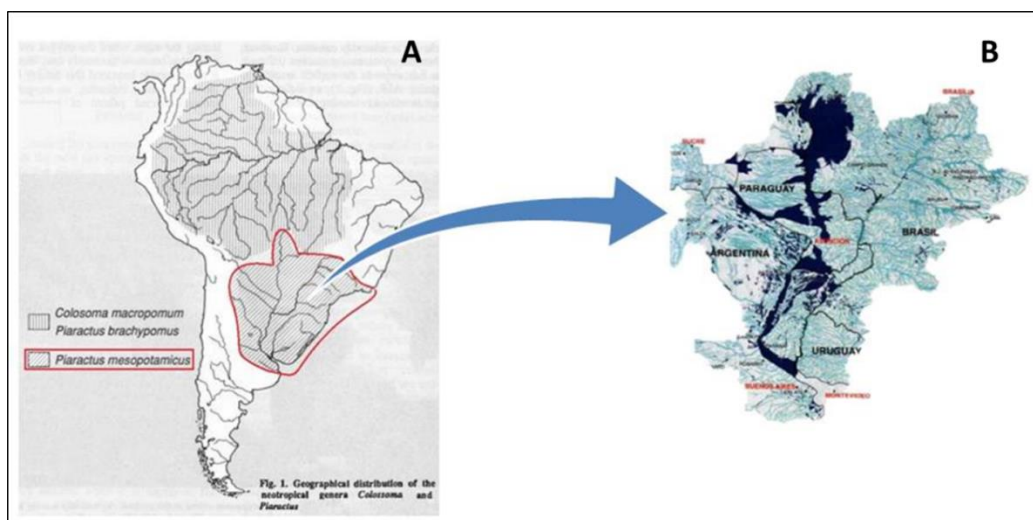


Figura 2 A: Distribuição geográfica. Editado a partir de: Saint-Paul, 1989.

Figura 2 B: Bacia do Prata – Editado a partir de: <http://riosvivos.org.br/sistema-parana-paraguai-2/>

Outro fator relevante é sua aceitação no mercado internacional, devido à possibilidade de preparo de diferentes formas de apresentação dos cortes cárneos que variam desde peixes inteiros (frescos ou congelados), divididos em bandas (corte sagital) ou como costelas, na forma de petiscos (Valadão *et al.*, 2016). Devido à importância que apresenta para o desenvolvimento da aquicultura no Brasil, diversas pesquisas têm sido realizadas para aperfeiçoar a produção desta espécie de forma intensiva, incluindo as suas necessidades

nutricionais (Fernandes *et al.*, 2001; Bicudo *et al.*, 2009; Honorato *et al.*, 2010), sanidade (Tavares-Dias *et al.*, 1999; Tavares-Dias & Mataqueiro, 2004; Jerônimo *et al.*, 2014; Biller-Takahashi *et al.*, 2015), manejo (Jomori, *et al.*, 2005; Takahashi *et al.*, 2006; ), processamento (Basso & Ferreira, 2011), ambientação e respostas fisiológicas (Saint-Paul & Bernardino, 1988; Sampaio *et al.*, 2008; Aguilár *et al.*, 2017; Copatti *et al.*, 2019; Pinto *et al.*, 2019).

### **1.3. Temperatura**

Os peixes são animais ectotérmicos, ou seja, animais que possuem a capacidade de regular a temperatura corporal de acordo com a temperatura do ambiente em que estão expostos, podendo ser classificados em euritérmicos, que toleram uma ampla faixa térmica e estenotérmicos, que toleram uma estreita faixa térmica (Schmidt-Nielsen, 2002). Devido a isso, a temperatura é um dos parâmetros abióticos mais importantes para a criação de peixes, podendo influenciar no seu desenvolvimento, principalmente por estar relacionada com a taxa metabólica dos animais e, conseqüentemente, sobre a eficiência alimentar impactando no custo de produção e na qualidade do produto final, o filé (Van Ham *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2009). Variações na temperatura ou a mesma se encontrar fora dos limites adequados para a espécie, podem ocasionar alterações nas reações bioquímicas que ocorrem no organismo provocando distúrbios fisiológicos (Pörtner, 2002; Schmidt-Nielsen, 2002; Paschke *et al.* al. 2018).

De acordo com isso, os peixes utilizam estratégias comportamentais, principalmente através da distribuição espacial dentro do corpo de água podendo se deslocar tanto vertical quanto horizontalmente em função da estratificação térmica do ambiente aquático, realizando migrações para ambientes mais favoráveis para tentar permanecer o mais próximo da temperatura de preferência (Cussac *et al.*, 2009, Mehner, 2012, Armstrong *et al.*, 2013).



Assim, estes animais procuram estar dentro do ponto termal ótimo, conhecido como temperatura de preferência, que propicia o funcionamento normal das suas funções fisiológicas como metabolismo, respostas imunes e reprodutivas. Entretanto, quando o limite de tolerância é excedido, essas funções podem ser comprometidas (Figura 5) (Schmidt-Nielsen, 2002; Ficke *et al.*, 2007, Baldisserotto, 2013). Entretanto, com o desenvolvimento da aquicultura, alguns indivíduos considerados como promissores acabam sendo expostos às adversidades climáticas ao longo do ano, incluindo variações de temperatura. Sendo assim quando uma espécie possui potencial para o desenvolvimento aquícola, é extremamente importante conhecer e respeitar os limites de tolerância térmica das diferentes espécies criadas, para o bom desenvolvimento da atividade aquícola.

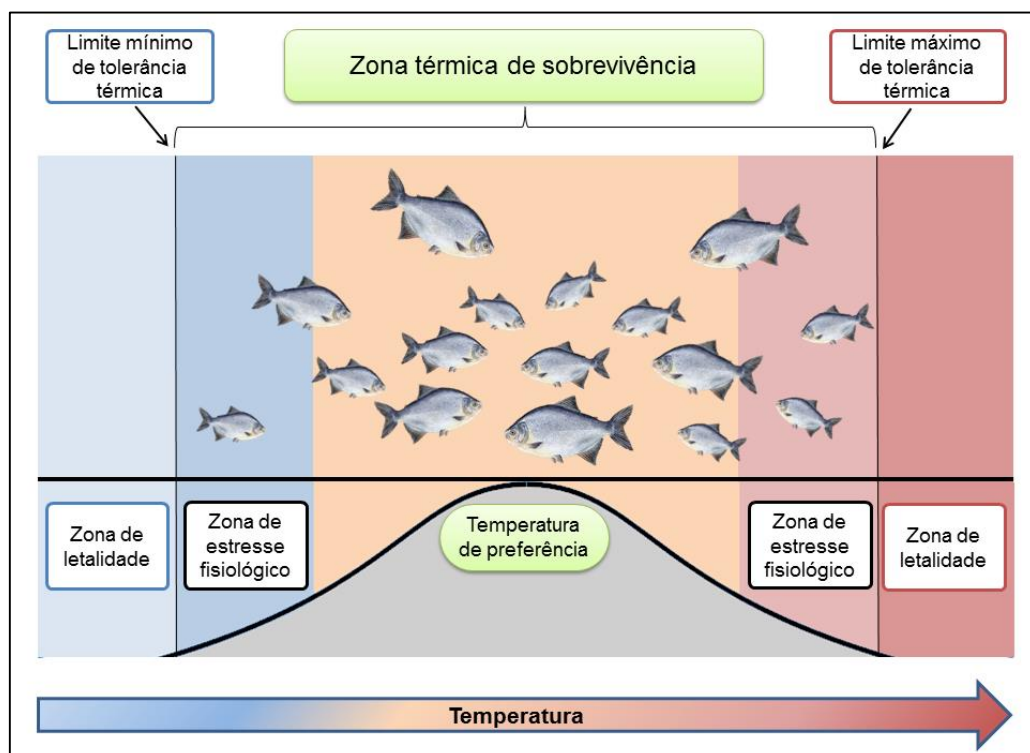


Figura 5: Distribuição espacial dos peixes em função da temperatura da água. Construída a partir das informações contidas em (Goddard, 1995; Baldisserotto, 2013).

Para que a atividade aquícola apresente carácter sustentável, as técnicas de manejo utilizadas devem ser otimizadas de forma a obter-se aumento da produtividade, sem causar prejuízos ambientais (Pereira & Mercante, 2005; Cyrino *et al.* 2010), e/ou alterações

fisiológicas nos animais (Macedo & Sipaúba-Tavares 2010; Cyrino *et al.* 2010). Dessa forma, a temperatura pode favorecer a utilização dos nutrientes de forma adequada, principalmente da proteína, a qual preferencialmente deve ser utilizada para a construção de tecido muscular, enquanto lipídios e carboidratos ingeridos devem suprir as necessidades energéticas (Craig, 2009; Stiller *et al.*, 2017).

As mudanças na temperatura da água são muito comuns em regiões subtropicais. No sul do Brasil, principalmente abaixo do trópico de Capricórnio (23° 27' Latitude sul), essas variações são fortemente influenciadas pela entrada de frentes frias principalmente nos períodos correspondentes ao outono e inverno, quando ocorrem com maior frequência. Este fenômeno pode ainda chegar ao norte do Brasil, onde é conhecido como “friagem” (Reboita *et al.*, 2012; Neto *et al.*, 2015). No extremo sul do Brasil, as temperaturas médias da água podem variar de 16 a 27 °C no verão, com as mínimas registradas de 12 °C e máximo de 32 °C; enquanto que, no inverno a média varia de 14 a 17 °C com temperatura mínima de 10 °C e máxima de 20 °C (Garcia *et al.*, 2008). A exposição a estas variações de temperatura na água pode ser suficiente para ocasionar alterações fisiológicas em peixes, as quais podem desencadear estresse nos animais e, em consequência, prejuízos no seu crescimento, causando impacto econômico negativo sobre a atividade da aquicultura (Wendelaar Bonga, 1997; Ficke *et al.*, 2007; Hofmann & Todgham, 2010).

Podemos observar entre alguns exemplos expostos (Figura 6), que os principais peixes nativos do Brasil (tambaqui e pacu) ainda não apresentam informação da sua temperatura de preferência. Entretanto, para o pacu, alguns autores utilizam temperaturas entre 20 e 32 °C na realização de seus experimentos (Borghetti & Canzi, 1993; de Assis *et al.*, 2004; de Paula *et al.*, 2013), enquanto que Milstein *et al.* (2000) define a temperatura mínima letal em 7,5 °C. Por outro lado, outras duas espécies não tão exploradas como o peixe-rei (*Odontesthes*

*bonariensis*) e o jundiá (*Rhamdia quelen*) já apresentam suas temperaturas ideais estabelecidas e vale ressaltar que o jundiá já apresenta um pacote tecnológico desenvolvido para sua criação em cativeiro.

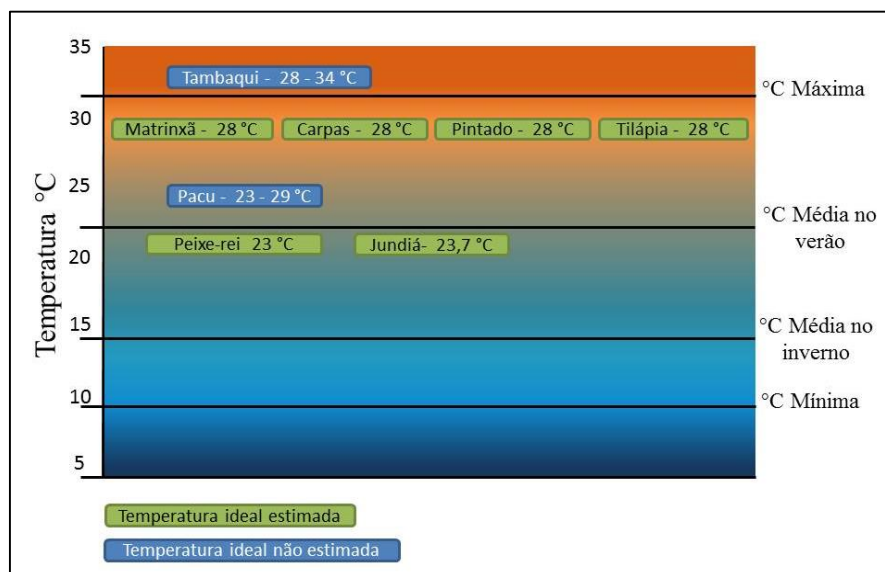


Figura 6: Temperatura ideal estimada para algumas espécies de peixes produzidas no Brasil em relação às temperaturas da água registradas no Rio Grande do Sul (Adaptado de Garcia *et al.*, 2008).

Peixes expostos tanto à variação de temperatura em curtos ou longos períodos, para compensar e restaurar suas funções fisiológicas, apresentam estratégias comportamentais e fisiológicas como alterações na taxa metabólica; reorganização do metabolismo celular e adaptações de órgãos e tecidos (Baldisserotto, 2013; Cussac, 2009; Schreck & Tort, 2016). Entretanto, muitas vezes estas estratégias não são suficientes para manter a homeostase do sistema fisiológico dos animais, e isto acaba afetando os parâmetros sanguíneos resultando em problemas na conformação e concentração das células eritrocitárias (Martins *et al.*, 2011; Ma *et al.*, 2015). Além disso, afeta também o sistema de defesa antioxidante, causando danos moleculares como oxidação de lipídios e proteínas resultando em estresse oxidativo (Bagnyukova *et al.*, 2007, Simčič *et al.*, 2015, Madeira *et al.*, 2016).

De acordo com Kassahn *et al.* (2009), mudanças na pressão parcial de oxigênio, as quais são consideradas comuns diante muitas condições de estresse, podem ser ocasionadas a

partir de alterações nas variáveis ambientais como por exemplo a temperatura (Figura 7). Tais mudanças (na pressão parcial de oxigênio) são capazes de incidir diretamente sobre o estado redox provocando situações de estresse oxidativo e, conseqüentemente, acabam incidindo sobre fatores bioquímicos e fisiológicos desencadeando uma série de processos como resposta ao estresse (Petoichi *et al.*, 2011; Faiss *et al.*, 2013). Entretanto, Kassan *et al.* (2009) ressaltam que o estresse não pode ser evitado com sucesso em todas as situações, porém pode colaborar com a manifestação de variações genéticas, e assim possibilitar uma melhor tolerância aos diferentes fatores ambientais.

Como respostas, o organismo pode ativar sistemas de reparo celular, vias de sinalização redox-sensíveis, respostas endócrinas e assim interferir no fornecimento de oxigênio resultando em problemas no crescimento, reprodução e sistema imune. Abram *et al.* (2017) citam que a exposição aguda ou crônica de um organismo à temperaturas abaixo do ideal podem comprometer sua sanidade devido ao prejuízo causado na capacidade de proteção contra patógenos, impactando sobre o sistema imune inato e adaptativo dos teleósteos. É importante ressaltar que, a patogenicidade também pode ser influenciada pela temperatura, embora possa ser difícil separar esses efeitos daqueles no sistema imune do hospedeiro. Zapata *et al.* (2006) citam que a imunocompetência dos peixes é determinada pelo funcionamento dos linfócitos, os quais sua diferenciação pode variar em diferentes espécies de peixes e provavelmente está relacionado à taxa de crescimento e desenvolvimento geral, que pode sofrer influência da temperatura.



Figura 7: Modelo conceitual das respostas ao estresse ligando respostas orgânicas, celulares com o agente estressor ambiental. Componentes da resposta ao estresse que são induzidos por estresse oxidativo ou pressões parciais reduzidas de oxigênio são sombreados em laranja. As alterações consequentes em verde são provavelmente o resultado da ativação de vias de sinalização induzíveis pelo estresse (JNK e p38) e fatores de transcrição sensíveis ao redox. Adaptada de Kassahn *et al.* (2009).

### 1.3.1. Influência da temperatura sobre o crescimento de peixes

Dentre os objetivos da aquicultura, o crescimento dos peixes pode ser considerado um dos principais fatores, juntamente com uma boa conversão alimentar. Entretanto, para que isso ocorra de forma eficiente, além da oferta de uma dieta de qualidade e outros fatores bióticos como tamanho, comportamento, densidade de estocagem e fatores hormonais, os fatores ambientais também podem interferir no crescimento e assim devem ser mantidos dentro de níveis adequados para a espécie. Dessa forma, a temperatura pode apresentar um efeito direto no crescimento dos peixes, uma vez que interfere no metabolismo e, assim, sobre o consumo e aproveitamento de alimento (Goddard 1995; Baldisserotto, 2013). Embora possam tolerar uma determinada amplitude termal, os peixes apresentam uma faixa de

temperatura onde o seu crescimento pode ser explorado ao máximo. Entretanto, é importante ressaltar que, a temperatura ambiente pode influenciar o desenvolvimento muscular (estrutura e crescimento) de teleósteos ectotérmicos através do fenômeno conhecido como “imprinting thermal” que ocorre durante a vida embrionária e pode exercer essa influência de forma vitalícia, levando a situações em que larvas grandes no período de incubação podem acabar resultando em peixes pequenos na vida adulta e vice-versa (Steinbacher *et al.*, 2011). De acordo com Piedras *et al.* (2004), quando os peixes se encontram fora da temperatura corpórea ideal não conseguem otimizar o aproveitamento do alimento consumido para atender a demanda energética necessária ao crescimento somático e à proliferação celular, que podem ser também influenciados pelas alterações nas células musculares satélite responsáveis pela síntese de novas fibras e pela hipertrofia das fibras musculares existentes (Fauconneau & Paboeuf, 2001).

Esta situação pode resultar em problemas não só para os animais, mas também para a atividade aquícola. Através de cálculos de valores econômicos, Besson *et al.* (2016) demonstraram que o impacto econômico da atividade aquícola, na criação de robalo (*Dicentrarchus labrax*), é dependente das condições de temperatura, o qual foi demonstrado através do modelo de coeficiente termal de crescimento (Jobling, 2003). Abbink *et al.* (2012) citam que a TCA em *Seriola lalandi* tende a aumentar em temperaturas mais baixas que a ideal devido a uma menor atividade de enzimas digestivas como a protease, o que conseqüentemente irá promover uma diminuição na digestibilidade da proteína e assim influenciará em menor crescimento.

