

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE ÁGUA DOCE E
PESCA INTERIOR - BADPI**

**Influência da temperatura ambiental e dos cenários
climáticos futuros sobre os ácidos graxos ω -3 e ω -6 e
desempenho zootécnico do tambaqui (*Colossoma
macropomum*)**

Alzira Miranda de Oliveira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior, para obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

Manaus – AM

2014

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE ÁGUA DOCE E
PESCA INTERIOR - BADPI

**Influência da temperatura ambiental e dos cenários
climáticos futuros sobre os ácidos graxos ω -3 e ω -6 e
desempenho zootécnico do tambaqui (*Colossoma*
macropomum)**

Alzira Miranda de Oliveira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior, para obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

Orientador: Dr. Adalberto Luís Val

Financiamento: CNPq e FAPEAM

Manaus – AM

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Oliveira, Alzira Miranda de

Influência da temperatura ambiental e dos cenários climáticos futuros sobre os ácidos graxos ω -3 e ω -6 e desempenho zootécnico do tambaqui (*Colossoma macropomum*)/Alzira Miranda de Oliveira. ---
Manaus: AM, 2014

xi+127p.

Tese (doutorado) --- INPA, Manaus, 2014

Orientador: Dr. Adalberto Luís Val

Área de concentração: Biologia de Água Doce e Pesca Interior

SINOPSE:

Neste trabalho, foi estudado o efeito das variações ambientais sobre o tambaqui (*Colossoma macropomum*). No primeiro momento, caracterizou-se a influência dos ambientes, natural e de cativeiro, sobre a hematologia e metabolismo dos ácidos graxos. No segundo momento, a variação ambiental, prevista pelo IPCC para o ano 2100, foi avaliada a partir do crescimento, hematologia e metabolismo dos ácidos graxos. Em ambos os momentos, a temperatura parece ter um papel primordial sobre a fisiologia e metabolismo dos ácidos graxos do tambaqui.

Palavras chave: 1. Ambiente natural. 2. Cativeiro. 3. Cenários climáticos. 4. tambaqui. 5. Hematologia. 6. Estearoil-CoA. 7. Índices zootécnicos.

Aos meus queridos e amados pais Aluísio Souza de Oliveira (*in memoriam*) e Maria Gracinéia Miranda de Oliveira pelo amor, força, carinho e confiança em mim sempre depositados, o que contribuiu para minha formação e engrandecimento pessoal e profissional.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por me fazer acreditar que cada coisa acontece no seu tempo e que fé, esperança, paciência e dedicação são componentes primordiais para o sucesso.

A minha família que sempre me apoiou e entendeu minha ausência em vários momentos, em especial ao meu sobrinho João Gabriel que compartilhou alegrias e tristezas e me apoiou durante o experimento.

Ao meu orientador Dr. Adalberto Luís Val, que sempre acreditou no meu trabalho e, com carinho e broncas necessárias, me fez aprender a superar as dificuldades para que pudesse chegar nesse momento.

A Dra. Vera Val pelo carinho, apoio e incentivo em todos os momentos.

A MSc. Nazaré Paula e ao Dr. Rafael Duarte pela amizade, carinho, incentivo e apoio incondicional em todos os sentidos e em todos os momentos da minha caminhada.

Aos mestres colaboradores da molecular, Daniel Fagundes, Renato Lemgruber e Luciana Fé, minha professorinha querida, que meteram a mão na massa para que pudesse concluir minhas análises.

A Fernanda Dragan e Marcos Prado, meus parceiros de experimento, que me apoiaram e assumiram, quando necessário, a tarefa.

A Nayara Castro, Jéssica, Denise, Leca e Fábio Lopes que também contribuíram na obtenção dos resultados desse trabalho.

A Claudinha, D. Raimunda Araújo, Raquel Abecassis, Thiago Nascimento e Reginaldo pelo carinho e apoio de sempre.

Aos demais queridos amigos do LEEM: Helen, Daiani, Carol, Vivianne, Ramon, Derek, Suzana, Renan, Arlan, Rúbia, Andreza, Grazy, Márcio, Washington, entre outros que me apoiaram de todas as formas para a conclusão desse trabalho.

Aos doutores Carlos Edwar, Rogério de Jesus, Antônio Inhamuns, Ângela Varela, Jansen Zuanon, Sidineia Amadio e Cláudia de Deus pelo carinho, apoio e incentivo durante essa jornada.

A D. Inês Pereira (CPAq) pelas análises das rações.

A minha melhor amiga e irmã Káren Prado e minha amiga Fabíola Aquino que viveram comigo todas as alegrias e tristezas e nunca se negaram em ajudar quando precisava.

As amigas de todas as horas Christiane Oliveira, Katherine López, Nislanha Marshall, Nívia Lopes, Paulo Aride, André Bordinhon, Sandro Loris pela amizade, carinho, apoio nos momentos difíceis.

Aos meus amigos do CMC: Rodrigo Capelato, André Ghidini, Charles Melo e Ely Sena, que entenderam a minha ausência e nunca deixaram de me divertir durante a conclusão desse trabalho.

Aos meus amigos do UNINORTE, em especial a turma de Petróleo e Gás e da Escola de Exatas que torceram para que pudesse chegar com êxito na conclusão da tese.

A todos os piscicultores que nos receberam para realizar a coleta dos peixes: Sr. Rodrigo (Careiro da Várzea), por meio da Enga. de Pesca Alcelene Salerno (IDAM); D. Rosa (Tupé), pelo contato da Dra. Ana Cristina Belarmino; Sr. Edson do Canal de Igarapé, pelo contato do Dr. Sandro Loris e aos pescadores do INPA: China, Luís, Agenor, Fonseca, que me ajudaram na obtenção dos exemplares de campo.

Enfim, a todos os meus amigos que direta ou indiretamente contribuíram para que meu sonho se tornasse uma realidade.

***“O difícil nós fazemos agora, o impossível leva
um pouco mais de tempo.”***

*(David Ben Gurion, Estadista polonês, que
ajudou na criação de Israel)*

LISTA DE TABELAS

Capítulo I: Caracterização e comparação do perfil hematológico e do metabolismo dos ácidos graxos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) de ambiente natural e de cultivo.

Tabela 1.....21

Tabela 2.....24

Capítulo II: Efeitos de cenários climáticos sobre a fisiologia e metabolismo dos ácidos graxos do tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Tabela 1.....70

Tabela 2.....74

Tabela 3.....78

Tabela 4.....84

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I: Caracterização e comparação do perfil hematológico e do metabolismo dos ácidos graxos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) de ambiente natural e de cultivo.

Figura 1.....	28
Figura 2.....	30
Figura 3.....	31

Capítulo II: Efeitos de cenários climáticos sobre a fisiologia e metabolismo dos ácidos graxos do tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Figura 1.....	78
Figura 2.....	79
Figura 3.....	80
Figura 4.....	81
Figura 5.....	82
Figura 6.....	83
Figura 7.....	87
Figura 8.....	88
Figura 9.....	89
Figura 10.....	90
Figura 11.....	91
Figura 12.....	92

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	6
CAPÍTULO I	13
1. INTRODUÇÃO	16
1.1. Objetivo	21
2. MATERIAL E MÉTODOS	21
2.1. Obtenção das amostras	21
2.2. Caracterização dos pontos de coleta	22
2.3. Parâmetros hematológicos	23
2.4. Expressão de Estearoil- CoA (SCD)	24
2.5. Análise estatística	26
3. RESULTADOS	26
3.1. Variáveis limnológicas	26
3.2. Parâmetros Hematológicos	29
3.3. Expressão de Estearoil-CoA (SCD)	31
4. DISCUSSÃO	32
4.1. Variáveis limnológicas	32
4.2. Parâmetros Hematológicos	34
4.3. Expressão de Estearoil-CoA (SCD)	37
5. CONCLUSÕES	42
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
CAPÍTULO II	59
1. INTRODUÇÃO	62
1.1. Objetivo	70
1.1.1. Objetivos específicos	70
2. MATERIAL E MÉTODOS	70

2.1. Variáveis ambientais	72
2.2. Índices zootécnicos	73
2.3. Parâmetros hematológicos	73
2.4. Expressão de Estearoil-CoA (SCD)	74
2.5. Análise estatística	76
3. RESULTADOS	76
3.1. Variáveis ambientais	76
3.2. Índices zootécnicos	80
3.3. Parâmetros hematológicos	84
3.4. Expressão de Estearoil-CoA (SCD)	90
4. DISCUSSÃO	93
4.1. Variáveis ambientais	93
4.2. Índices zootécnicos	95
4.3. Parâmetros hematológicos	99
4.4. Expressão de Estearoil-CoA (SCD)	105
5. CONCLUSÕES	109
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	110

INTRODUÇÃO GERAL

Desde o início da revolução industrial, em meados do século XIX, a concentração atmosférica de gases causadores do efeito estufa tem aumentado significativamente (HANSEN *et al.*, 1981). A concentração atmosférica de dióxido de carbono (CO₂), por exemplo, aumentou de 280 ppm para 380 ppm, aproximadamente (RAVEN *et al.*, 2005) e, como consequência, ocasionou um aumento da temperatura atmosférica, devido a uma maior interação com a radiação infravermelha (CERRI e CERRI, 2007). Este aumento foi evidenciado por WALTHER *et al.* (2002) que descreveram um aumento de aproximadamente 0,6°C nos últimos 50 anos, representando uma mudança relativa de cerca de 30% dos valores pré-industriais.

Esse fenômeno, denominado aquecimento global, tem apresentado reflexos significativos nas mudanças climáticas, tais como distribuição irregular das chuvas, aumento ou diminuição de temperaturas da atmosfera, elevação do nível do mar, entre outros (IPCC, 2007). Sobre o ambiente aquático, FEELY *et al.* (2004) e IPCC (2007) relataram que a ação conjunta do aquecimento global e aumento do CO₂ atmosférico está fazendo com que o oceano se torne mais quente e ácido, este último por meio da absorção de CO₂, que dissolvido na água forma o ácido carbônico e contribui com a diminuição do pH.

Em termos gerais, a pressão de CO₂ na água é geralmente igual à do ar, especialmente próximo à superfície (HEISLER *et al.*, 1982). Assim, o aumento da concentração do CO₂ na atmosfera não causa apenas o aquecimento global, mas também aumenta sua pressão parcial nas águas (ATSUSHI e JUN, 1999). O grande problema, segundo CHOW *et al.* (1994) é que o aumento da concentração de CO₂ na água, além de diminuir o pH, ocasiona um aumento

do CO₂ no sangue dos animais, em especial dos peixes, pois reduz a velocidade de eliminação através das brânquias. Adicionalmente, CARMICHAEL *et al.* (1984) reportaram que esse aumento da concentração de CO₂ no sangue, pode causar efeito sedativo nos peixes, desacelerando o metabolismo e, conseqüentemente, reduzindo o consumo de oxigênio, a concentração de corticosteróides no plasma e a utilização da glicose, o que resulta na sua elevação sanguínea.

Considerando que a maioria das espécies de peixes é ectotérmica, variações na temperatura da água também podem afetar o metabolismo e ocasionar distúrbios fisiológicos (COSSINS e BOWLER,1987). Assim como a maioria dos animais, os peixes quando estão em faixas de temperatura que não são adequadas tendem a se deslocarem para locais onde há uma temperatura desejada (BRETT, 1971). Entretanto, essa dinâmica difere entre climas temperados e regiões tropicais, pois os peixes tendem a diferir quanto às faixas de temperatura que podem suportar, onde alguns apresentam um amplo intervalo de tolerância, enquanto outros apresentam tolerância restrita (SCHIMIDT-NIELSEN, 1996).

Peixes de zonas temperadas, por exemplo, apresentam faixa térmicas variando entre 4°C e 25°C, enquanto espécies tropicais apresentam faixa de temperatura entre 25°C e 35°C (ARANA, 1997). Embora essas faixas sejam bem definidas, BRETT (1969) reporta que os limites de tolerância térmica não são valores fixos e que os peixes podem se adaptar a temperaturas próximas daquelas consideradas letais. Além disso, peixes submetidos a altas temperaturas têm que conviver com a diminuição da solubilidade de oxigênio na água, com o aumento da demanda metabólica e, conseqüentemente, com o

elevado custo de manutenção do balanço energético, o que ocasiona mudanças substanciais nos parâmetros fisiológicos e metabólicos, tais como oxigenação do sangue e dos tecidos, bem como alterações dos níveis disponíveis de energia celular (VAL, 2000; SARTORIS *et al.*, 2003; ALMEIDA-VAL *et al.*, 2006).

O crescimento é um processo complexo onde atuam diferentes reações fisiológicas e, por isso, distúrbios orgânicos causados por mudanças no ambiente que causem alterações na homeostase orgânico, interferem com o crescimento do animal (ALMEIDA-VAL e VAL, 1995; SCHMIDT-NIELSEN, 1996; TAVARES-DIAS *et al.*, 1999). Em ambiente natural, os peixes evitam áreas onde a temperatura está fora de sua faixa de temperatura ideal, pois é esta que lhe proporciona maior crescimento (CALLAWAY *et al.*, 2012). Em cativeiro, entretanto, como os peixes não tem como migrar a temperaturas ideais, geralmente, reduzem o consumo de oxigênio quando a temperatura aumenta, mantendo o crescimento por meio da aclimatação a temperaturas mais elevadas (MAAREN *et al.*, 1999).

Embora o aumento da temperatura ainda possa manter o crescimento de algumas espécies de peixes pela aclimatação, FRASCÁ-SCORVO *et al.* (2001) ressaltam que a variação da temperatura para valores além dos limites da faixa ideal, os peixes reduzem ou até cessam a alimentação e, como consequência, há uma diminuição do crescimento. Além disso, LAPPALAINEN (2001) relata que embora algumas espécies apresentem maior crescimento em temperaturas elevadas no ambiente natural, o aumento da temperatura pode não ser a única condição a ser ajustadas para se obter bom desempenho na

criação, pois a disponibilidade e a qualidade dos alimentos também apresentam grande influência no metabolismo dos peixes.

Neste sentido, o impacto das mudanças climáticas sobre a aquicultura não se limitaria apenas ao crescimento dos animais, mas influenciaria também a qualidade da alimentação para compensar a maior demanda energética (CHO, 1992; LUPATSCH, 2009). O problema é que maior fornecimento de alimento significa maior custo de produção, além de ocasionar acúmulo de nutrientes que, associado às mudanças nos padrões de precipitação, poderia levar deterioração da qualidade de água (BERMINGHAM E MULCAHY (2004). Além disso, segundo RUBLEE *et al.* (2005), esta deterioração combinada com temperaturas mais elevadas, podem favorecer o aumento da infecção parasitária.

Assim, esse conjunto de preocupações com reflexos econômicos e ambientais está impulsionando a indústria aquícola a utilizar sistemas que permitam o controle total da temperatura e da qualidade da água, para garantir o fornecimento de pescado de boa qualidade. No entanto, estes investimentos representam custos mais altos (KING e PANKHURST, 2004).

Na Amazônia, o peixe é, sem dúvida, uma das principais fontes de alimento (SEBRAE, 2001; ALMEIDA e ALMEIDA, 2006). Entretanto, embora a bacia apresente uma infinidade de espécies, poucas são utilizadas como alimento (SANTOS *et al.*, 2006). Nesse sentido, o tambaqui por possuir carne bastante apreciada pela população local e por ter sofrido sobre-exploração em ambiente natural (BATISTA E PETRERE JR. 2003) é, atualmente, uma das principais espécies cultivadas na região (VAL *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2012).

O tambaqui entre outras espécies é considerado excelente e uma das principais fontes de proteína na região. É importante ressaltar que o peixe além da proteína contém compostos que são extremamente benéficos à saúde humana, como os ácidos graxos. A importância desses compostos é atribuída às várias funções orgânicas desempenhadas, entre as quais o desenvolvimento do sistema nervoso, a redução no processo inflamatório e a redução de doenças cardiovasculares (HARRIS, 1999; CAMPOS *et al.*, 2002; VISENTAINER *et al.*, 2003; CARVALHO *et al.*, 2003).

Diante dessas perspectivas, este trabalho visa contribuir com a elucidação do efeito das mudanças climáticas sobre a fisiologia e o metabolismo dos ácidos graxos do tambaqui. O capítulo I traz uma abordagem sobre o perfil hematológico e o metabolismo dos ácidos graxos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em ambiente natural e de cultivo, em três distintas estruturas de criação, com características ambientais distintas quanto a temperatura; enquanto o capítulo II retrata os efeitos de cenários climáticos, previstos pelo IPCC para o ano 2100, sobre a fisiologia e metabolismo dos ácidos graxos do tambaqui (*Colossoma macropomum*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, O.T.; Almeida, B. 2006. Caracterização e análise financeira da indústria pesqueira. *In: Almeida, O. (Org.). A indústria pesqueira na Amazônia*. Manaus: Ibama/ProVarzea. p. 83-107.
- Almeida-Val, V.M.F.; Gomes, A.R.C.; Lopes, N. P. 2006. Metabolic and Physiological adjustments to low oxygen and high temperature in fishes of the amazon. *In: Val, A. L., Almeida-Val, V. M. F. (Eds). The Physiology of Tropical Fishes*. Academic Press. 21: 443-500.
- Almeida-Val, V.M.F.; Val, A.L. 1995. Adaptação de peixes aos ambientes de criação. *In: Criando peixes na Amazônia*. A.L. Val & A. Honczaryk (Eds.). p. 45-58.
- Arana, L. A. 1997. *Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura*. Florianópolis: UFSC. 231p.
- Atsuhi. I.; Jun, K. 1999. Effects of environmental hypercapnia on fish. *Japanese Journal of Ichthyology*. 46: 1-13.
- Baldisseroto, B. 2009. *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. 2º Ed. Santa Maria: UFSM, 352p.
- Batista, V.S.; Petreire-Jr., M. 2003. Characterization of the commercial fish production landed at Manaus, Amazonas State, Brazil. *Acta Amazonica*, 33 (1):53- 65.
- Bechmann, R.K.; Taban, I.C.; Westerlund, S.; Godal, B.F.; Arnberg, M.; Vingen, S.; Ingvarsdottir, A.; Baussant, T. 2011. Effects of ocean acidification on early life stages of shrimp (*Pandalus borealis*) and mussel (*Mytilus edulis*). *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 74: 424–438.

Brett, J. R. 1969. Temperature and fish. *Chesapeake Science*, 10(3-4): 275-276.

Brett, J. R. 1971. Energetic responses of salmon to temperature. A study of some thermal relations in the physiology and freshwater ecology of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *American Zoologist*, 11(1): 99-113.

Callaway, R.; Shinn, A.P.; Grenfell, S.E.; Bron, J.E.; Burnell, G.; Cook, E.J.; Crumlish, M.; Culloty, S.; Davidson, K.; Ellis, R.P.; Flynn, K.J.; Fox, C.; Green, D.M.; Hays, G.C.; Hughes, A.D.; Johnston, E.; Lowe, C.D.; Lupatsch, I.; Malham, S.; Mendzil, A.F.; Nickell, T.; Pickerell, T.; Rowley, A.F.; Stanley, M.S.; Tocher, D.R.; Turnbull, J.F.; Webb, G.; Wootton, E.; Shields, R.J. 2012. Review of climate change impacts on marine aquaculture in the UK and Ireland. *Aquatic Conservation: Marine And Freshwater Ecosystems*. Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/aqc.2247

Campos, F.G.; Waitzberg, D.L.; Logulo, A.F. Torrinhas, R.S.; Teixeira, W.G.; Habr-Gama, A. Imunonutrição em colite experimental: efeitos benéficos dos ácidos graxos omega-3. *Arquivos de Gastroenterologia*, 48-54. 2002.

Carmichael, G.J.; Tomasso, J.R.; Simco, B.A.; Davis, K.B. 1984. Confinement and water quality induced stress in *Largemouth bass*. *Transactions of the American Fisheries Society*, 113: 767-777

- Carvalho, P.O.; Campos, P.B.R.; Noffs, M.; Oliveira, J.G.; Shimizu, M.T.; Silva, D.M. 2003. Aplicação de lípases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos polinsaturados. *Química Nova*, 75-80.
- Cerri, C. C.; Cerri, C. E. P. 2007. Agricultura e aquecimento global. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, 32 (1), 40-44.
- Cho, C.Y. 1992. Feeding systems for rainbow trout and other salmonids with reference to current estimates of energy and protein requirements. *Aquaculture*, 100: 107–123.
- Chow, P.S.; Chen, T.W.; Teo, L.H. 1994. Physiological responses of the common clowfish *Amphiprion ocellaris* (Cuvier) to factors related to packaging and long-distance transport by air. *Aquaculture*, 127: 347-361.
- Cossins, A.R.; Bowler, K. 1987. *Temperature Biology of Animals*. London: Chapman & Hall. 372p.
- Feely, R. A.; Sabine, C. L.; Lee, K.; Berelson, W.; Kleypas, J.; Fabry, V. J.; Millero, F. J. 2004. Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the oceans. *Science*, 305 (5682): 362-366.
- Frasca-Scorvo, C.M.D.; Carneiro, D.J.; Malheiros, E.B. 2001. Comportamento alimentar do matrinxã (*Brycon cephalus*) no período de temperaturas mais baixas. *Boletim do Instituto de Pesca*, 27 (1): 1-5.
- Hansen, J.; Johnson, D.; Lacis, A.; Lebedeff, S.; Lee, P.; Rind, D.; Russell, G. 1981. Climate impact of increasing atmospheric carbon dioxide. *Science*, 213 (4511): 957-966.

- Harris, W. S. 1999. Nonpharmacologic treatment of hypertriglyceridemia: focus of fish oils. *Clinical Cardiology*, 22 40-2243.
- Heisler, N.; Forcht, G.; Ultsch, G.R.; Anderson, J.F. 1982. Acid-base regulation in response to environmental hypercapnia in two aquatic salamanders, *Siren lacertina* and *Amphiuma means*. *Respiration Physiology*, 49: 141–158.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2007. Summary for Policymakers. In: Solomon, S.; Qin, D.; Manning, M., Chen, Z.; Marquis, M.; Averyt, K.B.; Tignor, M.; Miller, H.L. (Eds). *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, United States of America. p. 1-17.
- King, H.R.; Pankhurst, N.W. 2004. Effect of maintenance at elevated temperatures on ovulation and luteinizing hormone releasing hormone analogue (LHRHa) responsiveness of female Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Tasmania. *Aquaculture*, 233: 583–597.
- Lappalainen, J. 2001. Effects of environmental factors, especially temperature, on the population dynamics of pikperch (*Stizostediuon lucioperca*). Helsinki. 28p. (Dissertação Acadêmica. Universidade de Helsinki)
- Lupatsch I. 2009. Quantifying nutritional requirements in aquaculture – the factorial approach. In: Burnell G, Allan G (eds). *New Technologies in*

Aquaculture: Improving Production Efficiency, Quality and Environmental Management. Woodhead Publishing: Cambridge. p. 417–439.

Maaren, C.C.V.; Kita, J.; Daniels, H.V. 1999. Temperature tolerance and oxygen consumption rates for juvenile southern flounder *Paralichthys lethostigma* acclimated to five different temperatures. *UJNR Technical Report*, 28: 135-140.

Oliveira, A. M.; Silva, M. N. P.; Almeida-Val, V. M. F.; Val, A. L. 2012. Caracterização da atividade de piscicultura nas mesoregiões do estado do Amazonas, Amazônia brasileira. *Revista Colombiana Ciência Animal*, 4:154-162.

Raven, J.; Caldeira, K.; Elderfield, H.; Hoegh-Guldberg, O.; Liss, P.S.; Riebesell, U.; Shepard, J.; Turley, C.; Watson, A.J. 2005. *Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide*. The Royal Society. 68p.

Rublee, P.A.; Remington, D.L.; Schaefer, E.F.; Marshall, M.M. 2005. Detection of the dinoflagellates *Pfiesteria piscicida* and *P. shumwayae*: a review of detection methods and geographic distribution. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 52: 83 –89.

Santos, G.M.; Ferreira, E. J. G.; Zuanon, J. A.S. 2006. *Peixes comerciais de Manaus*. 2. ed. Manaus: Editora INPA. 144p.

Sartoris, F. J.; Bock, C.; Serendero, G.; Lannig, G.; Pörtner, H. 2003. Temperature dependent changes in energy metabolism, intracellular pH

and blood oxygen tension in the Atlantic cod. *Journal Fish Biology*, 1239 - 1253.

Schmidt-Nielsen, K. *Fisiologia animal-adaptação e meio ambiente*. 5.ed. São Paulo: Santos, 1996. 546p

Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE). 2001. *Criação de Pirarucu em Cativeiro*. Manaus-AM.

Tavares-Dias, M.; Frascá-Scorvo, C. M.D.; Moraes, F.R.; Campos-Filho, E. 1999. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. IV. Parâmetros eritroleucométricos, trombométricos e glicemia do matrinxã *Brycon cephalus* Günther, 1869 (Osteichthyes:Characidae). *Ars Veterinaria* 15: 149-153.

Val, A.L. 2000. Organic phosphates in the red blood cells of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 125(A): 417-435.

Val, A.L.; Rolim, P.R.; Rabelo, H. 2000. Situação atual da aqüicultura no Norte. Pags. 247-266. Em: Valenti, W.C.; Poli, C.R.; Pereira, J.A.; Borghetti, J.R. (Eds.). *Aqüicultura no Brasil. Bases para um desenvolvimento sustentável*. CNPq/ Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasília, Brasil.

Visentainer, J. V.; Matsushita, M.; Souza, N. E.; Catharino, R. R.; Franco, M. R. B. 2003. Composição química e ácidos graxos em tilápias (*Oreochromis niloticus*) submetidas à dieta prolongada. *Revista Nacional da Carne*, 313: 109-112.

Walther, G.R.; Post, E.; Convey, P.; Menzel, A.; Parmesan, C.; Beebee T. J. C.;
Fromentin, J.M.; Hoegh-Guldberg, O.; Bairlein, F. 2002. Ecological
responses to recent climate change. *Nature*, 416: 389–395.

CAPÍTULO I

Caracterização e comparação do perfil hematológico e do metabolismo dos ácidos graxos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) de ambiente natural e de cultivo.

RESUMO

Caracterização e comparação do perfil hematológico e do metabolismo dos ácidos graxos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) de ambiente natural e de cultivo.

A bacia Amazônica apresenta uma infinidade de cursos d'água, tais como rios, igarapés, paranás, lagos e extensas áreas de igapó e várzea, que hospedam em sua complexidade os mais diferentes tipos de animais. A várzea apresenta a maior riqueza e diversidade íctica da região. Entre as espécies hospedadas está o tambaqui, que por possuir carne bastante apreciada pela população local, sofreu sobre-exploração em ambiente natural e, atualmente, é a principal espécie cultivada na região. O objetivo deste trabalho foi caracterizar e comparar o perfil hematológico e o metabolismo de ácidos graxos do tambaqui (*Colossoma macropomum*) de ambiente natural e de cultivo. Para tanto, exemplares de tambaqui foram coletados na natureza (Lago do Catalão/ AM) e três pisciculturas (Lago do Tupé, Estrada de Manacapuru e Careiro da Várzea/ AM) com estruturas de criação distintas, no mesmo período e condições de coleta. Durante a coleta, os parâmetros limnológicos foram medidos e 12 animais foram colhidos, pesados e medidos. Amostras de sangue de cada animal foi retirada para análise de hemograma e, amostras de fígado e músculo que foram utilizados para análise da expressão da esteroil-CoA. A significância das diferenças entre as médias foi avaliada. As variáveis limnológicas retrataram as variações típicas das diferentes estruturas. Dos parâmetros hematológicos, a concentração de hemoglobina ([Hb]), o hematócrito (Ht) e o número de eritrócitos (RBC) foram maiores ($p < 0,05$) nos animais coletados no canal de igarapé, enquanto que a hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) apresentaram diminuição ($p < 0,05$). A taxa de transcrição do SCD no fígado foi maior ($p < 0,05$) nos animais coletados no tanque-rede e canal de igarapé. No músculo, houve um aumento da expressão de SCD somente nos animais coletados no tanque-rede ($p < 0,05$). Os exemplares de tambaqui apresentam perfil hematológico compatível com os ambientes nos quais estão sendo criados. A expressão do gene SCD no fígado do tambaqui foi maior ($p < 0,05$) em exemplares de canal de igarapé, o que se relaciona com as temperaturas mais amenas deste local.

ABSTRACT

Characterization and comparison of the hematological profiles and fatty acids metabolism of “tambaqui” (*Colossoma macropomum*) in natural and controlled environments.

The Amazon Basin is known for its infinity of rivers, streams, lakes and extensive flooded areas, “igapós” and “varzeas”, that host within its complexity of habitats a great number of animals. The flooded areas (várzea) has the highest richness and diversity of fishes within this region. Among the species, the “tambaqui”, one of the most cultivated in the region, is much appreciated by the local habitants for its flavor and has suffered over-exploitation in its natural habitat. The main purpose of this study was to characterize and compare the hematological profiles and the fatty acids metabolism in “tambaqui” species (*Colossoma macropomum*), in natural and controlled environments. In order to achieve this purpose, specimens of “tambaqui” were taken from nature (Catalão Lake/AM) and from fish farms using different raising methods (Tupé Lake, Manacapuru’s road and Careiro da Várzea/AM) in the same period and sampling method. During sampling, limnological variables were measured and 12 animals were captured, weighted and measured. Blood samples were taken from each animal for posterior analysis (hemogram), as well as liver samples (for stearyl-CoA expression analysis). Riverine fish presented higher hemoglobin concentration ([Hb]), hematocrit (Ht) and erythrocyte counts (RBC) and lower values for mean corpuscular hemoglobin (MCH) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) ($p < 0,05$). The transcription rate of SCD in the liver was higher in the animals taken from the farm cages and the streams. There was an increase of SCD expression only in the muscles of farm cages animals ($p < 0,05$). The specimens of “tambaqui” had a hematological profile compatible with their breeding environment. The expression of SCD gene in the liver was highest in the streams specimens, that is related with the decreased water temperature of these locations.

