

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE JUVENIS DE PIRACANJUBA (*Brycon orbignyanus*) SUBMETIDOS EM DIFERENTES TEMPERATURAS

BRUNO DA SILVA PIRES
Tecnólogo em Aquicultura/UNIPAMPA

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Zootecnia
Área de concentração: Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil,
Março de 2019.

CIP - Catalogação na Publicação

Pires, Bruno da Silva
Respostas fisiológicas de juvenis de piracanjuba
(*Brycon orbignyanus*) submetidos em diferentes
temperaturas / Bruno da Silva Pires. -- 2019.
60 f.
Orientador: Danilo Pedro Streit Jr..

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). 2.
Temperatura. 3. Fisiologia. I. Streit Jr., Danilo
Pedro, orient. II. Título.

Bruno da Silva Pires
Tecnólogo em Aquicultura

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovada em: 22/03/2019
Pela Banca Examinadora



DANILO PEDRO STREIT JR.
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador

Homologado em: 22/05/2019
Por



DANILO PEDRO STREIT JR.
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia



Rafael Lazzari
UFSM



Leandro Cesar de Godoy
UFRGS



Alessandra Sayuri Kikuchi Tamajusuku Neis
UNIPAMPA



CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de Agronomia

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Madi dos Santos Pires, a minha mãe Santa Lurdes da Silva Pires e a minha irmã Rúbia da Silva Pires, por todo apoio e incentivo para conquistar todos os meus objetivos

Ao primo Vanderli por toda ajuda e por abri as portas da sua casa durante o período de seleção e mudança

Ao meu tio Jorge Tadeu, pelo exemplo, incentivo e ajuda durante todo o meu trajeto acadêmico

Ao meu orientador professor Dr. Danilo Pedro Streit Jr. Por ter me aceito como orientado e por abrir as portas do seu grupo para mim

Ao professor Dr. Rafael Lazzari, o técnico do laboratório de piscicultura da UFSM campus Palmeiras das Missões Dr, Juliano Uczay, e aos seus alunos, pela ajuda e discussão das análises bioquímicas deste trabalho

Ao professor Dr. Fábio e a técnica Janaina, do laboratório de patologia odontológica da PUC-RS, pela confecção das lâminas histológicas do presente trabalho

Aos professores Dra. Alessandra Neis, Dr. Leandro Godoy e Dr. Rafael Lazzari, por aceitarem fazer parte da banca de avaliação de mestrado

Aos colegas do grupo Aquam, pelo convívio e momentos de descontração externos ao laboratório

Aos amigos da Housing 170 pelo convívio e momentos de descontração durante o meu período de mestrado

Ao programa de pós-graduação em zootecnia da UFRGS, pelo aprendizado e por permitir concluir mais esta etapa da minha formação

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado

A BAESA e a ENERCAN, pelo auxílio financeiro para a realização do presente trabalho

Enfim, á todos que de alguma forma me auxiliaram e apoiaram durante mais esta etapa da minha formação acadêmica, fica aqui o meu

MUITO OBRIGADO!!!!

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE JUVENIS DE PIRACANJUBA (*Brycon orbignyianus*) SUBMETIDOS EM DIFERENTES TEMPERATURAS¹

Autor: Bruno da Silva Pires

Orientador: Danilo Pedro Streit Jr.