A exposição a condições de temperaturas desfavoráveis ou a variações pode resultar em alterações na taxa metabólica e consumo de alimento assim como na variação da oferta de oxigênio ao longo do período. A demanda por oxigênio tende a variar de acordo com o

consumo de alimento e, dessa forma, quando a demanda por oxigênio do peixe é maior do que a oferta pode se tornar uma restrição para a criação durante o ciclo de produção (Tirsgaard *et al.*, 2015; Besson *et al.*, 2016; Craig *et al.*, 2017).

Além disso, é necessário considerar a influência que a temperatura exerce sobre a solubilidade do oxigênio na água. A relação existente entre a temperatura da água e o oxigênio dissolvido é inversamente proporcional, permitindo que o oxigênio se dissolva com maior facilidade em baixas temperaturas (Figura 8). Isto ocorre porque, com o aumento da temperatura as moléculas de água se tornam mais instáveis, apresentando um aumento na velocidade de movimentação diminuindo a entrada do oxigênio na água (Boyd, 2015). Entretanto, mesmo com a alta solubilidade do oxigênio em baixas temperaturas, a permeabilidade do oxigênio na membrana pode diminuir devido modificações na membrana fosfolipídica para manter a fluidez, a qual apresenta uma relação diretamente proporcional a temperatura (Möller *et al.*, 2016).

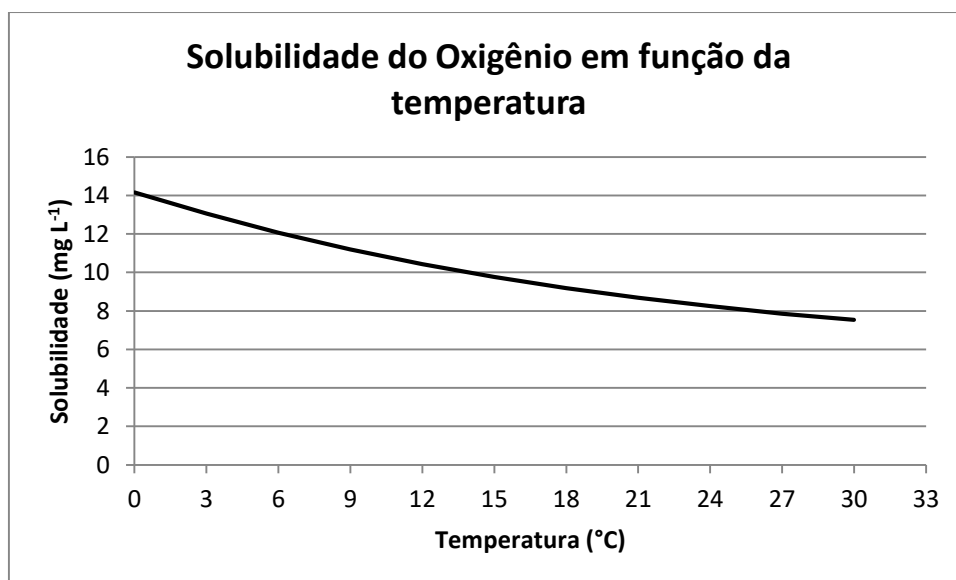


Figura 8: Solubilidade do oxigênio em diferentes temperaturas da água. De acordo com os dados disponíveis da Tabela 2.14 de Boyd, (1982).

#### 1.4. Sistema de defesa antioxidante e parâmetros de estresse oxidativo

Durante os processos evolutivos gerados pelo aparecimento do oxigênio na Terra, os organismos desenvolveram um sistema respiratório eficiente, capaz de captar, transportar e fornecer níveis adequados de oxigênio para a realização dos processos fisiológicos (Stamati *et al.*, 2011; Halliwell & Gutteridge, 2015). Entretanto, tiveram que se adaptar a dualidade funcional apresentada pela molécula de oxigênio que está relacionada com a alta capacidade de geração de energia metabólica (ATP) e a constante geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) que se formam durante os processos respiratórios (Castegna *et al.*, 2003; Livingstone, 2003). As ERO compreendem um grupo de moléculas derivadas do oxigênio molecular que são produzidas em todas as células aeróbias. Sua produção pode propiciar a oxidação de macromoléculas biológicas, como DNA, proteínas, carboidratos e lipídios e assim afetar as funções celulares (Sies, 1986; Sayre, 2001; Schieber & Chandel, 2014), o que compromete a função homeostática de órgãos e tecidos (Harper & Wolf, 2009; Kassahn *et al.*, 2009).

A partir do processo de redução do oxigênio para formação de água, ocorre a geração de espécies intermediárias como o ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o oxigênio singleto ( $^1O_2$ ) e o radical hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ). Essa formação de ERO ocorre naturalmente como subproduto do metabolismo oxidativo e depende de um delicado equilíbrio bioquímico entre a capacidade de proteção e reparo (antioxidantes) e a formação desses compostos reativos (pró-oxidantes), desempenhando um papel importante na sinalização redox (Pardini, 1995; Schieber & Chandel, 2014).

Assim, quando ocorre um desequilíbrio entre ERO e a concentração de agentes com capacidade antioxidante, o organismo entra em um estado de estresse oxidativo (Evans & Halliwell, 2001; Hermes-Lima, 2004; Lesser, 2006). Outros autores como Pisoschi & Pop



(2015), definem que o estresse oxidativo não só está relacionado com desequilíbrio entre antioxidantes e pró-oxidantes, mas também com a perturbação do controle e a sinalização redox, gerando uma condição que propicia a ocorrência de danos oxidativos resultando em alterações e modulações funcionais de biomoléculas-chave como enzimas, canais de íons, proteínas estruturais e membranas lipídicas. Os peixes podem apresentar uma grande diversidade de mecanismos para lidar com os desafios oxidativos, decorrentes das adaptações que aconteceram ao longo do tempo pelas condições ambientais a que estão submetidos (Scandalios, 2005; Metcalfe & Alonso-Alvarez, 2010). Entretanto qualquer molécula ou substância capaz de combater ou prevenir a oxidação de um substrato oxidável é considerada um antioxidante (Halliwell *et al.*, 1995; Halliwell, 2012).

O sistema de defesa antioxidante não enzimático é compreendido por moléculas com propriedades antioxidantes em sua grande maioria de origem exógena, ou seja, não são sintetizados pelo organismo e são adquiridos através da dieta via vitaminas, como ácido ascórbico (Vitamina C),  $\alpha$ -tocoferol (Vitamina E) e pró-vitaminas A (carotenóides:  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e criptoxantina) e outros nutrientes, como selênio, zinco, cobre e manganês (Machlin & Bendich, 1987; Monsen, 2000; Dickinson & Forman, 2002; Johnson *et al.*, 2003). Por outro lado, o sistema de defesa antioxidante enzimático é constituído por enzimas sintetizadas pelo organismo dentre quais se destacam a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), glutatona-S-transferase (GST), glutatona redutase (GR) e a glutatona peroxidase (GPx), as quais são as primeiras a agir interceptando ou neutralizando os agentes oxidantes (Sies *et al.*, 1992; Hermes-Lima *et al.*, 2015).

Diversos fatores podem influenciar a atividade enzimática no organismo e a temperatura é um dos mais importantes. A temperatura pode determinar a velocidade das reações químicas e/ou provocar alterações na conformação da estrutura tridimensional das

enzimas, e assim afetar sua capacidade catalítica (Miyazaki *et al.*, 2000). Mesmo os peixes, que são organismos ectotérmicos apresentam uma temperatura onde a atividade enzimática é ótima, o que varia de acordo com a sua biologia (Feller, 2010; Neel & McBrayer, 2018).

Segundo Welker *et al.* (2013), a atividade das enzimas antioxidantes pode ser relacionada à taxa metabólica que também sofre influência da variação da temperatura. Os fatores ambientais, entre eles a temperatura, podem provocar alterações metabólicas e assim interferir nos processos biológicos, alterando as taxas respiratórias e causando distúrbios fisiológicos ou até mesmo letais (Pörtner *et al.*, 2000; Scandalios, 2005; Vinagre *et al.*, 2012). Na medida em que as temperaturas podem alterar a taxa de reações metabólicas e modular o consumo de oxigênio, isto pode conseqüentemente propiciar um aumento na produção de ERO (Lushchak & Bagnyukova, 2006; Dalvi, *et al.*, 2009; Lushchak, 2011; Welker *et al.*, 2013). Para lidar com os desafios oxidativos, os organismos podem apresentar diferentes estratégias e uma grande diversidade de mecanismos (modulação do conteúdo das proteínas da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial; modulação da produção de radicais livres por desacoplamento de proteínas; modificações pós-traducionais; regulação da pressão parcial mitocondrial de O<sub>2</sub>, conteúdo de cardiolipina das mitocôndrias; proteção celular por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, dentre outros), os quais estão relacionados a processos adaptativos ao longo do tempo, condições ambientais, tipos de tecido celular e suas funções fisiológicas (Pamplona & Costantini, 2011).

Para estimar as respostas antioxidantes e/ou a ocorrência de danos oxidativos no organismo, diversas técnicas foram desenvolvidas, sendo uma delas a determinação da atividade da enzima glutathione-S-transferase (GST), que esta relacionada com a detoxificação do organismo, atuando na eliminação de xenobióticos e outros metabólicos derivados da peroxidação lipídica através da conjugação com a glutathione reduzida (GSH) (Raza, 2011). Já

a capacidade antioxidante total considera todas as moléculas que apresentam a capacidade de atuar como um antioxidante, seja enzimático ou não enzimático, e serve como uma medição que integra vários tipos de resposta nos organismos que estão sendo expostos a uma condição pró-oxidante (Bartosz, 2003; Amado *et al.*, 2009).

Pela sua vez, a avaliação do estado de estresse oxidativo nos organismos é efetuada de várias formas, incluindo a medição de danos lipídicos e proteicos. A ocorrência de dano lipídico ocorre pela reação de radicais livres com outros não-radicaís pelo processo de reação em cadeia onde um radical gera outro radical. De acordo com Nikki (2009), a propagação dessa reação em cadeia depende da captação do hidrogênio bisalílico da cadeia lipídica por um radical peroxil gerando um radical lipídico dieno conjugado e novos radicais peroxil, dando continuidade a este processo até que dois radicais peroxila reagem entre si formando um produto não radicalar, caracterizando o término da reação. A ocorrência de peroxidação lipídica pode resultar no aumento da concentração de malondialdeído – MDA, que é um dos produtos formados durante o processo de degradação de peróxidos lipídicos gerados durante o ataque dos radicais livres a ácidos graxos poli-insaturados, e pode ser detectada pela análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Halliwell & Chirico, 1993; Oakes & Van Der Kraak, 2003). Nesta técnica, sob condições de temperatura elevada e acidez, o MDA reage com o ácido tiobarbitúrico – TBA e emite uma fluorescência que pode ser quantificada em espectrofluorímetro (Oakes & Van Der Kraak, 2003).

A temperatura pode influenciar no grau de saturação das membranas lipídicas a fim de manter a sua fluidez. A partir da composição (qualidade e quantidade de ácidos graxos), para a adaptação do estado físico da membrana à temperatura o qual pode ocorrer pela desaturação para compensar a rigidificação dos lipídios na membrana a baixas temperaturas, controlando assim a relação e proporção de ácidos graxos saturados e insaturados (Dey *et al.*, 1993; He *et*

*al.*, 2015). Entretanto, e dessa forma, os lipídios insaturados tornam-se mais suscetíveis à oxidação, devido ao número de posições duplamente alílicas presentes nos ácidos graxos insaturados (Cosgrove *et al.*, 1987). Junto a isso, a maior disponibilidade de oxigênio dissolvido em baixas temperaturas pode contribuir com o aumento na produção de processos geradores de ERO e assim resultar em danos oxidativos aos lipídios (Bagnyukova *et al.*, 2007; Vinagre *et al.* 2012).

Para verificar a possível ocorrência de danos oxidativos nas proteínas, a quantificação de grupos sulfidrila (tióis), proteicos (P-SH), é uma técnica eficiente devido susceptibilidade dos tióis à oxidação e, assim sendo, eles são considerados biomarcadores relevantes nos processos oxidativos em proteínas (Di Simplicio *et al.*, 1998; Erel & Neselioglu, 2014). São moléculas importantes para a manutenção do equilíbrio redox, podendo gerar espécies reversíveis na forma de dissulfetos, as quais desempenham uma importante função na conformação da estrutura terciária das proteínas, principalmente as que apresentam resíduos de cisteína que podem ser facilmente oxidados (Ghiselli *et al.*, 2000; Dickinson & Forman, 2002). A quantificação de tióis não proteicos (NP-SH) estima a concentração do tripeptídeo glutationa (GSH) que representa cerca de 90% da quantidade total de NP-SH e apresenta uma alta concentração nos tecidos, sendo a molécula redutora mais abundante principalmente no tecido hepático onde desempenha um importante papel de manter o estado redox dos grupos sulfidrilas das proteínas celulares (Yuan & Kaplowitz, 2009).

A concentração dos níveis intracelulares do GSH é autorregulada, mantendo o equilíbrio entre o uso e a síntese. A depleção na concentração de GSH, que pode ocorrer por meio de reações de conjugação com a enzima GST em processos de detoxificação ou pela formação de glutationa reduzida (GSSG) devido ao aumento na concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, atua como um sinal para a atividade da glutationa-cisteína-ligase (GCL), uma enzima envolvida na

síntese da glutathiona (Dickinson & Forman, 2002; Dalle-Donne *et al.*, 2008; Yuan & Kaplowitz, 2009).

Neste contexto, o aumento da temperatura incidindo sobre a atividade metabólica pode resultar num aumento da formação de ERO. Conseqüentemente, promovendo um aumento na atividade de antioxidantes e enzimas associadas, entre elas a GSH e, assim, como a sua depleção serve de sinalização para induzir a sua própria síntese, pode inferir positivamente no estado de estresse oxidativo, propiciando a manutenção do equilíbrio redox intracelular e permitindo a reação reversível da formação de dissulfetos de tiol (Bagnyukova *et al.*, 2007; Lu *et al.*, 2009). Correlações positivas entre a concentração de tióis e atividades enzimáticas (superóxido dismutase (SOD), catalase, glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona-S-transferase (GST), glutathiona redutase (GR), e glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH)) em *Carassius auratus* expostos a diferentes temperaturas já foram descritas por Lushchak & Bagnyukova (2006). Os autores relatam que esse fenômeno possivelmente está relacionado com a manutenção do estado redox em resposta adaptativa ao estresse oxidativo, fornecendo agentes redutores equivalentes para interceptar/degradar ERO oriundos do aumento do metabolismo.

### **1.5. Parâmetros hematológicos**

Anormalidades nos parâmetros hematológicos podem ser facilmente detectáveis e, devido a isso, tais parâmetros são considerados bons bioindicadores do estado de saúde e bem-estar dos peixes, fornecendo um diagnóstico precoce dos distúrbios patológicos destes (Ivanc *et al.*, 2005; Clauss *et al.*, 2008). A utilização de parâmetros hematológicos na avaliação sanitária dos animais possibilita observar manifestações como anemias e redução da capacidade imune, capazes de resultar em doenças que podem levar os peixes à morte (Le Morvan *et al.*, 1998; Bowden, 2008).

Para detectar essas manifestações podem ser utilizadas técnicas de quantificação dos diferentes grupos celulares que compõem o sangue. Podem ser realizadas análises de hemograma e leucograma, assim como a observação da porcentagem de hematócrito, contagem do número de eritrócitos, níveis de hemoglobina e suas relações morfométricas capazes de estimar o volume corpuscular médio, a hemoglobina corpuscular média e a concentração de hemoglobina corpuscular média dos eritrócitos (Ivanc *et al.*, 2005; Segner *et al.*, 2012; Brauner & Harter, 2017). Desta forma é possível detectar a ocorrência de anormalidades morfológicas nos eritrócitos e por se tratar de métodos de amostragem não-letais, os quais podem ser coletados a campo para posterior exame em laboratório, deve-se considerar que é prudente e razoável a realização de análise periódica das variáveis hematológicas para sua utilização como indicadores de saúde para os peixes teleósteos (Blaxhall & Daisley, 1973; Houston, 1997; Kerr, 2002).

Alterações nos parâmetros hematológicos podem ocorrer não só em resposta a doenças ou processos inflamatórios, mas também devido a aspectos nutricionais e mudanças nos fatores ambientais como a temperatura. A amplitude térmica da água às quais os peixes são submetidos podem induzir alterações bioquímicas e fisiológicas capazes de afetar sua saúde e bem-estar podendo promover situações de estresse (Clauss *et al.*, 2008; Gillooly & Zenil-Ferguson, 2014; Shahjahan *et al.*, 2018). De fato, as alterações bioquímicas dos parâmetros sanguíneos podem estar relacionadas à influência que a temperatura exerce sobre o metabolismo e, embora muitos casos de hiperglicemia geralmente ocorrem em resposta a alterações na demanda metabólica, a qual pode variar com a temperatura (Ficke *et al.*, 2007; Xie *et al.*, 2017), também podem ser interpretadas como uma resposta fisiológica ao estresse. Situações de estresse podem afetar o bem-estar da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) em ambientes de produção através da supressão da função imunológica do fígado, induzida pela secreção de cortisol, o qual pode promover imunossupressão através da indução à diminuição

do número de linfócitos circulantes, produção total de imunoglobulinas e fagocitose além de exercer alguns papéis na resposta inflamatória em relação à ativação de vias de interleucina (Milla *et al.*, 2018; Shepherd *et al.*, 2018).