1. INTRODUÇÃO

A Bacia Amazônica é a mais ampla área de floresta tropical do mundo. Nela é encontrada uma rica biodiversidade distribuída nos mais diferentes ecossistemas (SIOLI, 1984). O ecossistema aquático, por exemplo, é formado por uma infinidade de rios, igarapés, paranás, lagos e extensas áreas de igapó e várzea, que hospedam em sua complexidade os mais diferentes tipos de animais (LOWE- MACCONNEL, 1999). A várzea é uma grande área formada pelo transbordamento do canal dos rios de águas brancas, que apresentam variações temporais e espaciais, ocasionadas pela troca de água (ALMEIDA e MELO, 2006). É considerada como um ambiente ao mesmo tempo relevante e vulnerável; relevante por apresentar a maior riqueza e diversidade íctica da Amazônia (HENDERSON e CRAMPTON, 1997) e vulnerável por estar na interface entre a terra firme e o ambiente fluvial sofrendo as intercorrências dos dois ecossistemas.

Entre as espécies abrigadas pela várzea estão aquelas consideradas de alto valor comercial, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*) (CLARO-JR *et al.*, 2004). O tambaqui é considerado o maior Characiforme da Bacia Amazônica, podendo alcançar um metro de comprimento e até 30kg de peso (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998). Está amplamente distribuído na América do Sul, em ambientes ricos em nutrientes e com temperaturas médias entre 25° e 34°C (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998). Possui carne bastante apreciada, o que lhe rendeu uma sobre-exploração em ambiente natural (FREITAS, 2003).

Atualmente, devido à demanda, o tambaqui está sendo cultivado em todos os estados da federação (GOMES *et al.* 2010), sendo a principal espécie criada na região Amazônica (VAL *et al.*, 2000). Inicialmente, o tambaqui foi

amplamente produzido em viveiros e barragens (IZEL, 2004). Entretanto, com o avanço da tecnologia e com o objetivo de otimizar a criação, novas estruturas foram inseridas na produção. OLIVEIRA *et al.* (2012) descreveram que no Amazonas, no momento, esta espécie está sendo cultivada em quatro diferentes tipos de estrutura: barragem, tanque escavado (viveiros), tanque-rede e canal de igarapé.

De forma geral, os estudos realizados com o tambaqui nas diferentes estruturas de criação mostraram um bom retorno na produção (ARBELÁEZ-ROJAS, 2002; IZEL e MELO, 2004; GOMES *et al.*, 2004). Entretanto, estes trabalhos não relacionam os resultados obtidos às variáveis ambientais. HAKANSON *et al.* (2000) observaram que os ambientes aquáticos são dinâmicos e que podem sofrer grandes variações nas suas características físicas e químicas ao longo do tempo. Dentro desse contexto, AYROZA *et al.* (2008) assumiram que o controle da qualidade da água é de extrema relevância na implantação e manutenção do cultivo de peixes e CECCARELLI *et al.* (2000) preveniram que o conhecimento das propriedades físicas, químicas e biológicas dos ambientes de criação, são fatores limitantes para a produção e fornecem subsídios para o conhecimento das interações entre peixes e ambiente de criação.

Comumente, é encontrado nos trabalhos com criação de peixes uma caracterização das variáveis ambientais, em especial oxigênio dissolvido, pH e temperatura, embora na maioria dos trabalhos não haja uma relação causal entre os efeitos desses fatores na produção. BALDISSEROTTO (2009) relatou que qualquer fator ambiental que afete o consumo de energia e/ou metabolismo pode influenciar na produção, devido ao efeito sobre o

crescimento. Adicionalmente, VAL *et al.* (2006) reportou que as mudanças ambientais ocasionam um conjunto de ajustes orgânicos que, dependendo da intensidade, podem provocar uma condição de estresse.

O estresse é um estado orgânico que induz mudanças fisiológicas e bioquímicas podendo ser causado por condição orgânica ou ambiental (Val *et al.*, 2004). Em ambas as situações, ao se deparar com o agente estressor, o organismo libera hormônios de estresse, basicamente catecolaminas e cortisol (VAL *et al.*, 2004). As catecolaminas estimulam uma série de ajustes fisiológicos e bioquímicos, entre os quais a contração do baço para a liberação de eritrócitos (VAL, 1996).

Para indivíduos de tambaqui capturados no rio Solimões (AM), VAL (1986) observou um aumento no número de eritrócitos com a elevação da temperatura da água, embora os valores de hematócrito e outros índices hematimétricos não tenham apresentado alteração. A explicação para este acontecimento é dada por RANZANI-PAIVA e SILVA-SOUSA (2004) ao sugerirem que em águas mais quentes é comum baixas concentrações de oxigênio dissolvido, dessa maneira o aumento dos valores hemáticos podem representar a necessidade de aumento de captação desse gás.

Além das alterações sanguíneas, a temperatura pode alterar o estado físico dos lipídeos e, assim, modificar a conformação da membrana fosfolipídica (MOYES e SCHULTE, 2010). As células regulam a fluidez da membrana controlando a natureza dos lipídeos para obter o grau apropriado de movimento. Assim, várias espécies de animais procuram compensar o efeito do ambiente, modificando o perfil lipídico (MOYES e SCHULTE, 2010). Para muitos teleósteos, TOCHER (2003) relata a utilização do aumento na

proporção de ácidos graxos insaturados na membrana, como uma estratégia adaptativa importante em relação à temperatura.

Segundo MOYES e SCHULTE (2010), há dois efeitos consideráveis da temperatura sobre a membrana: baixas temperaturas podem promover uma solidificação da membrana, prejudicando o movimento das proteínas; enquanto altas temperaturas podem liquefazer a membrana, comprometendo sua integridade e reduzindo sua permeabilidade. Considerando que o ponto de fusão dos ácidos graxos está relacionado ao número de insaturações, quanto maior esse número, menor será o ponto de fusão. NETTLETON (1985), ACKMAN (1989) e SAITO *et al.* (1999) propuseram que para garantir a permeabilidade da membrana em baixas temperaturas é necessário uma maior ingestão de ácidos graxos altamente insaturados (Highly Unsaturated Fatty Acids – HUFAs). Portanto, de acordo com estes estudos e a sugestão de TOCHER (2003), o nível de ácidos graxos insaturados não depende apenas do tipo de dieta, mas da dessaturação dos ácidos graxos.

De acordo com OLSEN (1998), os peixes foram perdendo sua capacidade de alongar e dessaturar os ácidos graxos poli-insaturados (Polyunsaturated fatty acid -PUFAs) ao longo do processo evolutivo, pois estes provinham diretamente da dieta, reduzindo as atividades enzimáticas que realizavam este trabalho. Conseqüentemente, para obter os ácidos graxos da família ômega de cadeia longa, os peixes passaram a consumir alimentos ricos em precursores, que são endogenamente sintetizados, PUFA e HUFA (HENDERSON e TOCHER, 1987; SARGENT *et al.*, 2002).

Peixes marinhos apresentam altas quantidades de ácidos graxos, especialmente os poli-insaturados da família ômega 3, embora apresentem

grandes variações na atividade enzimática e apresentem baixíssima ou mesmo nenhuma capacidade de bioconversão das famílias ômega. Por outro lado, ainda que as espécies de água doce apresentem baixas quantidades dos ácidos graxos ômega 3, possuem todas as enzimas com capacidade de alongar e dessaturar ácidos graxos precursores, para seus correspondentes sequenciais de uma determinada família n-3 ou n-6 (SUZUKI *et al.*, 1986; CHANMUGAM *et al.*, 1986; BELL *et al.*, 1986; JAHNCKE *et al.*, 1988; VANVLIET e KATAN, 1990; MARTINO e TAKAHASHI, 2001).

A esteroil-CoA dessaturase é uma enzima chave para catalisar reações de inserção de duplas ligações para formar ácidos graxos insaturados, formando o primeiro e mais crítico passo na síntese de ácidos graxos no organismo. Em consequência, sua atividade pode influenciar na composição de ácidos graxos e, portanto, interferir na capacidade adaptativa ao estresse térmico (MURRAY *et al.*, 2002). Por outro lado, a atividade da esteroil-CoA pode variar entre as espécie e poucos trabalhos demonstram sua ação (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Considerando que na Amazônia há uma enorme variedade de habitats e, portanto, variações ambientais, e que os peixes apresentam ferramentas para síntese de ácidos graxos da família ômega, estudos mais detalhados sobre a biossíntese dos ácidos graxos em diferentes ambientes são importantes para avaliar a potencialidade dos peixes nativos como rica fonte de ácidos graxos essenciais da família omega.

1.1. Objetivo

Caracterizar e comparar o perfil hematológico e o metabolismo de ácidos graxos do tambaqui (*Colossoma macropomum*) de ambiente natural e de cultivo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção das amostras

Exemplares de tambaqui (*Colossoma macropomum*) foram coletados na natureza: Lago Catalão (S03°10.162' / W059°54.525') e em três pisciculturas da região: Lago do Tupé (S03°02.257' / W060°15.122'), Estrada de Manacapuru (S03°09.787' / W060°16.168') e Careiro da Várzea (S03°11.860' / W059°50.914'). A escolha das fazendas baseou-se no tipo de estrutura utilizada para criação: tanque-rede, canal de igarapé e tanque escavado, respectivamente, e na disponibilidade de animais com a mesma idade. Todas as coletas ocorreram em julho de 2013, entre 09:00h e 10:00h. Em cada ponto foram realizadas as medidas das variáveis limnológicas: temperatura, concentração de oxigênio dissolvido, condutividade e pH, com o auxílio de um aparelho multianalisador (YSI 85) e um pHmetro portátil (YSI 100). Em todos os ambientes foram capturados 12 animais (n=12). Na natureza foram utilizadas malhadeiras, com 20mm entre nós opostos, e nas fazendas foram utilizadas redes de arrasto, de acordo com a prática local. Além dos animais, cerca de 100 g de ração utilizada nas diferentes criações foram adquiridas para análise proximal (Tabela 1).

Tabela 1. Composição proximal da ração comercial base utilizada na alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*), nas diferentes pisciculturas.

Características (%MS)	Tanque-rede	Canal de Igarapé	Tanque escavado
Matéria Seca	90,8	90,1	91,0
Cinza	12	9,6	13,7
Extrato etéreo	3,4	1,8	3,8
Proteína bruta	27,5	34,7	28,8
Fibra bruta	4,8	4,6	5,8

2.2. Caracterização dos pontos de coleta

O lago Catalão, um lago de inundação situado entre os rios Negro e Solimões, nas proximidades de Manaus (Estado do Amazonas - AM), é considerado um lago de águas mistas (brancas e pretas), submetido ao pulso de inundação anual e que na época da cheia tende a coluna d'água a permanecer termicamente estratificada (ALMEIDA e MELO, 2009). As variáveis limnológicas do local são modificadas de acordo com a época do ano, devido à sazonalidade e a prevalência do tipo de rio (ALMEIDA e MELO, 2009).

O tanque-rede utilizado neste estudo estava situado na comunidade São João do Tupé, lago do Tupé (AM). Trata-se de um sistema utilizado em ambiente natural, geralmente rios e lagos, semelhante à gaiola, constituído de flutuadores e uma malha com formato retangular. Tais características permitem a esta estrutura boa renovação de água, altas densidades de estocagem, baixo acúmulo de nutrientes, devido ao seu formato e disposição no ambiente (BEVERIDGE, 1996; GOMES *et al.*, 2004).

O canal de igarapé estava situado no km 23 da estrada que liga Manaus a Manacapuru (AM). É uma estrutura que consiste no desvio de trechos de pequenos igarapés em terra firme, que são cercados a jusante e a montante, com as laterais reforçadas por estruturas que garantam o aumento de volume d'água, geralmente *rip rap* (solo-cimento ensacado). Pelas características do

corpo d'água, propicia um sistema dinâmico, semelhante ao *raceway* (sistema de fluxo) com amplo fluxo de água e, portanto, com bons níveis de oxigênio, embora a temperatura seja menor se comparada a outras estruturas (LEMOS *et al.*, 2007).

O tanque escavado utilizado neste estudo estava situado no Careiro da Várzea (AM), onde a água de abastecimento era proveniente do rio Solimões (água branca). A estrutura é caracterizada por escavações em terrenos onde o relevo é plano e suave, com solo argiloso para evitar infiltração (ARAÚJO-LIMA e GOMES, 2005). Em geral, apresenta baixa renovação de água e, portanto, tende a apresentar baixa disponibilidade de oxigênio e estratificações térmicas e químicas na coluna d'água (HENRY-SILVA *et al.*, 2010).

2.3. Parâmetros hematológicos

Para a realização das análises sanguíneas, os peixes foram anestesiados com benzocaína (3-Éster etílico aminobenzóico) (5mg/L) e o sangue foi coletado da veia caudal usando seringas heparinizadas. Foram analisados os seguintes parâmetros: glicose (“kit” Accu-Chek Advantage 2 Roche®/Alemanha); hematócrito (Ht), por meio da técnica de micro-hematócrito e leitura em cartão padronizado; concentração de hemoglobina [Hb], usando o método da cianometahemoglobina e leitura em espectrofotômetro (KAMPEN e ZIJLSTRA, 1964); contagem de células vermelhas do sangue em câmara de Neubauer; e constantes corpusculares (VCM - volume corpuscular médio; HCM - hemoglobina corpuscular média; CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média), calculadas de acordo com BROWN (1976). Após obtenção

do sangue, amostras de músculo e fígado foram coletadas com o auxílio de material cirúrgico autoclavado.

2.4. Expressão de Estearoil- CoA (SCD)

O RNA total do músculo e do fígado de tambaqui foi extraído com o uso de 500 µL de Reagente TRIzol® (Invitrogen, Life Technologies/ EUA), conforme instruções do fabricante com algumas modificações. Para ambos os tecidos, foi acrescentado ao protocolo o acondicionamento das amostras em freezer -80°C, por 5 minutos, antes da 3ª etapa de centrifugação. Em seguida, a concentração e pureza de todas as amostras de RNA total foram medidas em espectrofotômetro NanoDrop® 2000 (ThermoScientific/ EUA). A integridade do RNA total isolado foi verificada em gel de agarose 1% por meio da visualização dos RNAs ribossômicos (rRNA) 28S e 18S, sendo o gel visualizado em luz ultravioleta (UV) no fototransiluminador Molecular Imaging L-Pix (Loccus Biotecnologia/Brasil). Após a avaliação da integridade, as amostras de RNA foram tratadas com DNase I (Invitrogen, Life Technologies/EUA), seguindo a descrição do fabricante. A síntese de cDNA foi realizada seguindo as instruções do fabricante para o kit Revert Aid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis (Fermentas/Lituânia). A confirmação da síntese de DNA complementar foi realizada por eletroforese em gel de agarose 1% (m/v), com tampão TAE 1X, corado com GelRed (Biotium, Uniscience/ EUA) e visualizado em foto transiluminador de luz UV. A quantificação das amostras de cDNA foi realizada por meio de espectrofotometria.

A amplificação do gene estearoil-CoA dessaturase-1 (*SCD-1*) foi realizada com o auxílio de um termociclador Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems/ Singapura), com temperatura média de anelamento (T_m) de 55°C.

A amplificação dos produtos foi confirmada por meio de eletroforese em gel de agarose 1% (m/v), em tampão TAE 1X marcado com GelRed (Biotium, Uniscience/ EUA) e, para a confirmação dos tamanhos dos fragmentos amplificados, foi adicionado ao gel um marcador de peso molecular conhecido. As bandas específicas obtidas para o gene foram purificadas em sistema E-Gel® Clone Well (Invitrogen/ EUA), conforme especificações do fabricante e estocado em freezer -20 °C até análises futuras.

O sequenciamento do gene *SCD-1* do tabaqui foi realizada com o kit ABI PRISM® Big Dye TM Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (Applied Biosystems/ Singapura), seguindo as instruções do fabricante, utilizando-se placa de 96 poços. Em seguida, as sequências obtidas foram analisadas por meio do software Sequence Analyzer e, então, validadas pelos algoritmos BLASTn e BLASTx disponíveis no programa BLAST, disponível no banco de dados NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). A partir da validação das sequências obtidas, foram desenhados os *primers* específicos do gene *SCD-1*, usando-se o software Oligo Explorer v. 1.1.2 (TEEMUKUULASMAA, Universidade de Kuopio, Finlândia).

Tabela 2. Sequências dos oligonucleotídeos iniciadores forward (F) e reverse (R) utilizados na reação de PCR.

Gene	Sequência dos oligonucleotídeos (5'- 3')	Tamanho do fragmento (pb) ¹
SCD	(F)ATGACCACCTTGTCTGCCTT (R) CTTCTCTCACATTGGCTGG	150
28S	(F)AAAGGGTGTCTGGGTTTCAGAT (R) CGGGTTCGTTTGCATTAC	150

¹ número de pares de bases do fragmento. Substituição de bases no momento da síntese: H=A/T/C; Y=C/T; R=G/A.

As reações de qPCR (Reação de Polimerização em Cadeia em Tempo Real) foram realizadas em triplicata no termociclador ABI Prism 7300 Sequence

Detection System (Applied Biosystems/ EUA). O gene ribossomal 28S foi utilizado como controle endógeno das análises, servindo como gene de referência para a normalização das reações. Os níveis de expressão do gene *SCD-1* em tabaqui foram calculados pelo método de quantificação relativa $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (PFAFFL, 2001).

2.5. Análise estatística

Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média (n=12). A significância estatística das diferenças entre as médias de cada local de coleta foi estimada por meio da análise de variância (ANOVA) de um fator, assumindo um nível de significância de 5%. O teste de Tukey foi usado para contraste entre as médias. Para as variáveis Ht, [Hb], VCM e HCM foram aplicadas ANOVA em ranks, devido a violação das premissas para aplicação da ANOVA de um fator, e o teste de Student-Newman-Keuls foi utilizado para contraste entre as médias (ZAR, 1984).

3. RESULTADOS

3.1. Variáveis limnológicas

As variáveis limnológicas apresentaram variações, com diferença significativa entre os pontos de coleta (figura 1). A menor temperatura foi encontrada no canal de Igarapé, enquanto a maior no tanque escavado, com diferença significativa entre os dois pontos (figura 1A). A concentração de oxigênio dissolvido foi maior ($p < 0,05$) no canal de Igarapé, em relação aos outros três pontos de coleta: natureza, tanque-rede e tanque escavado (figura 1B). O pH também foi mais elevado no canal de Igarapé, com diferença

estatística em relação ao tanque escavado e a natureza (figura 1C). A condutividade elétrica foi maior ($p < 0,05$) na natureza e tanque escavado e menor ($p < 0,05$) no tanque-rede e canal de igarapé (figura 1D).

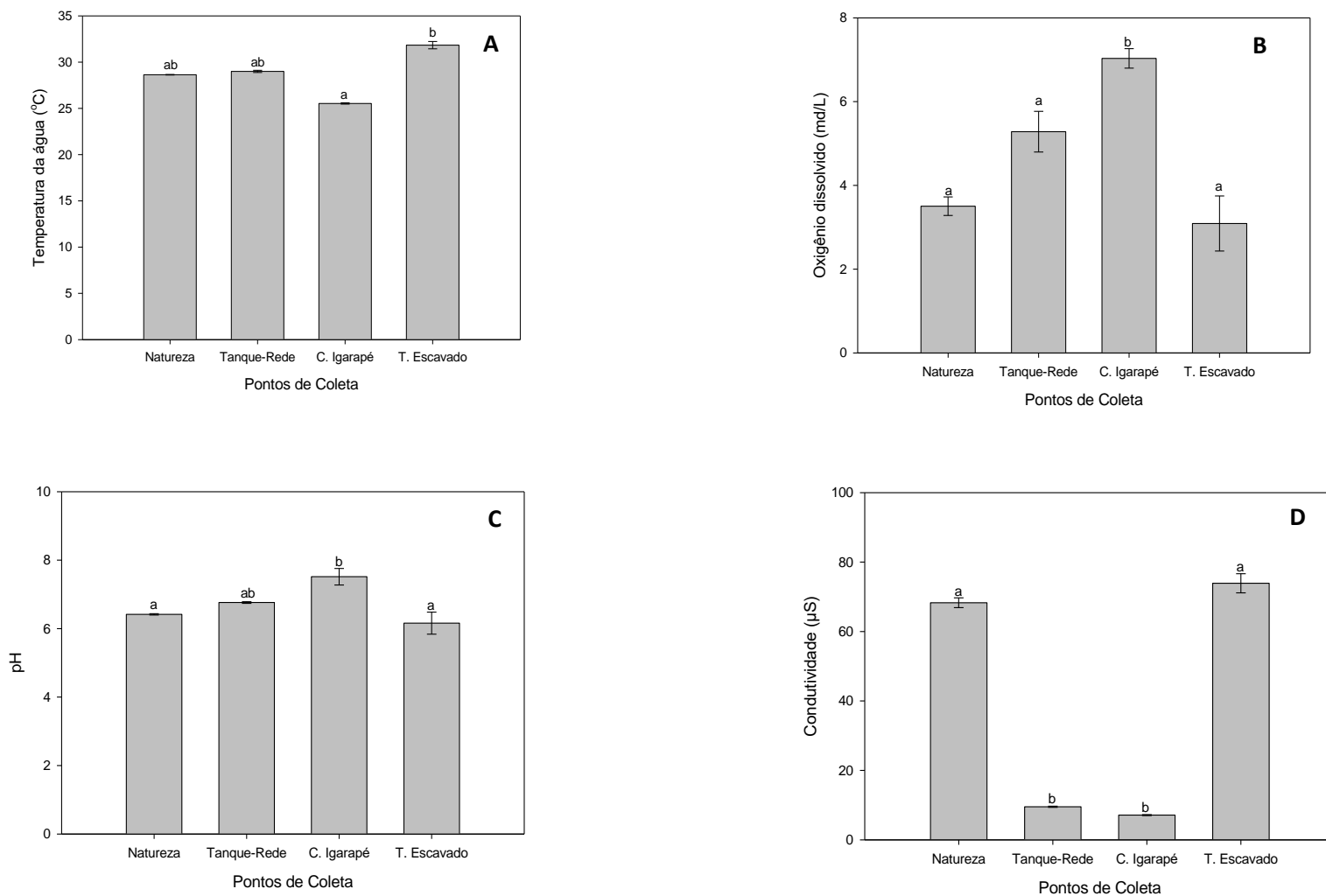


Figura 1. Variáveis limnológicas dos pontos de coleta utilizados para amostragem de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em ambiente natural e de cultivo: temperatura (A), oxigênio dissolvido (B), pH (C) e condutividade (D). Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) entre os pontos de coleta.

3.2. Parâmetros Hematológicos

Os resultados obtidos apontaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para a maioria dos parâmetros hematológicos analisados (Figura 2). Os exemplares de tambaqui coletados na natureza e tanque-rede apresentaram a menor [Hb] ($p < 0,05$), enquanto os indivíduos coletados no canal de Igarapé e tanque escavado apresentaram a maior [Hb] ($p < 0,05$) (figura 2A). Em contrapartida, o hematócrito (figura 2C) e o número de eritrócitos (figura 2E) apresentaram diferença significativa apenas entre os animais coletados na natureza e canal de Igarapé, sendo maiores naqueles animais coletados em canal de Igarapé. Das constantes corpusculares analisadas, o volume corpuscular médio não apresentou diferença significativa para o tambaqui, entre os pontos amostrados (figura 2B). A HCM apresentou diminuição ($p < 0,05$) para os animais coletados no tanque-rede, comparada aos animais do canal de Igarapé e tanque escavado; e a CHCM apresentou menor percentual para os animais coletados na natureza e tanque-rede (figuras 2D e 2F, respectivamente).

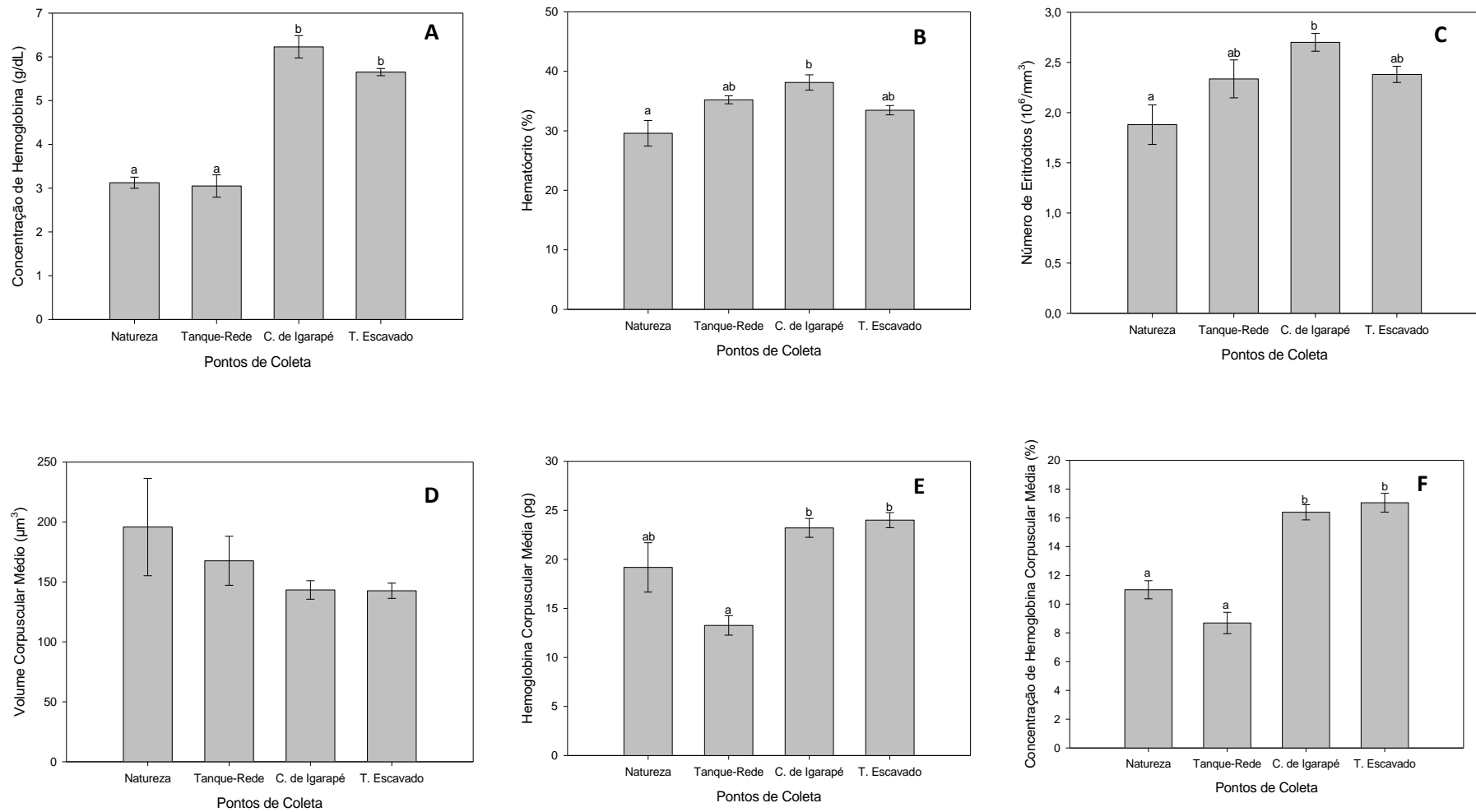


Figura 2. Perfil hematológico de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) de ambiente natural e de cultivo. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) entre os pontos de coleta

3.3. Expressão de Estearoil-CoA (SCD)

A taxa de transcrição do SCD no fígado foi maior ($p < 0,05$) nos animais coletados no tanque-rede e canal de Igarapé, em comparação aos outros pontos de coleta (figura 3A). Por outro lado, ocorreu um aumento dos transcritos do SCD somente no músculo dos animais coletados no tanque-rede ($p < 0,05$) (figura 3B).

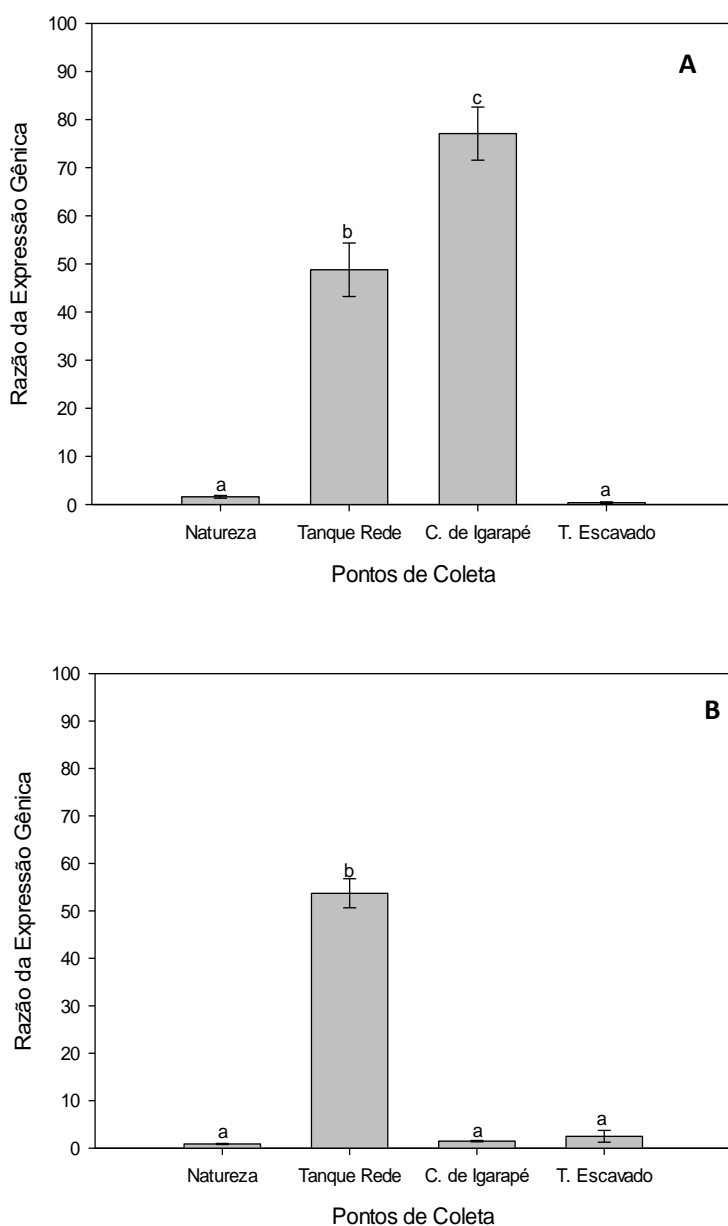


Figura 3. Expressão relativa da SCD (Estearoil-CoA) de fígado (A) e músculo (B) do juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*), de ambiente natural e de cultivo. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) entre os pontos de coleta.