Resumo – A piracanjuba (*Brycon orbignyianus*), é uma espécie nativa que por diferentes influências antrópicas, encontra-se ameaçada de extinção. Diante disto, estudos para melhorar as condições de criação ex situ para fins de conservação da espécie são de grande importância. Um dos principais fatores ambientais que agem sobre os peixes é a temperatura, devido a característica ectotérmica destes animais, porém não se tem nenhum estudo sobre os efeitos da temperatura nesta espécie. Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes temperaturas sobre o desempenho zootécnico e a fisiologia de juvenis de piracanjuba. Para isso foram utilizados 600 juvenis de piracanjuba, com peso médio de 4,47 g e 7,35 cm de comprimento total, divididos em oito unidades experimentais, submetidos à quatro diferentes temperaturas (20°, 23°, 26° e 29° C), totalizando quatro tratamentos com duas repetições, durante um período experimental de 120 dias. Foram avaliados o desempenho zootécnico, metabolismo e danos no fígado dos juvenis. A cada 30 dias foram realizados biometrias de 20 peixes, os quais foram anestesiados e mensurados o peso, o comprimento total e o comprimento padrão. Também foi coletado o fígado de 10 peixes para as análises metabólicas e avaliação dos danos hepáticos. Devido ao aumento do metabolismo ocasionado pelo aumento da temperatura, os juvenis submetidos às maiores temperaturas apresentaram os melhores resultados para desempenho zootécnico. Também, foram observadas mudanças no perfil metabólico hepático dos peixes. Houve redução da glicose hepática nos peixes mantidos na menor temperatura e aumento nos demais tratamentos, com redução da proteína hepática e do lactato à medida que aumentou a temperatura da água, sinalizando uma alteração no metabolismo anaeróbico dos peixes. Também foi observado aumento das células hepáticas, demonstrando maior concentração de glicogênio e contrastando com o aumento do metabolismo dos peixes. Entretanto, mesmo com as mudanças no metabolismo e com o aumento das células hepáticas, não houve comprometimento no desempenho zootécnico dos peixes. Concluímos que a piracanjuba apresenta boa adaptação à amplitude térmica entre 20° e 29° C, sem comprometer o seu desempenho e adaptando o seu metabolismo, tanto aeróbico quanto anaeróbico.

Palavras-chave: Desempenho zootécnico; metabolismo anaeróbico; danos hepáticos.

¹ Dissertação de Mestrado – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (62 p.)
Março, 2019.

PHYSIOLOGICAL RESPONSES IN PIRACANJUBA (*Brycon orbgnianus*) JUVENILES SUBMITTED TO DIFFERENT TEMPERATURES¹

Author: Bruno da Silva Pires

Advisor: Danilo Pedro Streit Jr.

Abstract – Piracanjuba (*Brycon orbgnianus*), is a native species that is endangered due to different anthropic influences. Thereby, studies to improve the *ex situ* breeding conditions for conservation purposes are of great importance. One of the main environmental factors that affects fish is the temperature, due to the ectothermal characteristics of these animals, but no study has been done on the effects of temperature on this species. This study was carried out with the objective of evaluating the effects of different temperatures on the zootechnical performance and the physiology of juveniles piracanjuba. For this, 600 juveniles were used, with an average weight of 4.47 g and 7.35 cm in length, divided in eight experimental units, submitted to four different temperatures (20, 23, 26 and 29 ° C), totaling four treatments with two replicates, over an experimental period of 120 days. The zootechnical performance, metabolism and liver damage were evaluated. Every 30 days biometrics of 20 fish were performed, which were anesthetized and measured the weight, total length and standard length. The liver of 10 fish was also collected for metabolic analysis and assessment of liver damage. Due to the increased metabolism caused by the temperature increase, the juveniles submitted to higher temperatures presented the best results for zootechnical performance. Also, changes in the hepatic metabolic profile of the fish were observed. There was a reduction in liver glucose in fish kept at the lowest temperature and an increase in other treatments, with a reduction in hepatic protein and lactate as water temperature increased, signaling a change in fish anaerobic metabolism. It was also observed an increase in hepatic cells, demonstrating a higher concentration of glycogen and contrasting with the increase in fish metabolism. However, even with changes in metabolism and with hepatic cell growth, there was no compromise in the fish performance. We conclude that piracanjuba presents good adaptation to the thermal amplitude between 20 ° and 29 ° C, without compromising its performance and adapting its metabolism, both aerobic and anaerobic.

Keywords: Growth performance; anaerobic metabolism; liver damage.

¹ Science Masters dissertation, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (62 p.) March, 2019.