De acordo com estas situações estressantes, a partir da liberação de catecolaminas e cortisol na corrente sanguínea, os peixes podem manifestar um aumento nos níveis de glicose e lactato no plasma (Wendelar-Bonga, 1997; Schreck & Tort, 2016). Os níveis de glicose são mantidos próximos a um valor (“set point”) através de sensores de glicose em locais centrais e periféricos, os quais estão relacionados ao controle da ingestão alimentar por meio de mudanças na expressão de neuropeptídeos que estimulam ou inibem o apetite (orexígenos e anorexígenos). Os níveis normais de glicose observados para a ordem dos Characiformes estão entre 54,06 e 72,05 mg dL<sup>-1</sup> e podem variar de acordo com a temperatura do habitat da espécie ou com o hábito alimentar (Polakof *et al.*, 2011; Polakof *et al.*, 2012; Soengas, 2014).

Já o lactato é um produto final da glicólise formado a partir de piruvato mediado pela enzima lactato desidrogenase no fígado e nos rins. É considerado um intermediário dinâmico do metabolismo uma vez que, pode desempenhar diferentes funções no organismo tais como combustível oxidativo (após sua reconversão em piruvato) precursor gliconeogênico, molécula de sinalização intracelular entre outros (Gladen, 2004; Omlin *et al.*, 2014; Weber *et al.*, 2016). O aumento nos níveis de lactato (hiperlactatemia) geralmente está associado à utilização de vias anaeróbias para obtenção de energia em uma situação de hipóxia, seja esta ambiental, quando o ambiente apresenta baixa disponibilidade de oxigênio ou funcional, quando o organismo não consegue captar o oxigênio do ambiente (Dalla Via *et al.*, 1997).

O pH sanguíneo pode sofrer variações as quais podem causar modificações na conformação da hemoglobina influenciando na afinidade desta com o O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> e assim resultando em hipóxia funcional e a partir desta condição, os animais podem manifestar

hiperventilação, uma alteração fisiológica em resposta ao aumento nos níveis de catecolaminas. Nestas condições de hipóxia, o músculo branco tende a produzir energia através da glicólise anaeróbica, resultando em taxas mais altas de lactato do que pode ser processado por tecidos aeróbicos sendo, por tanto, acompanhada por uma diminuição no pH sanguíneo (Dalla Via *et al.*, 1997; Allen & Holm, 2008). Entretanto, o pH sanguíneo pode ser ajustado através dos níveis de  $\text{HCO}_3^-$  no plasma pela regulação diferencial dos efluxos de  $\text{H}^+$  e  $\text{HCO}_3^-$  nas brânquias (Gilmour, 2001; Perry & Gilmour 2006).

De acordo com Palmer (2012), o aumento dos níveis de lactato e o estado de alcalose podem estar relacionados ao efeito do pH sobre a atividade da enzima fosfofrutoquinase interferindo no controle da glicólise e assim estimulando a via glicolítica. A hiperventilação pode ainda causar um desequilíbrio na relação do perfil ácido-básico do sangue elevando o pH sanguíneo e assim promover um estado de alcalose à medida que ocorre uma diminuição da pressão de  $\text{CO}_2$  no sangue. Por outro lado, através da elevação da frequência respiratória e elevação do pH sanguíneo, a afinidade da hemoglobina com o oxigênio tende a aumentar. (Dalla Via *et al.*, 1997; Kassahn *et al.*, 2009; Harper & Wolf, 2009).

Considerando que as condições ambientais podem interferir no bem estar, além de ocasionar alterações fisiológicas nos animais, estudos relacionados à temperatura devem ser conduzidos para que as espécies com maior apelo comercial, como o pacu, possam ser exploradas no seu máximo potencial. A partir disso, a presente tese aborda os efeitos da variação de temperatura e define qual a melhor faixa de temperatura de criação para o pacu, considerando não apenas os fatores de crescimento, mas também as influências sobre a fisiologia, os marcadores de estresse oxidativo e defesas antioxidantes e a hematologia.



## 2. Referências

- Abbink, W., Garcia, A. B., Roques, J. A., Partridge, G. J., Kloet, K., & Schneider, O. (2012). The effect of temperature and pH on the growth and physiological response of juvenile yellowtail kingfish *Seriola lalandi* in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 330, 130-135.
- Abimorad, E. G., Carneiro, D. J., & Urbinati, E. C. (2007). Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Research*, 38(1): 36-44.
- Abram, Q., Dixon, B., & Katzenback, B. (2017). Impacts of low temperature on the teleost immune system. *Biology*, 6(4), 39.
- Aguilar, F. A., Cruz, T. M. D., Mourao, G. B., & Cyrino, J. E. P. (2017). Water temperature, body mass and fasting heat production of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(2): 1305-1312.
- Allen, S. E., & Holm, J. L. (2008). Lactate: physiology and clinical utility. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 18(2): 123-132.
- Amado, L. L., Garcia, M. L., Ramos, P. B., Freitas, R. F., Zafalon, B., Ferreira, J. L. R., Yunes, J.S., & Monserrat, J. M. (2009). A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: application to evaluate microcystins toxicity. *Science of the Total Environment*, 407(6): 2115-2123.
- Armstrong, J.B., Schindler, D.E., Ruff, C.P., Brooks, G.T., Bentley, K.E., & Torgersen, C.E., (2013). Diel horizontal migration in streams: juvenile fish exploit spatial heterogeneity in thermal and trophic resources. *Ecology*, 94, 2066-2075.

- Bartosz, G. (2003). Total antioxidant capacity. In: *Advances in Clinical Chemistry* 37 (1): 219-292. Elsevier.
- Basso, L., & Ferreira, M. W. (2011). Efeito do peso ao abate nos rendimentos dos processamentos do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Agrarian*, 4(12): 134-139.
- Bagnyukova, T.V., Lushchak, O.V., Storey, K.B., & Lushchak, V.I. (2007). Oxidative stress and antioxidant defense responses by goldfish tissues to acute change of temperature from 3 to 23 °C. *Journal of Thermal Biology*, 32, 227-234.
- Baldisserotto, B. (2013) *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. 3ª ed. Editora UFSM, Santa Maria-RS. 352p.
- Besson, M., Vandeputte, M., Van Arendonk, J. A. M., Aubin, J., De Boer, I. J. M., Quillet, E., & Komen, H. (2016). Influence of water temperature on the economic value of growth rate in fish farming: the case of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) cage farming in the Mediterranean. *Aquaculture*, 462, 47-55.
- Biassi, B. A., Behr, E. R., Dellazzana, D. A., & Arocha, N. M. (2018). Análise etnoictiológica da pesca artesanal nas bacias hidrográficas dos Rios Uruguai e Jacuí, Rio Grande do Sul, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43(3), 358-372.
- Bicudo, A. J.A., Sado, R. Y., & Cyrino, J. E. P. (2009). Growth and haematology of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, fed diets with varying protein to energy ratio. *Aquaculture Research*, 40(4): 486-495.
- Biller-Takahashi, J. D., Takahashi, L. S., Mingatto, F. E., & Urbinati, E. C. (2015). The immune system is limited by oxidative stress: dietary selenium promotes optimal antioxidative status and greatest immune defense in pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Fish & shellfish immunology*, 47(1): 360-367.

- Blaxhall, P. C., & Daisley, K. W. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of fish biology*, 5(6): 771-781.
- Bombardelli, R. A., Bencke, B. C., & Sanches, E. A. (2007). Processamento da carne do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) cultivado em tanques-rede no reservatório de Itaipu. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 29(4), 457-463.
- Borghetti, J. R., & Canzi, C. (1993). The effect of water temperature and feeding rate on the growth rate of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) raised in cages. *Aquaculture*, 114(1-2), 93-101.
- Bowden, T.J. (2008). Modulation of the immune system of fish by their environment. *Fish & Shellfish Immunology*, 25(4): 373-383.
- Brauner, C. J., & Harter, T. S. (2017). Beyond just hemoglobin: Red blood cell potentiation of hemoglobin-oxygen unloading in fish. *Journal of Applied Physiology*, 123(4): 935-941.
- Castegna, A., Drake, J., Pocernich, C., & Butterfield, D. A. (2003). Protein carbonyl levels - an assessment of protein oxidation. In Hensley, K., & Floyd, R. A. (Eds.). *Methods in biological oxidative stress*. Springer Science & Business Media (pp. 161-168).
- Clauss, T. M., Dove, A. D., & Arnold, J. E. (2008). Hematologic disorders of fish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic animal practice*, 11(3): 445-462.
- Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (2012). Resolução nº 413, de 26/06/2009 em: Resoluções do CONAMA: resoluções vigentes publicadas entre setembro de 1984 e janeiro de 2012.

- Copatti, C. E., Baldisserotto, B., de Freitas Souza, C., & Garcia, L. (2019). Protective effect of high hardness in pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) under acidic or alkaline pH: Biochemical and haematological variables. *Aquaculture*, 502, 250-257.
- Cosgrove, J. P., Church, D. F., & Pryor, W. A. (1987). The kinetics of the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 22(5), 299-304.
- Craig, S., Helfrich, L. A., Kuhn, D., & Schwarz, M. H. (2017). Understanding fish nutrition, feeds, and feeding. Virginia Cooperative Extension, Publication 420-256, 1-6.
- Cussac, V.E., Fernández, D.A., Gómez, S.E., & López, H.L. (2009). Fishes of southern South America: a story driven by temperature. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35, 29-42.
- Cyrino, J. E. P., Bicudo, Á. D. A., Sado, R. Y., Borghesi, R., & Dairiki, J. K. (2010). A piscicultura e o ambiente – o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(1): 68-87.
- Dalla Via, J., van den Thillart, G., Cattani, O., & Cortesi, P. (1997). Environmental versus functional hypoxia/anoxia in sole *Solea solea*: the lactate paradox revisited. *Marine Ecology Progress Series*, 154, 79-90.
- Dalle-Donne, I., Milzani, A., Gagliano, N., Colombo, R., Giustarini, D., & Rossi, R. (2008). Molecular mechanisms and potential clinical significance of S-glutathionylation. *Antioxidants & redox signaling*, 10(1): 445-474.
- Dalvi, R. S., Das, T., Debnath, D., Yengkokpam, S., Baruah, K., Tiwari, L. R., & Pal, A. K. (2017). Metabolic and cellular stress responses of catfish, *Horabagrus brachysoma* (Günther) acclimated to increasing temperatures. *Journal of Thermal Biology*, 65 (1): 32-40.

- de Assis, J. M., Carvalho, R. F., Barbosa, L., Agostinho, C. A., & Dal Pai-Silva, M. (2004). Effects of incubation temperature on muscle morphology and growth in the pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture*, 237(1-4), 251-267.
- de Paula, T. G., de Almeida, F. L. A., Carani, F. R., Vechetti-Junior, I. J., Padovani, C. R., Salomão, R. A. S., & Dal-Pai-Silva, M. (2014). Rearing temperature induces changes in muscle growth and gene expression in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 169 (1): 31-37.
- Dey, I., Buda, C., Wiik, T., Halver, J. E., & Farkas, T. (1993). Molecular and structural composition of phospholipid membranes in livers of marine and freshwater fish in relation to temperature. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(16), 7498-7502.
- Di Simplicio, P., Cacace, M. G., Lusini, L., Giannerini, F., Giustarini, D., & Rossi, R. (1998). Role of protein-SH groups in redox homeostasis - The erythrocyte as a model system. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 355 (2): 145-152.
- Díaz, I., Mello, A. L., Salhi, M., Spinetti, M., Bessonart, M., & Achkar, M. (2017). Multiscalar land suitability assessment for aquaculture production in Uruguay. *Aquaculture Research*, 48(6): 3052-3065.
- Dickinson, D.A., & Forman, H.J. (2002). Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochemical pharmacology*, 64 (5-6): 1019-1026.
- Elliott, J., & Elliott, J.A. (2010). Temperature requirements of Atlantic salmon *Salmo salar*, brown trout *Salmo trutta* and Arctic charr *Salvelinus alpinus*: predicting the effects of climate change. *Journal of fish biology*, 77 (8): 1793-1817.

- Erel, O., & Neselioglu, S. (2014). A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clinical biochemistry*, 47(18): 326-332.
- Evans, P., & Halliwell, B. (2001). Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *British Journal of Nutrition*, 85 (1): S67-S74.
- Faiss, R., Pialoux, V., Sartori, C., Faes, C., Dériaz, O., & Millet, G. P. (2013). Ventilation, oxidative stress, and nitric oxide in hypobaric versus normobaric hypoxia. *Med Sci Sports Exerc*, 45(2): 253-260.
- Fauconneau, B., & Paboeuf, G. (2001). Muscle satellite cells in fish. In: Johnston, A. (Ed.) *Fish physiology: Muscle Development and Growth*, 18 (1): 73-102.
- Ficke, A. D., Myrick, C. A., & Hansen, L. J. (2007). Potential impacts of global climate change on freshwater fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 17 (4): 581-613.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. (2010). *Technical Guidelines for Responsible Fisheries*. Rome. 67p.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. (2016). *The State of World Fisheries and Aquaculture – Contributing to food security and nutrition for all*. Rome. 204p
- Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. (2018). *The State of World Fisheries and Aquaculture – Meeting the sustainable development goals*. Rome. 227p
- Feller, G. (2010). Protein stability and enzyme activity at extreme biological temperatures. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 22(32): 323101.

- Fernandes, J. B. K., Carneiro, D. J., & Sakomura, N. K. (2001). Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30 (3): 617-626.
- Garcia, L. D. O., Copatti, C. E., Wachholz, F., Pereira Filho, W., & Baldisserotto, B. (2008). Freshwater temperature in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil, and its implication for fish culture. *Neotropical Ichthyology*, 6 (2): 275-281.
- Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F., & Scaccini, C. (2000). Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radical Biology and Medicine*, 29 (11): 1106-1114.
- Gillooly, J. F. & Zenil-Ferguson, R. (2014). Vertebrate blood cell volume increases with temperature: implications for aerobic activity. *PeerJ - Journal of Life and Environmental Sciences* 2:e346
- Gilmour, K. M. (2001). The CO<sub>2</sub>/pH ventilatory drive in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 130 (2): 219-240.
- Gladden, L. B. (2004). Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *The Journal of physiology*, 558(1): 5-30.
- Goddard, S. (1995). Feeding, temperature and water quality in: Feed management in intensive aquaculture. Springer Science & Business Media. 204p.
- Halliwell, B. (2012). Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition reviews*, 70(5): 257-265.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press. New York, USA. 905p.

- Halliwell, B., Aeschbach, R., Löliger, J., & Aruoma, O. I. (1995). The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 33(7): 601-617.
- Halliwell, B., & Chirico, S. (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American journal of clinical nutrition*, 57(5): 715-725.
- Haque, A. M., & Dey, M. M. (2016). Impact of the Community-based Fish Culture System on Expenditure and Inequality: Evidence from Bangladesh. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47(5): 646-657.
- Harper, C., & Wolf, J.C. (2009). Morphologic effects of the stress response in fish. *Institute for Laboratory Animal Research - ILAR Journal*. 50, 387-396.
- He, J., Qiang, J., Yang, H., Xu, P., Zhu, Z. X., & Yang, R. Q. (2015). Changes in the fatty acid composition and regulation of antioxidant enzymes and physiology of juvenile genetically improved farmed tilapia *Oreochromis niloticus* (L.), subjected to short-term low temperature stress. *Journal of thermal biology*, 53 (1): 90-97.
- Henchion, M., Hayes, M., Mullen, A., Fenelon, M., & Tiwari, B. (2017). Future protein supply and demand: strategies and factors influencing a sustainable equilibrium. *Foods*, 6(7): 53-74.
- Hermes-Lima, M. (2004). Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: Storey, K. B. (Ed). *Functional metabolism: Regulation and adaptation*. p 319-368.
- Hermes-Lima, M., Moreira, D. C., Rivera-Ingraham, G. A., Giraud-Billoud, M., Genaro-Mattos, T. C., & Campos, É. G. (2015). Preparation for oxidative stress under hypoxia and metabolic depression: revisiting the proposal two decades later. *Free Radical Biology and Medicine*, 89 (1): 1122-1143.



- Honorato, C. A., Almeida, L. C., Da Silva Nunes, C., Carneiro, D. J., & Moraes, G. (2010). Effects of processing on physical characteristics of diets with distinct levels of carbohydrates and lipids: the outcomes on the growth of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture Nutrition*, 16 (1): 91-99.
- Hofmann, G. E., & Todgham, A. E. (2010). Living in the now: physiological mechanisms to tolerate a rapidly changing environment. *Annual Review of Physiology*, 72 (1): 127-145.
- Houston, A. H. (1997). Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? *Transactions of the American Fisheries Society*, 126(6): 879-894.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2016). Produção da pecuária municipal. Rio de Janeiro, v. 44, 53p.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2019). Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/>
- Ivanc, A., Hasković, E., Jeremić, S., & Dekić, R. (2005). Hematological evaluation of welfare and health of fish. *Praxis Veterinaria*, 53 (3): 191-202.
- Jerônimo, G. T., Pádua, S. B., Bampi, D., Gonçalves, E., Garcia, P., Ishikawa, M. M., & Martins, M. L. (2014). Haematological and histopathological analysis in South American fish *Piaractus mesopotamicus* parasitized by monogenean (Dactylogyridae). *Brazilian Journal of Biology*, 74 (4): 1000-1006.
- Jobling, M. (2003). The thermal growth coefficient (TGC) model of fish growth: a cautionary note. *Aquaculture Research*, 34 (7): 581-584.