4. DISCUSSÃO

4.1. Variáveis limnológicas

Neste trabalho, todas as variáveis limnológicas avaliadas estão de acordo com aquelas recomendadas para a criação de tambaqui (IZEL, 2004; GOMES *et al.*, 2010), retratando as variações típicas das diferentes estruturas, conforme a descrição da literatura (ARBELÁEZ-ROJAS, 2002; CHAGAS *et al.*, 2007; GOMES e SILVA, 2009). As diferenças aqui foram observadas para o canal de igarapé, que apresentou menores temperaturas, maiores concentrações de oxigênio dissolvido, maiores valores de pH e menores valores de condutividade.

Os dados de temperatura, de oxigênio dissolvido e de condutividade encontrados no canal de igarapé corroboraram os dados encontrados por ARBELÁEZ-ROJAS *et al.* (2002) ao estudar tambaqui (*C. macropomum*) e matrinhã (*Brycon amazonicus*), criados no mesmo sistema, e os dados de PASCOALOTO (2001) e MELO *et al.* (2005), ao avaliar igarapés do Amazonas. Segundo esses autores, o igarapé é um ambiente lótico que, devido à correnteza, promove uma alta renovação de água, contribuindo com a manutenção de menores temperaturas e concentrações de oxigênio mais altas, o que explica as características ambientais encontradas nesse sistema. Por outro lado, os valores elevados de pH estão acima dos indicados para igarapés por estes autores que, geralmente, apresentam pH ácido. FERREIRA *et al.* (2012), ao estudar igarapés próximo de Manaus, observaram que em áreas protegidas os valores de pH são geralmente menores que 5,0, mas que tendem a aumentar de acordo com a proximidade da área urbana. Essa observação pode explicar os dados de pH encontrados nesse trabalho, uma vez que

próximo ao local de coleta há um balneário que, por estar interconectado, influencia essa variável.

Para o tanque escavado a variável mais discrepante, comparado aos outros pontos de coletas, foi a temperatura. Entretanto, mantém-se dentro das faixas aceitáveis para a criação de peixes de águas quentes (CYRINO e KUBTZA, 1996). Além disso, corroboram os dados encontrados por MARTINS-JÚNIOR (2009) em tanques escavados desenvolvidos sem boas práticas de manejo, e os dados obtidos por GOMES e SILVA (2009) em tanques escavados com ou sem tratamento de calagem e fertilização. A principal sugestão para esse aumento é a baixa ou nenhuma renovação de água, que concentra o calor específico e aumenta a temperatura. Nesse contexto, FERREIRA (2005) ao estudar viveiros utilizados no cultivo de tambaqui com e sem renovação de água, destacou a importância da entrada e saída de água para melhores resultados da sua qualidade e melhor produção de peixes.

O tanque-rede é um sistema que aproveita recursos hídricos existentes (AYROZA *et al.*, 2008), com as condições limnológicas refletidas diretamente em função das características ambientais onde está inserido (BEVERIDGE, 1996). Neste estudo, o tanque-rede apresentou-se distinto das outras estruturas apenas para a condutividade elétrica, que foi menor comparada aos valores obtidos na natureza e no tanque escavado. Entretanto, corroboram os resultados obtidos por BUENO *et al.* (2008) e DIEMER *et al.* (2010), que avaliaram o cultivo de peixes em tanques-redes alocados no lago do Itaipu (PR). Ambos os autores sugerem que os valores baixos de condutividade elétrica podem ser indicativos de acentuada produção primária e baixa decomposição ou, ainda, baixa disponibilidade de sais no meio. Estas

sugestões também podem explicar os dados obtidos neste trabalho, uma vez que os tanques-redes estavam alocados num lago com influência de água preta e na época da cheia.

4.2. Parâmetros Hematológicos

A hematologia, associada a outros parâmetros fisiológicos e bioquímicos, tem sido apontada como uma excelente ferramenta para determinar o estado geral de saúde dos peixes em piscicultura (ZOHU *et al.*, 2009). Além de ser um indicativo do estado de saúde do animal (CHAGAS e VAL, 2003), pode refletir sobre os efeitos das variáveis ambientais (FARGHALY *et al.*, 1973) e indicar exposição a situações estressantes (MACIEL *et al.*, 2013). Segundo BLAXHALL (1972), variáveis ambientais como salinidade, pH, oxigênio dissolvido e temperatura da água, podem levar os peixes a ajustes em parâmetros sanguíneos na tentativa de manter a homeostase orgânica. Em algumas situações, os ajustes hematológicos não são suficientes para reduzir os efeitos das variações ambientais para níveis fisiologicamente aceitáveis, causando estresse, o que requer ajustes em outros níveis da organização biológica, como ajustes bioquímicos e fisiológicos (WENDELAAR BONGA, 1997; IWAMA, 1999; VAL *et al.*, 2006).

O efeito da salinidade sobre a hematologia do tambaqui foi observado por FIÚZA *et al.* (2013) que encontraram maiores valores de hematócrito (Ht) e concentração de hemoglobina ([Hb]) quando os animais foram expostos a 10 e 15g/L de salinidade, comparado àqueles expostos a 0 e 5g/L. ARIDE *et al.* (2007), ao estudar a exposição do tambaqui a diferentes pHs (4, 6 e 8), observaram alterações significativas no percentual do hematócrito quando o

animal foi exposto ao pH 8. Resultado similar foi observado por FERREIRA *et al.* (2010) ao avaliar o efeito da hipóxia em 24 e 48h, sobre o hematócrito de matrinxã (*B. amazonicus*). Para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), o aumento agudo da temperatura de 26° para 33°C resultou em aumento do número de eritrócitos (RBC) e volume corpuscular médio (VCM) (GARCIA *et al.*, 2012). Estes estudos além de evidenciar o efeito estressor da mudança brusca das variáveis ambientais, acima daqueles tolerados pelas espécies, demonstram a capacidade dos peixes em ajustar os parâmetros respiratórios e eritrocitários, para lidar melhor com essa situação fisiologicamente desfavorável (VAL 1995, 1996; VAL *et al.* 1998).

Neste estudo, a maior diferença na hematologia do tambaqui foi observada para os animais coletados no canal de Igarapé. Os animais deste sistema apresentaram [Hb], Ht, RBC, HCM e CHCM aumentados em relação aos das demais estruturas, diferenças essas que devem estar relacionadas às diferenças nos fatores abióticos. De forma geral, a diminuição da temperatura ocasiona uma hemodiluição nos peixes (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004). Para *Carassius auratus*, espécie que habita ambientes com temperatura variando entre 23° a 38°C, quando submetido a temperaturas inferiores a 23°C, apresenta diminuição do RBC, Ht e VCM (HOUSTON e MURAD, 1995), o que não foi observado para o tambaqui nesse estudo.

Entretanto, além de apresentar a menor temperatura, a maior concentração de oxigênio dissolvido, maior valor de pH e baixa condutividade comparada às outras estruturas, este ambiente se apresenta com correnteza típica de igarapés (PASCOALOTO, 2001). A necessidade de evidenciar esta última característica justifica-se pelos valores encontrados para as variáveis

limnológicas, que embora elevadas, estão dentro da faixa recomendada para a peixes tropicais (CYRINO e KUBTZA, 1996) e confortável para o tambaqui que habita ambientes com temperaturas entre 25° e 34°C (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998; GOMES *et al.*, 2010). Além disso, há relatos na literatura que a natação forçada contribui para o aumento dos parâmetros sanguíneos, entre os quais Ht, glicose e RBC para o tambaqui (FERREIRA, 2006). Estes aumentos podem ser explicados pelo relato de MONTERO *et al.* (1999), que associaram o acréscimo desse parâmetros à necessidade de aumento da capacidade sanguínea em transportar o oxigênio durante períodos de demanda energética elevada. Considerando o exposto, os resultados deste estudo relacionados às variações hematológicas do tambaqui no canal de igarapé parecem estar mais relacionados a correnteza que aos outros fatores ambientais encontrados nesse sistema.

Em contrapartida, o aumento dos valores de [Hb], HCM e CHCM para os peixes coletados no tanque escavado nada tem a ver com a correnteza, uma vez que se trata de um ambiente lântico, mas com a maior temperatura registrada no local. Segundo VAL (2000) a elevação da temperatura tende a aumentar as atividades biológicas e metabólicas dos peixes tropicais. TAVARES-DIAS e MORAES (2004) relataram que, de forma geral, a elevação da temperatura provoca um aumento na RBC, no Ht e na [Hb]. Este padrão foi encontrado para tilápias do Nilo (*Oreochomis niloticus*) (GARCIA *et al.*, 2012; QUIANG *et al.*, 2013) e para tambaqui (OLIVEIRA *et al.*, 2001; SOUZA-NETTO, 2012), mas não foi encontrado para o tambaqui neste trabalho. Uma hipótese é que a temperatura encontrada, embora alta, ainda esteja dentro da faixa ideal para o tambaqui e, por isso, não afetou os parâmetros sanguíneos

pois a alta taxa metabólica foi suprida apenas com a elevação da [Hb], que se refletiu no HCM e CHCM.

Os peixes coletados no tanque-rede e na natureza apresentaram índices hemáticos similares e estão próximos aos resultados obtidos por RANZANI-PAIVA *et al.* (1998/1999) e inferiores aos resultados apresentados por TAVARES-DIAS e SANDRIM (1998), que também avaliaram a hematologia de juvenis tambaqui de piscicultura e consideraram os valores normais para esta espécie. Uma possível explicação para estas diferenças hemáticas pode ser creditada ao tamanho dos animais utilizados que, embora estivessem na mesma fase de vida, apresentavam peso e comprimento diferenciados. TAVARES-DIAS e SANDRIM (1998) avaliaram animais com peso médio de 584,6 g e 27 cm de comprimento, RANZANI-PAIVA *et al.* (1998/1999) avaliaram juvenis variando entre 33 e 160 g e 13 e 21 cm, enquanto neste estudo os animais apresentaram 365,7 g de peso e 24 cm de comprimento. Neste contexto, sugerimos que os valores de parâmetros hemáticos encontrados para o tambaqui na natureza e tanque-rede estão dentro dos valores encontrados na literatura, que podem ser considerados normais para esta espécie.

4.3. Expressão de Esteroil-CoA (SCD)

A esteroil-CoA (SCD) é uma enzima que desempenha um importante papel na biossíntese dos ácidos graxos e na regulação da fluidez da membrana (NTAMBI e MIYAZAKI, 2004), pois catalisa a oxidação de acil-CoA entre os carbonos 9 e 10, com preferência pelos substratos palmitoil-CoA e esteroil-CoA, que são convertidos em palmitoleil-CoA e oleil-CoA, respectivamente

(ENOCH *et al.*, 1976). Estes ácidos graxos monoinsaturados são utilizados como substratos para a síntese de triglicerídeos, ésteres de ceras, ésteres de colesterol e fosfolipídeos de membrana (STRITTMATTER e ENOCH, 1978).

Segundo NTAMBI e MIYAZAKI (2004) a razão entre os ácidos graxos saturados e monoinsaturados afeta a composição da membrana fosfolipídica e a alteração dessa razão pode levar a várias doenças. Por esta razão, estes autores ressaltaram que os estudos sobre a expressão de SCD são de extrema importância para entender a fisiologia dos animais.

NTAMBI *et al.* (1998) relataram que a SCD é altamente expressa no fígado e no tecido adiposo, embora esteja presente em todo o organismo, e tem uma clara tendência ascendente em animais alimentados com dietas com altos teores de carboidratos. Em roedores, a atividade de SCD depende da transcrição dos dois genes relacionados (SCD1 e SCD2). Sob condições normais, os mRNAs SCD1 são expressos em tecido adiposo e pode ser induzida por dietas com altos teores de carboidratos no fígado, em resposta ao ácido graxo livre, enquanto mRNAs SCD2 são expressos no cérebro (NTAMBI *et al.*, 1988; KAESTNER *et al.*, 1989). Para os peixes, atualmente, o gene claramente expresso é o tipo SCD1, embora duas isoformas tenham sido encontradas (EVANS *et al.*, 2008), que são expressas preferencialmente no fígado (CHANG *et al.*, 2001).

Embora os diversos estudos mostrem que a estrutura molecular da esteroil-CoA-dessaturase seja bem conservada entre os vertebrados, o padrão de expressão parece diferir entre eles e existem variações específicas (MIYAZAKI *et al.*, 2001). De forma geral, essas variações podem ser explicadas pela regulação da enzima por diferentes fatores, tais como dieta,

hormônios, temperatura, metais, vitamina A e os processos de desenvolvimento (NTAMBI, 1995; 1996). Em peixes, o impacto da dieta e da temperatura sobre a atividade e expressão da SCD também tem sido relatado (HSIEH *et al.*, 2007).

Em truta arco-íris, TOCHER *et al.* (1996) observaram que a atividade da esteroil-CoA hepática pode ser modulada por manipulação dietética, especificamente durante jejum, alimentação e realimentação com dois tipos de ração, 10% de óleo de peixe padrão ou ácido palmítico. Entretanto, LEAVER *et al.* (2006), ao alimentar salmão do Atlântico (*Salmo salar*) com dietas contendo níveis crescentes (0, 2 e 4%) de ácido linoleico conjugado, observaram modificações individuais da expressão das dessaturases e sem alterações significativa entre os grupos. HSIEH *et al.* (2007), ao avaliarem os transcritos de SCD em tilápias alimentadas com dietas suplementadas com quatro diferentes óleos (coco, palmitoléico, peixe e misturado), por oito semanas, observaram aumento significativo para os animais de todos os grupos dietários; entretanto, ressaltaram que o óleo de coco causou maior expressão dos transcritos de SCD, quando submetido a 15°C, ao final seis dias.

Segundo SCHUNKE e WODTLE (1983), adaptações térmicas tendem a causar modificações na atividade e expressão da SCD. Estes autores chegaram a esta conclusão ao expor exemplares de carpa comum aclimatados a 30°C a diminuição gradativa de 1°C por hora até 10°C. Ao avaliar “*milkfish*” e “*grass carp*” aclimatados a 25°C e submetidos à diminuição gradual a 15°C, por 21 dias, HSIEH e KUO (2005) observaram uma indução na expressão de SCD, sendo que o tempo de mudança nos transcritos foram diferentes. Para “*milkfish*”, esses autores relataram que os transcritos de SCD foram maiores

em dois dias, reduziram em cinco dias e não foram detectados em sete dias. Em “*grass carp*”, entretanto, os transcritos de SCD foram observados até 21 dias.

Nesse contexto, POLLEY *et al.* (2003) sugerem que a temperatura e a dieta têm significativos efeitos na SCD1, pois uma diminuição na temperatura ambiente causa uma regulação positiva transiente em uma isoforma, enquanto que a composição de ácidos graxos da dieta modula a expressão de uma segunda isoforma.

Neste trabalho, o aumento da transcrição de mRNAs SCD no fígado de tambaqui coletado no canal de Igarapé, parece estar relacionado a menor temperatura encontrada no local, isto é, em torno de 25°C. Embora esta temperatura tenha sido descrita na literatura para o tambaqui (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 2005), trata-se do limite inferior encontrado, o que corroboraria os resultados de SCHUNKE e WODTLE (1983) e HSIEH *et al.* (2007) ao submeterem carpa a temperaturas inferiores às aquelas onde são comumente encontradas.

Na natureza, os animais tendem a procurar ambientes onde as variáveis ambientais são consideradas ideais para o seu desenvolvimento e reprodução; quando se encontram fora do ambiente ideal tendem a alterar seu metabolismo de forma que haja uma compensação para manter sua homeostase orgânica (MOYES e SCHULTE, 2010). Considerando que na piscicultura os animais são submetidos às condições ambientais que as vezes estão fora das condições ideais, é esperado que haja essa compensação. Neste contexto os resultados obtidos neste trabalho, para a expressão da SCD no fígado de tambaqui

cultivados em canal de igarapé, podem estar relacionados a uma tentativa de manter a homeostase.

Particularmente para estes resultados, o aumento da SCD no fígado pode estar retratando uma tentativa do animal em manter a fluidez da membrana, uma vez que baixas temperaturas causam um enrijecimento da membrana celular (LOS e MURATA, 2004; MOYES e SCHULTE, 2010) e o aumento da SCD pode promover a introdução de duplas ligações na cadeia de ácidos graxos, sintetizando ácidos graxos insaturados que contribuem com a fluidez da membrana em ambientes frios (LOS e MURATA, 2004).

Por outro lado, o aumento das transcrições de SCD no fígado e no músculo observado para os tambaquis coletados no tanque-rede não parece estar relacionado à temperatura que, neste caso, se encontrava em torno de 29°C. Entretanto, neste ambiente os animais receberam ração com teores de carboidratos mais elevados (43%), comparado às rações das demais pisciculturas, que pode ter contribuído para o aumento da expressão da SCD1 em ambos os tecidos. Embora essa hipótese não tenha sido relatada para peixes, até o momento, foi relatada por NTAMBI *et al.* (1988) para ratos.

Segundo FRACALOSSO *et al.* (2013), peixes não apresentam exigência nutricional para carboidratos, mas esse nutriente é frequentemente utilizado como fonte de energia. Quando utilizados em quantidades adequadas na dieta, age como poupador de proteína (MOHANTA *et al.*, 2007) uma vez que reduz o catabolismo das proteínas para energia e gliconeogênese. De forma geral, o carboidrato absorvido, primariamente como glicose pode ser utilizado imediatamente como energia, estocado como glicogênio ou utilizado na síntese de outros compostos (DENG *et al.*, 2001). Em excesso, o carboidrato pode

também ser convertida em ácidos graxos, pelo aumento da lipogênese, já que glicose fornece o carbono para a síntese de ácidos graxos, via acetil-CoA (LENHINGER, 2002).

Considerando o exposto e que a SCD é uma enzima que atua na biossíntese dos ácidos graxos, o aumento dos transcritos de mRNA SCD pode ter sido induzido em resposta ao aumento dos ácidos graxos formados. Além disso, é comum observar na literatura o aumento da atividade e expressão dessa enzima em peixes alimentados com dietas com baixos teores de ácidos graxos altamente insaturados (HUFA), em comparação com aqueles que receberam altos teores (ZHENG *et al.*, 2004; ZHENG *et al.*, 2005; TOCHER *et al.*, 2006) e a conclusão desses autores sugere que as dietas ricas em HUFA tendem a inibir a atividade e a expressão dessa enzima, uma vez que não há necessidade de biossíntese de ácidos graxos.

Nesse sentido, os resultados encontrados nesse trabalho para tambaqui corroboram os resultados encontrados para outras espécies, uma vez que menores temperaturas e a dieta influenciam nas respostas metabólicas de ácidos graxos.

5. CONCLUSÕES

1. Os ambientes analisados apresentam características limnológicas distintas e contrastantes, sendo as menores temperaturas observadas no canal de Igarapé.
2. Os exemplares de tambaqui apresentam perfil hematológico compatível com os ambientes nos quais estão sendo criados, sendo os maiores

valores hematológicos observados para os animais criados em canal de igarapé.

3. A expressão do gene SCD no fígado do tambaqui foi significativamente maior em exemplares de canal de igarapé, o que está de acordo com as temperaturas mais amenas deste local.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackman, R. G. Nutritional composition of fats in seafoods. *Progress Food Nutritional Science*, 13: 161-241, 1989.
- Almeida, F.F.; Melo, S. 2009. Considerações limnológicas sobre um lago da planície de inundação amazônica (lago Catalão – Amazonas - Brasil). *Acta Scientiarum: Biological Sciences*, 31(4):387-395.
- Arana, L. A. 1997. *Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura*. Florianópolis: UFSC. 231p.
- Araújo-Lima, C.A.; Gomes, L.C. 2005. Criação de tambaqui. In: Baldisserotto, B.; Gomes, L.C. (Org.). *Espécies nativas para a piscicultura no Brasil*. Santa Maria: Ed. UFSM. p. 175-202.
- Araújo-Lima, C.A.; Goulding, M. 1998. *Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia*. Tefé: AM. Sociedade Civil Mamirauá. Brasília: MCT/CNPq. 186p.
- Arbeláez-Rojas, G.A.; Facalossi, D.M.; Fim, J.D. 2002. Composição e tambaqui, *Colossoma macropomum*, e matrinxã, *Brycon cephalus*, em sistemas de cultivo intensivo, em igarapé, e semi-intensivo, em viveiros. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 31 (3): 1059-1069.

- Aride, P.H.R.; Roubach, R. Val, A.L. 2007. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. *Aquaculture Research*, 38: 588-594.
- Ayroza, D.M.M.R.; Furlaneto, F.P.B.; Ayroza, L.M.S. 2008. Regularização de Projetos de Piscicultura no Estado de São Paulo. *Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária*, 1(1): 33-41.
- Baldisseroto, B. 2009. *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. 2° Ed. Santa Maria: UFSM, 352p.
- Bell, M.V.; Henderson, R.J.; Sargent, J.R. Minireview. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 83B: 711-719, 1986.
- Beveridge, M.C.M. 1996. *Cage aquaculture*. 2nd Ed. Blackwell Fishing News Books, Oxford. 346p.
- Blaxhall P.C.; Daisley K.W. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology* 5, 771–781.
- Bligh, G.; Dyer, W. J. A. 1959. Rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal Biochemistry and Physiology*, 37: 911-917.
- Brow B.A.1976. *Hematology: Principles and procedures*, 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 504p.
- Bueno, P.; Tapias, R.; López, F.; Díaz, M.J. 2008. Optimizing composting parameters for nitrogen conservation in composting. *Bioresource technology*, 99 (11), 5069-5077.

- Castro, L.F.C.; Wilson, J.M.; Gonçalves, O.; Galante-Oliveira, S.; Rocha, E.; Cunha, I. 2011. The evolutionary history of the stearyl-CoA desaturase gene family in vertebrates. *BMC Evolutionary Biology*, 11:132-145.
- Chagas, E.C.; Gomes, L.C.; Martins-Júnior, H; Roubach, R. 2007. Produtividade de tabaqui criado em tanque-rede com diferentes taxas de alimentação. *Ciência Rural*, 37 (4): 1109-1115.
- Chagas, E.C.; Val, A.L. 2003. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tabaqui. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38: 397-402.
- Chang, B.E.; Hsieh, S.L.; Kuo, C.M. 2001. Molecular cloning of full-length cDNA encoding delta-9 desaturase through PCR strategies and its genomic organization and expression in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Molecular Reproduction and Development*, 58: 245–254.
- Chanmugam, P.; Boudreau, M.; Hwang, D.H. 1986. Differences in the n-3 fatty acid contents in pond-reared and wild fish and shellfish. *Journal Food Science*, 51: 1556-1557.
- Claro-Jr, L.; Ferreira, E.; Zuanon, J.; Araujo-Lima, C. 2004. O efeito da floresta alagada na alimentação de três espécies de peixes onívoros em lagos de várzea da Amazônia Central, Brasil. *Acta Amazonica*, 34 (1): 133-137.
- Cyrino, J.E.P.; Kubitzka, F. 1996. *Piscicultura*. SEBRAE: Coleção Agroindústria. Cuiabá/MT. V.8. 86p.
- Deng, D.F.; Refstie, S.; Hung, S.S.O. 2001. Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon *Acipenser transmontanus* after oral administration of simple and complex carbohydrates. *Aquaculture*, 199: 107-117.

- Diemer, O.; Neu, D.H.; Feiden, A.; Lorenz, E.V.; Bittencourt, F.; Boscolo, W.R. 2010. Dinâmica nictimeral e vertical das características limnológicas em ambiente de criação de peixes em tanques-rede. *Ciência Animal Brasileira*, 11 (1): 24-31.
- Enoch, H.G.; Catala, A.; Strittmatter, P. 1976. Mechanism of rat liver microsomal stearyl-coa desaturase. Studies of the substrate specificity, enzyme–substrate interactions, and the function of lipid. *The Journal of Biological Chemistry*, 251: 5095–5103.
- Evans, H.; De Tomaso, T.; Quail, M.; Rogers, J.; Gracey, A.Y.; Cossins, A.R.; Berenbrink, M. 2008. Ancient and modern duplication events and the evolution of stearyl-CoA desaturases in teleost fishes. *Physiological Genomics*, 35(1):18-29.
- Farghaly, A.M.; Ezzat A.A.; Shabana, M.B. 1973. Effect of temperature and salinity changes on the blood characteristics of *Tilapia zilla* in Egyptian littoral lakes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 46 (A): 183-193.
- Ferreira, M. S. 2006. *Certificado de vigor físico para o tambaqui (Colossoma macropomum, Cuvier 1818)*. Dissertação de Mestrado: BADPI/INPA. Manaus-AM. 55 p.
- Ferreira, M. S.; Oliveira, A. M.; Val, A. L. 2010. Velocidade crítica de natação (Ucrit) de matrinxã (*Brycon amazonicus*) após exposição à hipoxia. *Acta Amazonica*, 40: 699-704.
- Ferreira, M.F.B. 2005. *Implicações da taxa de renovação da água, na criação do tambaqui*. Dissertação mestrado: BADPI/INPA. Manaus/AM. 76p.

- Ferreira, S.J. F.; Miranda, S.A.F; Marques-Filho, A.O.; Silva, C.C. 2012. Efeito da pressão antrópica sobre igarapés na Reserva Florestal Adolpho Ducke, área de floresta na Amazônia Central. *Acta Amazonica*, 42(4): 533 - 540.
- Fiúza, L.S.; Aragão, N.M.; Ribeiro-Júnior, H.P.; Moraes, M.G.; Rocha, I.R.C.B.; Lustosa-Neto, A.D.; Sousa, R.R.; Madrid, R.M.M.; Oliveira, E.G.; Costa, F.H.F. 2013. Effects of salinity on the growth, survival, haematological parameters and osmoregulation of tambaqui *Colossoma macropomum* juveniles. *Aquaculture Research*, 1–9.
- Fracalossi, D.M.; Rodrigues, A.P.O.; Gominho-Rosa, M.C. 2013. Carboidratos e fibra. In: Fracalossi, D.M.; Cyrino, J.E.P. (Ed.) *NUTRIAQUA: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. 101-120p.
- Freitas, C. E. C. 2003. Recursos Pesqueiros Amazônicos: status atual da exploração e perspectivas de desenvolvimento do extrativismo e da piscicultura. Em: Melo, A. F. (Eds.). *O Futuro da Amazônia: Dilemas, Oportunidades e Desafios no Limiar do Século XXI*. Instituto Evaldo Lodi - Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio, Brasília, Brasil. 101-130p.
- Garcia, F.; Schalch, S.H.C.; Onaka, E.M.; Fonseca, F.S.; Batista, M.P. 2012. Hematologia de tilápia-do-nilo alimentada com suplemento à base de algas frente a desafios de estresse agudo e crônico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64 (1): 198-20.
- Gomes, L.C.; Brandão, F.R.; Chagas, E.C.; Ferreira, M.F.B.; Lourenço, J.N.P. 2004. Efeito do volume do tanque-rede na produtividade de tambaqui

(*Colossoma macropomum*) durante a recria. *Acta Amazonica*, 34 (1): 111-113.

Gomes, L.C.; Chagas, E.C.; Martins-Junior, H.; Roubach, R.; Ono, E.A.; Lourenço, J.N.P. 2006. Cage culture oftambaqui (*Colossoma macropomum*) in a central Amazonfloodplain lake. *Aquaculture* 253, 374-384.

Gomes, L.C.; Silva, C.R. 2009. Impact of pond management on tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier), production during growth-out phase. *Aquaculture Research*, 40: 825-832.

Gomes, L.C.; Simões, L.N.; Araújo-Lima, C.A.R.M. 2010. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: Baldisserotto, B.; Gomes, L.C. (Orgs.). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 2ªEd. Santa Maria: UFSM. 175-204.

Hakanson, L.; Paparov, A.; Hambright, K.D. 2000. Modeling the impact of water level fluctuations on water quality (suspended particulate matter) in Lake Kinneret, Israel. *Ecological Modeling*, 128: 101-25.

Hartman, L.; Lago, R.C.A. 1973. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. *Laboratory Practice*, 22: 475-476.

Henderson, P. A.; Crampton, W. G. 1997. A comparison of fish diversity and abundance between nutrient-rich and nutrient-poor lakes in the Upper Amazon. *Journal of Tropical Ecology*, 13(2): 175-198.

Henderson, R. J.; Tocher, D. R. 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress Lipids Research*, 26: 281-347.