Sumário

CAPÍTULO I	12
Introdução	13
Revisão bibliográfica	14
Piracanjuba (<i>Brycon orbignyanus</i>)	14
Influência da temperatura sobre o desempenho produtivo em peixes	15
Influência da Temperatura Sobre o Metabolismo dos Peixes	16
Influência da temperatura sobre os danos no fígado	17
HIPÓTESE	19
OBJETIVOS	20
<i>Geral</i>	20
<i>Específicos</i>	20
CAPÍTULO II	21
Respostas fisiológicas de juvenis de piracanjuba (<i>Brycon orbignyanus</i>) em diferentes temperaturas	21
Respostas fisiológicas de juvenis de piracanjuba (<i>Brycon orbignyanus</i>) em diferentes temperaturas	22
Resumo.....	22
Introdução	22
Material e Métodos.....	23
<i>Local, animais e instalações</i>	23
<i>Medidas de Desempenho Zootécnico</i>	23
<i>Parâmetros bioquímicos</i>	24
<i>Análise Histológica</i>	24
<i>Análise Estatística</i>	24
Resultados	25
<i>Desempenho zootécnico</i>	25
<i>Ganho em peso</i>	25
<i>Fator de condição</i>	26
<i>Taxa de crescimento específico</i>	26
<i>Conversão alimentar aparente</i>	27
<i>Índice hepatossomático (IHS)</i>	28
<i>Parâmetros bioquímicos</i>	29
<i>Glicose no fígado</i>	29

<i>Amônia no fígado</i>	30
<i>Lactato no fígado</i>	31
<i>Proteínas totais no fígado</i>	32
<i>Colesterol hepático</i>	33
<i>Aminoácidos livres no fígado</i>	34
<i>TBARS</i>	35
<i>Parâmetros Histológicos</i>	36
<i>Tamanho do diâmetro de melanomacrófagos (DMMs)</i>	36
<i>Tamanho da área de melanomacrófagos (AMMs)</i>	37
<i>Tamanho da área de deposição lipídica hepática (DPH)</i>	38
Discussão	39
Conclusão	42
Referências.....	42
CAPÍTULO III	46
CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
Referências.....	48
ANEXO – Journal of Thermal Biology instruções para autores.....	52
VITA.....	61

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO II

- Figura 1. Ganho de peso de piracanjubas submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperaturas ao longo do tempo..... Pág. 22.
- Figura 2. Fator de condição de piracanjubas submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo..... Pág. 23.
- Figura 3. Taxa de crescimento específico de piracanjuba submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo..... Pág. 24.
- Figura 4. Conversão alimentar aparente de piracanjubas submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo..... Pág. 25.
- Figura 5. Índice hepatossomático, de piracanjubas submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo..... Pág. 26.
- Figura 6. Glicose hepática em piracanjubas submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo..... Pág. 27.
- Figura 7. Concentração de amônia nos tecidos de piracanjubas submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.... Pág. 28.
- Figura 8. Concentração de lactato no tecido das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.... Pág. 29.
- Figura 9. Proteínas totais no fígado das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo..... Pág. 30.
- Figura 10. Colesterol hepático das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo..... Pág. 31.
- Figura 11. Aminoácidos livres no fígado das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.... Pág. 32.
- Figura 12. TBARS no fígado das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias.

Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo..... Pág. 33.

Figura 13. Tamanho do diâmetro de melanomacrófagos das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

.....Pág. 34.

Figura 14. Tamanho da área de melanomacrófagos das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperaturas ao longo do tempo..... Pág. 35.

Figura 15. Tamanho da área de deposição lipídica hepática das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

.....Pág. 36.

LISTA DE ABREVIATURAS

AMMs – área de melanomacrófagos
ANOVA – análise de variância
AQUAM – laboratório de aquacultura
C – graus celsius
CAT - catalase
CEA – técnica de alocação de energia celular
cm – centímetros
DMMs- diâmetro de melanomacrófagos
DPH – deposição lipídica hepática
E – esteatose hepática
Ea – energia disponível
EROs – espécies reativas de oxigênio
ETS – consumo de energia
g – gramas
GPx – glutathione peroxidase
GR – glutathione reductase
IHS – índice hepatossomático
IONPs – nanopartículas de óxido de ferro
Kg – kilograma
mg - miligramas
MMC – centros de melanomacrófagos
MMs – melanomacrófagos
OCR- taxa de consumo de oxigênio
pH – potencial hidrogênio iônico
SOD – superóxido dismutase
TBARS – substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico
TCA – solução tampão tricloroacético
TFK – solução tampão fosfato de potássio