- Johnson, L. J., Meacham, S. L., & Kruskall, L. J. (2003). The antioxidants-vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. *Journal of agromedicine*, 9 (1): 65-82.
- Jomori, R. K., Carneiro, D. J., Martins, M. I. E. G., & Portella, M. C. (2005). Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. *Aquaculture*, 243 (1-4): 175-183.
- Kassahn, K.S., Crozier, R.H., Pörtner, H.O., & Caley, M.J. (2009). Animal performance and stress: responses and tolerance limits at different levels of biological organisation. *Biological Reviews*, 84 (1): 277-292.
- Kerr, M. G. (2002). *Veterinary laboratory medicine: clinical biochemistry and haematology. Veterinary Clinical Pathology*. 2nd. Ed. Blackwell Science Press, 386p
- Le Morvan, C., Troutaud, D., & Deschaux, P. (1998). Differential effects of temperature on specific and nonspecific immune defences in fish. *Journal of Experimental Biology*, 201 (1): 165-168.
- Lesser, M. P. (2006). Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. *Annual Review of Physiology*, 68 (1): 253-278.
- Lima-Junior, D. P., Magalhães, A. L. B., Pelicice, F. M., Vitule, J. R. S., Azevedo-Santos, V. M., Orsi, M. L., Simberloff, D. & Agostinho, A. A. (2018). Aquaculture expansion in Brazilian freshwaters against the Aichi Biodiversity Targets. *Ambio*, 47 (4): 427-440.
- Livingstone, D.R. (2003). Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 154 (1): 427-430.
- Lushchak, V. I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic toxicology*, 101 (1): 13-30.

- Lushchak, V.I., & Bagnyukova, T.V. (2006). Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 2. Antioxidant and associated enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143 (1): 36-41.
- Macedo, C. F., & Sipaúba-Tavares, L. H. (2010). Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. *Boletim do Instituto de Pesca*, 36 (2):149-163.
- Ma, X.Y., Qiang, J., He, J., Gabriel, N.N., & Xu, P. (2015). Changes in the physiological parameters, fatty acid metabolism, and SCD activity and expression in juvenile GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared at three different temperatures. *Fish physiology and biochemistry*, 41 (1): 937-950.
- Machlin, L. J., & Bendich, A. (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *The FASEB Journal*, 1 (6): 441-445.
- Madeira, D., Vinagre, C., & Diniz, M.S. (2016). Are fish in hot water? Effects of warming on oxidative stress metabolism in the commercial species *Sparus aurata*. *Ecological indicators*, 63, 324-331.
- Martins, M.L., Xu, D.H., Shoemaker, C.A., & Klesius, P. H., (2011). Temperature effects on immune response and hematological parameters of channel catfish *Ictalurus punctatus* vaccinated with live theronts of *Ichthyophthirius multifiliis*. *Fish & shellfish immunology*, 31 (1): 774-780.
- Mehner, T., (2012). Diel vertical migration of freshwater fishes—proximate triggers, ultimate causes and research perspectives. *Freshwater Biology*, 57 (7): 1342-1359.

- Metcalfe, N. B., & Alonso-Alvarez, C. (2010). Oxidative stress as a life history constraint: the role of reactive oxygen species in shaping phenotypes from conception to death. *Functional Ecology*, 24 (5): 984-996.
- Milstein, A., Zoran, M., Peretz, Y., & Joseph, D. (2000). Low temperature tolerance of pacu, *Piaractus mesopotamicus*. *Environmental biology of fishes*, 58 (4): 455-460.
- Milla, S., Massart, S., Mathieu, C., Wang, N., Douny, C., Douxfils, J., Scippob, M., De Pauwc, E., Dieud, M., Silvestrea, F. & Kestemont, P. (2018). Physiological and proteomic responses to corticosteroid treatments in Eurasian perch, *Perca fluviatilis*: Investigation of immune-related parameters. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 25 (1): 86-98.
- Miyazaki, K., Wintrode, P. L., Grayling, R. A., Rubingh, D. N., & Arnold, F. H. (2000). Directed evolution study of temperature adaptation in a psychrophilic enzyme. *Journal of molecular biology*, 297 (4): 1015-1026.
- Möller, M. N., Li, Q., Chinnaraj, M., Cheung, H. C., Lancaster Jr, J. R., & Denicola, A. (2016). Solubility and diffusion of oxygen in phospholipid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1858 (11): 2923-2930.
- Monsen, E. R. (2000). Dietary reference intakes for the antioxidant nutrients: vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 100 (6): 637 - 640.
- Morgan, M., Terry, G., Rajaratnam, S., & Pant, J. (2017). Socio-cultural dynamics shaping the potential of aquaculture to deliver development outcomes. *Reviews in Aquaculture*, 9 (4): 317-325.

- Neel, L. K., & McBrayer, L. D. (2018). Habitat management alters thermal opportunity. *Functional ecology*, 32 (8): 2029-2039.
- Neto, J. L. S. A., Galvani, E., & Vieira, B. C. (2015). Climates of Brazil: past and present. In Vieira, B. C., Salgado, A. A. R., & Santos, L. J. C. (Eds.). *Landscapes and Landforms of Brazil*. Springer, Dordrecht. p. 33-41.
- Niki, E. (2009). Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radical Biology and Medicine*, 47 (5): 469-484.
- Oakes, K. D., & Van Der Kraak, G. J. (2003). Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. *Aquatic Toxicology*, 63 (4): 447-463.
- Omlin, T., Langevin, K., & Weber, J. M. (2014). Exogenous lactate supply affects lactate kinetics of rainbow trout, not swimming performance. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 307 (8): R1018-R1024.
- Palmer, B. F. (2012). Evaluation and treatment of respiratory alkalosis. *American Journal of Kidney Diseases*, 60 (5): 834-838.
- Pamplona, R., & Costantini, D. (2011). Molecular and structural antioxidant defenses against oxidative stress in animals. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 301 (4): 843-863.
- Pardini, R.S., (1995). Toxicity of oxygen from naturally occurring redox-active pro-oxidants. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 29 (1): 101-118.

- Paschke, K., Agüero, J., Gebauer, P., Diaz, F., Mascaró, M., López-Ripoll, E., Re, D., Caamal-Monsreal, C., Tremblay, N., Pörtner, H. O., & Rosas, C. (2018). Comparison of aerobic scope for metabolic activity in aquatic ectotherms with temperature related metabolic stimulation: a novel approach for aerobic power budget. *Frontiers in Physiology*, 9: (1438) 1-15.
- Pereira, L. P. F. & Mercante, C. T. J. (2005). A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água: uma revisão. *Boletim do Instituto de Pesca*, 31 (1):81-88.
- Perry, S. F., & Gilmour, K. M. (2006). Acid–base balance and CO<sub>2</sub> excretion in fish: unanswered questions and emerging models. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 154(1-2): 199-215.
- Petochi, T., Di Marco, P., Priori, A., Finoia, M. G., Mercatali, I., & Marino, G. (2011). Coping strategy and stress response of European sea bass *Dicentrarchus labrax* to acute and chronic environmental hypercapnia under hyperoxic conditions. *Aquaculture*, 315 (3-4): 312-320.
- Pettrere, M. J. (1989). River fisheries in Brazil: A review. *Regulated Rivers: Research & Management*, 4 (1): 1-16.
- Piedras, S.R.N., Moraes, P.R.R., & Pouey, J.L.O.F. (2004). Crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*): de acordo com a temperatura da água. *Boletim do Instituto de Pesca* 30 (1): 177-182.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97 (1): 55-74.

- Pörtner, H.O., Van Dijk, P.L.M., Hardewig, I., & Sommer, A. (2000). Levels of metabolic cold adaptation: tradeoffs in eurythermal and stenothermal ectotherms, in: Davison, W., Howard-Williams, C. (Eds.): Antarctic Ecosystems: models for wider ecological understanding. eds., Caxton Press, Christchurch New Zealand. pp. 109-122.
- Pörtner, H. O. (2002). Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 132 (4): 739-761.
- Polakof, S., Mommsen, T. P., & Soengas, J. L. (2011). Glucosensing and glucose homeostasis: from fish to mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 160 (4): 123-149.
- Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J. L., & Moon, T. W. (2012). Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of Comparative Physiology B*, 182 (8): 1015-1045.
- Raza, H. (2011). Dual localization of glutathione S-transferase in the cytosol and mitochondria: implications in oxidative stress, toxicity and disease. *The FEBS journal*, 278 (22): 4243-4251.
- Reboita, M. S., Krusche, N., Ambrizzi, T., & Rocha, R. P. D. (2012). Entendendo o Tempo e o Clima na América do Sul. *Terræ Didática* 8 (1):34-50, 20
- Saint-Paul, U. (1989). Indigenous species promise increased yields. *NAGA, WorldFish Center Quarterly*, 12 (1): 3-6.
- Saint-Paul, U., & Bernardino, G. (1988). Behavioural and ecomorphological responses of the neotropical pacu *Piaractus mesopotamicus* (Teleostei, Serrasalminidae) to oxygen-deficient waters. *Experimental biology*, 48 (1): 19-26.

- Sampaio, F. G., de Lima Boijink, C., Oba, E. T., dos Santos, L. R. B., Kalinin, A. L., & Rantin, F. T. (2008). Antioxidant defenses and biochemical changes in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) in response to single and combined copper and hypoxia exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 147 (1): 43-51.
- Sayre, L. M., Smith, M. A., & Perry, G. (2001). Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Current medicinal chemistry*, 8 (7): 721-738.
- Scandalios, J.G., (2005). Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38 (1): 995-1014.
- Segner, H., Sundh, H., Buchmann, K., Douxfils, J., Sundell, K. S., Mathieu, C., Ruane, N., Jutfelt, F., Toften, H., & Vaughan, L. (2012). Health of farmed fish: its relation to fish welfare and its utility as welfare indicator. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38 (1): 85-105.
- Schader, C., Muller, A., Scialabba, N. E. H., Hecht, J., Isensee, A., Erb, K. H., & Schwegler, P. (2015). Impacts of feeding less food-competing feedstuffs to livestock on global food system sustainability. *Journal of the Royal Society Interface*, 12 (113): 20150891.
- Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*, 24 (10): 453-462.
- Schreck, C. B., & Tort, L. (2016). The concept of stress in fish. *Fish physiology*, 35 (1): 1-34.
- Schmidt-Nielsen, K. (2002). Effects of temperature. In: *Animal physiology: adaptation and environment*. 5th Ed. Cambridge University Press. p 217-239.



- Shahjahan, M., Uddin, M. H., Bain, V., & Haque, M. M. (2018). Increased water temperature altered hemato-biochemical parameters and structure of peripheral erythrocytes in striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. *Fish Physiology and Biochemistry* 44 (5): 1309–1318.
- Shepherd, B. S., Spear, A. R., Philip, A. M., Leaman, D. W., Stepien, C. A., Sepulveda-Villet, O. J., Palmquist, D. E. & Vijayan, M. M. (2018). Effects of cortisol and lipopolysaccharide on expression of select growth-, stress- and immune-related genes in rainbow trout liver. *Fish & Shellfish Immunology*, 74 (1): 410–418.
- Sies, H. (1986). Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 25 (12): 1058-1071.
- Sies, H., Stahl, W., & Sundquist, A. R. (1992). Antioxidant Functions of Vitamins: Vitamins E and C, Beta-Carotene, and Other Carotenoids a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 669 (1): 7-20.
- Simčič, T., Jesenšek, D., & Brancelj, A. (2015). Effects of increased temperature on metabolic activity and oxidative stress in the first life stages of marble trout (*Salmo marmoratus*). *Fish physiology and biochemistry*, 41 (4): 1005-1014.
- Soengas, J. L. (2014). Contribution of glucose-and fatty acid sensing systems to the regulation of food intake in fish. A review. *General and comparative endocrinology*, 205 (1): 36-48.
- Stamati, K., Mudera, V., & Cheema, U. (2011). Evolution of oxygen utilization in multicellular organisms and implications for cell signalling in tissue engineering. *Journal of tissue engineering*, 2 (1): 1-12.

- Steinbacher, P., Marschallinger, J., Obermayer, A., Neuhofer, A., Sanger, A. M., & Stoiber, W. (2011). Temperature-dependent modification of muscle precursor cell behaviour is an underlying reason for lasting effects on muscle cellularity and body growth of teleost fish. *Journal of Experimental Biology*, 214 (11): 1791-1801.
- Stiller, K. T., Vanselow, K. H., Moran, D., Riesen, G., Koppe, W., Dietz, C., & Schulz, C. (2017). The effect of diet, temperature and intermittent low oxygen on the metabolism of rainbow trout. *British Journal of Nutrition*, 117 (6): 784-795.
- Takahashi, L.S., Abreu, J.S., Biller, J.D., & Urbinati, E. C. (2006). Efeito do ambiente pos-transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, *Piaractus mesopotamicus*. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 28 (4): 469-475.
- Tavares-Dias, M., & Mataqueiro, M. I. (2004). Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. *Acta Scientiarum, Biological Sciences*, 26 (2): 157-62.
- Tavares-Dias, M., Tenani, R. A., Gioli, L. D., & Faustino, C. D. (1999). Características hematológicas de teleósteos brasileiros. II. Parâmetros sangneos do *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes, Characidae) em policultivo intensivo. *Revista Brasileira de Zoologia*, 16 (2): 423-431.
- Tirsgaard, B., Behrens, J. W., & Steffensen, J. F. (2015). The effect of temperature and body size on metabolic scope of activity in juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* L. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 179 (1): 89-94.

- Urbinati, E.C., Gonçalves, F.D., & Takahashi, L.S. (2010). Pacu (*Piaractus mesopotamicus*): in: Baldisserotto, B., & Gomes, L.C. (Eds.): Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2ª ed. Santa Maria, RS. Editora da UFSM, 608p.
- Yuan, L., & Kaplowitz, N. (2009). Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity. *Molecular Aspects of Medicine*, 30 (1-2): 29-41.
- Weber, J. M., Choi, K., Gonzalez, A., & Omlin, T. (2016). Metabolic fuel kinetics in fish: swimming, hypoxia and muscle membranes. *Journal of Experimental Biology*, 219(2): 250-258.
- Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Pilarski, F. (2016). South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10, 351-369.
- Van Ham, E. H., Berntssen, M. H., Inslan, A. K., Parpoura, A. C., Bonga, S. E. W., & Stefansson, S. O. (2003). The influence of temperature and ration on growth, feed conversion, body composition and nutrient retention of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 217 (1-4): 547-558.
- Vinagre, C., Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H.N., & Diniz, M. (2012). Effect of temperature on oxidative stress in fish: lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Ecological Indicators*, 23 (1): 274-279.
- Wang, N., Xu, X., & Kestemont, P. (2009). Effect of temperature and feeding frequency on growth performances, feed efficiency and body composition of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*). *Aquaculture*, 289 (1): 70-73.
- Wendelaar Bonga, S. E. (1997). The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77 (3): 591-625.

Welker, A. F., Moreira, D. C., Campos, É. G., & Hermes-Lima, M. (2013). Role of redox metabolism for adaptation of aquatic animals to drastic changes in oxygen availability. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 165 (4): 384-404.

Xie, H., Lü, X., Zhou, J., Shi, C. C., Li, Y. L., Duan, T., & Luo, Y. P. (2017). Effects of acute temperature change and temperature acclimation on the respiratory metabolism of the snakehead. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 17 (1): 535-542.

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Avaliar o efeito da temperatura e suas variações em relação ao desempenho zootécnico e aos parâmetros hematológicos e de estresse oxidativo de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Avaliar a atividade enzimática da glutathione-S-transferase, capacidade antioxidante total, concentração de grupos sulfidrila e os níveis de peroxidação lipídica em juvenis de pacu expostos a variação de temperatura;
- Avaliar a influência da variação de temperatura sobre os parâmetros hematológicos (pH, hematócrito, eritrócitos, hemoglobina, glicose e lactato) e as relações hematimétricas (volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média) de juvenis de pacu;
- Avaliar a atividade enzimática da glutathione-S-transferase, capacidade antioxidante total, concentração de grupos sulfidrila e ocorrência de peroxidação lipídica em juvenis de pacu criados em diferentes temperaturas;
- Avaliar a influência da temperatura sobre o desempenho zootécnico, parâmetros metabólicos e composição proximal do filé em juvenis de pacu criados em diferentes de temperatura;
- Avaliar a influência da temperatura sobre os parâmetros hematológicos (pH, hematócrito, eritrócitos, hemoglobina, glicose e lactato) e relações hematimétricas (volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média) de juvenis de pacu expostos a diferentes de temperatura.

## Capítulo I

### **Haematological and oxidative stress responses in *Piaractus mesopotamicus* under temperature variations in water**

Daniel de Sá Britto Pinto<sup>a</sup>, Lucas Pellegrin<sup>a</sup>, Lilian Fiori Nitz<sup>a</sup>, Sílvio Teixeira da Costa<sup>b</sup>, José Maria Monserrat<sup>c,d</sup>, Luciano Garcia<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Aquacultura Continental – LAC, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Oceanografia; Av. Itália km 8, Rio Grande, RS, CEP 96.200-970, Brazil. E-mail address: danielpintozootecnista@gmail.com; lucapegres@gmail.com; lilian\_fiori@hotmail.com; garcia\_log@hotmail.com

<sup>b</sup>Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Av. Roraima, Prédio 19, Santa Maria – RS, CEP: 97105-900, Brazil. E-mail address: silvio.teixeira.da.costa@gmail.com

<sup>c</sup>Laboratório de Bioquímica Funcional de Organismos Aquáticos – BIFOA, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Oceanografia. E-mail address: monserrat\_jm@furg.br

<sup>d</sup>Instituto de Ciências Biológicas (ICB): Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Oceanografia; ; Av. Itália km 8, Rio Grande, RS, CEP 96.200-970, Brazil.

Artigo publicado na revista Aquaculture Research

Pinto *et al.* 2019 – DOI: 10.1111/are.14260

## **Abstract**

In this study, the influence of temperature variation on the blood and oxidative stress parameters of pacu *Piaractus mesopotamicus* juveniles was evaluated. Fishes were subjected to gradual changes of temperature, over five days, by 24 °C until reaching to experimental temperatures 18, 21, 24 (control), 27, and 30 °C. There were significant differences ( $p < 0.05$ ) in glucose and lactate of blood in both the haematological relationships and oxidative stress parameters. Glucose levels increased at 30 °C and decreased at 21 °C. Lactate levels were highest at 18 °C. While the haematocrit was higher at all altered temperatures, haemoglobin levels decreased at 21 °C and increased at 30 °C, causing alterations in haematimetric indices. In the liver, Glutathione-S-Transferase (GST) activity was reduced at 18 °C while ACAP was highest at 30 °C. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) increased at 18, 21 and 27 °C. In the muscle, Antioxidant capacity against peroxil radicals (ACAP) decreased at 27 and 30 °C and TBARS increased at 30 °C. The results indicate that the species shows sensitivity to temperature variations. Accordingly, we conclude that with short term temperature variations greater than 3 °C, it is possible to induce higher alterations in the observed parameters in pacu juveniles.