- Henry-Silva, G. G.; Camargo, A. F. M.; Pontes, C.; Miyase, L. 2010. Características limnológicas da coluna d'água e dos efluentes de viveiros de criação de camarões-da-amazônia. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(10): 2099-2107.
- Houston, A.H.; Murad, A. 1995. Erythrocytosis in fish – recovery of the goldfish *Carassius auratus* from acute anemia. *Canadian Journal of Zoology*, 73: 411-418.
- Hsieh, S.L.; Kuo, C.M. 2005. Stearoyl-CoA desaturase expression and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) during cold acclimation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 141(1): 95-101.
- Hsieh, S.L.; Hu, C.Y.; Hsu, Y.T.; Hsieh, T.J. 2007. Influence of dietary lipids on the fatty acid composition and stearyl-CoA desaturase expression in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) under cold shock. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 147 (3): 438-44.
- Iwama, G.K.; Vijayan, M.M.; Morgan, J.D. 1999. The stress response in fish. In: Saksena, D. N. (Ed.). *Ichthyology. Recent research advances*, Enfield, USA: Science Publishers, p. 47-57.
- Izel, A.C.U.; Melo, L.A.S. 2004. *Criação de tambaqui (Colossoma macropomum) em tanques escavados no estado do Amazonas*. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 19p. Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 32.

- Jahncke, M. L.; Hale, M. B.; Gooch, J. A.; Andhopkins, J. S. 1988. Comparison of pondraised and wild red drum (*Sciaenops ocellatus*) with respect to proximate composition, fatty acid profiles, and sensory evaluations. *Journal Food Science*, 53: 286-287.
- Kaestner, K.H.; Ntambi, J.M.; Kelly, T.J.; Lane, M.D. 1989. Differentiation-induced gene expression in 3t3-l1 preadipocytes. A second differentially expressed gene encoding Stearoyl-CoA desaturase, *The Journal of Biological Chemistry*, 264: 14755–14761.
- Kampen, E.J.; Zijlstra, W.G. 1964. Standardization of haemoglobinometry. In: Boroviczény, C. G. *Erythrocytometric Methods and their standardization. Bibliotheca Haematologica*, 18: 68-72.
- Leaver, M.J.; Tocher, D.R.; Obach, A.; Jensen, L.; Henderson, R.J.; Porter, A. R.; Krey, G. 2006. Effect of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on lipid composition, metabolism and gene expression in Atlantic salmon (*Salmo salar*) tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 145 (2): 258-267.
- Lehninger, A.L.; Nelson, D.L.; Cox, M.M. 2002. *Princípios de Bioquímica*. 3 ed. São Paulo: Editora Sarvier, 975p.
- Lemos, J.R.G.; Dias, M.T.; Sales, R.S.D.A.; Fim, J.D.I. 2007. Parasitos nas brânquias de *Brycon amazonicus* (Characidae, Bryconinae) cultivados em canais de igarapé do Turumã-Mirim, Estado do Amazonas, Brasil. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 29(2): 217-222.

- Los, D.A.; Murata, N. 2004. Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Biomembranes*, 1666 (1), 142-157.
- Lowe-Mcconnell, R.H. 1999. *Estudos ecologicos de comunidades de peixes tropicais*. EDUSP, São Paulo, 534p.
- Maciel, E.C.S.; Feitosa, K.C.O.; Corrêa Neto, C.R.; Macedo, F.F.; Mattioli, W.O.; Abimorad, E.G.; Abreu, J.S. 2013. Desempenho produtivo e parâmetros fisiológicos de juvenis de pacus criado em tanques-rede em diferentes densidades de estocagem. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 14 (1): 185-19.
- Martino, R.; Takahashi, N.S.A importância da adição de lipídios em rações para aquicultura. *Óleos e grãos*, (58): 32-37, 2001.
- Martins-Júnior, H. 2009. *Caracterização da piscicultura do tambaqui (Colossoma macropomum) e dos seus efluentes na despesca: subsídios para a implementação das boas práticas de manejo da piscicultura no município de Rio Preto da Eva/AM*. Tese de doutorado: BADPI/INPA. Manaus, 202p
- Mauvoisin, D.; Mounier, C. 2011. Hormonal and nutritional regulation of SCD1 gene expression. *Biochimie*, 93 (1), 78-86.
- Melo, E.G.F.; Silva, M.S.R.; Miranda, S.A.F. 2005. Influência antrópica sobre águas de igarapés na cidade de Manaus-Amazonas. *Caminhos de Geografia*, 5 (16): 40 – 47.
- Miyazaki, M; Kim, Y.C.; Gray-Keller, M.P.; Attie, A.D.; Ntambi, J.M. 2000. The biosynthesis of hepatic cholesterol esters and triglycerides is impaired in

- mice with a disruption of the gene for stearoyl-CoA desaturase 1. *The Journal of Biological Chemistry*, 275 (39): 30132-8.
- Mohanta, K.N.; Mohanty, S.N.; Jena, J.K. 2007. Protein-sparing effect of carbohydrate in silver barb, *Puntius gonionotus* fry. *Aquaculture Nutrition*, 13: 311-317.
- Montero, D.; Iyquierdo, M.S.; Tort, L.; Roaina, L.; Vergara, J.M. 1999. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20: 53–60.
- Moyes, C.D.; Schulte, P.M. 2010. *Princípios de fisiologia animal*. 2º Ed. Porto Alegre: Artmed, 792p.
- Murray, R. K.; Granner, D.L.; Mayes, P. A.; Rodwell, V. W. 2002. *Bioquímica*. São Paulo: Atheneu, 919p.
- Nettleton, J.A. 1985. *Seafood nutrition*. New York: Van Nostrand Reinhold. 362p.
- Ntambi J.M. 1995. The regulation of stearoyl-CoA desaturase (SCD). *Progress in Lipid Research*, 34 (2):139-50.
- Ntambi, J.M.; Miyazaki, M. 2004. Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Progress in Lipid Research*, 43(2): 91-104.
- Ntambi, J.M.; Buhrow, S.A.; Kaestner, K.H.; Christy, R.J., Sibley, E.; Kelly, T.J.; Jr-Lane, M.D. 1988. Differentiation-induced gene expression in 3T3-L1 preadipocytes. Characterization of a differentially expressed gene encoding stearoyl-CoA desaturase. *J Biol Chem*, 263(33):17291-300.

- Oliveira, A.M.; Silva, M.N.P.; Almeida-Val, V.M.F.; Val, A.L. 2012. Caracterização da atividade de piscicultura nas mesoregiões do estado do Amazonas, Amazônia brasileira. *Revista Colombiana Ciência Animal*, 4:154-162.
- Oliveira, A.M.; Val, A.L.; Chagas, E.C.; Roubach, R. 2001. *Efeito da temperatura sobre os parâmetros hematológicos de Colossoma macropomum alimentado com vitamina C*. Anais do Programa de Iniciação Científica: INPA/FUA. Manaus-Am.
- Olsen, Y. 1998. Lipids and essential fatty acids in aquatic foods webs: what can freshwater ecologists learn from mariculture. *In: ARTS, M. T., WAINMAN, B. C Lipids in freshwater ecosystems*. p.161-202.
- Pascoaloto, D. 2001. Características ambientais de cinco igarapés de terra-firme em reservas florestais no estado do Amazonas e sua relação com *Batrachospermum cayanene* (Batrachospermaceae, Rodophyta). *Acta Amazonica*, 31(4): 597-606.
- Pfaffl, M.W. 2001. A new mathematical model for relative quantification in real time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*, 29(9): 2003-2007.
- Polley, S.D.; Tiku, P.E.; Trueman, R.T.; Caddick, M.X.; Morozov, I.Y.; Cossins, A.R. 2003. Differential expression of cold- and diet-specific genes encoding two carp liver delta 9-acyl-CoA desaturase isoforms. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 284 (1): 41-50.
- 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, 8-16.

Ranzani-Paiva, M.J.T.; Salles, F.A.; Eiras, J.C.; Eiras, A.C.; Ishikawa, C.M.; Alexandrino, A.C. 1998/1999. Análises hematológicas de curimatá (*Prochilodus scrofa*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) das estações de piscicultura do Instituto de Pesca, Estado de São Paulo. *Boletim do Instituto de Pesca*, 25: 77 – 83.

Ranzani-Paiva, M.J.T.; Silva-Souza, A. 2004. Hematologia de peixes brasileiros In: Ranzani-Paiva, M.J.T.; Takemoto, R. M.; Lizama, M.A.P. (Orgs.). *Sanidade de Organismos Aquáticos*, Varela, São Paulo, p. 89-120.

Ribeiro, P. A. P.; Bressan, M. C.; Logato, P. V. R.; Gonçalves, A. C. S. 2007. Nutrição lipídica para peixes. *Revista Eletrônica Nutritime*, 4 (2): 436-455.

Saito, H.; Yamashiro, R.; Alasalvar, C.; Konno, T. 1999. Influence of diet on fatty acids of three subtropical fish, subfamily Caesioninae (*Caesio diagramma* and *C. tile*) and family Siganidae (*Siganus canaliculatus*). *Lipids*, 34: 1073-1082.

Sargent, J.G.; Tocher, D.R.; Bell, J.G. 2002. The lipids. In: Halver, J. E., Hardy, R. W. (Org.) *Fish nutrition*. 3rd ed. Ohio: Elsevier, p.181-257.

Schunke, M.; Wodtke, E. 1983. Cold-induced increase of and desaturase activities in endoplasmic membranes of carp liver. *Biochemical et BiophysicaActa*, 734: 70–75.

- Sioli, H. 1984. The Amazon and its main affluents: Hydrography, morphology of the river sources, and river types. In: Sioli, H. [ed.] *The Amazon: Limnology and Landscape Ecology of a Mighty Tropical River and its Basin* (Monographiae Biologicae v.56). Dr. W. Junk Publishers. The Netherlands, Dordrecht, p. 127-165.
- Souza-Netto, J.G. 2012. *Respostas fisiológicas de Colossoma macropomum (Cuvier 1818) ao aumento de temperatura e CO₂*. Dissertação de Mestrado: BADPI/INPA. Manaus/AM. 68p.
- Strittmatter, P.; Enoch, H.G. 1978. Purification of stearyl-CoA desaturase from liver. *Methods in Enzymology*, 52:188–193.
- Suzuki, H.; Okazaki, K.; Hayakawa, S.; Wada, S.; Tamura, S. 1986. Influence of commercial dietary fatty acids on polyunsaturated fatty acids of cultured freshwater fish and comparison with those of wild fish of the same species. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 34: 58-60.
- Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. 2004. *Hematologia de peixes teleósteos*. Ribeirão Preto. 144: 81-8
- Tavares-Dias, M.; Sandrim, E.F.S.; Sandrim, A. 1998. Características hematológicas do tambaqui (*Colossoma macropomum*) Cuvier, 1818 (Osteichthyes: Characidae) em sistema de monocultivo intensivo.I. Série eritrocitária. *Revista Brasileira de Biologia*, 58(2):197-202.
- Tocher, D. R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11 (2): 107-184.
- Tocher, D.R.; Bell, J.G.; Sargent, J.R. 1996. Induction of Δ^9 -fatty acyl desaturation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver by dietary

manipulation. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 13B (1): 205-212.

Tocher, D.R.; Zheng, X.; Schlechtriem, C.; Hastings, N.; Dick, J.R.; Teale, A.J. 2006. Highly unsaturated fatty acid synthesis in marine fish; cloning, functional characterization and nutritional regulation of fatty acid D6 desaturase of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Lipids*, 41: 1003-1016.

Val A.L. 1996. Surviving low oxygen levels: lessons from fishes of the Amazon. In: Val, A.L.; Almeida- Val, V.M.F.; Randall, D.J. (Eds.) *Physiology and Biochemistry of the Fishes of the Amazon*. INPA, Manaus, Brazil. 59-73p.

Val, A.L. 1995. Oxygen transfer in fish: Morphological and molecular adjustments. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 28: 1119-1127.

Val, A.L.; Schwantes, A. R.; Almeida-Val, V. M. F. 1986. Biological aspects of Amazonian fishes. VI. Hemoglobins and whole blood properties of *Semaprochilodus* species (Prochilodontidae) at two phases of migration. *Comparative Biochemistry And Physiology*, 83B (3): 659-667.

Val, A.L.; Silva, M.N.P.; Almeida-Val, V.M.F. 1998. Hypoxia adaptation in fish of the Amazon: a never-ending task. *South African Journal of Zoology*, 33: 107-117.

Val, A.L. 2000. Organic phosphates in the red blood cells of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 125(A): 417-435.

Val, A.L.; Menezes, A.C.L.; Ferreira, M.S.; Silva, M.N.P.; Araújo, R.M.; Almeida-Val, V.M.F. 2006. Estresse em peixes: respostas integradas para a

- sobrevivência e a adaptação. In: Silva-Souza, A.T.(Org.). *Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil*, ABRAPOA, Maringá, p. 211-228.
- Val, A.L.; Silva, M.N.P.; Almeida-Val, V.M.F. 2004. Estresse em peixes- Ajustes fisiológicos e distúrbios orgânicos. In: Ranzani-Paiva, M.J.T.; Takemoto, R. M.; Lizama, M.A.P. (Orgs.). *Sanidade de Organismos Aquáticos*, Varela, São Paulo, p. 75-78.
- Vanvliet, T.; Katan, M. B. Lower ratio of n-3 to n-6 fatty acids in cultured than in wild fish. *American Journal Clinical Nutrition*, 51: 1-2, 1990.
- Vargas, R.J. 2006. Substituição do óleo de peixe por óleos vegetais em dietas para Jundiá *Rhamdia quelen*; efeito no desempenho e no perfil de ácidos graxos da composição corporal. Dissertação de Mestrado: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 111p.
- Wendelaar Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews* 77:591-625.
- Zar, J.K. 1984. *Biostatistical analysis*. 2ed. Prentice-Hall, New Jersey. 718p.
- Zheng, X.; Tocher, D.R.; Dickson, C.A.; Bell J.G.; Teale A.J. 2004. Effects of diets containing vegetable oil on expression of genes involved in highly unsaturated fatty acid biosynthesis in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 236: 467-483.
- Zheng, X.; Tocher, D.R.; Dickson, C.A.; Bell, J.G.; Teale A.J. 2005. Highly unsaturated fatty acid synthesis in vertebrates: new insights with the cloning and characterization of a D6 desaturase of Atlantic salmon. *Lipids*, 40: 13-24.

Zhou, X.; Li, M.; Abbas, K.; Wang, W. 2009. Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35 (3): 435-441.

CAPÍTULO II

**Efeitos de cenários climáticos sobre a fisiologia e metabolismo dos
ácidos graxos do tambaqui (*Colossoma macropomum*).**

RESUMO

Efeitos de cenários climáticos sobre a fisiologia e o metabolismo dos ácidos graxos do tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Na última década, o planeta vem sofrendo modificações ambientais causadas por ações antrópicas, que tem contribuído enormemente com aquecimento médio global. Tais modificações, embora já sejam percebidas na atualidade, poderão se tornar mais acentuadas, como previsto pelo IPCC para o ano 2100, onde a temperatura poderá ser superior a 3°C. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos cenários climáticos, previstos pelo IPCC para o ano 2100, sobre o desempenho, hematologia e expressão da stearoyl-CoA do tambaqui (*Colossoma macropomum*). Para tanto, juvenis de tambaqui foram submetidos a quatro salas estruturalmente iguais, que reproduziram as previsões do IPCC, por um período total de 150 dias. Durante e no final do experimento (0, 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias), 12 animais foram coletados, pesados e medidos e uma amostra de sangue de cada animal foi coletada para análise do hemograma e dos metabólitos plasmáticos. Os dados biométricos foram utilizados para analisar taxa de crescimento específico, ganho de peso e fator de condição alométrico. A significância das diferenças entre as médias foi avaliada por meio de análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey. A taxa de crescimento específico, o ganho de peso e o fator de condição do tambaqui exposto ao cenário climático apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) em todos os cenários climáticos testados, embora uma tendência a diminuição tenha sido notada para os cenários climáticos intermediário (A1B) e extremo (A2). Sobre a hematologia, os cenários climáticos ocasionaram um aumento no hematócrito e uma diminuição na hemoglobina corpuscular média (HCM), nos 30 primeiros dias. Cortisol, glicose e triglicerídeos dos animais expostos aos cenários climáticos apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$), enquanto o colesterol apresentou maiores valores em 60 e 90 dias de experimento. A expressão da estearoil-CoA no fígado do tambaqui foi maior entre 15 e 120 dias, seguido de uma diminuição em 150 dias. Já no músculo, a expressão da estearoil-CoA foi menor em todos os cenários climáticos em 15, 60 e 150 dias. Estes resultados sugerem que os cenários climáticos apresentam efeitos significativos sobre o crescimento e o metabolismo dos ácidos graxos do tambaqui.

ABSTRACT

The effects of climate scenarios on the physiology and fatty acids metabolism in “tambaqui” (*Colossoma macropomum*)

In the last decade, the planet is facing climate modification caused by man, which has been contributing to increased mean of global temperature. Such modification that has been connected to currently environmental challenges could become more pronounced as was predicted by IPCC for 2100, when the temperature could be increased by more than 3°C. The goal of this study was to evaluate the effect of different climate scenarios, such as predicted by IPCC for 2100, on the fitness, hematology and stearoil-CoA gene expression in “tambaqui” (*Colossoma macropomum*). In this study, juveniles of tambaqui were submitted to four equally structured rooms, in which the environmental conditions predicted by IPCC were simulated for a period of 150 days. During this experiment and at the end (0, 15, 30, 60, 90, 120 and 150 days), 12 specimens were captured, weighted, measured and had a sample of their blood collected for the blood and plasma analysis. Biometry was used to evaluate specific growth rate, weight gain and allometric conditions. Mean differences were evaluated through analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test. Specific growth rate, weight gain and allometric conditions in the animals exposed to the climate scenarios increased ($p < 0.05$) in all tested conditions, although a general tendency to decrease was observed in intermediate (A1B) and extreme (A2) climate scenarios. Regarding the hematological analysis, the exposure to different climate conditions resulted in an increase in hematocrit and a decrease in mean corpuscular hemoglobin (MCH) in the first 30 days. Cortisol, glucose, and triglycerides increased significantly ($p < 0.05$) in the exposed animals, while cholesterol were highest at 60 and 90 days of exposure. The stearoyl-CoA gene expression in the liver of “tambaqui” was highest between 15 and 120 days, followed by a decrease in 150 days of exposure. The stearoyl-CoA gene expression in the muscle tissue was lowest in all climate scenarios in 15, 60 and 150 days. These results suggest that the climate scenarios analyzed in this study caused significant effects in the growth and fatty acid metabolism of “tambaqui”.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, as influências antropogênicas sobre o equilíbrio natural do planeta atingiram magnitude sem precedentes (NOBRE *et al.*, 2007). O aumento dos gases de efeito estufa, com contribuições proporcionadas pelo desmatamento, pelas queimadas e pelo uso de combustíveis fósseis contribuem diretamente com a mudança do cenário climático, em especial por meio do aquecimento global (NOBRE *et al.*, 2007; SANTOS e BUCHMAN, 2010). Estudos paleoclimáticos, por exemplo, apontaram picos de dióxido de carbono (CO₂) acompanhados por picos de temperatura nas eras interglaciais, enquanto que nas eras glaciais foi observado um decréscimo da concentração de CO₂ acompanhado de uma redução da temperatura na atmosfera, o que levou pesquisadores a propor que temperatura e CO₂ estão intimamente relacionados (PETIT *et al.*, 1999; FAIRCHILD, 2000).

A relação entre as emissões de CO₂ e o aumento da temperatura foi inicialmente registrada na década de 50, quando o nível de CO₂ atmosférico ultrapassou os valores máximos registrados nos últimos 400 mil anos, sendo acompanhado pelo aumento da temperatura (FEDOROV *et al.*, 2006; LACERDA e NOBRE, 2010). Entretanto, este assunto tornou-se preocupante e ganhou importância apenas no final do século XIX, quando foram desenvolvidos modelos que permitiram explicar a variabilidade do clima ocorrida ao longo do século e avaliar a contribuição de componentes naturais e antropogênicos sobre estas variações (BARCELLOS *et al.*, 2009).

Nesse sentido, na década de 80, a Organização das Nações Unidas (ONU) em parceria com a Organização Meteorológica Mundial (WMO) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) estabeleceram a criação do

Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (do inglês *Intergovernmental Panel on Climate Change- IPCC*), cujo objetivo era elaborar relatórios que descrevessem os cenários ambientais futuros do planeta, considerando a variação natural e ações antrópicas (ORSINI, 2007).

Desde então foram publicados quatro relatórios anuais (ARs). O primeiro deles (AR1), publicado em 1990, sugeriu que se criasse uma instância de negociação política sobre mudanças climáticas, o que culminou na criação da Convenção Quadro das Nações Unidas para Mudanças do Clima (ou UNFCC, sigla em inglês). O segundo, publicado em 1995, propôs um sistema de mitigação da emissão de CO₂, principal fonte causadora do efeito estufa e teve como resultado imediato a instituição do Protocolo de Kyoto, em 1997. A partir do terceiro relatório, fortes evidências da ação do homem sobre mudanças climáticas foram apontadas, com a projeção de cenários alarmantes de aumento de temperatura na Terra e suas consequências nos mais diversos biomas, que foi confirmado com maior rigor científico no AR4, publicado em 2007.

As simulações climáticas compiladas pelo IPCC, em 2007, descreveram três cenários de mudanças, relacionados aos desenvolvimentos socioeconômico e tecnológico do mundo: a) cenário B1, representando um cenário brando, onde o mundo apresentaria um moderado crescimento populacional, aliado ao consumo de fonte energética fóssil e tecnologia renovável; b) o cenário A1B, representando um cenário moderado, no qual o mundo apresentaria um rápido crescimento econômico e populacional com a adoção de novas tecnologias e redução no consumo de combustíveis fósseis; e c) o cenário A2, representando um cenário drástico, com elevado

crescimento populacional e desenvolvimento tecnológico lento, devido ao uso intensivo de combustíveis fósseis (JUSTINO e AMORIM, 2007).

A partir destas previsões, o IPCC indicou que as mudanças de temperatura e emissões de gases de efeito estufa, notadamente o CO₂, variariam de acordo com cada cenário climático futuro, a saber: o cenário B1 implicaria no aumento de 1,8°C na temperatura e aumento de 600ppm nos níveis de CO₂; o cenário A1B, um aumento de 2,8°C na temperatura e 850ppm nos níveis de CO₂, e o cenário A2 corresponderia ao aumento de 3,4°C na temperatura e 1.250 ppm nos níveis de CO₂. Além das evidências que as mudanças climáticas poderiam afetar significativamente o planeta, o Quarto Relatório Científico do IPCC AR4 recomendou especial atenção aos extremos climáticos, com maior rigor nos países menos desenvolvidos na região tropical.

Nos últimos anos, três modelos regionais integrados para a América do Sul apontaram que o maior aquecimento ocorrerá na Amazônia, entre 4 a 8°C para o cenário A2 e de 3 a 5°C para o cenário B2, para o período entre 2071 a 2100 comparado ao período que compreende 1961 a 1990 (AMBRIZZI *et al.*, 2007). Além disso, o cenário B2 apresentará diminuição da precipitação no norte e em parte do leste da Amazônia, enquanto que o cenário A2 apresentará diminuição da precipitação no norte, leste e região central da Amazônia (AMBRIZZI *et al.*, 2007; SALAZAR *et al.*, 2007).

Nesse sentido, NOBRE *et al.* (2008) alertaram que as mudanças no clima promovidas pelo aquecimento global e pela redução de precipitação podem comprometer os ecossistemas florestais amazônicos, resultando no desaparecimento ou possível “savanização” de partes da Amazônia (LI *et al.*, 2006; CANDIDO *et al.*, 2007; SALAZAR *et al.*, 2007). Adicionalmente, NOBRE

et al. (2007) reportaram que o aumento da concentração de CO₂ atmosférico também poderia comprometer o ciclo hidrológico na Amazônia, que inclusive já pode ser percebido pelos eventos atuais extremos de secas, em 2005 e 2010, e de cheia em 2009, que ocorreram na região e podem se tornar mais frequentes, ainda que estamos longe de estabelecer, definitivamente, uma relação de causa e efeito.

Mediante o exposto, torna-se evidente que as mudanças climáticas podem provocar diversas alterações no bioma (PARMESAN e YOHE, 2003). Entretanto, a extensão dos efeitos nas relações entre espécies dependerá de fatores intraespecíficos, como o nível de especialização, da fisiologia e comportamento das espécies e do potencial para a composição de novas comunidades, entre outros (GILMAN *et al.*, 2010).

Em geral, os peixes da Amazônia desenvolveram durante o processo evolutivo adaptações comportamentais, morfológicas e fisiológicas para se haver com as várias modificações do ambiente (VAL e ALMEIDA-VAL, 1995). Dentre as adaptações comportamentais está a migração nictemeral, que ocorre quando o animal tende a buscar ambientes favoráveis, em resposta a mudanças de variáveis ambientais como oxigênio e temperatura (SAINT PAUL e SOARES, 1987). Sobre as adaptações morfológicas, VAL (1995) e VAL *et al.* (2006) descreveram o desenvolvimento da especialização de órgãos para enfrentar condições desfavoráveis, particularmente em função da quantidade de oxigênio dissolvido no ambiente. Entre as estratégias fisiológicas adaptativas, para enfrentar variações ambientais, estão ajustes do microambiente eritrocitário, em particular, a concentração dos moduladores alostéricos da afinidade da hemoglobina com o oxigênio (VAL, 2000), a

combinação entre supressão metabólica anaerobiose (ALMEIDA-VAL *et al.*, 2000; CHIPPARI-GOMES *et al.*, 2005) e ajustes hematológicos, ionoregulatórios e produção de muco (ARIDE *et al.*, 2007).

Contudo, apesar da rusticidade adquirida durante o processo evolutivo, muitas espécies de peixes se tornam vulneráveis a variações ambientais, que por vezes se impõem como agentes estressores e requerem ajustes metabólicos e fisiológicos mais profundos (VAL *et al.*, 2006). Fundamentalmente, ao se deparar com os agentes estressores os animais desencadeiam uma série de ajustes, que resultam na pronta preparação do organismo para minimizar o estresse (VAL *et al.*, 2004). Segundo IWAMA *et al.* (1999), as respostas a agentes estressores podem ser classificadas em respostas primárias, secundárias e terciárias, que são categorizadas entre baixa e alta relevância ecológica.

As respostas primárias, são iniciadas com a liberação dos hormônios de estresse, catecolaminas e cortisol, que ocasionam posteriormente um aumento nos níveis de glicose, que poderá ser utilizada como uma reserva energética para pronta utilização (ROTLLANT e TORT, 1997; BARTON *et al.*, 2002). Em geral, o cortisol age nos processos de troca iônica (MCDONALD e MILLIGAN, 1997), mas também atua na mobilização do glicogênio no fígado, aminoácido, glicerol ou até mesmo lactato para a produção de glicose, permitindo uma fonte contínua de substrato para a oxidação em nível muscular durante o estresse (VIJAYAN *et al.*, 1997; DE BOECK *et al.*, 2001).

As respostas secundárias ao estresse envolvem modificações metabólicas, fisiológicas e estruturais (IWAMA *et al.*, 1999). Sobre as respostas metabólicas, GOLDSPINK (1995) relatou que o aumento da

temperatura ocasiona modificações nas conformações de enzimas e proteínas, para garantir adequada estabilidade térmica para o regime de temperatura experimentada. Também sobre o efeito de estresse térmico, TAVARES-DIAS e MORAES (2004) indicaram que o aumento da temperatura causa uma hemoconcentração em peixes, devido ao aumento no número de eritrócitos, no hematócrito e na concentração de hemoglobina e, sugeriram que este efeito sobre a fisiologia, se deve a uma tentativa de compensar a demanda metabólica, enquanto a temperatura é tolerada.

Do ponto de vista estrutural, MOYSES e SCHULTE (2010) descreveram o efeito do estresse térmico sobre a membrana plasmática. Segundo estes autores, a fluidez da membrana depende das propriedades dos lipídeos que a constituem, que são influenciados pelo ambiente físico. As baixas temperaturas, por exemplo, tendem a reforçar as forças de van der Waals entre os lipídeos, restringindo a movimentação da membrana, o que pode afetar sua função de forma adversa. Assim, no intuito de manter a fluidez, os animais tendem a regular o perfil lipídico desencadeando vários processos enzimáticos, em especial o aumento da atividade das alongases e das dessaturases.

A terceira e última resposta a agentes estressores descrita por IWAMA *et al.*(1999), diz respeito às respostas funcionais do animal, como o crescimento. Segundo BALDISSEROTTO (2009), qualquer fator ambiental que afete o consumo de energia e/ou metabolismo tende a influenciar o crescimento. Para a temperatura, o autor descreve que as baixas temperaturas tendem a diminuir o metabolismo e, por conseguinte, o crescimento, enquanto o aumento da temperatura pode ocasionar um aumento do metabolismo, que pode contribuir com um maior crescimento embora o gasto energético seja maior. Em

contrapartida, o autor alerta que em ambas as situações os peixes apresentam uma tolerância térmica que, quando ultrapassada, pode ocasionar a morte. Além disso, o autor mencionou que, em especial para as altas temperaturas, o maior crescimento é acompanhado por um aumento de ingestão de alimento e que, quando o fornecimento de alimento é ilimitado, embora haja um aumento na taxa de crescimento específico, este é observado até um certo limite.

O peixe é, sem dúvida, um dos principais recursos naturais na Amazônia. Além de representar uma importante fonte de emprego e renda, o peixe é a principal fonte de alimento, proporcionando à população da região uma rica fonte de proteína animal (SUFRAMA, 2003; FAO, 2007). Em 2001, o Jornal “O Movimento” publicou que o consumo *per capita* de pescado por ano na Amazônia estava estimado em 55 Kg e dados publicados pelo SEBRAE (2001) apontaram que apenas no Estado do Amazonas o consumo de peixes pode chegar a 60 Kg por pessoa, por ano. ALMEIDA e ALMEIDA (2006) confirmaram a estreita relação entre o amazonense e o pescado como alimento, após estudos que indicaram um consumo *per capita* por dia entre 369 a 600g na região dos rios Solimões e alto Amazonas.