CAPÍTULO I

Introdução

A piracanjuba (*Brycon orbignianus*) é uma espécie endêmica das bacias dos rios Uruguai e Paraguai (Zaniboni Filho et al. 2006) anteriormente considerada um importante recurso pesqueiro devido a sua carne de boa qualidade (SANTAMARIA & ANTUNES, 1999) e por ter um comportamento bastante agressivo na pesca esportiva (Ceccarelli et al., 2005). Esta espécie também apresenta boas características para cultivo, como, adaptação á ração e aproveitamento de ingredientes de origem vegetal (Garcia, et al. 1999), e bons índices de rendimento de suas partes comestíveis (Freato, 2005). Entretanto, atualmente esta espécie encontra-se ameaçada de extinção devido a diferentes fatores antrópicos (Agostinho et al., 2005). Desta forma, trabalhos sobre a sua diversidade genética (Lopera-Barrero et al., 2010), manejo reprodutivo (Lopera-Barrero et al, 2014) e conservação de gametas (Chiacchio et al. 2017) e embriões (Paes et al. 2014), estão sendo realizados para mitigar os impactos causados sobre as suas populações naturais, e conservar a espécie. Por outro lado, estudos sobre a sua fisiologia são muito incipientes.

A temperatura é um fator ambiental muito importante para os peixes, pois a maioria das espécies são ectotérmicas e que dependem da temperatura ambiente para o funcionamento do seu organismo. Segundo Baldisserotto (2009), a temperatura age sobre os tecidos, células e moléculas dos peixes, aumentando a cinética e o ponto de equilíbrio das reações, através das ligações fracas intra e intermoleculares. Este processo fisiológico pode influenciar todo o seu desenvolvimento embrionário (Radonié et al. 2005), larval (Lee et al. 2017), atividade enzimática (Piedras et al., 2004), e expressão gênica, como genes relacionados à atividade antioxidante (Cheng et al. 2015). Além disso, a temperatura também pode ser determinante positivamente ou negativamente no crescimento dos peixes (Besson et al., 2016).

Após uma extensa revisão para piracanjuba não foi encontrado nenhum estudo sobre a influência da temperatura no desempenho e metabolismo, sendo assim, se faz de grande importância estudos sobre os efeitos da temperatura sobre a sua fisiologia e desenvolvimento.

Revisão bibliográfica

Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*)

O *B. orbignyanus*, popularmente conhecido como piracanjuba, é uma espécie nativa, endêmica das bacias dos rios Paraguai e Uruguai (Zaniboni Filho et al. 2006), pertencente ao gênero *Brycon*, anteriormente incluída na família Characidae e reclassificada atualmente para a família Bryconidae (Eschmeyer & Fong, 2014). Apresenta hábito alimentar onívoro, com tendência a carnivorismo nas fases iniciais, enquanto na fase adulta alimentam-se principalmente de sementes e frutos em seu ambiente natural (Ceccarelli et al., 2005). Por outro lado, em cativeiro, a espécie apresenta boa adaptação à ração, e capacidade de aproveitamento de alimentos de origem vegetal, sendo capaz de aceitar dietas com altos níveis de fibra bruta sem prejudicar o seu desempenho produtivo (Garcia et al. 1999). Quanto à estratégia reprodutiva é uma espécie reofílica, com hábito migratório durante o período reprodutivo, que se inicia em setembro/outubro e a desova em dezembro/janeiro, sendo considerado um dos “grandes migradores” (Ceccarelli et al., 2005).

A piracanjuba de acordo com Santamaria & Antunes (1999) já foi descrita como uma espécie com grande potencial zootécnico, por possuir carne de boa qualidade, com coloração avermelhada e bom rendimento de filé. Entretanto a sua vocação para pesca esportiva foi ressaltada por Ceccarelli et al. (2005) como o seu principal atributo para produção em cativeiro. De acordo com Freato (2005), esta espécie apresenta também bons índices de rendimentos de suas partes comestíveis, em comparação a outras espécies, sendo que, peixes com menores proporções de cabeça, possuem maiores rendimentos de filé. Atualmente a espécie vem sendo produzida em cativeiro, apenas para repovoamento e não para consumo, pois esta espécie encontra-se listada como em perigo de extinção (Livro vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção, 2018). De acordo com Agostinho et al. (2005) o fato que levou o declínio nas populações naturais, estão relacionados a fatores como a pesca dos estoques naturais, a poluição, o desmatamento das matas ciliares e o represamento de rios para construção de barragens hidrelétricas.