**Keywords:** Thermal stress, fish, haematology, lipoperoxidation, protein damage

Página 56 – 71 – Artigo publicado

Trecho retirado em respeito ao contrato de direitos autorais padrão da revista.

Descrito em: Author guidelines, seção 6. Author licensing

Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/13652109/homepage/forauthors.html>



## References

- Abele, D., Heise, K., Pörtner, H. O., & Puntarulo, S. (2002). Temperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria*. *Journal of Experimental Biology*, 205(13): 1831-1841.
- Abele, D., & Puntarulo, S. (2004). Formation of reactive species and induction of antioxidant defence systems in polar and temperate marine invertebrates and fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 138 (4): 405-415. doi: 10.1016/j.cbpb.2004.05.013
- Aboagye, D. L., & Allen, P. J. (2018). Effects of acute and chronic hypoxia on acid–base regulation, hematology, ion, and osmoregulation of juvenile American paddlefish. *Journal of Comparative Physiology B*, 188 (1): 77-88. doi: 10.1007/s00360-017-1104-7
- Adad, J. M. T. (1982). *Controle químico de qualidade da água*. Ed. Guanabara Dois. 203p.
- Al-Ghais, S. M. (2013). Acetylcholinesterase, glutathione and hepatosomatic index as potential biomarkers of sewage pollution and depuration in fish. *Marine pollution bulletin*, 74 (1): 183-186. doi: 10.1016/j.marpolbul.2013.07.005
- Amado, L. L., Garcia, M. L., Ramos, P. B., Freitas, R. F., Zafalon, B., Ferreira, J. L. R., Yunes, J.S., & Monserrat, J. M. (2009). A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: application to evaluate microcystins toxicity. *Science of the Total Environment*, 407 (6): 2115-2123. doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.11.038
- Ashley, P. J. (2007). Fish welfare: current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science*, 104 (3): 199-235. doi: 10.1016/j.applanim.2006.09.001

- Bendschneider, K., & Robinson, R. J. (1952). A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. Technical Report 8. Office of Naval Research. 26 p.
- Blaxhall, P. C., & Daisley, K. W. (1973). Routine haematological methods for use with blood. *Journal of fish biology*, 5(6): 771-781. Doi: 10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x
- Boyd, C. E., & Tucker, C. S. (2012). Pond aquaculture water quality management. Springer Science & Business Media 700p. doi: 10.1007/978-1-4615-5407-3
- Brauner, C. J., & Harter, T. S. (2017). Beyond just hemoglobin: Red blood cell potentiation of hemoglobin-oxygen unloading in fish. *Journal of Applied Physiology*, 123(4), 935-941. doi: 10.1152/jappphysiol.00114.2017
- Brusle, J., & Anadon, G. G. (1996). The structure and function of fish liver. In: Dutta, H. M. Fish morphology: horizon of new research. CRC Press, 545-551. doi: 10.1201/9780203755990-6
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51 (1): 15-25. doi: 10.1016/j.fct.2012.09.021
- Carolsfeld, J., Harvey, B., Ross, C., & Baer, A. (2004). Migratory fishes of South America: biology, fisheries and conservation status. World Bank. 394p. doi: 10.1596/1-5525-0114-0
- Chan, K. M., Decker, E. A., & Feustman, C. (1994). Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 34 (4): 403-426. doi: 10.1080/10408399409527669
- Cho, H. C., Kim, J. E., Kim, H. B., & Baek, H. J. (2015). Effects of water temperature change on the hematological responses and plasma cortisol levels in growing of red spotted grouper,

*Epinephelus akaara*. Development & Reproduction, 19(1), 19. doi: 10.1007/s00360-012-0658-7

Choi, J., & James Ou, J. H. (2006). Mechanisms of liver injury. III. Oxidative stress in the pathogenesis of hepatitis C virus. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 290 (5): 847-851. doi: 10.1152/ajpgi.00522.2005

Chudzik, J., & Houston, A. H. (1983). Temperature and erythropoiesis in goldfish. Canadian Journal of Zoology, 61 (6): 1322-1325. doi: 10.1139/z83-178

Clauss, T. M., Dove, A. D., & Arnold, J. E. (2008). Hematologic disorders of fish. Veterinary Clinics of North America: Exotic animal practice, 11 (3): 445-462. doi: 10.1016/j.cvex.2008.03.007

Colt, J. (2006). Water quality requirements for reuse systems. Aquacultural Engineering, 34 (3): 143-156. doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.08.011

Conte, F. S. (2004). Stress and the welfare of cultured fish. Applied Animal Behaviour Science, 86: (3-4), 205-223. doi: 10.1016/j.applanim.2004.02.003

Dalvi, R. S., Das, T., Debnath, D., Yengkokpam, S., Baruah, K., Tiwari, L. R., & Pal, A. K. (2017). Metabolic and cellular stress responses of catfish, *Horabagrus brachysoma* (Günther) acclimated to increasing temperatures. Journal of Thermal Biology, 65 (1): 32-40. doi: 10.1016/j.jtherbio.2017.02.003

Deslauriers, D., & Kieffer, J. D. (2012). The effects of temperature on swimming performance of juvenile shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). Journal of Applied Ichthyology, 28 (2): 176-181. doi: 10.1111/j.1439-0426.2012.01932.x

- Di Simplicio, P., Cacace, M. G., Lusini, L., Giannerini, F., Giustarini, D., & Rossi, R. (1998). Role of protein-SH groups in redox homeostasis - The erythrocyte as a model system. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 355 (2): 145-152. doi: 10.1006/abbi.1998.0694
- Dickinson, D. A., & Forman, H. J. (2002). Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochemical Pharmacology*, 64 (5-6): 1019-1026. doi: 10.1016/S0006-2952(02)01172-3
- Eaton, A.D, Clesceri, L.S., Rice, E.W and Greenberg, A.E., 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed, Springfield: American Public Health Association. 541p
- Evans, P., & Halliwell, B. (2001). Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *British Journal of Nutrition*, 85: (2): S67-S74. doi: 10.1049/BJN2000296
- Ficke, A. D., Myrick, C. A., & Hansen, L. J. (2007). Potential impacts of global climate change on freshwater fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 17 (4): 581-613. doi: 10.1007/s11160-007-9059-5
- Ford, J. (2013). Red blood cell morphology. *International journal of laboratory hematology*, 35(3), 351-357. doi: 10.1111/ijlh.12082
- Frisk, M., Skov, P. V., & Steffensen, J. F. (2012). Thermal optimum for pikeperch (*Sander lucioperca*) and the use of ventilation frequency as a predictor of metabolic rate. *Aquaculture*, 324 (1): 151-157. doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.10.024
- Frisk, M., Steffensen, J. F., & Skov, P. V. (2013). The effects of temperature on specific dynamic action and ammonia excretion in pikeperch (*Sander lucioperca*). *Aquaculture*, 404 (1): 65-70. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.04.005
- Garcia, L. D. O., Copatti, C. E., Wachholz, F., Pereira Filho, W., & Baldisserotto, B. (2008). Freshwater temperature in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil, and its implication

for fish culture. *Neotropical Ichthyology*, 6 (2): 275-281. doi: 10.1590/S1679-62252008000200016

Gillooly, J. F. & Zenil-Ferguson, R. (2014). Vertebrate blood cell volume increases with temperature: implications for aerobic activity. *PeerJ - Journal of Life and Environmental Sciences* 2:e346. doi: 10.7717/peerj.346

Gilmour, K. M. (2001). The CO<sub>2</sub>/pH ventilatory drive in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 130 (2): 219-240. doi: 10.1016/S1095-6433(01)00391-9

Goldenfarb, P. B., Bowyer, F. P., Hall, E., & Brosious, E. (1971). Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*, 56 (1): 35-39. doi: 10.1093/ajcp/56.1.35

Grant, K. R. (2015). Fish hematology and associated disorders. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 18(1), 83-103. doi: 10.1016/j.cvex.2014.09.007

Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249 (22): 7130-7139.

Hamre, K. (2011). Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish. *Aquaculture Nutrition*, 17(1), 98-115. doi: 10.1111/j.1365-2095.2010.00806.x

Harper, C., & Wolf, J. C. (2009). Morphologic effects of the stress response in fish. *Institute for Laboratory Animal Research - ILAR Journal*, 50 (4): 387-396. doi: 10.1093/ilar.50.4.387

Hellou, J., Ross, N. W., & Moon, T. W. (2012). Glutathione, glutathione S-transferase, and glutathione conjugates, complementary markers of oxidative stress in aquatic biota.

Environmental Science and Pollution Research, 19 (6): 2007-2023. doi: 10.1007/s11356-012-0909-x

Hermes-Lima, M. (2004). Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: Functional metabolism: Regulation and adaptation. John Wiley & Sons. p 319-366. doi: doi.org/10.1002/047167558X.ch12

Hofmann, G. E., & Todgham, A. E. (2010). Living in the now: physiological mechanisms to tolerate a rapidly changing environment. Annual Review of Physiology, 72 (1): 127-145. doi: 10.1146/annurev-physiol-021909-135900

Houston, A. H. (1997). Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? Transactions of the American Fisheries Society, 126(6): 879-894. doi:10.1577/1548-8659(1997)126<0879:RATCHV>2.3.CO;2

Hurst, T. P. (2007). Causes and consequences of winter mortality in fishes. Journal of Fish Biology, 71 (2): 315-345. doi: 10.1111/j.1095-8649.2007.01596.x

Ibarra, R., Rich, K. M., Adasme, M., Kamp, A., Singer, R. S., Atlagich, M., Estrada, C., Jacob, R., Zimin-Veselkoff, N., Escobar-Dodero, J., & Mardones, F. O. (2017). Animal production, animal health and food safety: Gaps and challenges in the Chilean industry. Food microbiology, 75 (1): 114-118. doi: 10.1016/j.fm.2017.10.004

Ibarz, A., Martín-Pérez, M., Blasco, J., Bellido, D., de Oliveira, E., & Fernández-Borràs, J. (2010). Gilthead sea bream liver proteome altered at low temperatures by oxidative stress. Proteomics, 10 (5): 963-975. doi: 10.1002/pmic.200900528

Ivanc, A., Hasković, E., Jeremić, S., & Dekić, R. (2005). Hematological evaluation of welfare and health of fish. Praxis Veterinaria, 53 (3): 191-202.

- Jayasundara, N., Healy, T. M., & Somero, G. N. (2013). Effects of temperature acclimation on cardiorespiratory performance of the Antarctic notothenioid *Trematomus bernacchii*. *Polar Biology*, 36 (7): 1047-1057. doi: 10.1007/s00300-013-1327-3
- Jobling, M. (2003). The thermal growth coefficient (TGC) model of fish growth: a cautionary note. *Aquaculture Research*, 34 (7): 581-584. doi: 10.1046/j.1365-2109.2003.00859.x
- Kassahn, K. S., Crozier, R. H., Pörtner, H. O., & Caley, M. J. (2009). Animal performance and stress: responses and tolerance limits at different levels of biological organisation. *Biological Reviews*, 84 (2): 277-292. doi: 10.1111/j.1469-185X.2008.00073.x
- Kerr, M. G. (2002). *Veterinary laboratory medicine: clinical biochemistry and haematology. Veterinary Clinical Pathology*. 2<sup>nd</sup>. Ed. Blackwell Science Press, 386p. doi: 10.1111/j.1939-165X.2004.tb00372.x
- Kır, M., Sunar, M. C., & Altındağ, B. C. (2017). Thermal tolerance and preferred temperature range of juvenile meagre acclimated to four temperatures. *Journal of Thermal Biology*, 65 (1): 125-129. doi: 10.1016/j.jtherbio.2017.02.018
- Klein, R. D., Borges, V. D., Rosa, C. E., Colares, E. P., Robaldo, R. B., Martinez, P. E., & Bianchini, A. (2017). Effects of increasing temperature on antioxidant defense system and oxidative stress parameters in the Antarctic fish *Notothenia coriiceps* and *Notothenia rossii*. *Journal of Thermal Biology*, 68 (1): 110-118. doi: 10.1016/j.jtherbio.2017.02.016
- Lermen, C. L., Lappe, R., Crestani, M., Vieira, V. P., Gioda, C. R., Schetinger, M. R. C., & Morsch, V. M. (2004). Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, 239 (1-4): 497-507. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.06.021
- Lushchak, V. I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic toxicology*, 101 (1): 13-30. doi: 10.1016/j.aquatox.2010.10.006

- Lushchak, V. I., & Bagnyukova, T. V. (2006). Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 1. Indices of oxidative stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143 (1): 30-35. doi: 10.1016/j.cbpc.2005.11.017
- Madeira, D., Vinagre, C., & Diniz, M. S. (2016). Are fish in hot water? Effects of warming on oxidative stress metabolism in the commercial species *Sparus aurata*. *Ecological Indicators*, 63 (1): 324-331. doi: 10.1016/j.ecolind.2015.12.008
- Maekawa, S., & Kato, T. (2015). Diverse of erythropoiesis responding to hypoxia and low environmental temperature in vertebrates. *BioMed Research International*. Article ID 747052, 2015 (1): 1-9. doi: 10.1155/2015/747052
- Maher, P. (2005). The effects of stress and aging on glutathione metabolism. *Ageing Research Reviews*, 4 (2): 288-314. doi: 10.1016/j.arr.2005.02.005
- Martínez-Álvarez, R. M., Morales, A. E., & Sanz, A. (2005). Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and fisheries*, 15(1): 75-88. doi: 10.1007/s11160-005-7846-4
- Neto, J. L. S. A., Galvani, E., & Vieira, B. C. (2015). Climates of Brazil: past and present. In *Landscapes and landforms of Brazil*. Springer, Dordrecht. p. 33-41. doi: 10.1007/978-94-017-8023-0\_4.
- Oakes, K. D., & Van Der Kraak, G. J. (2003). Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. *Aquatic Toxicology*, 63 (4): 447-463. doi:10.1016/S0166-445X(02)00204-7
- Palmer, B. F. (2012). Evaluation and treatment of respiratory alkalosis. *American Journal of Kidney Diseases*, 60 (5): 834-838. doi: 10.1053/j.ajkd.2012.03.025



- Pamplona, R., & Costantini, D. (2011). Molecular and structural antioxidant defenses against oxidative stress in animals. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 301(4): 843-863. doi: 10.1152/ajpregu.00034.2011
- Pang, X., Yuan, X. Z., Cao, Z. D., & Fu, S. J. (2013). The effects of temperature and exercise training on swimming performance in juvenile qingbo (*Spinibarbus sinensis*). *Journal of Comparative Physiology B*, 183 (1): 99-108. doi: 10.1007/s00360-012-0690-7
- Pardini, R. S. (1995). Toxicity of oxygen from naturally occurring redox-active pro-oxidants. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 29 (2): 101-118. doi: 10.1002/arch.940290203
- Paschke, K., Agüero, J., Gebauer, P., Diaz, F., Mascaró, M., López-Ripoll, E., Re, D., Caamal-Monsreal, C., Tremblay, N., Pörtner, H. O., & Rosas, C. (2018). Comparison of aerobic scope for metabolic activity in aquatic ectotherms with temperature related metabolic stimulation: a novel approach for aerobic power budget. *Frontiers in Physiology*, 9: 1438. doi: 10.3389/fphys.2018.01438
- Peng, J., Cao, Z. D., & Fu, S. J. (2014). The effects of constant and diel-fluctuating temperature acclimation on the thermal tolerance, swimming capacity, specific dynamic action and growth performance of juvenile Chinese bream. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 176 (1): 32-40. doi: 10.1016/j.cbpa.2014.07.005
- Perry, S. F., & Gilmour, K. M. (2006). Acid-base balance and CO<sub>2</sub> excretion in fish: unanswered questions and emerging models. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 154 (1-2): 199-215. doi: 10.1016/j.resp.2006.04.010
- Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J. L., & Moon, T. W. (2012). Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of Comparative Physiology B*, 182(8), 1015-1045. doi:

Portner HO, Knust R (2007) Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance. *Science*, 315 (1): 95–97. doi: 10.1126/science.1135471

Pörtner, H. O. (2002). Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in anir 80  
*Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 132(4): 739-761. doi:10.1016/S1095-6433(02)00045-4

Qiang, J., Yang, H., Wang, H., Kpundeh, M. D., & Xu, P. (2013). Interacting effects of water temperature and dietary protein level on hematological parameters in Nile tilapia juveniles, *Oreochromis niloticus* (L.) and mortality under *Streptococcus iniae* infection. *Fish & shellfish immunology*, 34 (1): 8-16. doi: 10.1016/j.fsi.2012.09.003

Radovanović, T. B., Prokić, M. D., Gavrić, J. P., Despotović, S. G., Gavrilović, B. R., Borković-Mitić, S. S., Pavlović S. & Saičić, Z. S. (2015). Glutathione-dependent enzyme activities and concentrations of glutathione, vitamin E and sulfhydryl groups in barbel (*Barbus barbus*) and its intestinal parasite *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *Ecological indicators*, 54 (1): 31-38. doi: 10.1016/j.ecolind.2015.02.005

Ranzani-Paiva, M. J. T., de Pádua, S. B., Tavares-Dias, M., & Egami, M. I. (2013). Métodos para análise hematológica em peixes. Editora da Universidade Estadual de Maringá-EDUEM. 140p.