Embora existam mais de 3000 espécies de peixes na bacia Amazônica, poucas são utilizadas como alimento (SANTOS e FERREIRA, 1999; SOARES e JUNK, 2000; SANTOS, 2005). Dentre as espécies mais consumidas encontra-se o tambaqui (*Colossoma macropomum*), considerado o maior Characiforme da Bacia Amazônica (GOULDING, 1980) por alcançar 100cm de comprimento e até 30kg de peso na natureza (GOULDING e CARVALHO, 1982; ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998). Em ambiente natural, o tambaqui, na fase jovem, é onívoro com tendência a zooplanctofágo, sendo frugívoro

exclusivo quando adulto (SAINT-PAUL, 1983). Esta espécie atinge a maturidade sexual entre o terceiro e o quarto ano de vida, apresenta desova total, alta fecundidade e ovos semipelágicos (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998).

Todas essas características associadas à carne bastante apreciada pela população local têm ocasionado uma diminuição dos estoques naturais de tambaqui desde o final do século 19 (VERÍSSIMO, 1895). Até o final da década de 1970, o tambaqui foi responsável por 40% da captura total desembarcada na cidade de Manaus (PETRERE, 1978). No entanto, em meados da década de 1980, a pesca de tambaqui sofreu um declínio, levando a suspeita de sobrepesca (BARTHEM *et al.*, 1997). Assim, para suprir a demanda local, o tambaqui foi incorporado à piscicultura, sendo a primeira espécie regional levada à criação (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998).

Considerando que as mudanças nas variáveis ambientais podem proporcionar efeitos adversos nos animais, principalmente em se tratando de situações estressantes, e que os estudos tem apontado um aumento de até 3°C a temperatura do planeta, pelo aumento da emissão de CO₂(PETIT *et al.*, 1999), este estudo tem o intuito de contribuir com informações que caracterizem o efeito das mudanças climáticas sobre a fisiologia e o metabolismo dos ácidos graxos do tambaqui, tendo como referência os três cenários gerais previstos pelo Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC 2007).

1.1. Objetivo

Avaliar os efeitos dos cenários climáticos, previstos pelo IPCC para o ano 2100, sobre a fisiologia e o metabolismo dos ácidos graxos do tambaqui (*Colossoma macropomum*).

1.1.1. Objetivos específicos

1.1.1.1. Avaliar o efeito dos cenários climáticos, previstos pelo IPCC para o ano 2100, sobre o crescimento do tambaqui (*Colossoma macropomum*).

1.1.1.2. Avaliar o efeito dos cenários climáticos, previstos pelo IPCC para o ano 2100, sobre a hematologia do tambaqui (*Colossoma macropomum*).

1.1.1.3. Avaliar o efeito dos cenários climáticos, previstos pelo IPCC para o ano 2100, sobre a expressão da esteroil-CoA do tambaqui (*Colossoma macropomum*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Juvenis de *Colossoma macropomum* foram adquiridos na Fazenda Tajá (Km 101- BR174- 2°1'48.62"S/60°1'25.97"O), de onde foram transportados para o Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular (LEEM /INPA). No laboratório, os animais foram aclimatados e alimentados *ad libitum* com ração comercial (Tabela 1), uma vez ao dia. Após 30 dias, 480 animais ($15,5 \pm 1,9$ g e $8,3 \pm 0,3$ cm), escolhidos aleatoriamente, foram distribuídos em 24 grupos e acondicionados em aquários de 80L, com estrutura de PVC e aeração constante. Cada quatro grupos foram considerados uma bateria, montada a

cada três dias, no mesmo horário e nas mesmas condições. Cada bateria foi acondicionada inicialmente no laboratório úmido do LEEM e, após cinco dias, foi transferida para as condições experimentais.

As condições experimentais consistiram de quatro salas climáticas (microcosmos) de 25m³total, especialmente controladas, nas quais os cenários ambientais: brando (cenário B1: aumento de 600 ppm de CO₂ e aumento de 1.5°C), intermediário (cenário A1B: aumento de 800 ppm de CO₂ e aumento de 2.5°C) e extremo (cenário A2: aumento de 1250 ppm CO₂ e aumento de 4.5°C), previstos pelo Painel Intergovernamental para Mudanças Climáticas (IPCC 2007) para o ano 2100, foram reproduzidos. Para o controle, uma das salas reproduziu as condições de temperatura e concentração de CO₂ iguais às atuais (cerca de 30C e 380ppm), cujas variações seguiram em tempo real às condições naturais externas aos microcosmos, coletadas em tempo real por sensores especialmente instalados na floresta.

Cada sala climática recebeu seis aquários com 20 peixes cada. Os peixes foram alimentados com ração comercial base (Tabela 1), durante todo o experimento. Após o período de aclimatação de dois dias de exposição na sala, foram retirados dois animais de cada sala, escolhidos aleatoriamente, correspondentes ao tempo zero, sendo que os tempos previstos para o experimento foram 0, 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias, para a coleta de sangue e amostras de tecido muscular e hepático.

Tabela 1. Composição proximal da ração comercial base utilizada na alimentação dos animais (tambaqui, *Colossoma macropomum*), durante o período de incubação nas salas climáticas.

Características (%MS)	Ração Comercial
Matéria Seca	91.5
Cinza	11.5
Extrato etéreo	4.0
Proteína bruta	51.7
Fibra bruta	2.1

2.1. Variáveis ambientais

O acompanhamento da temperatura e do CO₂ do ar foram realizados por meio de um sistema computacional integrado que registrou e controlou a entrada de CO₂ e calor, para que os cenários previstos pelo IPCC (2007) fossem reproduzidos a partir da sala controle. A sala controle foi dotada de um sensor que se comunicava com outro instalado no meio da floresta do INPA e, assim, reproduzia o cenário natural atual. A captação é realizada a cada dois minutos e são emitidos para o sistema, que se encarrega de liberar ou retirar a quantidade de gás carbônico e calor necessários para as outras salas, para simular os cenários brando, intermediário e extremo previamente estipulados como mencionado acima. Todos os valores captados e os valores de cada sala corrigidos, para manter as simulações são armazenados em um computador exclusivo para esta finalidade.

O acompanhamento das variáveis físico-químicas da água foi realizado diariamente durante todo o experimento. Os valores de pH foram obtidos com auxílio de um pHmetro UltraBASIC UB-10 (Denver Instrument, EUA), as medidas de temperatura e de oxigênio dissolvido foram realizadas com o auxílio de um oxímetro 5512-FT (YSI, EUA) e os níveis de CO₂, determinados por meio de ensaio colorimétrico segundo BOYD e TUCKER (1992).

2.2. Índices zootécnicos

Os dados biométricos foram coletados em todo o período experimental e utilizados para avaliar o desempenho zootécnico do tambaqui. Para cada tempo, foram calculados os seguintes parâmetros de desempenho:

- a) Ganho de peso (GP)

$$GP = \text{peso final} - \text{peso inicial}$$

- b) Taxa de crescimento específico (TCE)

$$TCE = [(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{tempo}] \times 100$$

- c) Fator de condição alométrico (K)

$$K = \text{peso} / \text{comprimento}^b,$$

Onde: b corresponde ao coeficiente de regressão da população natural de tambaqui (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998).

2.3. Parâmetros hematológicos

Para a realização das análises sanguíneas, os peixes foram anestesiados com benzocaína (3-Éster etílico aminobenzóico) (5mg/L) e o sangue foi coletado da veia caudal usando seringas heparinizadas. Foram analisados os seguintes parâmetros: hematócrito (Ht), por meio da técnica de micro-hematócrito e leitura em cartão padronizado; concentração de hemoglobina [Hb], usando o método da cianometahemoglobina e leitura em espectrofotômetro (KAMPEN e ZIJLSTRA, 1964); contagem de células vermelhas do sangue em câmara de Neubauer; constantes corpusculares (VCM - volume corpuscular médio; HCM - hemoglobina corpuscular média; CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média), calculadas de

acordo com BROWN (1976); glicose, por meio de um glicosímetro digital (“kit” *AccuChek Advantage2* Roche®, Alemanha); cortisol, por meio do método imunoensaio enzimático (“kit” Elisa comercial da marca *DBC*, Canadá); colesterol, por meio do método enzimático-trinder (“kit” comercial da marca *Labtest*, Brasil) e triglicerídeos, por meio do método enzimático colorimétrico (“kit” comercial da marca *In vitro human*, Brasil). Após obtenção do sangue, amostras de músculo e fígado foram coletadas com o auxílio de material cirúrgico autoclavado.

2.4. Expressão de Esteroil-CoA (SCD)

O RNA total do músculo e do fígado de tambaqui foi extraído com o uso de 500 µL de Reagente TRizol® (Invitrogen, Life Technologies/ EUA), conforme instruções do fabricante com algumas modificações. Para ambos os tecidos, foi acrescentado ao protocolo o acondicionamento das amostras em freezer -80°C, por 5 minutos, antes da 3ª etapa de centrifugação. Em seguida, a concentração e a pureza de todas as amostras de RNA total foram medidas em espectrofotômetro NanoDrop® 2000 (ThermoScientific, EUA). A integridade do RNA total isolado foi verificada em gel de agarose 1% por meio da visualização dos RNAs ribossômicos (rRNA) 28S e 18S, sendo o gel visualizado em luz ultravioleta (UV) no fototransiluminador Molecular Imaging L-Pix (Loccus Biotecnologia, Brasil). Após a avaliação da integridade, as amostras de RNA foram tratadas com DNase I (Invitrogen, Life Technologies, EUA), seguindo a descrição do fabricante. A síntese de cDNA foi realizada seguindo as instruções do fabricante para o kit Revert Aid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis (Fermentas, Lituânia). A confirmação da síntese de DNA complementar foi realizada por eletroforese em gel de agarose 1% (m/v),

com tampão TAE 1X, corado com GelRed (Biotium, Uniscience, EUA) e visualizado em fototransiluminador de luz UV. A quantificação das amostras de cDNA foi realizada por meio de espectrofotometria.

A amplificação do gene estearoil-CoA dessaturase-1 (*SCD-1*) foi realizada com o auxílio de um termociclador Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, Singapura), com temperatura média de anelamento (T_m) de 55°C. A amplificação dos produtos foi confirmada por meio de eletroforese em gel de agarose 1% (m/v), em tampão TAE 1X marcado com GelRed (Biotium, Uniscience, EUA) e, para a confirmação dos tamanhos dos fragmentos amplificados, foi adicionado um marcador de peso molecular conhecido ao gel. As bandas específicas obtidas para o gene foram purificadas em sistema E-Gel® Clone Well (Invitrogen, EUA), conforme especificações do fabricante e estocado em freezer -20 °C até análise subsequente.

O sequenciamento do gene *SCD-1* do tabaqui foi realizada com o kit ABI PRISM® Big Dye TM Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (Applied Biosystems, Singapura), seguindo as instruções do fabricante, utilizando-se placa de 96 poços. Em seguida, as sequências obtidas foram analisadas por meio do software Sequence Analyzer e, então, validadas pelos algoritmos BLASTn e BLASTx, rotinas do software BLAST, disponível no banco de dados NCBI (<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>>). A partir da validação das sequências obtidas, foram desenhados os *primers* específicos do gene *SCD-1*, usando-se o software Oligo Explorer v.1.1.2 (TEEMUKUULASMAA, Universidade de Kuopio, Finlândia).

Tabela 2. Sequências dos oligonucleotídeos iniciadores forward (F) e reverse (R) utilizados na reação de PCR.

Gene	Sequência dos oligonucleotídeos (5'- 3')	Tamanho do fragmento (pb)¹
SCD	(F)ATGACCACCTTGTCTGCCTT (R) CTTCTCTCACATTGGCTGG	500
28S	(F)AAAGGGTGTCGGGTTTCAGAT (R) CGGGTTCGTTTGCATTAC	150

¹ número de pares de bases do fragmento. Substituição de bases no momento da síntese: H=A/T/C; Y=C/T; R=G/A.

As reações de qPCR (Reação de Polimerização em Cadeia em Tempo Real) foram realizadas em triplicata no termociclador ABI Prism 7300 Sequence Detection System (Applied Biosystems, EUA). O gene ribossomal 28S foi utilizado como controle endógeno das análises, servindo como gene de referência para a normalização das reações. Os níveis de expressão do gene *SCD-1* em tabaqui foram calculados pelo método de quantificação relativa $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (PFAFFL, 2001).

2.5. Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (SEM) (n=12). A significância estatística das diferenças entre as médias de cada sala experimental, em cada tempo, foi estimada por meio da análise de variância (ANOVA) de dois fatores (cenários e tempo), assumindo um nível de significância de 5%, verificadas as premissas para esta análise. O teste de Tukey foi usado para contraste entre as médias (ZAR, 1984).

3. RESULTADOS

3.1. Variáveis ambientais

Os níveis de CO₂ e temperatura dos microcosmos apresentaram variação entre as salas, conforme o proposto, com pequenas variações durante o

período experimental de 150 dias (Figura 1). Embora tenham refletido os valores encontrados nas salas, os aquários apresentaram maiores variações para as duas variáveis, temperatura e níveis de CO₂ (Figura 2). Os valores de pH da água dos aquários também apresentaram variações relativas esperadas em função das concentrações de CO₂ das salas (Tabela 3). O oxigênio dissolvido também apresentou variações entre as salas e entre os períodos experimentais, com menores valores encontrados em 60 dias (Tabela 3).

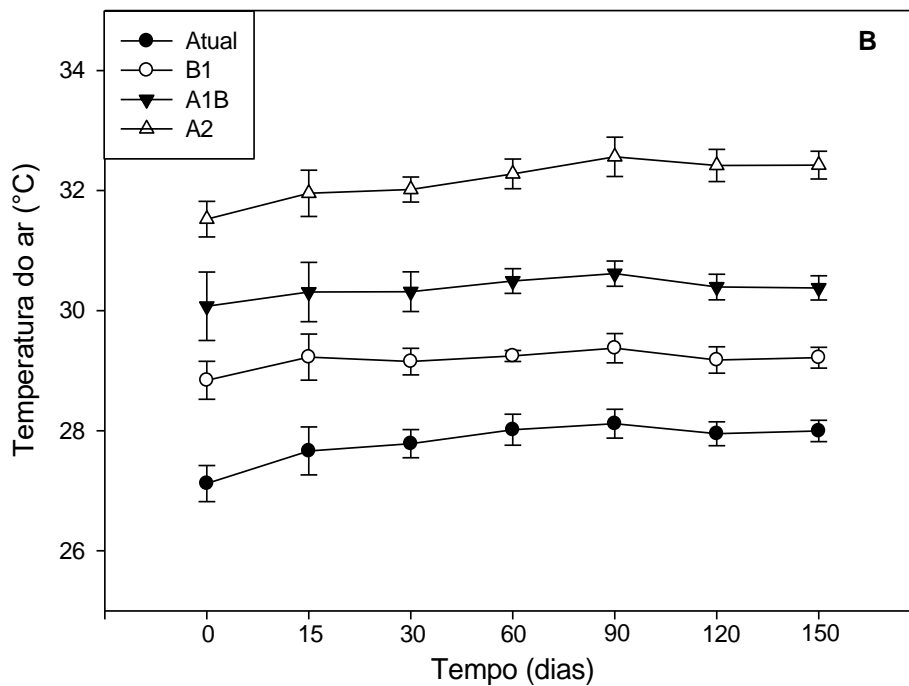
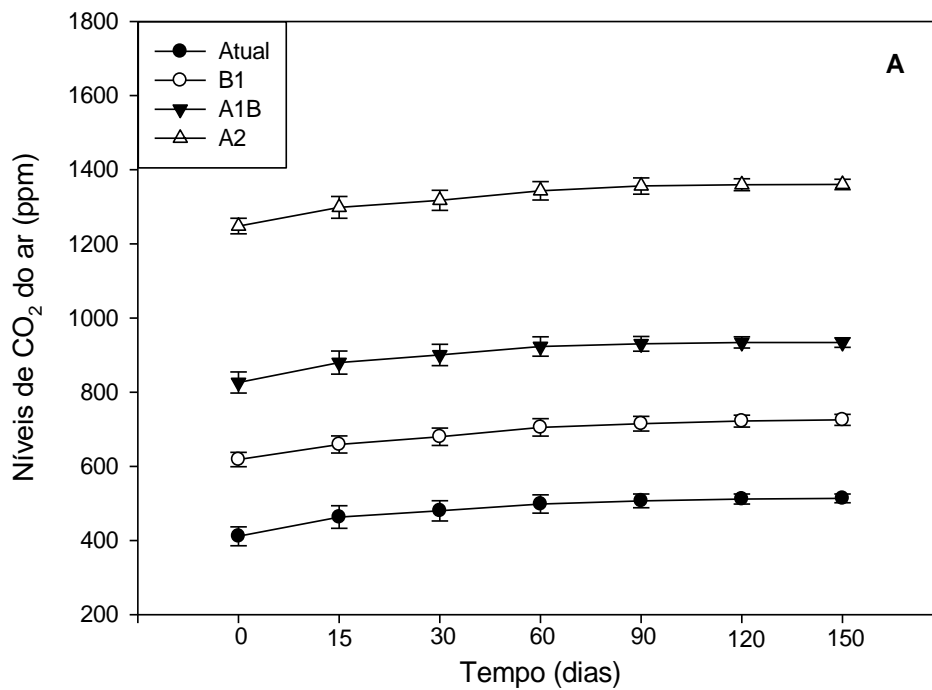


Figura 1. Níveis de CO₂ (A) e temperatura (B) do ar das salas experimentais simulando os diferentes cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100 durante o período experimental. Os valores estão apresentados como média ± erro padrão da média (SEM).

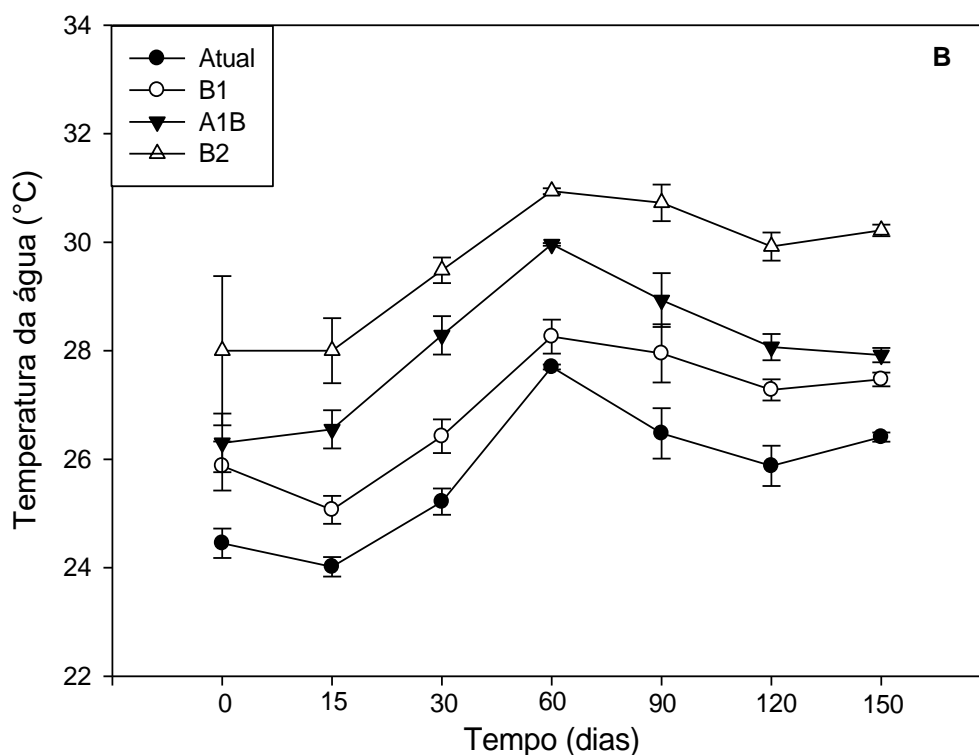
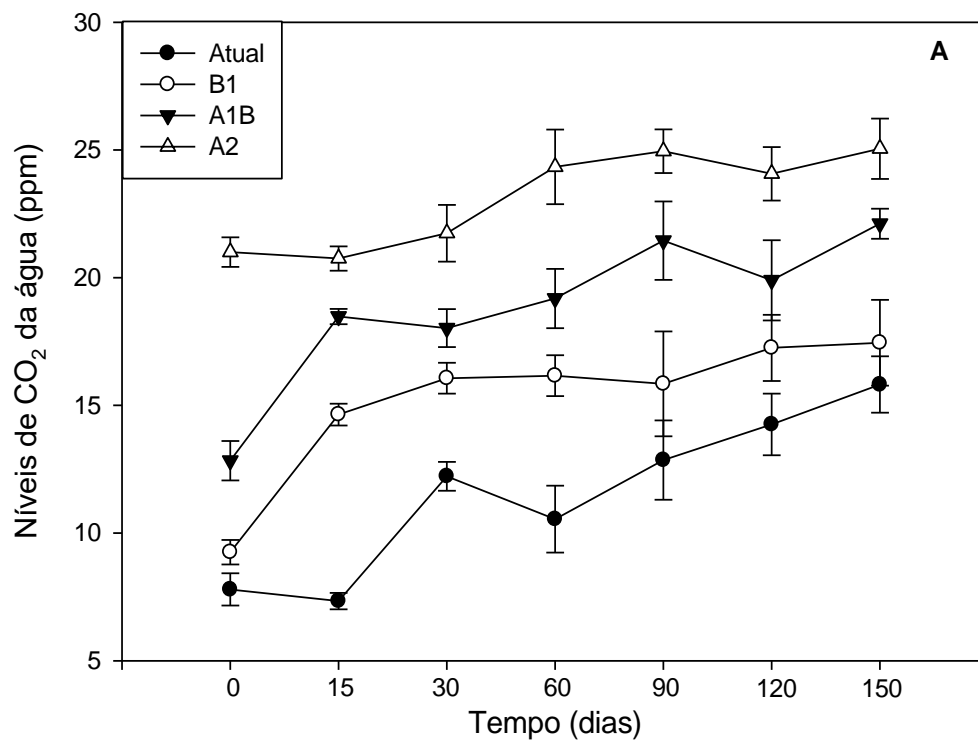


Figura 2. Níveis de CO₂ (A) e temperatura (B) da água dos aquários incubados nas salas experimentais simulando os diferentes cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100 durante o período experimental. Os valores estão apresentados como média ± erro padrão da média (SEM).

Tabela 3. pH e oxigênio dissolvido da água dos aquários com os exemplares de tambaqui (*Colossoma macropomum*) incubados nas salas experimentais simulando os diferentes cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100 durante o período experimental. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM).

Tempo	Cenário Climático	pH	Oxigênio dissolvido (mg/L)
Zero	Atual	5,1 \pm 0,3	7,5 \pm 0,5
	B1	5,6 \pm 0,3	7,2 \pm 0,3
	A1B	5,4 \pm 0,3	7,2 \pm 0,3
	A2	4,6 \pm 0,1	7,4 \pm 0,2
15 Dias	Atual	6,4 \pm 0,2	7,4 \pm 0,1
	B1	5,5 \pm 0,1	7,5 \pm 0,1
	A1B	5,3 \pm 0,1	7,6 \pm 0,2
	A2	5,1 \pm 0,1	7,6 \pm 0,1
30 Dias	Atual	5,7 \pm 0,2	7,5 \pm 0,1
	B1	5,4 \pm 0,1	7,2 \pm 0,1
	A1B	5,7 \pm 0,1	7,0 \pm 0,2
	A2	5,7 \pm 0,2	6,9 \pm 0,3
60 Dias	Atual	6,0 \pm 0,1	6,7 \pm 0,3
	B1	5,7 \pm 0,1	6,6 \pm 0,3
	A1B	5,8 \pm 0,1	6,2 \pm 0,5
	A2	5,8 \pm 0,3	5,7 \pm 0,6
90 Dias	Atual	5,8 \pm 0,2	7,0 \pm 0,2
	B1	5,5 \pm 0,1	6,4 \pm 0,4
	A1B	5,7 \pm 0,1	6,4 \pm 0,4
	A2	5,7 \pm 0,2	6,0 \pm 0,5
120 Dias	Atual	5,7 \pm 0,2	7,0 \pm 0,2
	B1	5,5 \pm 0,1	6,6 \pm 0,3
	A1B	5,6 \pm 0,1	6,5 \pm 0,4
	A2	5,5 \pm 0,2	6,2 \pm 0,5
150 Dias	Atual	5,7 \pm 0,2	7,0 \pm 0,2
	B1	5,5 \pm 0,1	6,6 \pm 0,3
	A1B	5,6 \pm 0,1	6,4 \pm 0,3
	A2	5,4 \pm 0,1	6,1 \pm 0,5

3.2. Índices zootécnicos

O consumo de ração foi crescente em todas as salas durante o período experimental, mas apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) a partir de 60 dias, com maior consumo registrado para 120 e 150 dias em todos os cenários

(Figura 3). Entre as salas, foram observados aumentos significativos ($p < 0,05$) para o cenário A2, em relação ao cenário atual, em 90, 120 e 150 dias (Figura 3).

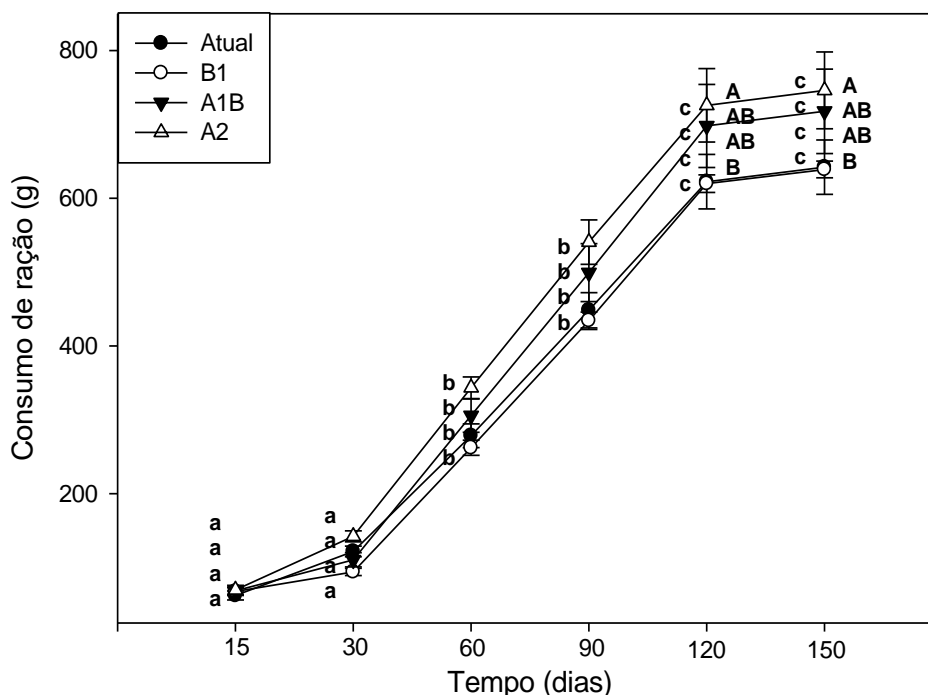


Figura 3. Consumo de ração dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos aos cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100, em diferentes tempos. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as salas em cada tempo e letras minúsculas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a mesma sala durante todo o período experimental. Note a significativa inflexão no consumo de ração aos 150 dias.

O ganho de peso dos animais expostos aos diferentes cenários climáticos foi diretamente proporcional ao consumo de ração, que apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) para todas as salas entre 90 e 150 dias (Figura 4). Em 60 dias, o ganho de peso foi maior apenas para os animais expostos aos cenários A1B e A2 (Figura 4). Entre as salas climáticas, foi possível observar o mesmo padrão entre 90 e 150 dias, onde os cenários A1B e A2 ocasionaram maiores ($p < 0,05$) incrementos de massa, que os cenários atual e brando (B1) (Figura 4). Em 60 dias, o cenário brando ocasionou o menor ($p < 0,05$) ganho de peso,

enquanto o cenário intermediário o maior ($p < 0,05$), em relação ao cenário atual (Figura 4).

No geral, os cenários A1B e A2 parecem favorecer o ganho de peso do tambaqui; entretanto, embora não haja diferença significativa ($p < 0,05$), uma tendência de diminuição foi observada para o cenário A2, em 120 e 150 dias.

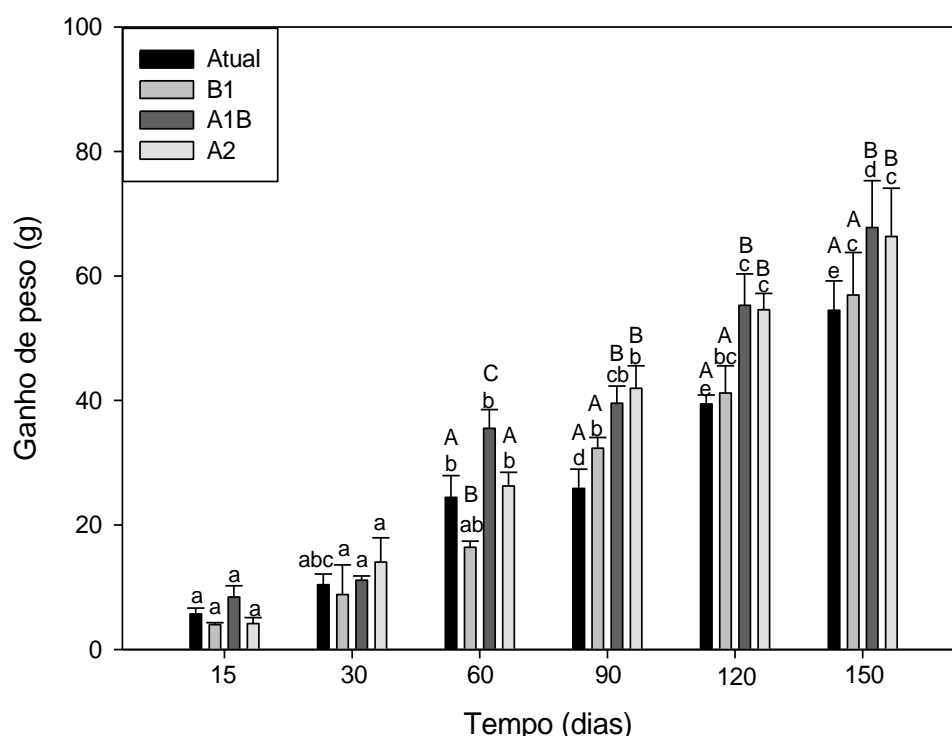


Figura 4. Ganho de peso de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos aos cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100, em diferentes tempos. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as salas em cada tempo e letras minúsculas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a mesma sala durante todo o período experimental.