Com o objetivo de construir um protocolo de produção em cativeiro, são necessários estudos que permitam conhecer com mais profundidade os índices zootécnicos desta espécie. Com este objetivo Lopera-Barrero (2009) estudaram critérios necessários para melhorar o controle das populações de Piracanjubas mantidas em cativeiro, a fim de incluir o manejo sustentável, reprodutivo, genético, ambiental e sanitário. E o mesmo autor em sua revisão resalta a importância desta espécie para o ecossistema e também para a produção, devido a sua adaptação a ambientes controlados de cultivo e rápido crescimento. Porém estudos sobre a fisiologia desta espécie são ainda incipientes. García-Carreño et al. (2002) estudaram o sistema digestivo e a atividade enzimática em juvenis de piracanjuba, e observaram forte relação do alimento e o regime alimentar com a atividade enzimática, sendo detectada esta atividade pelo substrato-SDS-PAGE. Dietas com diferentes níveis de proteína e lipídio para juvenis de piracanjuba foram estudadas por Borba et al. (2003) que observaram efeito das dietas sobre a atividade das enzimas

lipogênicas ácido graxo sintetase e da enzima málica, assim como aumento da deposição de lipídios e da matéria seca.

Alguns estudos já foram realizados também sobre a fisiologia e manejo reprodutivo da piracanjuba. Ganeco et al. (2001) estudaram a morfologia gonadal de adultos de piracanjuba ao longo do ciclo reprodutivo, e encontraram quatro estágios de desenvolvimento bem definidos: Repouso, Maturação Inicial, Maturação Avançada e Regressão. Em estudo mais recente sobre a ontogenia gonadal e razão sexual desta espécie, Zardo (2018) observou que indivíduos sexualmente diferenciados apresentam crescimento alométrico positivo. Por outro lado o autor, identificou que, indivíduos ainda indiferenciados apresentam crescimento negativo, e após um período de 730 dias após a fertilização todos os indivíduos já estavam diferenciados. O aspecto reprodutivo foi avaliado por Paulino et al. (2011) que observaram a indução com extrato de buserelina em reprodutores, e concluíram que o extrato foi capaz de induzir os reprodutores a liberarem os gametas, porém não houve eclosão de larvas. Já em um estudo sobre a flutuação dos esteróides sexuais, foram observados níveis de 17β -Estradiol em machos imaturos, demonstrando a sua ação no controle da proliferação e renovação das espermatogônias, enquanto que, nas fêmeas foram observados maiores níveis de 17β -Estradiol, em exemplares de 48 meses de idade, demonstrando a ação deste hormônio no processo de vitelogenese e maturação final (Rotili, 2018).

Influência da temperatura sobre o desempenho produtivo em peixes

Devido à característica ectotérmica dos peixes, a temperatura da água exerce grande influência no seu desenvolvimento. Assim, em temperaturas mais baixas ocorre a redução do metabolismo dos animais, e em temperaturas mais altas ocorre um maior crescimento, porém em temperaturas extremas, também pode ocorrer mortalidade dos animais (Baldisserotto, 2009). Segundo este mesmo autor, uma forma de avaliar a temperatura ideal para uma determinada espécie ocorre através da relação do desempenho zootécnico e consumo de alimento. Cabe ressaltar que devido ao aumento do metabolismo do animal causado pelo aumento da temperatura, ocorre um maior crescimento. Porém, quando o peixe é exposto em uma temperatura muito alta pode ocorrer uma estagnação do crescimento do animal. Devido ao aumento da demanda metabólica ocorre uma maior demanda de alimento, prejudicando a conversão alimentar.