Raza, H. (2011). Dual localization of glutathione S-transferase in the cytosol and mitochondria: implications in oxidative stress, toxicity and disease. *Federation of European Biochemical Societies - FEBS Journal*, 278 (22): 4243-4251. doi: 10.1111/j.1742-4658.2011.08358.x

Reboita, M. S., Krusche, N., Ambrizzi, T., & Rocha, R. P. D. (2012). Entendendo o Tempo e o Clima na América do Sul. *Terræ Didática* 8 (1):34-50, 20

Rosenfeld, G. (1947). Pancromic stain for haematology and clinical cytology. A new combination of the components May-Grünwald and Giemsa in just one formula for rapid staining. Memórias do Instituto Butantan, 20, 329-334.

Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*, 24: (10), 453-462. doi: 10.1016/j.cub.2014.03.034

Schmidt-Nielsen, K. (2002). Effects of temperature. In: *Animal physiology: adaptation and environment*. 5<sup>th</sup> Ed. Cambridge University Press. P 217-239.

Sedlak, J., & Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, 25(1):192-205. doi: 10.1016/0003-2697(68)90092-4

Segner, H., Sundh, H., Buchmann, K., Douxfils, J., Sundell, K. S., Mathieu, C., Ruane, N., Jutfelt, F., Toften, H., & Vaughan, L. (2012). Health of farmed fish: its relation to fish welfare and its utility as welfare indicator. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38 (1): 85-105. doi: 10.1007/s10695-011-9517-9

Simčič, T., Jesenšek, D., & Brancelj, A. (2015). Effects of increased temperature on metabolic activity and oxidative stress in the first life stages of marble trout (*Salmo marmoratus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 41(4): 1005-1014. doi: 10.1007/s10695-015-0065-6

Souza, P. C., & Bonilla-Rodriguez, G. O. (2007). Fish hemoglobins. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40 (6): 769-778. doi: 10.1590/S0100-879X2007000600004

Souza, V. L., Urbinati, E. C., Martins, M. I. E. G., & Silva, P. C. (2003). Avaliação do crescimento e do custo da alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) submetido a ciclos alternados de restrição alimentar e realimentação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32 (1): 19-28.

- Steinhausen, M. F., Sandblom, E., Eliason, E. J., Verhille, C., & Farrell, A. P. (2008). The effect of acute temperature increases on the cardiorespiratory performance of resting and swimming sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Journal of Experimental Biology*, 211 (24): 3915-3926. doi: 10.1242/jeb.019281
- Thomas, S., & Perry, S. F. (1992). Control and consequences of adrenergic activation of red blood cell Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange on blood oxygen and carbon dioxide transport in fish. *Journal of Experimental Zoology*, 263 (2): 160-175. doi: 10.1002/jez.1402630206
- Tirsgaard, B., Behrens, J. W., & Steffensen, J. F. (2015). The effect of temperature and body size on metabolic scope of activity in juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* L. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 179 (1): 89-94. doi: 10.1016/j.cbpa.2014.09.033
- Tucker, C. S., Schwedler, T. E., & Taylor, T. (1984). Water quality in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) hatcheries. *Mississippi Agricultural & Forestry Experiment Station – MAFES, Research Highlights* 8 (16): 1-4.
- Unesco. (1983). *Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and guides*. Intergovernmental Oceanographic Commission. 56 p.
- Valladão, G. M. R., Gallani, S. U., & Pilarski, F. (2018). South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10 (2): 351-369. doi: 10.1111/raq.12164
- Verde, C., Giordano, D., & di Prisco, G. (2011). Erythropoiesis in fishes. In: *Encyclopaedia of Fish Physiology. From Genome to Environment*, 2 (1): 992-997. doi: 10.1016/B978-0-12-374553-8.00268-9
- Vinagre, C., Madeira, D., Mendonça, V., Dias, M., Roma, J., & Diniz, M. S. (2014). Effect of increasing temperature in the differential activity of oxidative stress biomarkers in various

tissues of the Rock goby, *Gobius paganellus*. *Marine Environmental Research*, 97 (1): 10-14.  
doi: 10.1016/j.marenvres.2014.01.007

Welker, A. F., Moreira, D. C., Campos, É. G., & Hermes-Lima, M. (2013). Role of redox metabolism for adaptation of aquatic animals to drastic changes in oxygen availability. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 165 (4): 384-404. doi: 10.1016/j.cbpa.2013.04.003

Wells, R. M. (2009). Blood-gas transport and hemoglobin function: Adaptations for functional and environmental hypoxia. In *Fish physiology* (Vol. 27, pp. 255-299). Academic Press. doi: 10.1016/S1546-5098(08)00006-X

Wendelaar Bonga, S. E. (1997). The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77 (3): 591-625. doi: 10.1152/physrev.1997.77.3.591

Wintrobe, M. M. (1934). Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia haematologica*, 51(32): 32-49.

Xie, H., Lü, X., Zhou, J., Shi, C. C., Li, Y. L., Duan, T., & Luo, Y. P. (2017). Effects of acute temperature change and temperature acclimation on the respiratory metabolism of the snakehead. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 17 (1): 535-542. doi: 10.4194/1303-2712-v17\_3\_10

Yuan, L., & Kaplowitz, N. (2009). Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity. *Molecular Aspects of Medicine*, 30 (1-2): 29-41. doi: 10.1016/j.mam.2008.08.003

Zhang, Y., & Kieffer, J. D. (2014). Critical thermal maximum (CT<sub>max</sub>) and hematology of shortnose sturgeons (*Acipenser brevirostrum*) acclimated to three temperatures. *Canadian Journal of Zoology*, 92 (3): 215-221. doi: 10.1139/cjz-2013-0223

Páginas 86-88 - Tabela, figuras e legendas referentes ao capítulo 1.

Trecho retirado em respeito ao contrato de direitos autorais padrão da revista.

Descrito em: Author guidelines, seção 6. Author licensing

Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/13652109/homepage/forauthors.html>

## Capítulo II

### **Influence of different temperatures on erythrogram, biochemical blood parameters and oxidative stress responses in pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**

Daniel de Sá Britto Pinto<sup>a</sup>, Lucas Pellegrin<sup>a</sup>, Lilian Fiori Nitz<sup>a</sup>, José Maria Monserrat<sup>b,c</sup>,

Luciano Garcia<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Aquicultura Continental – LAC, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Oceanografia; Av. Itália km 8, Rio Grande, RS, CEP 96.200-970, Brazil.

<sup>b</sup> Laboratório de Bioquímica Funcional de Organismos Aquáticos – BIFOA, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Ciências Biológicas; Av. Itália km 8, Rio Grande, RS, CEP 96.200-970, Brazil.

<sup>c</sup> Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Ciências Biológicas; Av. Itália km 8, Rio Grande, RS, CEP 96.200-970, Brazil.

\* Corresponding author

\*Redigido de acordo com as normas da revista Journal of Thermal Biology

## **Abstract**

The objective of this study was to show the effect of temperature on the blood and oxidative stress parameters of *Piaractus mesopotamicus* juveniles. The fish were exposed to five temperatures (18, 21, 24 (control), 27, and 30 °C) during 45 days. Blood glucose, hematocrit and erythrocytes were higher in fish maintained at 27 and 30 °C ( $p < 0.05$ ) in relation to others treatments. Blood pH and lactate were higher at 18 °C, and 18 and 30 °C ( $p < 0.05$ ) in relation to others treatments, respectively. Hemoglobin was lower at 18 and 21 °C and higher at 27 and 30 °C ( $p < 0.05$ ) compared to 24 °C. Glutathione-S-transferase (GST) activity in the liver was lower ( $p < 0.05$ ) at 18 °C compared to 24 °C. Protein sulfhydryl in muscle was lowest in at 27 and 30 °C while non-protein sulfhydryl was higher ( $p < 0.05$ ) at 21 °C. Sulfhydryl groups (P-SH and NP-SH) content in the liver presented a positive linear relationship with the water temperature, either  $R^2 = 0.90$ . Lipid peroxidation (TBARS) showed a quadratic relationship with the water temperature in muscle ( $R^2 = 0.85$ ) and liver ( $R^2 = 0.83$ ). According to observed hematological parameters, *P. mesopotamicus* can be reared between 24 and 27 °C, being 24.09 °C the optimum since muscle lipid peroxidation reached a minimum.

**Keywords:** freshwater fish, glucose, hemoglobin, lipid peroxidation, protein sulfhydryl groups, thermal stress.



Páginas: 91 – 107

Capítulo 2: Manuscrito submetido.

Trecho retirado a pedido do autor.

## References

- Abimorad, E.G., Carneiro, D.J., Urbinati, E.C., 2007. Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Research*, 38, 36-44. doi:10.1111/j.1365-2109.2006.01621.x.
- Amado, L.L., Garcia, M.L., Ramos, P.B., Freitas, R.F., Zafalon, B., Ferreira, J.L.R., Yunes, J.S., Monserrat, J.M., 2009. A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: application to evaluate microcystins toxicity. *Science of the Total Environment*, 407, 2115-2123. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.11.038.
- Ashley, P.J., 2007. Fish welfare: current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science*, 104, 199-235. doi:10.1016/j.applanim.2006.09.001.
- Armstrong, J.B., Schindler, D.E., Ruff, C.P., Brooks, G.T., Bentley, K.E., Torgersen, C.E., 2013. Diel horizontal migration in streams: juvenile fish exploit spatial heterogeneity in thermal and trophic resources. *Ecology*, 94, 2066-2075. doi:10.1890/12-1200.1.
- Bagnyukova, T.V., Lushchak, O.V., Storey, K.B., Lushchak, V.I., 2007. Oxidative stress and antioxidant defense responses by goldfish tissues to acute change of temperature from 3 to 23 °C. *Journal of Thermal Biology*, 32, 227-234. doi:10.1016/j.jtherbio.2007.01.004.
- Baldisserotto, B., 2013. *Fisiologia de peixes aplicada à aquicultura*. 3 ed. Santa Maria. Ed. Da UFSM. 352p.
- Besson, M., Vandeputte, M., Van Arendonk, J.A.M., Aubin, J., De Boer, I.J.M., Quillet, E., Komen, H., 2016. Influence of water temperature on the economic value of growth rate in fish farming: the case of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) cage farming in the Mediterranean. *Aquaculture*, 462, 47-55. doi:10.1016/j.aquaculture.2016.04.030.

- Bowden, T.J., 2008. Modulation of the immune system of fish by their environment. *Fish & Shellfish Immunology*, 25, 373-383. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.03.017>.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 2012. Pond aquaculture water quality management. Springer Science & Business Media, 700p.
- Bowyer, J.N., Qin, J.G., Adams, L.R., Thomson, M.J., Stone, D.A., 2012. The response of digestive enzyme activities and gut histology in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) to dietary fish oil substitution at different temperatures. *Aquaculture*, 368, 19-28. doi:10.1016/j.aquaculture.2012.09.012.
- Carolsfeld, J., Harvey, B., Ross, C., Baer, A., 2004. Migratory fishes of South America: biology, fisheries and conservation status. The World Bank. 394p.
- Clarke, A., Fraser, K.P.P, 2004. Why does metabolism scale with temperature? *Functional Ecology*, 18, 243-251. doi:10.1111/j.0269-8463.2004.00841.x.
- Clauss, T.M., Dove, A.D., Arnold, J.E., 2008. Hematologic disorders of fish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic animal practice*, 11, 445-462. doi:10.1016/j.cvex.2008.03.007.
- Costa, I.A., Hein, T.W., Gamperl, A.K., 2015. Cold-acclimation leads to differential regulation of the steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) coronary microcirculation. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 308, 743-754. doi:10.1152/ajpregu.00353.2014.
- Cussac, V.E., Fernández, D.A., Gómez, S.E., López, H.L., 2009. Fishes of southern South America: a story driven by temperature. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35, 29-42. doi:10.1007/s10695-008-9217-2.

Da Silva, T.V.N., Barbas, L.A.L., Torres, M.F., Sampaio, L.A., Monserrat, J.M., 2017. Lipid peroxidation and antioxidant capacity in *Peckoltia oligospila* (Günther, 1864) submitted to transport under different concentration of dissolved oxygen. *Aquaculture*, 481, 72-78. doi:10.1016/j.aquaculture.2017.08.024.

Dalle-Donne, I., Milzani, A., Gagliano, N., Colombo, R., Giustarini, D., Rossi, R., 2008. Molecular mechanisms and potential clinical significance of S-glutathionylation. *Antioxidants & redox signaling*, 10, 445-474, doi:10.1089/ars.2007.1716.

Dias-Koberstein, T.C.R., Carneiro, D.J., Urbinati, E.C., 2005. Tempo de trânsito gastrintestinal e esvaziamento gástrico do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) em diferentes temperaturas de cultivo. *Acta Scientiarum - Animal Sciences*, 27, 413-417. doi:10.4025/actascianimsci.v27i3.1219.

Dickinson, D.A., Forman, H.J., 2002. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochemical pharmacology*, 64, 1019-1026. doi:10.1016/S0006-2952(02)01172-3.

Elliott, J., Elliott, J.A., 2010. Temperature requirements of Atlantic salmon *Salmo salar*, brown trout *Salmo trutta* and Arctic charr *Salvelinus alpinus*: predicting the effects of climate change. *Journal of fish biology*, 77, 1793-1817. doi:10.1111/j.1095-8649.2010.02762.x.

Evans, P., Halliwell, B., 2001. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *British Journal of Nutrition*, 85, S67-S74. doi:10.1049/BJN2000296.

Ficke, A.D., Myrick, C.A., Hansen, L.J., 2007. Potential impacts of global climate change on freshwater fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 17, 581-613. doi:10.1007/s11160-007-9059-5.

Garcia, L.D.O., Copatti, C.E., Wachholz, F., Pereira Filho, W., Baldisserotto, B., 2008. Freshwater temperature in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil, and its implication

for fish culture. *Neotropical Ichthyology*, 6, 275-281. doi:10.1590/S1679-62252008000200016.

Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F., Scaccini, C., 2000. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radical Biology and Medicine*, 29, 1106-1114. doi:10.1016/S0891-5849(00)00394-4.

Gilmour, K. M. (2001). The CO<sub>2</sub>/pH ventilatory drive in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 130, 219-240. doi:10.1016/S1095-6433(01)00391-9.

Gladden, L. B. (2004). Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *The Journal of physiology*, 558, 5-30. doi:10.1113/jphysiol.2003.058701.

Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E., Brosious, E., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*, 56, 35-39. doi:10.1093/ajcp/56.1.35.

Guderley, H., 2004. Metabolic responses to low temperature in fish muscle. *Biological reviews*, 79, 409-427. doi:10.1017/S1464793103006328.

Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974. Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249, 7130-7139.

Harper, C., Wolf, J.C., 2009. Morphologic effects of the stress response in fish. *Institute for Laboratory Animal Research - ILAR Journal*. 50, 387-396. doi:10.1093/ilar.50.4.387.

Hellou, J., Ross, N.W., & Moon, T.W., 2012. Glutathione, glutathione S-transferase, and glutathione conjugates, complementary markers of oxidative stress in aquatic biota.

Environmental Science and Pollution Research, 19(6), 2007-2023. doi:10.1007/s11356-012-0909-x.

Houston, A.H., Murad, A., 1992. Erythrocytodynamics in goldfish, *Carassius auratus L.*: temperature effects. *Physiological Zoology*, 65, 55-76. doi:10.1086/physzool.65.1.30158239.

Huseby, N.E., Sundkvist, E., Svineng, G., 2009. Glutathione and sulfur containing amino acids: antioxidant and conjugation activities. In: Masella, R., & Mazza, G. *Glutathione and Sulfur Amino Acids in Human Health and Disease*. Hoboken, NJ. John Wiley and Sons, Inc, p 93-120.

Ivanc, A., Hasković, E., Jeremić, S., Dekić, R., 2005. Hematological evaluation of welfare and health of fish. *Praxis Veterinaria*, 53, 191-202.

Jobling, M. (2016). Fish nutrition research: past, present and future. *Aquaculture international*, 24 (3): 767-786. doi:10.1007/s10499-014-9875-2.

Johansen, R., Needham, J.R., Colquhoun, D.J., Poppe, T.T., Smith, A.J., 2006. Guidelines for health and welfare monitoring of fish used in research. *Laboratory Animals*, 40, 323-340. doi:10.1258/002367706778476451.

Johnson, R. A., 2017. A Quick Reference on Respiratory Alkalosis. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 47, 181-184. doi:10.1016/j.cvsm.2016.10.005

Jomori, R.K., Carneiro, D.J., Martins, M.I.E.G., Portella, M.C., 2005. Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. *Aquaculture*, 243, 175-183. doi:10.1016/j.aquaculture.2004.09.034.

- Kassahn, K.S., Crozier, R.H., Pörtner, H.O., Caley, M.J., 2009. Animal performance and stress: responses and tolerance limits at different levels of biological organisation. *Biological Reviews*, 84, 277-292. doi:10.1111/j.1469-185X.2008.00073.x.
- Kaur, M., Atif, F., Ali, M., Rehman, H., Raisuddin, S., 2005. Heat stress-induced alterations of antioxidants in the freshwater fish *Channa punctata* Bloch. *Journal of Fish Biology*, 67, 1653-1665. doi:10.1111/j.1095-8649.2005.00872.x.
- Kordas, R.L., Harley, C.D., O'Connor, M.I., 2011. Community ecology in a warming world: the influence of temperature on interspecific interactions in marine systems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 400, 218-226. doi:10.1016/j.jembe.2011.02.029.
- Le Morvan, C., Troutaud, D., Deschaux, P., 1998. Differential effects of temperature on specific and nonspecific immune defences in fish. *Journal of Experimental Biology*, 201, 165-168.
- Lindinger, M.I., Heigenhauser, G.J., 2012. Effects of gas exchange on acid-base balance. *Comprehensive Physiology*, 2, 2203-2254. doi:10.1002/cphy.c100055.
- Lushchak, V.I., Bagnyukova, T.V., 2006. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 2. Antioxidant and associated enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143, 36-41. doi:10.1016/j.cbpc.2005.11.018.
- Lushchak, V. I. 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic toxicology*, 101, 13-30. doi:10.1016/j.aquatox.2010.10.006.
- Ma, X.Y., Qiang, J., He, J., Gabriel, N.N., Xu, P., 2015. Changes in the physiological parameters, fatty acid metabolism, and SCD activity and expression in juvenile GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared at three different temperatures. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41, 937-950. doi:10.1007/s10695-015-0059-4.