Para a taxa de crescimento específico (TCE) observou-se que a sala que reproduziu o cenário intermediário (A1B) favoreceu um incremento na taxa de crescimento dos peixes a partir de 120 dias em relação aos tempos 15 e 30 dias, enquanto que as salas que reproduziram os cenários brando (B1) e extremo (A2) favoreceram o mesmo incremento a partir de 90 dias em relação aos animais coletados em 15 e 30 dias (Figura 5).

O contraste entre as salas não apresentou diferença estatística significativa, embora tenha sido possível notar uma tendência de maior incremento no cenário A1B, em relação aos outros cenários, em todos os tempos (Figura 5).

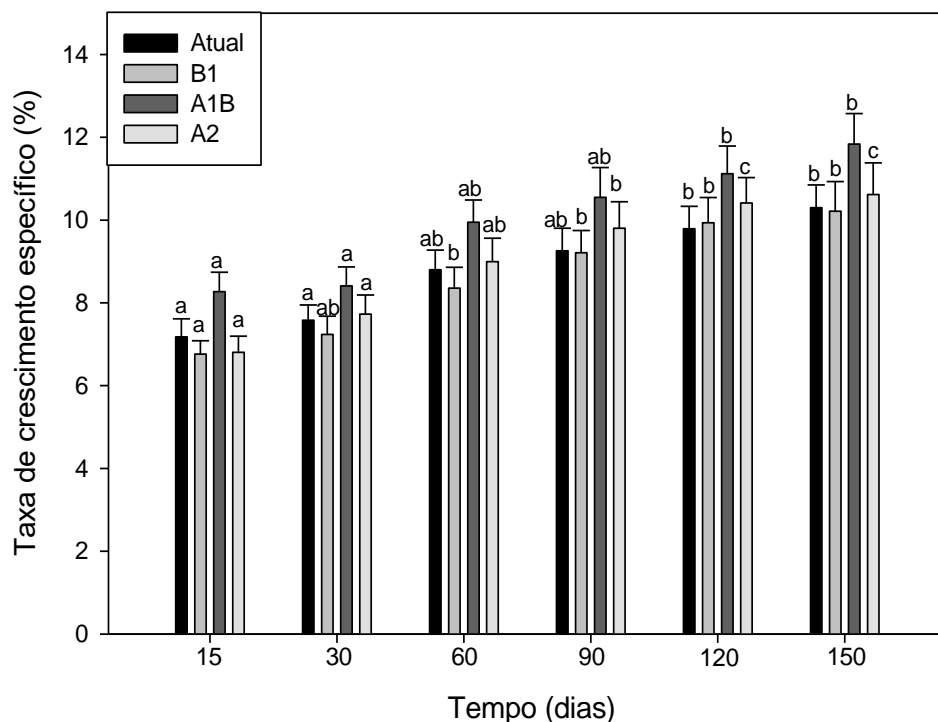


Figura 5. Taxa de crescimento específico de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos aos cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100, em diferentes tempos. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as salas em cada tempo e letras minúsculas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a mesma sala durante todo o período experimental.

O tempo de exposição favoreceu o aumento ($p < 0,05$) do fator de condição dos animais expostos a todos os cenários climáticos, a partir de 15 dias. Os maiores ($p < 0,05$) valores de fator de condição dos animais foi encontrado em 60 dias de exposição, nos cenários A1B e A2 e em 90 dias no cenário B1 (Figura 6).

Embora o contraste entre as salas não tenham apresentado alterações significativas ($p < 0,05$), uma tendência de diminuição do fator de condição foi

observada para os cenários A1B e A2, a partir de 90 dias de exposição (Figura 6).

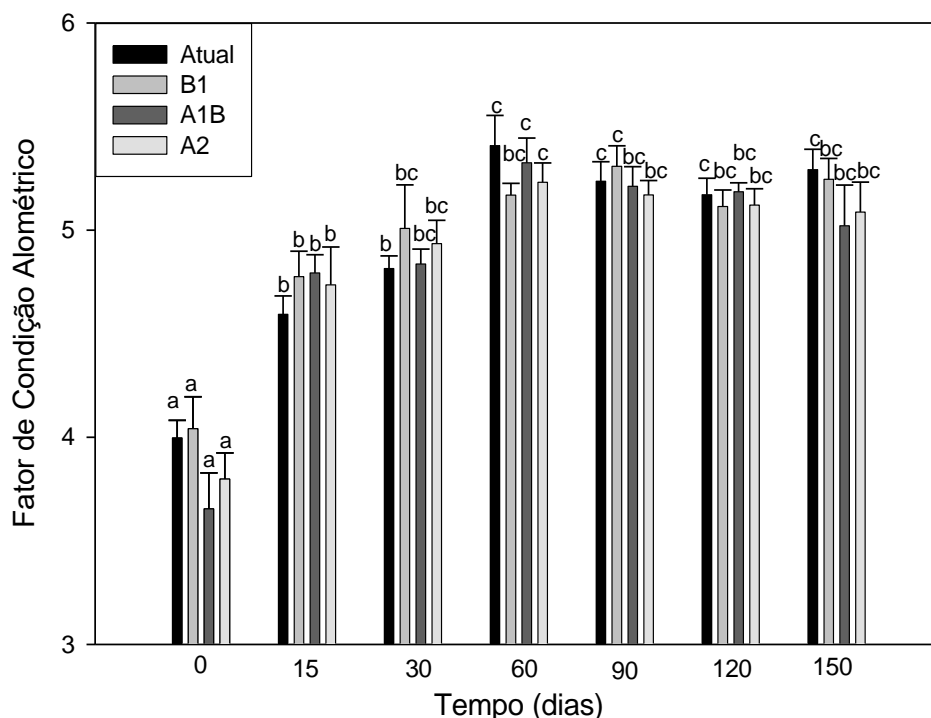


Figura 6. Fator de condição alométrico (K) de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos aos cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100, em diferentes tempos. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as salas em cada tempo e letras minúsculas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a mesma sala durante todo o período experimental.

3.3. Parâmetros hematológicos

Entre os parâmetros hematológicos avaliados, apenas o Ht e a HCM dos animais expostos aos diferentes cenários climáticos apresentaram variações significativas ($p < 0,05$) (Tabela 4). O Ht dos animais submetidos aos cenários brando (B1) e extremo (A2) apresentou um aumento ($p < 0,05$) em 30 dias e, o HCM dos animais expostos aos cenários intermediário (A1B) e extremo (A2) apresentou um aumento ($p < 0,05$), em 15 e 30 dias de exposição, em relação ao cenário brando (B1) (Tabela 4).

Em contrapartida, o tempo de exposição aos diferentes cenários climáticos influenciou a hematologia dos animais, durante o período experimental. A [Hb] dos animais submetidos aos cenários brando e extremo apresentou um aumento significativo ($p < 0,05$) entre 15 e 90 dias, enquanto que para aqueles submetidos ao cenário intermediário, o aumento persistiu até 120 dias (Tabela 4). Para o Ht, a exposição ao cenário B1 ocasionou um aumento significativo ($p < 0,05$) a partir de 15 dias. Já a exposição aos cenários A1B e B2 ocasionou um aumento de Ht dos animais a partir de 30 dias (Tabela 4).

Em relação ao RBC, os animais expostos a todos os cenários climáticos apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) entre 30 e 120 dias. Além desse padrão, o maior aumento ($p < 0,05$) foi observado nos animais expostos ao cenário B1, em 60 e 120 dias de exposição. Em 150 dias, todos os cenários climáticos apresentaram valores similares aos tempos 0 e 15 dias de exposição (Tabela 4). Das constantes corpusculares, o VCM apresentou um aumento significativo ($p < 0,05$) apenas nos animais expostos ao cenário B1 entre 120 e 150 dias; o HCM aumentou ($p < 0,05$) em 15 dias, para os animais expostos a todos os cenários climáticos e; o CHCM uma diminuição ($p < 0,05$) nos peixes expostos ao cenário A2, entre 15 e 150 dias (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros hematológicos de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos aos cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100, em diferentes tempos. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as salas em cada tempo e letras minúsculas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a mesma sala durante todo o período experimental.

Tempo	Cenário Climático	[Hb] (g/dL)	Ht (%)	RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	VCM (μm^3)	HCM (pg)	CHCM (%)
Zero	Atual	5,7 \pm 1,0 ^a	19,4 \pm 1,2 ^a	1,6 \pm 0,1 ^a	129,8 \pm 11,0	30,2 \pm 4,0 ^a	23,9 \pm 3,3 ^{ab}
	B1	5,3 \pm 0,9 ^a	21,9 \pm 1,9 ^a	1,8 \pm 0,1 ^a	123,5 \pm 9,9 ^{ab}	35,5 \pm 8,0 ^a	26,5 \pm 4,6
	A1B	5,0 \pm 0,8 ^a	22,8 \pm 1,0 ^a	2,0 \pm 0,1 ^a	118,2 \pm 8,4	28,9 \pm 5,6 ^a	23,3 \pm 3,9
	A2	5,6 \pm 0,9 ^a	20,3 \pm 1,4 ^a	1,8 \pm 0,1 ^a	114,4 \pm 16,0	29,3 \pm 6,6 ^a	28,0 \pm 6,4 ^{ab}
15 Dias	Atual	8,3 \pm 0,9 ^b	22,7 \pm 1,1 ^a	1,9 \pm 0,1 ^a	118,9 \pm 6,7	30,1 \pm 5,3 ^{Aa}	24,7 \pm 4,0 ^a
	B1	8,5 \pm 0,8 ^b	23,4 \pm 1,0 ^b	1,8 \pm 0,2 ^a	138,9 \pm 12,7 ^{ab}	54,4 \pm 9,0 ^{Bb}	37,3 \pm 4,5
	A1B	8,3 \pm 0,7 ^b	24,3 \pm 0,6 ^a	1,7 \pm 0,1 ^a	149,2 \pm 10,0	54,7 \pm 7,2 ^{Bb}	35,2 \pm 3,4
	A2	8,4 \pm 0,7 ^b	23,3 \pm 0,7 ^a	1,7 \pm 0,1 ^a	144,9 \pm 7,7	54,7 \pm 6,4 ^{Bb}	36,0 \pm 3,4 ^a
30 Dias	Atual	7,7 \pm 0,7 ^b	23,7 \pm 0,9 ^{ABa}	1,7 \pm 0,1 ^a	148,2 \pm 8,2	55,3 \pm 6,9 ^{Ab}	36,2 \pm 3,5 ^{ab}
	B1	7,8 \pm 0,8 ^b	25,1 \pm 1,2 ^{Ab}	2,1 \pm 0,1 ^b	124,5 \pm 6,6 ^{ab}	40,3 \pm 6,0 ^{Ba}	32,6 \pm 4,8
	A1B	6,9 \pm 0,6 ^{ab}	24,1 \pm 1,1 ^{ABb}	2,1 \pm 0,1 ^b	120,7 \pm 8,0	38,3 \pm 3,9 ^{Ba}	32,7 \pm 3,7
	A2	6,8 \pm 0,8 ^{ab}	28,5 \pm 0,8 ^{Bb}	2,5 \pm 0,1 ^b	119,9 \pm 7,9	29,1 \pm 3,3 ^{Ba}	24,1 \pm 2,1 ^{ab}
60 Dias	Atual	8,4 \pm 0,4 ^b	27,5 \pm 1,0 ^b	2,3 \pm 0,1 ^b	124,3 \pm 7,2	31,0 \pm 4,1 ^a	25,1 \pm 3,1 ^{ab}
	B1	8,5 \pm 0,4 ^b	30,2 \pm 1,1 ^c	2,3 \pm 0,1 ^c	138,1 \pm 8,3 ^{ab}	38,4 \pm 2,2 ^a	28,2 \pm 1,4
	A1B	8,2 \pm 0,4 ^b	29,3 \pm 1,3 ^b	2,2 \pm 0,1 ^b	137,8 \pm 7,5	39,8 \pm 1,5 ^a	29,6 \pm 1,6
	A2	8,4 \pm 0,4 ^b	29,1 \pm 1,1 ^b	2,0 \pm 0,1 ^b	150,2 \pm 7,5	41,8 \pm 1,3 ^a	28,6 \pm 1,7 ^{ab}
90 Dias	Atual	8,3 \pm 0,4 ^b	29,4 \pm 1,4 ^{ab}	2,3 \pm 0,1 ^b	128,4 \pm 6,6	37,4 \pm 3,1 ^a	29,2 \pm 1,8 ^{ab}
	B1	8,1 \pm 0,5 ^b	27,1 \pm 0,6 ^{bc}	2,1 \pm 0,1 ^b	131,2 \pm 7,3 ^{ab}	39,7 \pm 2,3 ^a	30,7 \pm 1,6
	A1B	8,9 \pm 0,3 ^b	25,1 \pm 1,6 ^b	2,1 \pm 0,1 ^b	135,2 \pm 13,8	45,3 \pm 7,0 ^a	33,5 \pm 2,6
	A2	8,5 \pm 0,2 ^b	28,7 \pm 0,5 ^b	2,3 \pm 0,1 ^b	123,8 \pm 4,2	38,0 \pm 1,4 ^a	30,9 \pm 1,0 ^{ab}
120 Dias	Atual	6,6 \pm 0,2 ^{ab}	28,7 \pm 0,8 ^{ab}	2,4 \pm 0,1 ^b	123,2 \pm 6,0	36,7 \pm 1,9 ^a	30,0 \pm 1,2 ^b
	B1	6,5 \pm 0,3 ^{ab}	29,0 \pm 0,9 ^{bc}	2,3 \pm 0,1 ^c	126,8 \pm 6,0 ^a	28,7 \pm 1,4 ^a	22,7 \pm 0,5
	A1B	8,0 \pm 1,0 ^b	27,6 \pm 0,8 ^b	2,4 \pm 0,1 ^b	115,9 \pm 4,0	26,7 \pm 0,7 ^a	23,3 \pm 0,9
	A2	6,4 \pm 0,4 ^{ab}	28,7 \pm 0,7 ^b	2,5 \pm 0,1 ^b	115,4 \pm 4,1	32,0 \pm 3,8 ^a	27,8 \pm 3,4 ^{ab}
150 Dias	Atual	6,6 \pm 0,5 ^{ab}	28,6 \pm 0,4 ^{ab}	2,5 \pm 0,1 ^b	118,5 \pm 4,1	26,5 \pm 1,0 ^a	22,5 \pm 0,9 ^b
	B1	6,6 \pm 0,5 ^{ab}	27,9 \pm 0,7 ^c	2,0 \pm 0,1 ^a	140,5 \pm 8,4 ^b	32,1 \pm 1,9 ^a	23,9 \pm 2,0
	A1B	6,9 \pm 0,5 ^{ab}	29,0 \pm 0,7 ^b	1,9 \pm 0,1 ^a	160,1 \pm 11,9	34,9 \pm 2,2 ^a	23,1 \pm 1,9
	A2	6,7 \pm 0,4 ^{ab}	27,7 \pm 0,8 ^b	1,9 \pm 0,1 ^a	145,7 \pm 5,9	35,6 \pm 1,7 ^a	24,9 \pm 1,5 ^b

Os níveis plasmáticos de cortisol dos animais submetidos aos diferentes cenários climáticos apresentaram variações significativas em 15, 30 e 60 dias de exposição (Figura 7). Em 15 dias, os animais submetidos ao cenário A1B apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) dos níveis plasmáticos de

cortisol, em relação aos cenários atual e B1 (Figura 7). Já em 30 dias, os animais submetidos ao cenário A2 apresentaram maiores ($p<0,05$) níveis plasmáticos de cortisol que os animais do cenário B1; enquanto que em 60 dias, os animais do cenário A2 exibiram os maiores níveis de cortisol, em relação aos animais de todos os outros cenários (Figura 7).

Em função do tempo de exposição (150 dias), os níveis plasmáticos de cortisol do tambaqui sofreram alterações em apenas dois cenários: brando e intermediário (Figura 7). No cenário B1 houve uma diminuição dos níveis de cortisol em 30 e 60 dias, seguida de um aumento em 150 dias, e no cenário A1B ocorreu um aumento em 15 dias, seguido de uma diminuição em 60 dias.

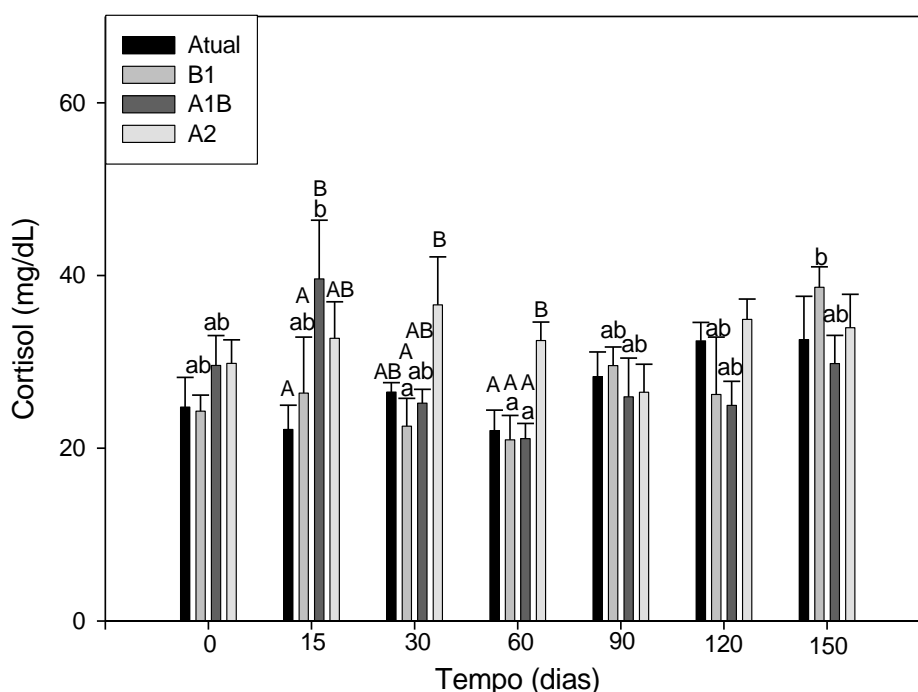


Figura 7. Níveis plasmáticos de cortisol em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos aos cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100, em diferentes tempos. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras maiúsculas representam diferença significativa ($p<0,05$) entre as salas em cada tempo e letras minúsculas representam diferenças significativas ($p<0,05$) entre a mesma sala durante todo o período experimental.

Alterações nos níveis de glicose sanguínea foram observadas apenas em 15 dias, quando observou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) nos animais expostos ao cenário A1B em relação aos animais expostos aos cenários A2 (Figura 8).

Em relação ao tempo de exposição, os animais submetidos aos cenários brando e intermediário apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) da glicose sanguínea em 15 dias. Além desse aumento, o cenário intermediário proporcionou uma redução em 60 dias, para valores próximos aos encontrados no início do experimento, que se manteve até 150 dias (Figura 8).

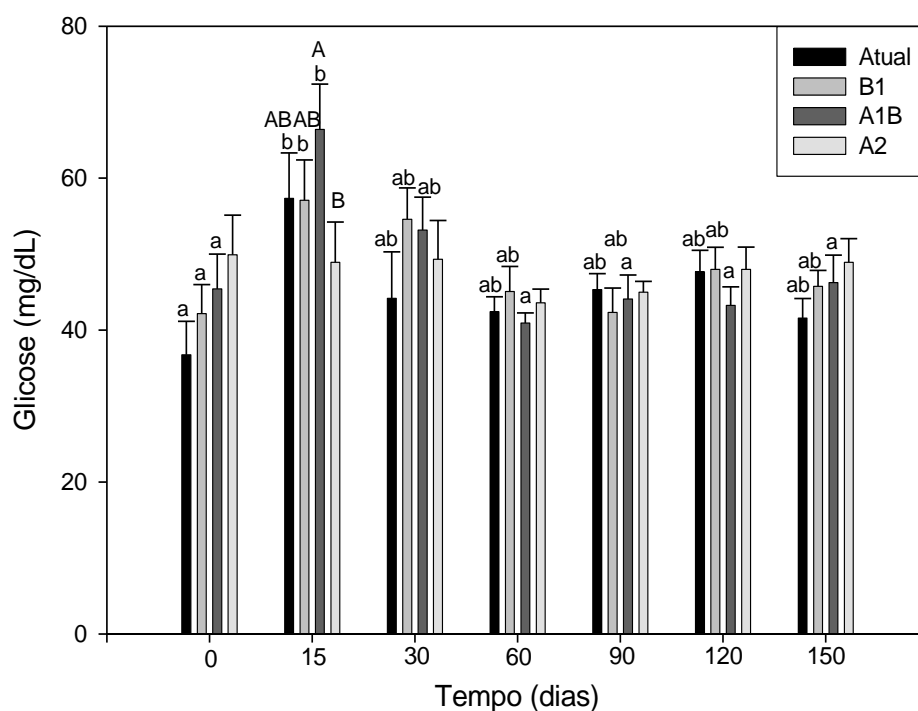


Figura 8. Níveis sanguíneos de glicose em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos aos cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100, em diferentes tempos. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as salas em cada tempo e letras minúsculas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a mesma sala durante todo o período experimental.

O contraste entre as salas apontou que os níveis plasmáticos de colesterol apresentaram modificações apenas em 90 dias, quando a exposição

ao cenário A2 ocasionou um aumento ($p < 0,05$) dos níveis de colesterol do plasma do tambaqui em relação aos animais expostos ao cenário B1 (Figura 9). Em função do tempo, os animais expostos ao cenário brando apresentaram um aumento em 30 dias, enquanto os animais expostos aos cenários intermediário e extremo apresentaram aumento em 15 e 30 dias (Figura 9).

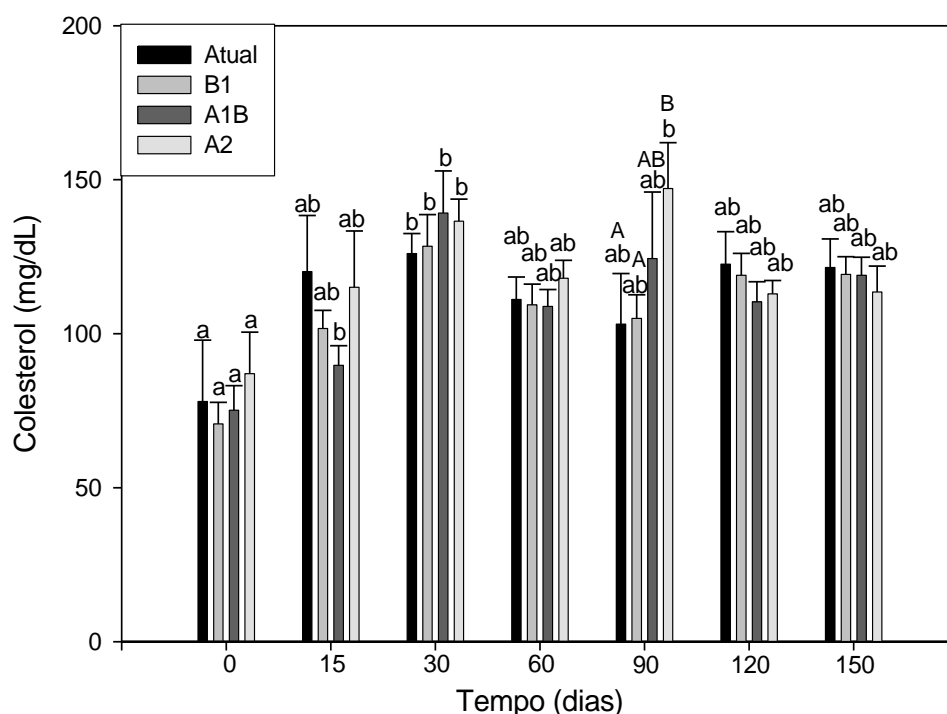


Figura 9. Níveis plasmáticos de colesterol de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos aos cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100, em diferentes tempos. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as salas em cada tempo e letras minúsculas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a mesma sala durante todo o período experimental.

A exposição do tambaqui aos cenários climáticos ocasionou um aumento ($p < 0,05$) dos triglicerídeos plasmáticos a partir de 15 dias, com redução em 150 dias, a valores próximos aos encontrados no tempo zero, para todos os cenários estudados (Figura 10). A comparação entre as salas apontou um

aumento significativo dos níveis de triglicerídeos no plasma, entre os cenários atual, A1B e A2, em 15 dias (Figura 10).

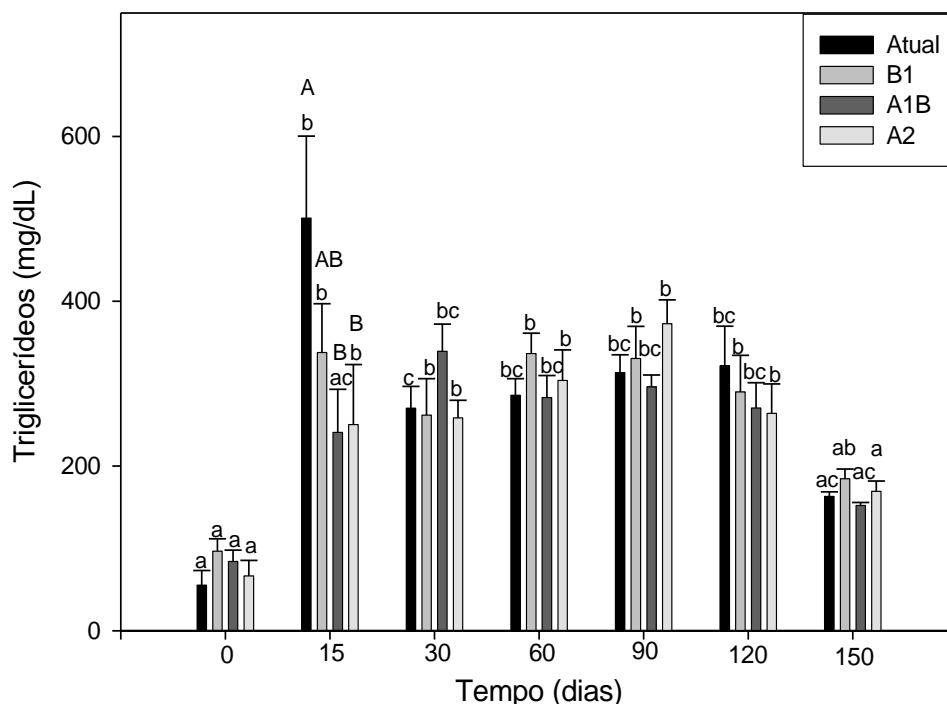


Figura 10. Níveis plasmáticos de triglicerídeos de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos aos cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100, em diferentes tempos. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as salas em cada tempo e letras minúsculas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a mesma sala durante todo o período experimental.

3.4. Expressão de Esteroil-CoA (SCD)

A exposição crônica do tambaqui aos cenários climáticos ocasionou variação nos transcritos de SCD do fígado durante os 150 dias (Figura 11). O tempo de exposição ocasionou um aumento significativo ($p < 0,05$) na expressão do mRNA SCD do fígado dos animais expostos no cenário A1B, em 30 dias (Figura 11). Em 60 e 90 dias, os animais de todos os cenários apresentaram um aumento nos transcritos de mRNA SCD do fígado, seguido de uma redução em 120 e 150 dias.

Entre as salas, foram observados aumentos significativos ($p < 0,05$) da expressão em animais incubados por 60, 90 e 120 dias (Figura 11). Em 15 e 60 dias houve uma diminuição da expressão de SCD do fígado de tabaqui no cenário A1B e um aumento no cenário A2. Em 90 e 120 dias ocorreu um aumento dos transcritos de mRNA SCD no fígado dos animais expostos a todos os cenários climáticos desse estudo, em relação ao cenário atual e, em 150 dias, houve uma diminuição da expressão da SCD dos animais expostos a todos cenários climáticos, em relação ao cenário atual (Figura 11).