Em um estudo com juvenis de *Rachycentron canadum* submetidos às temperaturas de 23; 27; 31 e 35°C, os autores observaram efeito quadrático para a conversão alimentar aparente e para as taxas de eficiência proteica e energética. Neste estudo houve uma melhora das taxas de eficiência nutricional conforme o aumento da temperatura até 31°C. Por outro lado, na temperatura de 35°C foi observada uma piora da conversão alimentar aparente e baixa retenção de proteína e eficiência energética (Sun et al., 2006). Quando Santos et al. (2017) estudaram o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e avaliaram o desempenho produtivo de alevinos submetidos à temperaturas de 24; 28 e 32°C, com e sem estímulo de exercício, observaram que os alevinos submetidos a temperatura de 24° C apresentaram o menor desempenho e uma

piores conversões alimentares em comparação às demais temperaturas. Porém, nas temperaturas 28° e 32°C não diferiram entre si para a taxa de crescimento específico e conversão alimentar, sendo que o estímulo do exercício proporcionou uma melhora adicional na conversão alimentar dos peixes cultivados a 28° e 32°C.

A fase de vida dos peixes também é outro fator que tem relação com a temperatura e o metabolismo. Imsland et al. (1996) observaram que juvenis de *Scophthalmus maximus* com peso de 25 a 75g apresentaram melhores índices de crescimento em temperaturas de 16 a 19°C. Por outro lado, juvenis com peso de 100g apresentaram melhores índices de crescimento em temperaturas entre 13 e 16°C. No *Salmo salar* foram encontradas relações entre o tamanho do peixe com a temperatura sendo que a temperatura de 12,8°C proporcionou melhor crescimento para peixes com peso de 70 a 150g e a temperatura de 14°C proporcionou melhor crescimento para peixes com peso de 150 a 300g, enquanto que a temperatura ideal para eficiência da conversão alimentar diminuiu com o aumento do tamanho dos peixes (Handeland et al., 2008).

Outra forma de avaliar o efeito da temperatura sobre o desenvolvimento dos peixes é através do desenvolvimento muscular e da expressão gênica de genes relacionados com o crescimento e desenvolvimento muscular. Takata et al. (2018), observaram o desenvolvimento muscular de larvas e juvenis de *Lophiosilurus alexandri*, expostas a diferentes temperaturas de 23, 26, 29 e 32°C e observaram que as larvas e os juvenis apresentaram aumento do diâmetro do músculo branco em altas temperaturas e efeito de hipertrofia. Já para juvenis de *Piaractus mesopotamicus* foram estudados a influência das temperaturas de 24, 28 e 32°C, sobre o crescimento muscular através das características morfológicas e morfométricas do músculo e da expressão dos genes Myod, miogenina e miostatina, e foi observado que a menor temperatura proporcionou um aumento da expressão dos genes relacionados com o crescimento muscular e também induziu um retardo no desenvolvimento muscular nos juvenis (Paula et al., 2014). Também avaliando o desenvolvimento muscular e a expressão gênica da miostatina, miogenina e do Myod de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), submetidos às temperaturas de 22, 28 e 30° C, Mareco (2012) observou que a temperatura influenciou na expressão dos referidos genes, sendo os peixes mantidos na temperatura de 22°C, apresentaram aumento da expressão do gene Myod, já para a expressão do gene da miogenina, todos os tratamentos se mantiveram constantes ao longo do experimento assim como o gene da miostatina, sem modificar a hiperplasia e a hipertrofia das fibras musculares, dos juvenis da espécie.

Mesmo com inúmeros estudos sobre a influência da temperatura no desempenho e desenvolvimento de diferentes espécies, ainda não se tem nenhuma informação sobre o efeito deste fator ambiental no desempenho e crescimento da piracanjuba ou de qualquer outra espécie do gênero *Brycon*.

Influência da Temperatura Sobre o Metabolismo dos Peixes

A temperatura é um fator ambiental que exerce grande efeito sobre o metabolismo dos peixes, como citado anteriormente. Sendo assim, também

pode ser utilizado para determinar a temperatura ideal para uma espécie através de indicadores bioquímicos, de estresse e metabólicos.