Maciel, F.E., Rosa C.E., Santos, E.A., Monserrat, J.M., Nery, L.E.M., 2004. Daily variations in oxygen consumption, antioxidant defenses, and lipid peroxidation in the gills and hepatopancreas of an estuarine crab. *Canadian Journal of Zoology*, 82, 1871–1877. doi:10.1139/Z04-182.

Madeira, D., Vinagre, C., Diniz, M.S., 2016. Are fish in hot water? Effects of warming on oxidative stress metabolism in the commercial species *Sparus aurata*. *Ecological Indicators*, 63, 324-331. doi:10.1016/j.ecolind.2015.12.008.

Maltez, L.C., Stringhetta, G.R., Enamorado, A.D., Okamoto, M.H., Romano, L.A., Monserrat, J.M., Sampaio, L.A., Garcia, L., 2017. Ammonia exposure and subsequent recovery trigger oxidative stress responses in juveniles of Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus*. *Fish physiology and biochemistry*, 43, 1747-1759. doi:10.1007/s10695-017-0406-8.

Martins, M.L., Xu, D.H., Shoemaker, C.A., Klesius, P. H., 2011. Temperature effects on immune response and hematological parameters of channel catfish *Ictalurus punctatus* vaccinated with live theronts of *Ichthyophthirius multifiliis*. *Fish & shellfish immunology*, 31, 774-780. doi:10.1016/j.fsi.2011.07.015.

Mehner, T., 2012. Diel vertical migration of freshwater fishes—proximate triggers, ultimate causes and research perspectives. *Freshwater Biology*, 57, 1342-1359. doi:10.1111/j.1365-2427.2012.02811.x.

Metcalfe, N.B., Alonso-Alvarez, C., 2010. Oxidative stress as a life-history constraint: the role of reactive oxygen species in shaping phenotypes from conception to death. *Functional Ecology*, 24, 984-996. doi:10.1111/j.1365-2435.2010.01750.x.

Montgomery, J.C., Wells, R.M.G., 1993. Recent advances in the ecophysiology of Antarctic notothenioid fishes: metabolic capacity and sensory performance. In: Rankin, J.C., Jensen,



F.B. (Eds.), Fish & Fisheries. Fish Ecophysiology, vol. 9. Chapman & Hall, London, pp. 341–374. doi:10.1007/978-94-011-2304-4\_14.

Neto, J. L. S., Galvani, E., Vieira, B. C., 2015. Climates of Brazil: past and present, in: Landscapes and landforms of Brazil. Springer, Dordrecht. p. 33-41. doi:10.1007/978-94-017-8023-0\_4.

Neuheimer, A.B., Thresher, R.E., Lyle, J.M., Semmens, J.M., 2011. Tolerance limit for fish growth exceeded by warming waters. Nature Climate Change, 1, 110-113. doi:10.1038/nclimate1084.

Nikinmaa, M., 1992. How does environmental pollution affect red cell function in fish? Aquatic Toxicology, 22, 227-238. doi:10.1016/0166-445X(92)90042-L.

Oakes, K.D., Van Der Kraak, G.J., 2003. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. Aquatic Toxicology, 63, 447-463. doi:10.1016/S0166-445X(02)00204-7.

Oliveira, M., Pacheco, M., Santos, M.A., 2008. Organ specific antioxidant responses in golden grey mullet (*Liza aurata*) following a short-term exposure to phenanthrene. Science of the Total Environment, 396, 70-78. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.02.012.

Palmer, B. F. (2012). Evaluation and treatment of respiratory alkalosis. American Journal of Kidney Diseases, 60 (5): 834-838.

Pankhurst, N.W., 2011. The endocrinology of stress in fish: an environmental perspective. General and comparative endocrinology, 170, 265-275. doi:10.1016/j.yggen.2010.07.017 .

Pardini, R.S., 1995. Toxicity of oxygen from naturally occurring redox-active pro-oxidants. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 29, 101-118. doi:10.1002/arch.940290203.

Perry, S.F., Gilmour, K.M., 2006. Acid–base balance and CO<sub>2</sub> excretion in fish: unanswered questions and emerging models. *Respiratory physiology & neurobiology*, 154, 199-215. doi:10.1016/j.resp.2006.04.010.

Pinto, D., Pellegrin, L., Nitz, L. F., da Costa, S. T., Monserrat, J. M., & Garcia, L. (2019). Haematological and oxidative stress responses in *Piaractus mesopotamicus* under temperature variations in water. *Aquaculture Research*. Early View. doi:10.1111/are.14260.

Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J.L., Moon, T.W., 2012. Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of Comparative Physiology B*, 182, 1015-1045. doi:10.1007/s00360-012-0658-7.

Pörtner, H.O., Van Dijk, P.L.M., Hardewig, I., Sommer, A., 2000. Levels of metabolic cold adaptation: Tradeoffs in eurythermal and stenothermal ectotherms, in: Davison, W., Howard-Williams, C. (Eds.), *Antarctic Ecosystems: models for wider ecological understanding*. eds., Caxton Press, Christchurch New Zealand. pp. 109-122.

Prieto, A.I., Jos, Á., Pichardo, S., Moreno, I., Cameán, A.M., 2006. Differential oxidative stress responses to microcystins LR and RR in intraperitoneally exposed tilapia fish (*Oreochromis sp.*). *Aquatic Toxicology*, 77, 314-321. doi:10.1016/j.aquatox.2005.12.012.

Reid, S.G., Bernier, N.J., Perry, S.F., 1998. The adrenergic stress response in fish: control of catecholamine storage and release. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 120, 1-27. doi:10.1016/S0742-8413(98)00037-1.

Saint-Paul, U., 1989. Indigenous species promise increased yields. *NAGA, WorldFish Center Quarterly*, 12, 3-6

- Schieber, M., Chandel, N.S., 2014. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*, 24, 453-462. doi:10.1016/j.cub.2014.03.034.
- Schreck, C.B., Tort, L., 2016. The concept of stress in fish. *Fish physiology* 35, 1-34. doi:10.1016/B978-0-12-802728-8.00001-1.
- Scandalios, J.G., 2005. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38, 995-1014. doi:10.1590/S0100-879X2005000700003.
- Sedlak, J., Lindsay, R.H., 1968. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, 25, 192-205. doi:10.1016/0003-2697(68)90092-4.
- Segner, H., Sundh, H., Buchmann, K., Douxfils, J., Sundell, K.S., Mathieu, C., Ruane, N., Jutfelt, F., Toften, H., Vaughan, L., 2012. Health of farmed fish: its relation to fish welfare and its utility as welfare indicator. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38, 85-105. doi:10.1007/s10695-011-9517-9.
- Simčič, T., Jesenšek, D., Brancelj, A., 2015. Effects of increased temperature on metabolic activity and oxidative stress in the first life stages of marble trout (*Salmo marmoratus*). *Fish physiology and biochemistry*, 41, 1005-1014. doi:10.1007/s10695-015-0065-6.
- Svetina, A., Matašin, Ž., Tofant, A., Vučemilo, M., Fijan, N., 2002. Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. *Acta Veterinaria Hungarica*, 50, 459-467. doi:10.1556/AVet.50.2002.4.8.
- Thomas, S., Perry, S.F., 1992. Control and consequences of adrenergic activation of red blood cell Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange on blood oxygen and carbon dioxide transport in fish. *Journal of Experimental Zoology*, 263, 160-175. doi:10.1002/jez.1402630206.

Tort, L., 2011. Stress and immune modulation in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 35, 1366-1375. doi:10.1016/j.dci.2011.07.002.

Urbinati, E.C., Gonçalves, F.D., Takahashi, L.S., 2010. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), in: Baldisserotto, B., & Gomes, L.C. (Eds.), *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 2ª ed. Santa Maria, RS. Editora da UFSM, 608p

Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Pilarski, F., 2016. South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10, 351-369. doi:10.1111/raq.12164.

Van de Pol, I., Flik, G., Gorissen, M., 2017. Comparative physiology of energy metabolism: fishing for endocrine signals in the early vertebrate pool. *Frontiers in endocrinology*, 8, 1-18. doi:10.3389/fendo.2017.00036.

Vinagre, C., Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H.N., Diniz, M., 2012. Effect of temperature on oxidative stress in fish: lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Ecological Indicators*, 23, 274-279. doi:10.1016/j.ecolind.2012.04.009.

Vinagre, C., Madeira, D., Mendonça, V., Dias, M., Roma, J., Diniz, M.S., 2014. Effect of increasing temperature in the differential activity of oxidative stress biomarkers in various tissues of the Rock goby, *Gobius paganellus*. *Marine environmental research*, 97, 10-14. doi:10.1016/j.marenvres.2014.01.007.

Verde, C., Giordano, D., Di Prisco, G., 2011. BLOOD | Erythropoiesis in fishes, in: Farrel, A. P., (Ed.) *Encyclopaedia of Fish Physiology, from Genome to Environment*, 2, 992-997. doi:10.1016/B978-0-12-374553-8.00268-9.

- Wang, N., Xu, X., Kestemont, P., 2009. Effect of temperature and feeding frequency on growth performances, feed efficiency and body composition of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*). *Aquaculture*, 289, 70-73. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.01.002
- Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77, 591-625. doi:10.1152/physrev.1997.77.3.591.
- Wintrobe, M.M., 1934. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia haematologica*, 51, 32-49.
- Witeska, M., 2013. Erythrocytes in teleost fishes: a review. *Zoology and Ecology*, 23, 275-281. doi:10.1080/21658005.2013.846963.
- Yuan, L., Kaplowitz, N., 2009. Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity. *Molecular aspects of medicine*, 30, 29-41. doi:10.1016/j.mam.2008.08.003

### Capítulo III

#### **Influence of temperature on growth, feed consumption and chemical composition in the muscle in pacu *Piaractus mesopotamicus***

Daniel de Sá Britto Pinto<sup>a</sup>, Lucas Pellegrin<sup>a</sup>, Lilian Fiori Nitz<sup>a</sup>, José Maria Monserrat<sup>b,c</sup>, Luciano Garcia<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>- Laboratório de Aquacultura Continental – LAC, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Oceanografia; Av. Itália km 8, Rio Grande, RS, CEP 96.203-900, Brazil.

<sup>b</sup>- Laboratório de Bioquímica Funcional de Organismos Aquáticos – BIFOA, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Ciências Biológicas; Av. do Hotel, nº 2, Rio Grande, RS, CEP 96.210-030, Brazil.

<sup>c</sup>- Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Ciências Biológicas; Av. Itália km 8, Rio Grande, RS, CEP 96.203-900, Brazil.

\*Corresponding author

\*Redigido de acordo com as normas da revista Aquaculture

## **Abstract**

The zootechnical performance of fish can be influenced by temperature, inducing metabolic changes, which are likely to reflect on growth and body composition. Thus, the objectives of this study were: (1) to show the influence of 5 different temperatures (18, 21, 24, 27, and 30 °C), during 45 days, on the growth performance and metabolic parameters; and (2) to evaluate the relationship of the protein efficiency ratio (PER) with the fillet proximate composition of pacu *P. mesopotamicus* juveniles. The growth and FC showed positive correlation with temperature ( $R^2 = 0.95$ ), while food consumption (FC) and PER showed negative correlation with temperature ( $R^2 = 0.89$ ). In the fillet composition, ethereal extract increased and moisture decreased with the temperature ( $p < 0.05$ ). Protein content was lowest at 18 and 30 °C and highest at 21, 24 and 27 °C ( $p < 0.05$ ). The robust adjusted curve between PER and protein content in fillet in relation to temperature showed the best result at 21 °C. Through the results obtained, pacu juveniles rearing between 21 and 24 °C showed better protein efficiency in relation to feeding consumption, reflecting a better meat quality.

**Keywords:** Thermal limits, pacu fish, feed, proximate composition, fillet quality.

Páginas: 122- 135

Capítulo 3: Manuscrito submetido.

Trecho retirado a pedido do autor.



## References

- Abbink, W., Garcia, A.B., Roques, J.A., Partridge, G.J., Kloet, K., & Schneider, O., 2012. The effect of temperature and pH on the growth and physiological response of juvenile yellowtail kingfish *Seriola lalandi* in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 330, 130-135. doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.11.043
- Adad, J.M.T., 1982. Controle químico de qualidade da água. Ed. Guanabara Dois. Rio de Janeiro. 203p.
- AOAC, 2005. Official method of Analysis. 18th Edition, Association of Officiating Analytical Chemists. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Azaza, M.S., Dhraïef, M.N., & Kraïem, M.M., 2008. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. *Journal of thermal Biology*, 33(2), 98-105. doi:10.1016/j.jtherbio.2007.05.007
- Bendschneider, K., & Robinson, R.J., 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. Technical Report 8. Office of Naval Research. 26 p.
- Bowden, T.J., 2008. Modulation of the immune system of fish by their environment. *Fish & Shellfish Immunology*, 25(4), 373-383. doi: 10.1016/j.fsi.2008.03.017
- Bowyer, J.N., Booth, M.A., Qin, J.G., D'Antignana, T., Thomson, M.J., & Stone, D.A., 2014. Temperature and dissolved oxygen influence growth and digestive enzyme activities of yellowtail kingfish *Seriola lalandi* (Valenciennes, 1833). *Aquaculture research*, 45(12), 2010-2020. doi: 10.1111/are.12146

- Boyd, C.E., & Tucker, C.S., 2014. Handbook for aquaculture water quality. Handbook for Aquaculture Water Quality, 439.
- Brown, J.H., Gillooly, J.F., Allen, A.P., Savage, V.M., & West, G.B., 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*, 85(7), 1771-1789. doi: 10.1890/03-9000
- Brusle, J., & Anadon, G.G., 1996. The structure and function of fish liver. In: Dutta, H. M. Fish morphology: horizon of new research. CRC Press, 545-551.
- Burel, C., Person-Le Ruyet, J., Gaumet, F., Le Roux, A., Severe, A., & Boeuf, G., 1996. Effects of temperature on growth and metabolism in juvenile turbot. *Journal of Fish Biology*, 49(4), 678-692. doi: 10.1111/j.1095-8649.1996.tb00064.x
- Busacker, G.P., Adelman, I.R., Goolish, E.M., 1990. Growth. In: Schreck, C. B., & Moyle, P. B. (Eds). *Methods for fish biology*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, 363-377.
- Carolsfeld, J., Harvey, B., Ross, C., Baer, A., 2004. Migratory fishes of South America: biology, fisheries and conservation status. The World Bank. 394p
- Chellappa, S., Huntingford, F.A., Strang, R.H.C., & Thomson, R.Y., 1995. Condition factor and hepatosomatic index as estimates of energy status in male three-spined stickleback. *Journal of Fish Biology*, 47(5), 775–787. doi: 10.1111/j.1095-8649.1995.tb06002.x
- Cian, R.E., Bacchetta, C., Cazenave, J., & Drago, S.R., 2018. Extruded fish feed with high residual phytase activity and low mineral leaching increased *P. mesopotamicus* mineral retention. *Animal Feed Science and Technology*, 240, 78-87. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2018.03.016

- Clarke, A., & Fraser, K.P.P., 2004. Why does metabolism scale with temperature?. *Functional Ecology*, 18(2), 243-251. Doi: 10.1111/j.0269-8463.2004.00841.x
- Colt, J., 2006. Water quality requirements for reuse systems. *Aquacultural Engineering*, 34 (3): 143-156. doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.08.011
- Correia, D., David, L.H.C., Pinho, S.M., Costa-Filho, J., Emerenciano, M.G.C., & Mello, G.L.D., 2018. Performance of fat snook juveniles reared at different temperatures. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 40, 1-6. doi:10.4025/actascianimsci.v40i1.39766
- Craig, S., Helfrich, L.A., Kuhn, D., & Schwarz, M.H., 2017. Understanding fish nutrition, feeds, and feeding. Virginia Cooperative Extension, Publication 420-256 , 1-6.
- De Verdal, H., Komen, H., Quillet, E., Chatain, B., Allal, F., Benzie, J.A., & Vandeputte, M., 2018. Improving feed efficiency in fish using selective breeding: a review. *Reviews in Aquaculture*, 10(4), 833-851. doi: 10.1111/raq.12202
- Del Toro-Silva, F.M., Miller, J.M., Taylor, J.C., & Ellis, T.A., 2008. Influence of oxygen and temperature on growth and metabolic performance of *Paralichthys lethostigma* (Pleuronectiformes: Paralichthyidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 358(2), 113-123. doi: 10.1016/j.jembe.2008.01.019
- Dias-Koberstein, T.C.R., Carneiro, D.J., & Urbinati, E.C., 2004. Comportamento alimentar de alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) por meio das observações do tempo de retorno do apetite e do tempo de saciação dos peixes em duas temperaturas. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 26(3), 339-344. doi: 10.4025/actascianimsci.v26i3.1802
- Dias-Koberstein, T.C.R., Carneiro, D.J., Urbinati, E.C., 2005. Tempo de trânsito gastrintestinal e esvaziamento gástrico do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) em diferentes

temperaturas de cultivo. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 27, 413-417. doi: 10.4025/actascianimsci.v27i3.1219

Eaton, A.D, Clesceri, L.S., Rice, E.W and Greenberg, A.E., 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed, Springfield: American Public Health Association. 541p

Fang, L., Bai, X.L., Liang, X.F., He, S., Guo, X.Z., Li, L., Li, B., Shen, D., & Tao, Y.X., 2017. Ammonia nitrogen excretion in Mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fed practical diets: the effects of water temperature. *Aquaculture research*, 48(3), 836-843. doi: 10.1111/are.12927

FAO, 2018. State of world Fisheries and Aquaculture (SOFIA) - Meeting the sustainable development goals. Rome, Italy. 210p.