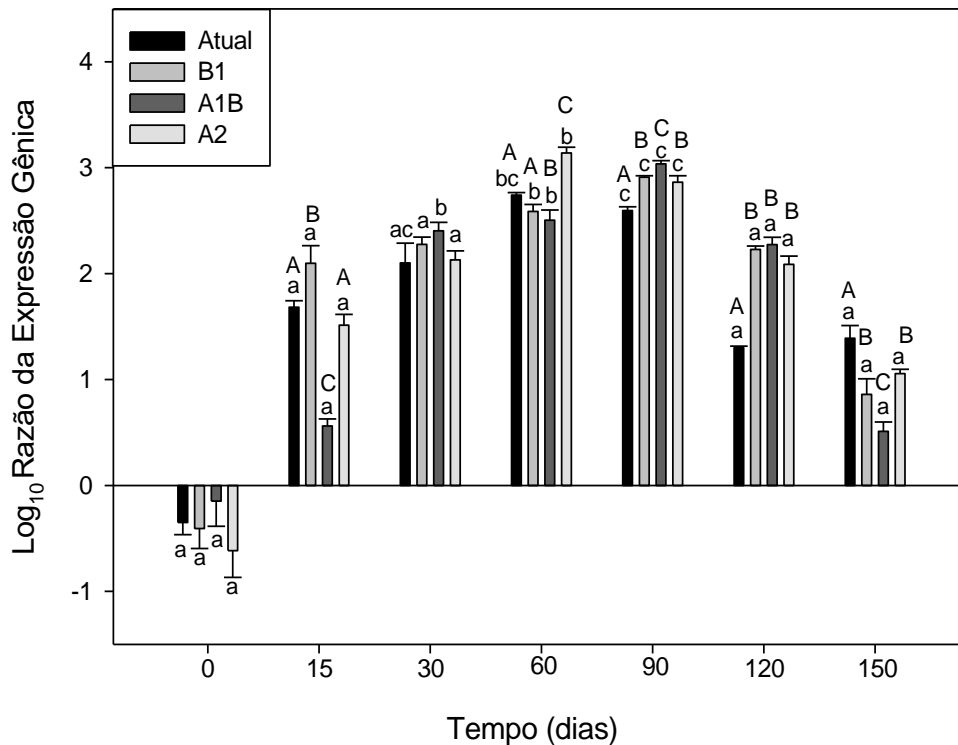


Figura 11. Expressão relativa (Log₁₀) de mRNAs SCD (Estearoil-CoA) no fígado de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos aos cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100, em diferentes tempos. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as salas em cada tempo e letras minúsculas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a mesma sala durante todo o período experimental.

No músculo de exemplares de tambaqui expostos aos cenários climáticos, a expressão da SCD apresentou variações significativas ($p < 0,05$) em

15, 60 e 150 dias (Figura 12). Em 15 dias, houve uma redução dos transcritos de mRNA SCD do músculo do tambaqui submetido aos cenários intermediário e extremo (Figura 12). Em 60 dias, ocorreu uma diminuição dos transcritos de mRNA SCD do músculo de exemplares de tambaqui ($p < 0,05$) expostos aos cenários B1 e A1B e, em 150 dias, a diminuição dos transcritos de SCD neste tecido ocorreu nos cenários A1B e A2, em relação ao cenário atual (Figura 12). O tempo afetou o padrão da expressão da SCD no músculo do tambaqui, considerando que os animais expostos a todos os cenários climáticos experimentais aqui utilizados apresentaram aumento significativo nos tempos 60, 90, 120 e 150 dias (Figura 12).

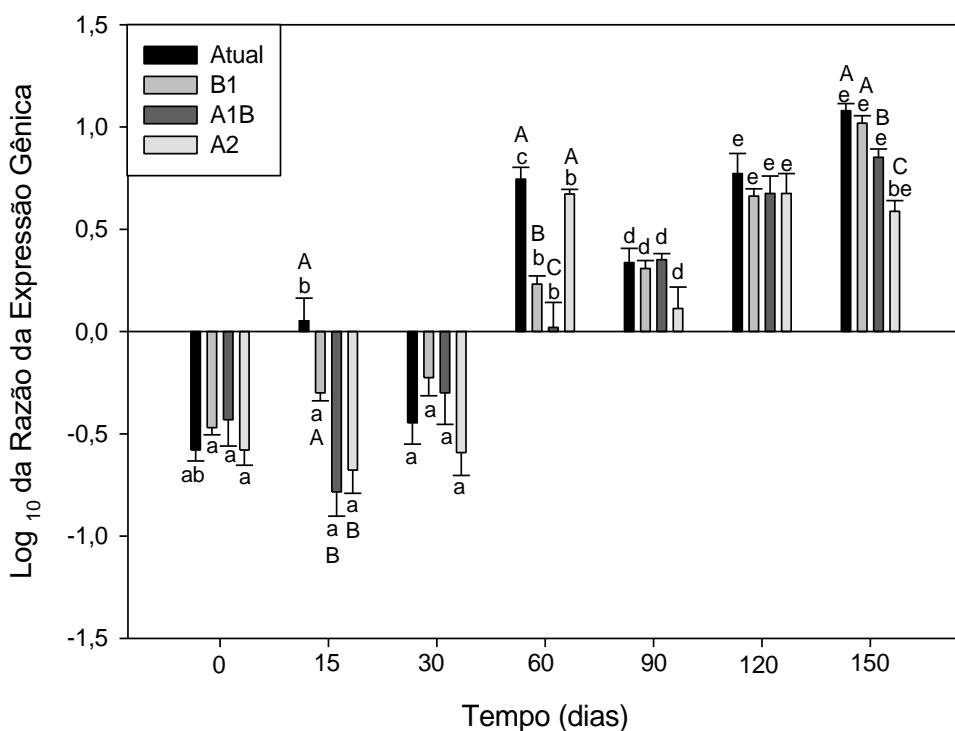


Figura 12. Expressão relativa (Log₁₀) de mRNAs SCD (Estearoil-CoA) no músculo de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos aos cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano 2100, em diferentes tempos. Os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as salas em cada tempo e letras minúsculas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a mesma sala durante todo o período experimental.

4. DISCUSSÃO

4.1. Variáveis ambientais

Neste trabalho, as médias de temperatura e concentração de CO₂ do ar dos microcosmos encontradas durante todo o período experimental, corroboraram as variações previstas pelo IPCC (2007), para os cenários climáticos estudados: o brando (cenário B1: aumento de 600 ppm de CO₂ e aumento de 1,5°C), o intermediário (cenário A1B: aumento de 800 ppm de CO₂ e aumento de 2,5°C) e o extremo (cenário A2: aumento de 1250 ppm CO₂ e aumento de 4,5°C). Estes resultados além de garantir a confiabilidade na proposta desse trabalho, ajudam na análise das implicações da exposição aos cenários climáticos futuros para os parâmetros biológicos do tabaqui, aqui analisados.

Na água, os resultados de temperatura e níveis de CO₂ apresentaram a variação esperada, de acordo com os cenários propostos, embora tenham apresentado maiores variações que os valores encontrados na atmosfera dos microcosmos, mas não comprometeram os cenários previstos. As variações de temperatura encontradas podem ser explicadas pelas propriedades físicas da água. O alto calor específico da água, por exemplo, desempenha um papel fundamental na propriedade de reter e requerer calor, o que garante flutuações gradativas de temperatura (ARANA, 1997). Assim, mesmo os altos valores de temperatura do ar são gradativamente incorporados na água (WETZEL, 1993), o que explica as variações de temperatura na água encontradas nesse trabalho.

Assim como a temperatura, os níveis de CO₂ da água também sofreram maiores alterações que os níveis de CO₂ do ar, embora tenham acompanhado

as alterações previstas para os diferentes cenários. Segundo WETZEL (1993) grande parte do CO₂ livre na água tende a sofrer hidratação e formar ácido carbônico. Este ácido, por ser fraco, logo se dissocia para formar bicarbonato e carbonato. Assim, o nível de CO₂ livre da maioria das águas está em pequenas quantidades, devido a sua reação de equilíbrio com o complexo carbonato (ARANA, 1997). Além disso, variações dos níveis de CO₂ podem ser observadas em função das alterações de temperatura, que influenciam a solubilidade dos gases, bem como o metabolismo respiratório dos organismos, que também podem alterar as concentrações de CO₂ livre na água (WETZEL, 1993; ARANA, 1997). Nesse contexto, acreditamos que os resultados obtidos para temperatura e CO₂ na água, neste trabalho, estão condizentes com os relatos da literatura e que retratam as variações esperadas para as mudanças climáticas.

As influências do CO₂ sobre o pH e sobre o oxigênio são bem conhecidos e amplamente discutidos na literatura especializada (WETZEL, 1993; ARANA, 1997; ESTEVES, 1998), que aponta uma relação inversa entre os níveis CO₂ e o pH, bem como entre os níveis de CO₂ e oxigênio (O₂). Para exemplificar essas constatações, WETZEL (1993) descreveu sumariamente essa relação ao relatar que as águas produtivas são caracterizadas por uma curva clinograda de oxigênio e uma curva clinograda inversa de CO₂ e que o pH diminui à medida que níveis crescentes de CO₂ são observados. Neste estudo, os dados médios obtidos para os aquários nos diferentes cenários climáticos ao longo do tempo corroboram as condições descritas na literatura.

4.2. Índices zootécnicos

As previsões relacionadas às mudanças climáticas para o ano 2100 propõem um aumento da temperatura, causado pelo aumento das concentrações de CO₂, de até 4°C (IPCC, 2007). Esta mudança, embora possa provocar diversas alterações em todo o bioma (PARMESAN e YOHE, 2003), poderá ter um efeito particularmente significativo sobre os peixes, inclusive sobre a reprodução e o crescimento (DONELSON *et al.* 2010), devido à sua característica homeotérmica (COSSINS e BOWLER, 1987). O recente trabalho de RUMMER *et al.* (2014) desenha um cenário mostrando claramente os efeitos de pequenas mudanças climáticas sobre peixes marinhos adaptados a regimes térmicos estáveis, como é o caso dos peixes da Amazônia.

De fato, vários autores têm demonstrado o efeito da temperatura sobre uma grande variedade de características dos peixes, incluindo sua condição fisiológica, sua capacidade de natação, sua taxa de crescimento, sua reprodução e seu comportamento (CANPANA *et al.*, 1996; PRZESLAWSKI *et al.* 2008, MUNDAY *et al.* 2009; NOWICKI *et al.*, 2012). Sobre o comportamento, NOWICKI *et al.* (2012) reportou que o efeito do aumento da temperatura parece ser maximizado, quando associada ao aumento do CO₂, pois influencia especialmente a obtenção e consumo de alimento pelos peixes, que pode favorecer ou prejudicar o crescimento.

Segundo GOMES *et al.* (2000), temperaturas acima do ótimo do animal podem resultar em maior desvio energético para obtenção de oxigênio e, assim, contribuir para a diminuição do crescimento. Em contrapartida, MAAREN *et al.* (1999) reportaram que embora haja uma temperatura ótima para proporcionar um maior crescimento para os peixes, há determinadas

espécies que apresentam capacidade de reduzir o consumo de oxigênio quando a temperatura aumenta, mantendo o crescimento por meio de aclimação a temperaturas mais elevadas.

Neste estudo, embora o aumento do consumo de ração tenha sido observado para todos os cenários, um aumento significativo foi observado para os exemplares de tambaqui expostos ao cenário A2, em relação ao cenário atual, que colaborou com o maior incremento em massa (GP). Por outro lado, considerando que os animais consumiram mais ração no cenário A2, pode-se sugerir que o aumento de temperatura ocasionou um menor aproveitamento da ração para o GP, que o cenário A1B. Esta sugestão é ainda confirmada pela taxa de crescimento específico (TCE) que, embora não tenha apresentado aumento significativo, foi numericamente maior em todos os tempos, para o cenário A1B.

Segundo BALDISSEROTTO (2009), a temperatura ótima para o crescimento normalmente está um pouco abaixo da temperatura em que há o máximo de ingestão de alimento. Esta afirmação foi evidenciada por PIEDRAS *et al.* (2004), ao avaliar o crescimento de jundiá em 30 dias, que observaram um aumento no GP e na TCE quando incrementaram em 3°C a temperatura ótima, enquanto que o incremento de 6°C não apresentou estes efeitos. Respostas similares foram obtidas por MASUMOTO (2002) para *Seriola quinqueradiata*, que apresentaram redução no GP, em 120 dias, quando expostos a 4°C acima da temperatura considerada ótima para a espécie e para *Australostrichopus mollis*, por ZAMORA *et al.* (2012), ao exporem os animais a 3°C acima da temperatura ótima, por 105 dias.

Segundo LUO *et al.* (2013), os peixes respondem de maneira diferenciada ao aumento da temperatura, mas geralmente apresentam um aumento do GP e da TCE, seguido de uma redução, após ultrapassarem a temperatura ótima. Esta conclusão foi relatada por esses autores após submeterem *Anguilla marmorata* e *Anguilla bicolor pacifica* a temperatura acima daquela considerada ótima para espécie, 23°C. Aqueles autores observaram excelente GP e TCE, quando os animais foram submetidos a 5°C acima (28°C), mas uma significativa redução desses índices quando os animais foram expostos a um aumento de 10°C acima da temperatura ótima, isto é, 33°C, por 45 dias.

Adicionalmente, SUN e CHEN (2014) ao estudar o efeito da temperatura em *Rachycentron canadum* com quatro diferentes pesos (10, 30, 70 e 200g), por 21 dias, observaram um aumento de crescimento para todos os tamanhos quando expostos a um aumento de 2 e 4°C em relação à temperatura ótima da espécie (31 e 33°C, respectivamente); entretanto, quando submetidos ao aumento de 6°C (35°C) observaram uma redução do crescimento. Estes resultados levaram os autores a concluir que o efeito da temperatura sobre o crescimento independe do tamanho inicial dos animais.

Em suma, os trabalhos sobre a ação da temperatura no crescimento parece ser influenciada pelo aumento da temperatura acima da considerada ótima pelo animal. Nesse sentido, considerando a fase inicial dos juvenis de tambaqui utilizados neste trabalho, em torno de 15g, bem como as condições de temperatura e CO₂, propostos pela previsão do IPCC (2007) para as mudanças climáticas, pode-se sugerir que os resultados obtidos neste trabalho, corroboram os dados encontrados por estes autores, onde o melhor GP e TCE

foram obtidos para o cenário A1B, aumento de 2,5°C, comparado ao cenário A2, com o aumento de 4,5°C, acima dos valores ambientais atuais.

Além dessa concordância, os resultados deste trabalho também parecem confirmar a ação do aumento de CO₂ no crescimento. Esta sugestão é dada pela comparação com o trabalho de FIVELSTAD *et al.* (2003), que estudaram o salmão do Atlântico submetidos a dois níveis crescentes de CO₂, 11 a 20 e 18 a 31ppm, por 58 dias, e encontraram que a taxa de crescimento específico tende a aumentar numericamente na primeira concentração, seguida de uma diminuição na segunda concentração. Considerando que, neste trabalho, o tambaqui submetido aos cenários climáticos A1B e B2 encontravam-se em situações similares àqueles utilizados por FIVELSTAD *et al.* (2003), 12,8 e 22,1 ppm e 20,7 e 25,0 ppm de CO₂ respectivamente, os resultados aqui encontrados sugerem que as mudanças climáticas previstas para os cenários intermediários e extremo sobre os tambaquis pode ocasionar alterações em seu crescimento.

O fator de condição é uma medida que utiliza a relação peso e comprimento como uma maneira de estimar a condição, ou seja, o estado geral dos peixes, em função do seu habitat, natural ou cativeiro (BRAGA, 1997), ou ainda, em função das condições de alimentação, da densidade, do clima e do grau de atividade alimentar (WEATHERLEY e GILL, 1987). FIVELSTAD *et al.* (2003), como mencionado acima, observaram uma diminuição do fator de condição na maior concentração para o salmão do Atlântico. Em conjunto com o aumento da temperatura, o aumento da pressão de CO₂ ocasionou uma redução no fator de condição de *Salmo salar* (FIVELSTAD *et al.*, 2007). Estes resultados se alinham aos resultados obtidos para o tambaqui expostos nos

cenários A1B e A2, nesse trabalho, que embora não tenha apresentado diferenças significativas, apresenta uma discreta diminuição numérica para o fator de condição, que pode sugerir que a elevação da temperatura associada ao aumento dos níveis de CO₂ pode ocasionar uma tendência de diminuição na condição geral do animal.

4.3. Parâmetros hematológicos

O sangue é o tecido que reflete o estado fisiológico do animal, com alterações significativas em situações adversas. Isto ocorre devido as suas funções orgânicas, especialmente no transporte de gases respiratórios, que se modifica de acordo com as mudanças ambientais (RANZANI-PAIVA, 2004). O aumento da temperatura, por exemplo, ocasiona modificações comportamentais, com características visíveis em peixes, como o aumento do batimento opercular e a frequência cardíaca, indicando maior consumo de oxigênio (BALDISSEROTTO, 2009).

Nesse sentido, a alta demanda de oxigênio resulta em uma ativação da eritropoiese em peixes, que pela contração esplênica do baço, libera eritrócitos jovens (HOUSTON e MURAD, 1995) na tentativa de atender a demanda de oxigênio dos tecidos (LECKLIN e NIKINMAA, 1998). Além do aumento do número de eritrócitos circulantes, TAVARES-DIAS e MORAES (2004) reportaram que aumento da temperatura também tem a capacidade de provocar aumento no hematócrito e na concentração de hemoglobina, embora não haja alterações no volume dos eritrócitos ou na concentração de hemoglobina.

Neste trabalho, embora a exposição aos cenários climáticos tenha ocasionado apenas um aumento do hematócrito nos cenários B1 e A2, em 30 dias, em relação ao cenário atual; foram observados aumentos gradativos do [Hb], Ht e RBC nos animais expostos a todos os cenários climáticos (B1, A1B e A2), em até 120 dias, seguido de uma diminuição em 150 dias. Os aumentos da [Hb], do Ht e da RBC, encontrados neste trabalho, corroboram os resultados obtidos por MORGAN *et al.* (2008) para *Oncorhynchus mykiss*, DE PEDRO *et al.* (2005) para *Tinca tinca* e QUIANG *et al.* (2013) para *Oreochromis niloticus*, que observaram que a elevação da temperatura tende a ocasionar um aumento do RBC e da [Hb]. Em contrapartida, a redução da [Hb], do Ht e do RBC em 150 dias, está de acordo com os resultados encontrados por GARCIA *et al.* (2012) que relatou que o efeito crônico da temperatura, causa uma redução no número de eritrócitos, eritroblastos e leucócitos.

Além das alterações hematológicas observadas com a elevação da temperatura, a literatura aponta que o CO₂ livre na água pode ocasionar variações no hemograma dos peixes. FIVELSTAD *et al.* (2003), por exemplo, ao avaliar o efeito da pressão de CO₂ 12mmHg em duas temperaturas, supostamente suportadas por *Salmo salar*, observaram que em temperaturas elevadas há um aumento de RBC, acompanhado por uma diminuição do Ht. Este efeito pode ser explicado pelos relatos de CARMICHAEL *et al.* (1984), que observa que as altas concentrações de CO₂ na água pode apresentar efeito sedativo nos peixes, desacelerando o seu metabolismo e, conseqüentemente, reduzindo o consumo de oxigênio. Este efeito foi observado por ROSS *et al.* (2001) quando expôs três diferentes espécies: *Salvelinus fontinalis*, *Cottus cognatus* e *Rhinichthys atratulus*, em três concentrações de CO₂, que

apresentaram um aumento do Ht, após 1 hora de exposição, com redução aos níveis de pré-estresse em 24h. Resultado similar foi também observado por SOUZA-NETTO (2012) ao avaliar o efeito do da temperatura e CO₂ sobre a hematologia do tambaqui, que também encontrou um aumento significativo do Ht imediatamente (1hr) após atingir 32°C, com altos níveis de CO₂ (120 ppm). Em ambos os estudos, os autores atribuíram ao efeito anestésico do CO₂, a diminuição do Ht. No entanto, é conveniente ressaltar que os níveis de CO₂ estudados por FIVELSTAD *et al.* (2003), bem como no presente estudo, são relativamente baixos para ocasionar efeitos sedativos nesses animais.

Adicionalmente, SOUZA-NETTO (2012) concluiu que a temperatura agudiza os efeitos do CO₂ sobre os organismos. Considerando que neste trabalho, o efeito dos cenários climáticos B1 e A2 ocasionou apenas um aumento do Ht, em 30 dias, sugerimos que os dados corroboram os encontrados por ROSS (2001) e SOUZA-NETTO (2012), embora o efeito tenha sido tardio. Além disso, sugerimos que para os outros índices hematimétricos avaliados, as alterações observadas estão relacionadas diretamente ao efeito da temperatura.

Certamente, o aumento da temperatura ocasiona estresse aos peixes que precisam desenvolver estratégias para lidar com a nova situação, como visto anteriormente. Entretanto, segundo VAL *et al.* (2004), a percepção do agente estressor resulta numa pronta preparação do organismo para minimizar o estresse e, como respostas primárias, liberam os hormônios de estresse, catecolaminas e cortisol, seguidos por uma aumento nos níveis de glicose, que representa uma reserva energética para pronta utilização.

Notoriamente, os resultados obtidos para os níveis de cortisol do tambaqui nesse estudo demonstram que os cenários climáticos A1B e A2 ocasionaram um efeito estressante aos animais; entretanto, enquanto o aumento do cortisol nos animais expostos ao cenário A1B foi observado apenas em 15 dias, aqueles do cenário A2 apresentaram um aumento persistente até 60 dias. Em relação aos níveis de glicose, apenas os animais do cenário A1B apresentaram aumento significativo, que provavelmente se deu em resposta ao aumento do cortisol, na mesma condição e no mesmo tempo de exposição.

Como exposto anteriormente, o aumento do cortisol é um dos primeiros mecanismos desenvolvidos pelo animal em resposta ao agente estressor (WEENDELAR BONGA, 1997). Normalmente, suas concentrações nas diferentes espécies de peixes se elevam alguns minutos após a exposição a um agente estressor, atingem um pico e retornam a valores basais dentro de seis horas, aproximadamente (PICKERING e POTTINGER, 1989). Entretanto, quando a exposição ao estressor é crônica, as concentrações de cortisol podem permanecer elevadas, embora abaixo dos níveis de pico (WENDEELAR-BONGA, 1997). Além disso, LIMA *et al.* (2006) reportam que os fatores físicos da água, como temperatura, podem influenciar o perfil da resposta ao estresse. Estes relatos podem então explicar os resultados encontrados neste trabalho para os altos níveis de cortisol plasmáticos do tambaqui, no cenário A2, que permaneceu alterado por 60 dias de exposição.

Considerando que o cortisol é um glicocorticóide, seu aumento sugere um consequente aumento da glicose no sangue em situações estressantes. Nesse sentido, é comum encontrar na literatura a relação entre o aumento da glicose

e diferentes estressores. Por exemplo, LERMEN *et al.* (2004) ao expor *Rhamdia quelen* ao aumento agudo da temperatura observou um aumento na glicose sanguínea. ROSS *et al.* (2001) ao expor o *Salmo salar* a três concentrações diferentes de CO₂ durante 24hrs, observou um aumento significativo da glicose após uma hora de exposição. A interação de duas temperaturas elevadas com um elevado nível de CO₂ na água, observada por SOUZA-NETTO (2012) sobre o tambaqui, durante 24hrs, também ocasionou um aumento da glicose sanguínea nas primeiras horas de experimento. Nesse contexto e considerando que neste estudo o aumento da glicose foi observado apenas para o cenário A1B, em 15 dias, sugerimos que nossos resultados corroboram aos resultados dos autores citados acima, embora o sinal de estresse tenha se pronunciado tardiamente.

Os lipídeos são substâncias pertencentes a uma classe de moléculas orgânicas hidrofóbicas, incluindo ácidos graxos, triglicerídeos, fosfolipídeos e esteróides que apresentam muitas funções nas células animais, tais como substrato para produção de energia, blocos estruturais para as membranas e como moléculas de sinalização (MOYES e SCHULTE, 2010). Os triglicerídeos são reservas energéticas vitais para os animais, enquanto o colesterol, o mais importante e abundante dos esteróides, apresenta sua principal função associada à estrutura e função das membranas celulares (LIMA e COUTO, 2006).

A forma apresentada dos triglicerídeos e do colesterol depende da associação aos ácidos graxos. Os triglicerídeos podem ser apresentados na forma sólida ou na líquida, dependendo da combinação dos ácidos graxos que os constituem; entretanto, em peixes, os triglicerídeos presentes são ricos em

PUFA e HUFA e, por isso, quase sempre estão presentes na forma líquida (RODRIGUEZ *et al.*, 2009). Já o colesterol pode ocorrer tanto na sua forma livre ou esterificado a um ácido graxo (BROWN e LONDON, 2000) e sua presença auxilia na manutenção da fluidez da membrana (MOYES e SCHULTE, 2010).

Nesse sentido, embora na literatura as alterações dos níveis de triglicerídeos e colesterol estejam amplamente associadas à alimentação (TORSTENSEN *et al.*, 2000, 2001; CABALLERO *et al.*, 2006; RICHARD *et al.*, 2006; JORDAL *et al.*, 2007; FERREIRA *et al.*, 2011; ARAÚJO *et al.*, 2011), também podem estar associadas a adaptações a temperaturas ambientais, embora poucos trabalhos relatem esse efeito (CALDWELL e VERNBERG, 1970; HAZEL e WILLIAMS, 1990; COSSINS, 1994; ROBERTSON e HAZEL, 1995).

Segundo HAZEL e WILLIAMS (1990), durante a aclimação a temperaturas elevadas, peixes tendem a sofrer uma diminuição do número de ligações duplas nos ácidos graxos da membrana lipídica e um aumento do colesterol da membrana plasmática (ROBERTSON e HAZEL, 1995). Essas mudanças têm sido comumente interpretadas como mecanismos de compensação de fluidez da membrana, para que a função das proteínas embutidas na membrana não seja afetada (COSSINS, 1994).

Neste estudo, o tempo de exposição ocasionou um aumento nos níveis plasmáticos de colesterol do tambaqui, entre 15 e 30 dias, em todos os cenários climáticos, enquanto o contraste entre as salas apontou apenas aumento nos níveis plasmáticos de colesterol, em 90 dias, expostos ao cenário A2. Já para os níveis de triglicerídeos plasmáticos do tambaqui, o tempo de

exposição ocasionou um aumento entre 15 e 120 dias de exposição a todos os cenários climáticos, seguido de uma redução em 150 dias. Entretanto, a comparação entre as salas, apresentou uma redução dos níveis plasmáticos de triglicerídeos no cenário A1B e A2, em 15 dias.

O aumento dos níveis plasmáticos de colesterol em tambaqui, em função do tempo de exposição, pode sugerir uma adaptação do animal aos cenários climáticos no período inicial do experimento, enquanto o aumento observado apenas para o cenário A2, em 90 dias, pode sugerir um mecanismo de compensação de fluidez da membrana, para não comprometer a integridade das proteínas de membrana, como exposto por COSSINS (1994). Em contrapartida, o aumento dos níveis de triglicerídeos plasmáticos do tambaqui em função do tempo de exposição, além de sugerir uma adaptação aos cenários climáticos, pode inferir o aumento da demanda energética dos peixes uma vez que apresentam preferência pela energia de lipídeos (LOVELL, 1998).

4.4. Expressão de Esteroil-CoA (SCD)

A esteroil-CoA (SCD) é uma enzima de membrana, localizada no retículo endoplasmático, que catalisa a dessaturação da dupla ligação da posição D9 de uma variedade de substratos da acil-CoA, com preferência pela palmitoil e esteroil-CoA (ENOCH *et al.*, 1976). A introdução da dupla ligação *cis* é catalisada por um conjunto de proteínas de transporte de elétrons microsossomais compostas, sequencialmente, pelo NADH citocromo-b5 redutase, citocromo-b5 e SCD terminal, sendo a esteroil-CoA dessaturase o componente limitante nessa reação (BROADWATER *et al.* 2000).

Segundo NTAMBI (1995), a SCD controla o equilíbrio entre os ácidos graxos saturados e monoinsaturados em animais, influenciando as propriedades físicas de sistemas complexos lipídicos, em especial fosfolipídios de membrana, triglicerídeos e colesterol, que pode resultar na mudança de fluidez da membrana e metabolismo lipídico (WATERS e NTAMBI,1996). Embora seja uma enzima produzida endogenamente, sua regulação está associada a diferentes fatores tais como dieta, hormônios, temperatura, metais, vitamina A e os processos de desenvolvimento (NTAMBI,1999).

Em animal pecilotérmico, o frio induzido aumenta a insaturação de lipídeos da membrana relacionada a um aumento compensatório na fluidez, conservação e funções das propriedades da membrana (adaptação homoviscosa) e, nesse aspecto, a proporção de ácido oléico e esteárico, promovido pela SCD é crucial para interação célula-célula (NTAMBI, 1995). Embora seja altamente expressa no fígado e no tecido adiposo, onipresente no organismo, tem uma clara tendência ascendente em animais alimentados com dieta com elevados teores de carboidratos (NTAMBI, *et al.*, 1988) e descendente em animais não alimentados (jejum) e alimentados com dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) (PRICE *et al.*, 2000; NTAMBI e BENÉ, 2001).

Em peixes, o impacto da dieta e da temperatura sobre a expressão de SCD também tem sido relatada (JORDAL *et al.*, 2005; ZENGH *et al.*, 2005; HSIEH e KUO, 2005; HSIEH *et al.*, 2007; LEAVER *et al.*, 2008). POLLEY *et al.* (2003) e EVANS *et al.* (2008) relataram que a resposta a esses fatores são modulados por duas isoformas da SCD, sendo que uma diminuição na temperatura causa uma regulação positiva transitória em uma isoforma,

enquanto que a composição de ácidos graxos da dieta modula a expressão de uma segunda isoforma.

Em *Salmo salar* e *Dicentrarchus labrax*, dietas contendo altos níveis de óleos vegetais proporcionaram um aumento na expressão de SCD do fígado, comparados àqueles que receberam dietas com níveis elevados de óleo de peixe (JORDAL *et al.*, 2005; ZENGH *et al.*, 2005; LEAVER *et al.*, 2008). Em *Salmo salar*, o aumento do ácido linoleico conjugado (CLA) na dieta proporcionou um aumento dos transcritos mRNA SCD no fígado e músculo e um consequente aumento na quantidade de ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) (KENNEDY *et al.*, 2006).