Uma forma para avaliar o efeito da temperatura no metabolismo dos peixes é utilizando as técnicas de alocação de energia celular (CEA) e a taxa de consumo de oxigênio (OCR) (Wen et al., 2017). Estes autores trabalhando com o *Symphysodon aequifasciatus* submetidos às temperaturas de 20, 24 e 28°C, utilizaram a relação de energia disponível (Ea), consumo de energia (ETS), para avaliar a CEA e o OCR, através de uma câmara para quantificar o consumo de oxigênio pelo peixe durante o período de uma hora. Estes autores observaram que conforme ocorreu a redução da temperatura houve uma queda na reserva energética dos peixes e um aumento do consumo de oxigênio. Entretanto ao final do experimento, os autores observaram que as diferenças no metabolismo para todos os peixes tratados nas diferentes temperaturas se estabilizaram e se igualaram entre os tratamentos.

Outra forma de avaliar os efeitos da temperatura sobre o metabolismo nos peixes é através da análise de outros metabólitos como, hematócrito, hemoglobina, cortisol, ácidos graxos livres, triacilgliceróis, glicogênio, glicose e lactato. Para esta avaliação, Lermen et al. (2004) observaram os efeitos das temperaturas 15, 23 e 31°C, em juvenis de *Rhamdia quelen*. Também são utilizadas as enzimas fosfatase alcalina hepática, alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase, para avaliar o metabolismo em peixes, assim como Wen et al. (2017), que utilizou estas enzimas para avaliar a resposta fisiológica do *Symphysodon aequifasciatus*, expostos às temperaturas 20, 24 e 28°C, e foram observados um aumento destas enzimas conforme a diminuição da temperatura, demonstrando um efeito compensatório com diminuição da taxa metabólica.

Já se sabe também que a temperatura pode induzir ao estresse oxidativo e a apoptose celular, como observado por Cheng et al. (2015), que avaliou o efeito do estresse térmico em elevada temperatura (34°C) em *Takifugu obscurus*. Os autores observaram aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs), aumento da atividade de enzimas antioxidantes (Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, CAT, GPx e GR) e a apoptose celular pela atividade da via p53-Bax e caspase. Já He et al. (2015) avaliaram os efeitos da baixa temperatura (13°C) em tilápia (*Oreochromis niloticus*) e observaram aumento da atividade das enzimas superóxido dismutase, glutathiona peroxidase, catalase e glutathiona no fígado e aumento do malondialdeído devido a oxidação dos ácidos graxos acarretando em danos oxidativos, demonstrando o efeito da baixa temperatura sobre a resposta antioxidante e oxidativa dos peixes.

Para as espécies nativas sul-americanas ainda se tem poucos estudos sobre os efeitos da temperatura sobre a sua fisiologia, metabolismo e estresse, principalmente para as espécies do gênero Brycon, tanto para fins de entendimento sobre a sua fisiologia como para fins de produção tanto comercial quanto conservacionista.

Influência da temperatura sobre os danos no fígado

O fígado é o órgão responsável por boa parte das funções metabólicas do organismo, sendo sensíveis às alterações causadas pelo ambiente e

acarretando em distúrbios metabólicos, muito utilizado como marcador em estudos sobre os efeitos alimentares (Lopes et al., 2005), poluentes (Henares et al., 2007) e do ambiente (Santos, 2010), sobre os peixes.

Dentre os danos que podem ser observados no fígado estão a esteatose e os centros de melanomacrófago. A esteatose hepática é um distúrbio ocasionado pelo acúmulo de lipídios no fígado, que é armazenado como vacúolo, podendo levar a danos mais severos como a vacuolização citoplasmática (Kliemann et al., 2018). Podendo ser utilizado para avaliar os impactos de produtos químicos (Zhang et al., 2016), fatores ambientais (Santos, 2010) e patógenos (Francisco, 2006) sobre o metabolismo lipídico no fígado dos peixes.

Os centros de melanomacrófagos são aglomerados de células pigmentadas, presentes nos rins, baço e fígado dos peixes e estão relacionadas com o armazenamento de ferro e na defesa antioxidante, podendo ser relacionada com estresse ambiental, sendo muito utilizada como biomarcador para qualidade ambiental (Agius & Roberts, 2003).