Fernández-Montero, A., Caballero, M.J., Torrecillas, S., Tuset, V.M., Lombarte, A., Ginés, R.R., Izquierdo, M., Robaína, L., & Montero, D., 2018. Effect of temperature on growth performance of greater amberjack (*Seriola dumerili* Risso 1810) juveniles. *Aquaculture Research*, 49(2), 908-918. doi: 10.1111/are.13537

Garcia, L.D.O., Copatti, C.E., Wachholz, F., Pereira Filho, W., & Baldisserotto, B., 2008. Freshwater temperature in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil, and its implication for fish culture. *Neotropical Ichthyology*, 6(2), 275-281. doi: 10.1590/S1679-62252008000200016

González, S., Flick, G.J., O'keefe, S.F., Duncan, S.E., McLean, E., & Craig, S.R., 2006. Composition of farmed and wild yellow perch (*Perca flavescens*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 720-726. doi: 10.1016/j.jfca.2006.01.007

Guillaume, J., 2001. Terminology and methodology. in: Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P., & Metailler, R. Nutrition and feeding of fish and crustaceans. Translated by Watson, J. Springer-Verlag London, p 9-16.

Jacquot, R., 1961. Organic constituents of fish and other aquatic foods. In: Borgstrom, G. Fish as food. Academic Press, New York, p 145-210.

Jiang, S., Wu, X., Luo, Y., Wu, M., Lu, S., Jin, Z., & Yao, W., 2016. Optimal dietary protein level and protein to energy ratio for hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*Epinephelus lanceolatus*♂) juveniles. *Aquaculture*, 465, 28-36. doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.08.030

Jobling, M., 2016. Fish nutrition research: past, present and future. *Aquaculture international*, 24(3), 767-786. doi:10.1007/s10499-014-9875-2

Jomori, R.K., Carneiro, D.J., Martins, M.I.E.G., & Portella, M.C., 2005. Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. *Aquaculture*, 243(1-4), 175-183. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.09.034

Killen, S.S., Atkinson, D., & Glazier, D.S., 2010. The intraspecific scaling of metabolic rate with body mass in fishes depends on lifestyle and temperature. *Ecology Letters*, 13(2), 184-193. doi: 10.1111/j.1461-0248.2009.01415.x

Kolditz, C., Borthaire, M., Richard, N., Corraze, G., Panserat, S., Vachot, C., Lefèvre, F., & Médale, F., 2008. Liver and muscle metabolic changes induced by dietary energy content and genetic selection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 294(4), R1154-R1164. doi: 10.1152/ajpregu.00766.2007

- Liu, F.G., Yang, S.D., & Chen, H.C., 2009. Effect of temperature, stocking density and fish size on the ammonia excretion in palmetto bass (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*). *Aquaculture Research*, 40(4), 450-455. doi: 10.1111/j.1365-2109.2008.02114.x
- Másilko, J., Zajíc, T., & Hlaváč, D., 2015. The culture system affects organoleptic properties and lipid composition of common carp (*Cyprinus carpio* L.) meat. *Journal of Texture Studies*, 46(5), 345-352. doi: 10.1111/jtxs.12134
- Médale, F., & Guillaume, J., 2001. Nutritional energetics. in: Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P., & Metailler, R. *Nutrition and feeding of fish and crustaceans*. Translated by Watson, J. Springer-Verlag London, p 59-79.
- Neto, J.L.S., Galvani, E., Vieira, B.C., 2015. Climates of Brazil: past and present, in: *Landscapes and landforms of Brazil*. Springer, Dordrecht. p. 33-41. doi: 10.1007/978-94-017-8023-0\_4.
- Neuheimer, A.B., Thresher, R.E., Lyle, J.M., & Semmens, J.M., 2011. Tolerance limit for fish growth exceeded by warming waters. *Nature Climate Change*, 1(2), 110. doi: 10.1038/nclimate1084
- Peel, M.C., Finlayson, B.L., & McMahon, T.A., 2007. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrology and earth system sciences discussions*, 4(2), 439-473. Hal Id: 00298818
- Phillips Jr, A.M., 1969. Nutrition, digestion, and energy utilization. In: Hoar, W.S., & Randall, D. J., (Eds). *Fish physiology*, Vol. 1, pp. 391-432. Academic Press, New York.
- Pinto, D., Pellegrin, L., Nitz, L. F., da Costa, S. T., Monserrat, J. M., & Garcia, L. (2019). Haematological and oxidative stress responses in *Piaractus mesopotamicus* under temperature variations in water. *Aquaculture Research*. Early View. doi:10.1111/are.14260.

- Prabhu, A.J., Schrama, J.W., & Kaushik, S.J., 2016. Mineral requirements of fish: a systematic review. *Reviews in Aquaculture*, 8(2), 172-219. doi: 10.1111/raq.12090
- Rasmussen, R.S., 2001. Quality of farmed salmonids with emphasis on proximate composition, yield and sensory characteristics. *Aquaculture Research*, 32(10), 767-786. doi: 10.1046/j.1365-2109.2001.00617.x
- Saïdi, S.A., Azaza, M.S., Abdelmouleh, A., Pelt, J.V., Kraïem, M.M., & El-Feki, A., 2010. The use of tuna industry waste in the practical diets of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.): effect on growth performance, nutrient digestibility and oxidative status. *Aquaculture Research*, 41(12), 1875-1886. doi: 10.1111/j.1365-2109.2010.02594.x
- Saint-Paul, U., 1989. Indigenous species promise increased yields. *NAGA, World Fish Center Quarterly*, 12, 3-6
- Santos, V.B., de Oliveira, M.W.M., Salomão, R.A.S., Santos, R.S., de Paula, T.G., Silva, M.D.P., & Mareco, E.A., 2017. Influence of temperature and exercise on growth performance, muscle, and adipose tissue in pacus (*Piaractus mesopotamicus*). *Journal of Thermal Biology*, 69, 221-227. doi: 10.1016/j.jtherbio.2017.08.004
- Seebacher, F., 2009. Responses to temperature variation: integration of thermoregulation and metabolism in vertebrates. *Journal of Experimental Biology*, 212(18), 2885-2891. doi: 10.1242/jeb.024430
- Simčič, T., Jesenšek, D., & Brancelj, A., 2015. Effects of increased temperature on metabolic activity and oxidative stress in the first life stages of marble trout (*Salmo marmoratus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 41(4), 1005-1014. doi: 10.1007/s10695-015-0065-6

- Sotoyama, Y., Yokoyama, S., Ishikawa, M., Koshio, S., Hashimoto, H., Oku, H., & Ando, T., 2018. Effects of a superoptimal temperature on aquacultured yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Fisheries Science*, 84(6), 1063-1071. doi: 10.1007/s12562-018-1247-9
- Sreenivasan, A., & Heintz, R., 2016. Estimation of the relationship between growth, consumption, and energy allocation in juvenile Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) as a function of temperature and ration. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 132, 154-161. doi: 10.1016/j.dsr2.2016.04.004
- Stiller, K.T., Vanselow, K.H., Moran, D., Riesen, G., Koppe, W., Dietz, C., & Schulz, C., 2017. The effect of diet, temperature and intermittent low oxygen on the metabolism of rainbow trout. *British Journal of Nutrition*, 117(6), 784-795. doi: 10.1017/S0007114517000472
- Sun, Z., Xia, S., Feng, S., Zhang, Z., Rahman, M. M., Rajkumar, M., & Jiang, S., 2015. Effects of water temperature on survival, growth, digestive enzyme activities, and body composition of the leopard coral grouper *Plectropomus leopardus*. *Fisheries Science*, 81(1), 107-112. doi: 10.1007/s12562-014-0832-9
- Tucker, C.S., Schwedler, T.E., & Taylor, T., 1984. Water quality in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) hatcheries. *Mississippi Agricultural & Forestry Experiment Station – MAFES, Research Highlights* 8 (16): 1-4.
- UNESCO, 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and guides. Intergovernmental Oceanographic Commission. 56 p.
- Urbinati, E.C., Gonçalves, F.D., Takahashi, L.S., 2010. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), in: Baldisserotto, B., & Gomes, L.C. (Eds.), *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 2ª ed. Santa Maria, RS. Editora da UFSM, 608p.



- Van Ham, E.H., Berntssen, M.H., Imsland, A.K., Parpoura, A.C., Bonga, S.E.W., & Stefansson, S.O., 2003. The influence of temperature and ration on growth, feed conversion, body composition and nutrient retention of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 217(1-4), 547-558. doi: 10.1016/S0044-8486(02)00411-8
- Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., & Pilarski, F., 2016. South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10(2), 351-369. doi: 10.1111/raq.12164
- Wang, N., Xu, X., & Kestemont, P., 2009. Effect of temperature and feeding frequency on growth performances, feed efficiency and body composition of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*). *Aquaculture*, 289(1-2), 70-73. doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.01.002
- Xie, H., Lü, X., Zhou, J., Shi, C.C., Li, Y.L., Duan, T., & Luo, Y.P., 2017. Effects of acute temperature change and temperature acclimation on the respiratory metabolism of the snakehead. *Turk. Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 17 (1): 535-542. doi: 10.4194/1303-2712-v17\_3\_10
- Xu, G., Sheng, X., Xing, J., & Zhan, W., 2011. Effect of temperature on immune response of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) to inactivated lymphocystis disease virus (LCDV). *Fish & shellfish immunology*, 30(2), 525-531. doi: 10.1016/j.fsi.2010.11.026

#### 4. Considerações finais

Com os resultados obtidos nos experimentos presentes nesta Tese observamos que a temperatura da água pode influenciar na atividade da criação de pacu. Em nossos resultados ficou evidenciado que a temperatura exerce forte influência sobre os parâmetros bioquímicos e fisiológicos da espécie *Piaractus mesopotamicus* através de um conjunto de fatores que se mostram interligados em função do metabolismo. Tais fatores estes como, consumo de alimento, hiperglicemia, hiperlactatemia, desequilíbrio nos níveis ácido-básicos, alterações nas proporções celulares do sangue, agindo assim sobre os parâmetros hematológicos e de estresse oxidativo que podem refletir no desempenho zootécnico destes animais. A exposição a temperaturas fora da faixa considerada ideal para a espécie, afeta as atividades fisiológicas do pacu, tanto em períodos prolongados quanto a exposição à variação de temperatura em curtos períodos, as quais ocasionaram alterações nos parâmetros avaliados que prejudicaram o seu bem-estar.

Embora o crescimento seja menor nas temperaturas mais baixas, de até 24 °C, a proteína da ração foi aproveitada com maior eficiência, sendo melhor incorporada na carcaça e a peroxidação lipídica no músculo, que é o principal órgão de interesse comercial, foi menor. Temperaturas abaixo de 21 e acima de 27 °C podem ainda influenciar no uso de proteínas como fonte de energia, reduzindo a retenção desse nutriente no músculo. Isso acaba afetando o crescimento e a eficiência do alimento fornecido, fazendo com que a atividade seja mais onerosa. Também é importante ressaltar que, em busca de uma atividade que seja ambientalmente mais amigável, possivelmente a criação fora dos limites termais pode incidir sobre a deterioração da qualidade da água, pois o aumento do catabolismo protéico pode resultar em uma maior taxa de excreção de amônia no meio ambiente, causando assim um maior aporte de nutrientes no efluente.

Dessa forma podemos concluir que a exposição a variações de temperatura deve ser evitada e o pacu *P. mesopotamicus* deve ser criado em temperaturas entre 24 e 27 °C, pois nestas condições os parâmetros hematológicos apresentaram as menores alterações e o sistema de defesa antioxidante foi mais efetivo no controle das ERO.

## 5. Conclusões

- Os efeitos decorrentes da exposição à variação (positiva e negativa) de temperatura até 6 °C a partir de 24 °C em juvenis de pacu incluem alterações no equilíbrio ácido-base (pH sanguíneo), distúrbios metabólicos (hiperglicemia, hipoglicemia e hiperlactatemia), danos oxidativos e manifestação de hipocromia nos eritrócitos, além da indução ao estresse oxidativo e a ativação de respostas antioxidantes;

- Temperaturas entre 18 e 30 °C podem induzir diversas alterações no perfil hematológico, e nos parâmetros bioquímicos sanguíneos e de estresse oxidativo em juvenis de pacu, tanto pela variação como pela exposição prolongada em temperaturas inadequadas (abaixo de 21 °C ou acima de 27 °C);

- Variações na temperatura (de 24 °C até 18 ou 30 °C) promovem modificações na concentração de hemoglobina, no percentual de hematócrito e assim resultaram em alterações nas relações hematimétricas (Hemoglobina corpuscular média, volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média) do sangue;

- A exposição prolongada (45 dias) à temperaturas inferiores a 21 °C ou superiores a 27 °C podem induzir alterações no perfil hematológico e comprometer o sistema de defesa antioxidante e resultar em danos oxidativos em macromoléculas como lipídios e proteínas;

- Temperaturas acima de 27 °C causam modificações na composição corporal dos juvenis de pacu resultando em filés com alto teor de gordura mais susceptíveis a peroxidação, sendo que a menor concentração de TBARS no músculo ocorre em 24,09 °C;

- Temperaturas entre 24 e 27 °C promovem um melhor aproveitamento da proteína da ração quanto à incorporação da mesma no músculo de juvenis de pacu.

## **6. Perspectivas futuras**

O desenvolvimento da aquicultura no Sul do Brasil, principalmente abaixo do Trópico de Capricórnio, é limitado pelos fatores ambientais, dentre eles a temperatura. Dessa forma, o desenvolvimento de pacotes tecnológicos para espécies nativas, presentes nesta região é de fundamental importância, tendo em vista a crescente utilização de espécies exóticas, as quais são consideradas como a segunda maior causa global de perda de biodiversidade devido a casos de escape acidental ou introdução irresponsável.

A presente Tese mostrou que mesmo o pacu sendo uma espécie com ampla distribuição na América do Sul, onde o clima pode influenciar na temperatura da água constantemente ao longo do ano, é uma espécie sensível às variações térmicas, porém que apresenta bom desempenho também para ser criada nos estados do sul do Brasil.

A criação em ambientes fechados, onde é possível controlar a temperatura, deve apresentar condições térmicas dentro dos limites favoráveis, as quais foram demonstradas neste trabalho (entre 21 e 27 °C) para a espécie a fim de evitar que sua sanidade e metabolismo sejam comprometidos e assim permitir que suas características de crescimento sejam exploradas ao máximo. Já em ambientes abertos, o monitoramento da temperatura da água deve ser realizado diariamente para que se possa otimizar as estratégias de alimentação

fornecendo a quantidade de alimento de acordo com o consumo, o qual é influenciado pela temperatura, evitando-se assim o desperdício de nutrientes, importante para reduzir os custos de produção.

Como demonstrado na presente tese, os parâmetros sanguíneos e de estresse oxidativo podem ser considerados parâmetros eficientes para detecção de alterações no status de bem estar dos animais, provocados pela exposição dos juvenis de pacu às temperaturas adversas. Assim, estes parâmetros podem ser utilizados para o monitoramento da sanidade, permitindo adotar medidas de prevenção de forma antecipada, evitando assim prejuízos aos animais e, conseqüentemente a produção. Este estudo se mostrou importante, pois demonstrou que a temperatura exerce influência não só no crescimento dos animais, mas em um conjunto de fatores que estão fisiologicamente interligados e são capazes de interferir no êxito da produção, desde a criação até a qualidade do produto final, o filé.

Novos estudos devem ser realizados para determinar a temperatura de preferência da espécie *P. mesopotamicus* observando a influência sobre os parâmetros bioquímicos e hematológicos para que a criação seja realizada dentro de condições favoráveis para o bem-estar animal, evitando que ocorram alterações fisiológicas prejudiciais aos animais. Também é interessante a realização de estudos que possam auxiliar a verificar quais rotas metabólicas são utilizadas por esta espécie quando criado em diferentes temperaturas, o que possibilitará promover estratégias alimentares mais eficientes para o seu crescimento sem afetar a qualidade do filé, permitindo um crescimento de forma mais eficiente e menos onerosa para os produtores. Outro ponto a ser futuramente abordado seria avaliar o efeito da pressão ambiental, temperatura, sobre a adaptação dos animais ao ambiente, os quais podem ser demonstrados a partir de testes de expressão gênica.

## 7. Anexos

### **Anexo 1.** Regras do Fair use (Direito de uso de trabalho com direitos autorais)

17 U.S. Code § 107. Limitations on exclusive rights: Fair use.

Disponível em: <https://www.law.cornell.edu/uscode/text/17/107>

Notwithstanding the provisions of sections 106 and 106A, the fair use of a copyrighted work, including such use by reproduction in copies or phonorecords or by any other means specified by that section, for purposes such as criticism, comment, news reporting, teaching (including multiple copies for classroom use): scholarship, or **research**, is **not an infringement of copyright**. In determining whether the use made of a work in any particular case is a fair use the factors to be considered shall include:

(1) the purpose and character of the use, including whether such use is of a commercial nature or is for nonprofit educational purposes;

(2) the nature of the copyrighted work;

(3) the amount and substantiality of the portion used in relation to the copyrighted work as a whole; and

(4) the effect of the use upon the potential market for or value of the copyrighted work.

**Anexo 2.** LEI Nº 9.610, DE 19 DE FEVEREIRO DE 1998.

Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/19610.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19610.htm)

Altera, atualiza e consolida a legislação sobre direitos autorais e dá outras providências.

Capítulo IV - Das Limitações aos Direitos Autorais

Art. 46. Não constitui ofensa aos direitos autorais:

III - a citação em livros, jornais, revistas ou qualquer outro meio de comunicação, de passagens de qualquer obra, para fins de estudo, crítica ou polêmica, na medida justificada para o fim a atingir, indicando-se o nome do autor e a origem da obra.