Sobre o efeito da temperatura, poucos trabalhos têm sido realizados e, geralmente, utilizam a redução da temperatura ambiental a partir da temperatura ótima do animal sobre a atividade das dessaturases. SCHUNKE e WODTKE (1983), por exemplo, ao avaliar o efeito da redução da temperatura em *Cyprinus carpio* observaram um aumento da atividade das dessaturases no fígado. HSIEH e KUO (2005) ao avaliar o efeito da temperatura sobre a atividade e expressão da SCD de *Chanos chanos* e *Ctenopharyngodon idella*, observaram que a redução da temperatura em 10°C aumentou a atividade da SCD e a expressão dos genes para sua síntese, bem como um aumento na quantidade de PUFA. Resultados similares foram obtidos por HSIEH *et al.* (2007), ao estudar a ação conjunta da dieta com óleos vegetais e baixa temperatura em tilápia híbrida (*Oreochromis niloticus* X *O. aureus*), quando observaram também um aumento da expressão da SCD, seguida de um aumento da atividade e quantidade de PUFA. Também TRUEMAN *et al.* (2000), testando a aclimação a frio de *Cyprinus carpio*, encontraram um

aumento da expressão de mRNA SCD, de 2 a 4 vezes maior que no grupo controle.

Neste estudo, embora o desafio ambiental não tenha tratado da redução da temperatura, os resultados apresentaram variações significativas na expressão da SCD. Em função do tempo de exposição, observou-se um aumento dos transcritos de SCD no fígado do tambaqui a partir de 30 dias para o cenário A1B e, a partir de 60 dias, para os demais cenários climáticos (B1 e A2). No músculo, todos os cenários promoveram um aumento a partir de 60 dias. Em contrapartida, o contraste entre as salas apresentou que a submissão do tambaqui a todos cenários climáticos, ocasionou um aumento da expressão em 90 e 120 dias, seguido de redução em 150 dias e, no músculo, todos os cenários ocasionaram uma redução da expressão da SCD a partir de 60 dias, sendo que o cenário extremo (A2), em 150 dias, a redução foi pronunciadamente menor.

Esses dados, embora estejam fora do que é proposto na literatura para o efeito da temperatura nos peixes, possibilita o entendimento das mudanças climáticas sobre o metabolismo dos lipídeos. Nesse sentido, sugere que o aumento da temperatura, acompanhado do aumento do CO₂, também influencia no aumento da expressão da SCD. Uma possível explicação pode ser dada pela relação da SCD com a manutenção das propriedades da membrana.

Segundo MURATA e LOS (1997), as membranas são os primeiros alvos afetados pela mudança de temperatura e seus componentes lipídicos respondem imediatamente a este desafio. Adicionalmente, LOS e MURATA (1998) descreveram que mudanças nas variáveis ambientais, especialmente a

temperatura, podem ocasionar perturbações orgânicas que são refletidas nas propriedades da membrana celular. Estes relatos, acompanhados dos resultados obtidos nesse trabalho para triglicerídeos e colesterol, podem indicar que o aumento da expressão da SCD no fígado foi causado por um distúrbio orgânico do tambaqui, ao enfrentar as mudanças ambientais, neste caso os cenários climáticos, na tentativa de manter as propriedades da membrana. Em contrapartida, a redução observada em 150 dias pode representar que os animais, após o estresse ambiental, aclimataram-se às novas condições e os níveis de transcritos de mRNA SCD tenderam a retomar a normalidade.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam claramente que é necessário ampliar os estudos dos efeitos das mudanças climáticas, particularmente envolvendo aumentos da temperatura ambiental e dos níveis de dióxido de carbono, sobre as respostas adaptativas dos peixes, quer seja em ambiente natural, quer seja em ambiente de cultivo, especialmente sobre as membranas celulares.

5. CONCLUSÕES

1. O tambaqui apresentou ganho de peso diferenciado quando exposto aos cenários climáticos B1, A1B e A2 previstos pelo IPCC para o ano 2100, sendo que após 150 dias nota-se uma diminuição na taxa de crescimento específico dos animais expostos ao cenário extremo (A2).
2. O perfil hematológico dos juvenis de tambaqui foi influenciado pela exposição aos cenários climáticos (B1, A1B e A2) propostos pelo IPCC para o ano 2100, que apresentou um aumento de Ht, glicose, cortisol e triglicerídeos e uma diminuição do VCM nos primeiros 30 dias de exposição e depois uma

estabilização, denotando uma adaptação dos organismos às condições ambientais a que estavam expostos.

3. Os cenários intermediário (A1B) e extremo (A2), previstos pelo IPCC para o ano 2100, ocasionaram um aumento nos transcritos de mRNA SCD do fígado do tambaqui, seguido de redução em 150 dias. No músculo, a expressão de SCD apresentou diminuição nos cenários B1, A1B e A2, em relação ao cenário atual.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, O.T. ; Almeida, B. 2006. Caracterização e análise financeira da indústria pesqueira. *In: Almeida, O. (Org.). A indústria pesqueira na Amazônia*. Manaus: Ibama/ProVarzea, 2006, p. 83-107.
- Almeida-Val, V.M.F; Val, A.L; Duncan, W.P; Souza, F.C.A; Paula-Silva, M.N; Land, S. 2000. Scaling effects on hypoxia tolerance in the Amazon fish *Astronotus ocellatus* (Perciformes: Cichlidae): contribution of tissue enzyme levels. *Comparative Biochemistry and Physiology* 125 (B), 219-226.
- Ambrizzi, T.; Rocha, R.P.; Marengo, J.A.; Pisnitchenco, I.; Nunes, L.A.; Fernandez, J.P.R. 2007. *Cenários regionalizados de clima no Brasil e América do Sul para o século XXI: Projeções de clima futuro usando três modelos regionais. Relatório 3, Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas, Diretoria de Conservação da Biodiversidade*. São Paulo, São Paulo. 108p.

- Arana, L. A. 1997. *Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura*. Ed. UFSC. Florianópolis/SC. 231p.
- Araújo, D.M.; Pezzato, A.C.; Barros, M.M.B.; Pezzato, L.E.; Nakagome. F.K. 2011 Hematologia de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46 (3): 294-302.
- Araújo-Lima, C.A.; Goulding, M. 1998. *Os frutos do tabaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia*. Tefé: AM. Sociedade Civil Mamirauá. Brasília: MCT/CNPq. 186p.
- Aride, P.H.R.; Roubach, R. Val, A.L. 2007. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. *Aquaculture Research*, 38: 588-594.
- Baldisseroto, B. 2009. *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. Bernardo Baldisseroto. 2° Ed. Santa Maria: UFSM, 352p.
- Barcellos, C.; Monteiro, A.M.V.; Corvalán, C; Gurgel, H.C.; Carvalho, M.S.; Artaxo, P.; Hacon, S.; Ragoni, V. 2009. Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 18(3):285-304.
- Barton, B.A.; Morgan, J.D.; Vijayan, M.M. 2002. Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish. In: Adams SM (ed.) *Biological indicators of aquatic ecosystem stress*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. p. 111–148
- Bligh, G.; Dyer, W. J. A. 1959. Rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal Biochemistry and Physiology*, 37: 911-917.

- Boyd, C.E.; Tucker, C.S. 1992. *Water quality and pond soil analysis for aquaculture*. Auburn: Auburn University. 183p.
- Braga, F.M.S. 1997. Análise da equação alométrica na relação peso e comprimento e o fator de condição em *Plagioscion squamosissimus* (Teleostei, Sciaenidae). *Brazilian Journal of Biology*, 57 (3):417-425.
- Broadwater, J.A.; Laundre, B.J.; Fox, B.J. 2000. Desaturation of trans-octadecenoyl-acyl carrier protein by stearoyl-acyl carrier protein D9 desaturase. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 78: 7–14.
- Brow B.A.1976. *Hematology: Principles and procedures*. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 504p.
- Brown, D.; London, E. 2000. Structure and function of sphingolipid- and cholesterol-rich membrane rafts. *The Journal of Biological Chemistry*, 275: 17221-17224.
- Caballero, M.J.; Torstensen, B.E.; Robaina, L.; Montero, D.; Izquierdo, M. 2006. Vegetable oils affect the composition of lipoproteins in sea bream (*Sparus aurata*). *British Journal of Nutrition*, 96: 830–839.
- Caldwell, R.S.; Vernberg, F.J. 1970. The influence of acclimation temperature on the lipid composition of fish gill mitochondria. *Comparative Biochemistry and Physiology* 34: 179-191.
- Cândido, A.L.; Manzi, A.O.; Tota, J.; Silva, P.R.T. De; Silva, F.S.M. Da.; Santos, R.M.N. Dos; Correia, F.W.S. 2007. O clima atual e futuro da Amazônia nos cenários do IPCC: a questão da savanização. *Revista Ciência Cultura*, 59 (3): 44-47.

- Canpana, S.E.; Mohn, R.K.; Smith, S.J.; Chouinard, G.A. 1996. Reply: spatial implications of a temperature-based growth model for Atlantic cod (*Gadus morhua*) off the eastern coast of Canada. *Canadian Journal of Fisheries Aquatic and Science*, 53: 2909-2911.
- Carmichael, G.J.; Tomasso, J.R.; Simco, B.A.; Davis, K.B. 1984. Confinement and water quality induced stress in *Largemouth bass*. *Transactions of the American Fisheries Society*, 113: 767-777
- Chippari-Gomes, A.R.; Gomes, L.C.; Lopes, N.P.; Val, A.L.; Almeida-Val, V.M.F. 2005. Metabolic adjustments in two Amazonian Cichlids exposed to hypoxia and anoxia. *Comparative Biochemistry and Physiology(Part B)*, 141: 347-355.
- Cossins, A. R. 1994. Homeoviscous adaptation of biological membranes and its functional significance. In: Cossins, A. R. (Ed.). *Temperature Adaptation of Biological Membranes*. London: Portland Press. p. 63-76.
- Cossins, A.R.; Bowler, K. 1987. *Temperature Biology of Animals*. London: Chapman & Hall. 372p.
- De Boeck, G.; Alsop, D. H.; Wood, C.M. 2001. Cortisol effects on aerobic and anaerobic metabolism, nitrogen excretion, and whole-body composition in juvenile rainbow trout. *Physiological and Biochemical Zoology*, 74:858–868.
- De Pedro, N.; Guijarro, A.I.; Lopez-Patiño, M.A.; Martínez-Alvárez, R.; Delgado, M.J. Daily and seasonal variations in haematological and blood biochemical parameters in the tench *Tinca tinca* Linnaeus, 1758. *Aquaculture Research*, 36: 1185-1196.

- Donelson, J.M.; Munday, P.L.; McCormick, M. I.; Pankhurst, N. W.; Pankhurst P. M. 2010. Effects of elevated water temperature and food availability on the reproductive performance of a coral reef fish. *Marine Ecology Progress Series*, 401: 233–243.
- Enoch, H.G.; Catala, A.; Strittmatter, P. 1976. Mechanism of rat liver microsomal stearyl-coa desaturase. Studies of the substrate specificity, enzyme–substrate interactions, and the function of lipid. *The Journal of Biological Chemistry*, 251: 5095–5103.
- Esteves, F. A. *Fundamentos de limnologia*. Rio de Janeiro: Interciência. 1998. 602 p.
- Evans, H.; De Tomaso, T.; Quail, M.; Rogers, J.; Gracey, A.Y.; Cossins, A.R.; Berenbrink, M. 2008. Ancient and modern duplication events and the evolution of stearyl-CoA desaturases in teleost fishes. *Physiological Genomics*, 35(1):18-29.
- Fairchild, I.J.; Borsato, A.; Tooth, A.F.; Frisia, S.; Hawkesworth, C.J.; Huang, Y., McDermott, F.; Spiro, B. 2000. Controls on trace element (Sr-Mg) compositions of carbonate cave waters: implications for speleothem climatic records. *Chemical Geology*, 166, 255-269.
- FAO. 2007. *The state of world fisheries and aquaculture:2006*. FAO, Roma.
- Fedorov, A.V.; Dekens, P. S.; Mccarthy, M.; Ravelo, A.C.; De Menocal, P.B.; Barreiro, M.; Pacanowski, R.C.; Philander, S.G. 2006. The Pliocene Paradox (Mechanisms for a Permanent El Niño). *Science*, 312: 1485-1489.

- Ferreira, M.W.; Araújo, F.G. De; Costa, D.V.; Logato, P.R.V.; Figueiredo, H.C.P.; Murgas, L.D.S. 2011. Influence of dietary oil sources on muscle composition and plasma lipoprotein concentrations in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42: 24-33.
- Fivelstad, S.; Waagbo, R.; Stefansson, S.; Olsen, A.B. 2007. Impacts of elevated water carbon dioxide partial pressure at two temperatures on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr growth and haematology. *Aquaculture*, 269 (1-4): 241-249.
- Fivelstad, S.; Olsen, A.; Åsgård, T.; Bæverfjord, G.; Rasmussen, T.; Vindheim, T.; Stefansson, S.O. 2003. Long-term sub-lethal effects of carbon dioxide on Atlantic salmon smolts: ion regulation, haematology, element composition, nephrocalcinosis and growth parameters. *Aquaculture*. 215: 301–319.
- Gilman, S. E.; Urban, M.C.; Tewksbury, J.; Gilchrist, G.W.; Holt, R.D. 2010. A framework for community interactions under climate change. *Trends in Ecology and Evolution*, 25: 325–331
- Gomes, L.C.; Baldisserotto, B.; Senhorini, J.A. 2000. Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. *Aquaculture*, 183: 73-81.
- Goulding, M. 1980. *The fishes and the forest; Explorations in Amazonian natural history*. Univ. California Press, Berkeley and Los Angeles, 280p.

- Goulding, M.; Carvalho M.L. 1982. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae) an important Amazonian food fish. *Revista Brasileira de Biologia*, 1: 107 - 133.
- Hartman, L.; Lago, R.C.A. 1973. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. *Laboratory Practice*, 22: 475-476.
- Hazel, J.R.; Williams, E.E. 1990. The role of alterations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment. *Progress in Lipid Research*, 29: 167-227.
- Houston, A.H.; Murad, A. 1995. Erythrocyte dynamics in fish – recovery of the goldfish *Carassius auratus* from acute anemia. *Canadian Journal of Zoology*, 73: 411-418.
- Hsieh, S.L.; Kuo, C.M. 2005. Stearoyl-CoA desaturase expression and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) during cold acclimation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 141(1): 95-101.
- Hsieh, S.L.; Hu, C.Y.; Hsu, Y.T.; Hsieh, T.J. 2007. Influence of dietary lipids on the fatty acid composition and stearyl-CoA desaturase expression in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) under cold shock. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 147(3):438-44.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2007. Summary for Policymakers. In: Solomon, S.; Qin, D.; Manning, M., Chen, Z.; Marquis, M.; Averyt, K.B.; Tignor, M.; Miller, H.L. (Eds). *Climate Change 2007: The*

Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, United States of America. p. 1-17.

Iwama, G.K.; Vijayan, M.M.; Morgan, J.D. 1999. The stress response in fish. In: Saksena, D. N. (Ed.). *Ichthyology. Recent research advances*, Enfield, USA: SciencePublishers, 47-57p.

Jordal, A.E.O.; Lie, O.; Torstensen, B.E. 2007. Complete replacement of dietary fish oil with a vegetable oil blend affects liver lipid and plasma lipoprotein levels in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition* 13:114–130.

Jordal, D.E.O.; Torstensen, B.E.; Tsoi, S.; Tocher, D.; Lall, S.P.; Douglas, S.E. 2005. Dietary rapeseed oil affects the expression of genes involved in hepatic lipid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Nutrition*, 135: 2355-2361.

Justino, F.; Amorim, M.C. 2007. Projeções do clima da América do Sul segundo o cenário “B1” do IPCC adotando um modelo acoplado oceano-atmosfera-vegetação-gelo marinho. *Boletim da Sociedade Brasileira de Meteorologia*, 31(1): 29-35.

Kampen, E.J.; Zijlstra, W.G. 1964. Standardization of haemoglobinometry. In: Boroviczény, C. G. (Ed.) *Erythrocytometric Methods and their standardization*. Bibliotheca Haematologica, p.68-72.

Kennedy, S.R.; Leaver, M.J.; Campbell, P.J.; Zheng, X.; Dick, J.R.; Tocher, D.R. 2006. Influence of Dietary Oil Content and Conjugated Linoleic Acid

(CLA) on Lipid Metabolism Enzyme Activities and Gene Expression in Tissues of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Lipids*, 41 (5): 426-436.

Lacerda, F.; Nobre, P. 2010. Aquecimento global: conceituação e repercussões sobre o Brasil. *Revista Brasileira de Geografia Física*, 03: 14-17

Leaver, M. J.; Tocher, D. R.; Obach, A.; Jensen, L.; Henderson, R. J.; Porter, A. R.; Krey, G. 2006. Effect of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on lipid composition, metabolism and gene expression in Atlantic salmon (*Salmo salar*) tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 145(2): 258-267.

Lecklin, T.; Nikinmaa, M. 1998. Erythropoiesis in arctic charr is not stimulated by anemia. *Journal Fish Biology*, 53: 1169 – 1177.

Lermen, C.L.; Lappe, R.; Crestani, M; Vieira, V.P; Gioda, C.R. Schetinger, M.R.C.; Baldisserotto, B.; Moraes, G.; Morsch, V.M. Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, 239: 497-507, 2004

Li, W.; Fu, R.; Dickinson, R.E. 2006. Rainfall and its seasonality over the Amazon in the 21st century as assessed by the coupled models for the IPCC AR4. *Journal of Geophysical Research*, 111: 1-14.

Lima, E.M.; Couto, R.D. 2006. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 42 (3): 169-178.

Lima, L.C.; Ribeiro, L.P.; Malison, J.A.; Barry, T. P.; Heldj, A. 2006. Effects of temperature on performance characteristics and the cortisol stress

- response of surubim *Pseudoplatystoma* sp. *Journal of the World Aquaculture Society*, 37 (1): 89-95.
- Los, D.A.; Murata, N. 1998. Structure and expression of fatty acid desaturases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1394(1): 3-15.
- Lovell, R.T. 1998. *Nutrition and feeding of fish*. 2nd ed. Kluwer Academic Publishers, Boston, Massachusetts, USA. 267p.
- Luo, M.; Guan, R.; Li, Z.; Jin, H. 2013. The effects of water temperature on the survival, feeding, and growth of the juveniles of *Anguilla marmorata* and *A. bicolor pacifica*. *Aquaculture*, 400-401: 61-64.
- Maaren, C.C.V.; Kita, J.; Daniels, H.V. 1999. Temperature tolerance and oxygen consumption rates for juvenile southern flounder *Paralichthys lethostigma* acclimated to five different temperatures. *UJNR Technical Report*, 28: 135-140.
- Macdonald, G.; Milligan, L. 1997. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: Iwama, G.K., Sumpter, J., Pickering, A., Schreck, C.B. (Eds.). *Fish Stress and Health in Aquaculture Seminar Series 62*. Cambridge University Press: Cambridge. 119–145p.
- Masumoto, T. 2002. Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. In: Webster, C. D.; Lim, C. (Eds.). *Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture*. 131-146p.
- Morgan, A.L.; Thompson, K.D.; Auchinachie, N.A.; Migaud, H. 2008. The effect of seasonality on normal haematological and innate immune parameters of

rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* L. *Fish shellfish Immunological*, 25: 791-799.

Moyes, C.D.; Schulte, P.M. 2010. *Princípios de fisiologia animal*. 2° Ed. Porto Alegre: Artmed, 792p.

Munday, P. L.; Crawley, N.E.; Nilsson. G.E. 2009. Interacting effects of elevated temperature and ocean acidification on the aerobic performance of coral reef fishes. *Marine Ecology Progress Series*, 388: 235-242.

Murata, N.; Los, D. A. 1997. Membrane fluidity and temperature perception. *Plant Physiology*, 115(3): 875-879.

Nobre, A.C.; Sampaio, G.; Salazar, L. 2007. Mudanças climáticas e Amazônia. *Ciência & Cultura*, 59 (3): 22-27.

Nobre, C.A.; Sampaio, G.; Salazar, L. 2008. *Cenários de mudança climática para a América do Sul para o final do século 21*. Parcerias Estratégicas, Brasília, DF, BR. 24p.

Nowicki, J.; Miller, G.M.; Munday, P.L. 2012. Interactive effects of elevated temperature and CO₂ on foraging behavior of juvenile coral reef fish. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 412: 46-51.

Ntambi, J.M. 1995. The regulation of stearoyl-CoA desaturase (SCD). *Progress in Lipid Research*, 34 (2): 139-50.

Ntambi, J.M. 1999. Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *Journal of Lipid Research*, 40 (9): 1549-1558.

Ntambi, J.M.; Bené, H. 2001. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *Journal of Molecular Neuroscience*, 16 (2-3): 273-284.

- Ntambi, J.M.; Buhrow, S.A.; Kaestner, K.H.; Christy, R.J., Sibley, E.; Kelly, T.J.; Jr-Lane, M.D.1988. Differentiation-induced gene expression in 3T3-L1preadipocytes. Characterization of a differentially expressed gene encoding stearyl-CoA desaturase. *The Journal of Biological Chemistry*, 263(33):17291-300.
- Orsini, J.A.M. 2007. O quarto relatório do IPCC (IPCC AR4) e projeções de mudança de clima para o Brasil e América do Sul. *Boletim da Sociedade Brasileira de Meteorologia*, 31(1): 24-28.
- Parmesan, C.; Yohe, G. 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, 421(6918): 37-42.
- Petit, J.R.; Jouzel, J.; Raynaud, D.; Barkov, N.I.; Barnola, J.M.; Basile, I.; Stievenard, M. 1999. Climate and atmospheric history of the past 420,000 years from the Vostok ice core, Antarctica. *Nature*, 399 (6735): 429-436.
- Petrere-Jr., M. 1978. Pesca e esforço de pesca no Estado do Amazonas. I – Esforço e captura por unidade de esforço. *Acta Amazonica*,8 (3): 439-454.
- Pfaffl, M.W. 2001. A new mathematical model for relative quantification in real time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*, 29(9): 2003-2007.
- Pickering, A.D.; Pottinger, T.G. 1989. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiology and Biochemistry*, 7(1-6): 253-258.
- 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(2): 177-182.

- Polley, S.D.; Tiku, P.E.; Trueman, R.T.; Caddick, M.X.; Morozov, I.Y.; Cossins, A.R. 2003. Differential expression of cold- and diet-specific genes encoding two carp liver delta 9-acyl-CoA desaturase isoforms. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 284 (1): 41-50.
- Price, P.T.; Nelson, C.M.; Clarke, S.D. 2000. Omega-3 polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *Current Opinion in Lipidology*, 11(1):3-7. 9.
- Przeslawski, R.; Davis, A.R.; Benkendorff, K. 2005. Synergies, climate change and the development of rocky shore invertebrates. *Global Change Biology*, 11: 515–522
- 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, 8-16.
- Ranzani-Paiva, M.J.T.; Silva-Souza, A. 2004. Hematologia de peixes brasileiros In: Ranzani-Paiva, M.J.T.; Takemoto, R. M.; Lizama, M.A.P. (Orgs.). *Sanidade de Organismos Aquáticos*, Varela, São Paulo, p. 89-120.
- Richard, N.; Mourente, G; Kaushik, S.; Corraze, G. 2006. Replacement of a large portion of oil by vegetable oils does not affect lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 261:1077–1087.

- Robertson, J.C.; Hazel, J.R. 1995. Cholesterol content of trout plasma membranes varies with acclimation temperature. *American Journal of Physiology*, 269: 1113-1119.
- Rodriguez, C.; Lorenzo, A.; Martín, V. 2009. Nutrición lipídica. In: Sanz, F. (ed). *La nutrición y alimentación em piscicultura*. Madri, CSIC. 153-274p.
- Ross, R.M.; Krise, W.F.; Redell, L.A.; Bennett, R.M. 2001, Effects of dissolved carbon dioxide on the physiology and behavior of fish in artificial streams. *Environmental Toxicology*, 16: 84–95.
- Rottlant, J.; Tort, L.1997. Cortisol and glucose reponses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. *Journal of Fish Biology*, 51: 21-28.
- Saint Paul, U.; Soares, M.G. 1987. Diurnal distribution and behavioral responses of fishes to extreme hypoxia in an Amazon floodplain lake. *Environmental Biology of Fishes*, 20 (2): 91-104.
- Salazar, L.F.; Nobre, C.A.; Oyama, M.D. 2007. Climate change consequences on the biome distribution in tropical South America. *Geophysical Research Letters*, 34: 1-6.
- Santos, G.M.; Ferreira, E. Peixes da bacia amazônica. 1999. In: Vazzoler, A. E.; Agostinho, A.; Cunningham, P. (Org.). *Estudos ecológicos de comunidaddes de peixes tropicais*. p. 345-373.
- Santos, G.M. 2005. Sustentabilidade da pesca na Amazônia. *Estudos Avançados*, 19 (54): 165-182.

- Santos, I.A.; Buchmann, J. 2010. Uma Revisão Qualitativa Enfatizando Aspectos Climáticos da Amazônia e da Região Nordeste do Brasil. *Anuário do Instituto de Geociências*, 33 (2): 9-23.
- Schunke, M.; Wodtke, E. 1983. Cold-induced increase of and desaturase activities in endoplasmic membranes of carp liver. *Biochemical et Biophysica Acta*, 734: 70–75.
- Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE). 2001. *Criação de Pirarucu em Cativeiro*. Manaus-AM.
- Soares, M.G.M.; Junk, W.J. 2000. Commercial Fishery and Fish Culture of the State of Amazonas: Status and Perspectives. *In*: Junk, W.J.; Ohly, J.J.; Piedade, M.T.F.; Soares, M.G.M. (Org.). *The Central Amazon Floodplain: Actual Use and Options for Sustainable Management*. Leiden: Backluys Publishers, p. 433-461.
- Souza-Netto, J.G. 2012. Respostas fisiológicas de *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818) ao aumento de temperatura e CO₂. Dissertação de Mestrado. BADPI/INPA, Manaus, Amazonas. 68p.
- Suframa. 2003. *Projeto de potencialidades regionais, Estudo de Viabilidade Econômica: Piscicultura*. Manaus-AM.
- Sun, L.; Chen, H. 2014. Effects of water temperature and fish size on growth and bioenergetics of cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 426–427: 172–180.
- Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. 2004. *Hematologia de peixes teleósteos*. Ribeirão Preto: FMRP-USP. 144p.

- Torstensen, B.E.; Lie, O.; Froyland, L. 2000. Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) - effects of capelin oil, palm oil, and oleic acid-enriched sunflower oil as dietary lipid sources. *Lipids* 35:653–664.
- Torstensen, B.E.; Lie, O.; Hamre, K. 2001. A factorial experimental design for investigation of effects of dietary lipid content and proand antioxidants on lipid composition in Atlantic salmon (*Salmo salar*) tissues and lipoproteins. *Aquaculture Nutrition*, 7: 265–276.
- Trueman, R.J.; Tiku, P.E.; Caddick, M.X.; Cossins, A.R. 2000. Thermal thresholds of lipid restructuring and delta (9)-desaturase expression in the liver of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Experimental Biology*, 203: 641-650.
- Val, A.L. 1995. Oxygen transfer in fish: Morphological and molecular adjustments. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 28: 1119-1127.
- Val, A.L. 2000. Organic phosphates in the red blood cells of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 125(A): 417-435.
- Val, A.L.; Almeida-Val, V.M.F. 1995. The Amazon ichthyofauna. In: Val, A.L.; Almeida-Val, V.M.F. (Eds). *Fishes of the Amazon and their environment: physiological and biochemical aspects*. Springer-Verlang, Berlim, Heidelberg. p. 29-30.
- Val, A.L.; Menezes, A.C.L.; Ferreira, M.S.; Silva, M.N.P.; Araújo, R.M.; Almeida-Val, V.M.F. 2006. Estresse em peixes: respostas integradas para a

- sobrevivência e a adaptação. In: Silva-Souza, A.T.(Org.). *Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil*, ABRAPOA, Maringá, p. 211-228.
- Val, A.L.; Silva, M.N.P.; Almeida-Val, V.M.F. 2004. Estresse em peixes- Ajustes fisiológicos e distúrbios orgânicos. In: Ranzani-Paiva, M.J.T.; Takemoto, R. M.; Lizama, M.A.P. (Orgs.). *Sanidade de Organismos Aquáticos*, Varela, São Paulo, p. 75-78.
- Veríssimo, J. 1985. *A pesca na Amazônia* (Vol. 3). Rio de Janeiro: Livraria Clássica de Alves. 206p.
- Vijayan, M.M.; Pereira, C.; Grau, E.G.; Iwama, G.K. 1997. Metabolic responses associated with confinement stress in tilapia: The role of cortisol. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 116 (C): 89-95
- Waters, K.M.; Ntambi, J.M. 1996. Polyunsaturated fatty acids inhibit hepatic stearyl-CoA desaturase-1 gene in diabetic mice. *Lipids*, 3: 33–36.
- Weatherley, A.H.; Gill, H.S. 1987. *The Biology of Fish Growth*. Academic Press, New York, NY, 443p.
- Wendelaar Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews* 77:591-625.
- Wetzel, R.G. 1993. *Limnologia*. Lisboa; Fundação Calouste Gulbenkian, 919p.
- Zamora, L.N.; Jeffs, A.G. 2012. Feeding, metabolism and growth in response to temperature in juveniles of the Australian sea cucumber, *Australostichopus mollis*. *Aquaculture*, 358-359: 92-97.
- Zar, J.K. 1984. *Biostatistical analysis*. 2ed. Prentice-Hall, New Jersey. 718p.
- Zheng, X.; Tocher, D.R.; Dickson, C.A.; Bell, J.G.; Teale, A.J. 2005. Highly unsaturated fatty acid synthesis in vertebrates: new insights with the

cloning and characterization of a D6 desaturase of Atlantic salmon. *Lipids*,
40: 13-24.