Existem estudos que relatam a influência da temperatura sobre a morfologia e os possíveis danos que a temperatura possa causar no fígado, como o Boucher et al. (2014). Neste estudo, trabalharam com larvas de *Acipenser transmontanus* expostas às temperaturas de 13,5 e 17,5° C e com e sem adição de substrato as incubadoras sobre a morfologia do fígado, e observaram que a temperatura não influenciou na estrutura das células. Por outro lado, larvas criadas nas incubadoras com a adição do substrato apresentaram maiores níveis de vacúolos lipídicos no fígado.

Cabe ressaltar as espécies nativas sul-americanas não há nenhum registro sobre a influência da temperatura sobre a morfologia do fígado, sendo necessários estudos sobre esta relação para melhorar as condições de cultivo, melhorando e aumentando então a produção das espécies nativas.

HIPÓTESE

Considerando que as temperaturas mais elevadas influenciam positivamente o desempenho zootécnico e o metabolismo de juvenis de Piracanjuba, enquanto que, temperaturas mais baixas retardam o seu desenvolvimento prejudicando o seu desempenho zootécnico e o seu metabolismo.

OBJETIVOS

Geral

Avaliar os efeitos de diferentes temperaturas sobre o metabolismo e o desempenho zootécnico de juvenis de piracanjuba.

Específicos

- Avaliar os efeitos da temperatura no desempenho zootécnico de juvenis de Piracanjuba, sobre o ganho de peso, ganho médio diário, conversão alimentar aparente, taxa de crescimento específico, fator de condição e índice hepatossomático;
- Avaliar os efeitos da temperatura sobre o metabolismo de juvenis de piracanjuba através da glicose, proteínas totais, aminoácidos livres, lactato, amônia e colesterol hepáticos;
- Observar os efeitos da temperatura sobre a morfologia do fígado através da análise histológica e observação dos melanomacrófagos e da deposição lipídica hepática;
- Encontrar uma faixa ideal de temperatura para juvenis de piracanjuba.

CAPÍTULO II
Respostas fisiológicas de juvenis de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*)
em diferentes temperaturas¹

¹ Artigo elaborado conforme as normas do periódico *Journal of Thermal Biology*.

Respostas fisiológicas de juvenis de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) em diferentes temperaturas

Bruno da Silva Pires ¹; Danilo P. Streit Jr.¹

¹Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (PPGZoot/UFRGS) – Grupo de Pesquisa Aquam – Porto Alegre - RS

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da temperatura sobre o desempenho zootécnico e parâmetros fisiológicos em juvenis de piracanjuba. Para isso foram utilizados 600 juvenis com peso médio de $4,47 \pm 1,08$ g e $7,35 \pm 0,64$ cm de comprimento total, dividido em oito unidades experimentais, submetidos a quatro diferentes temperaturas de cultivo: 20°, 23°, 26° e 29° C, com duas repetições para cada temperatura. O período experimental foi de 120 dias, os animais foram alimentados duas vezes por dia até a saciedade aparente. Foram avaliados os parâmetros de desempenho zootécnico, metabólicos, peroxidação lipídica e histologia do fígado. Foi observado que, os peixes submetidos a temperaturas mais altas apresentaram melhores resultados para os índices zootécnicos, redução da proteína total e maior concentração de glicose no fígado, em comparação às menores temperaturas. Foi observado também maior peroxidação lipídica nos peixes submetidos às menores temperaturas. Pela histologia do fígado foram observados, maiores valores para melanomacrófagos nas temperaturas de 23° e 26° C e maiores resultados para esteatose na temperatura de 29° C. Conclui-se, que a piracanjuba apresenta boa adaptação à grandes faixas de temperatura, através das suas adaptações metabólicas, porém, ela apresenta melhores resultados de desempenho em faixas de temperatura entre 26° e 29° C.

Palavra-chave: Metabolismo; glicose; proteínas totais; peroxidação lipídica; danos hepáticos.

Introdução

Devido a diferentes fatores antrópicos, como, desmatamento, poluição, sobre pesca e barramentos dos rios, inúmeras espécies encontram-se ameaçadas de extinção (AGOSTINHO et al., 2005). Dentre elas, a piracanjuba (*Brycon orbignyanus*), espécie nativa endêmica das bacias dos rios Uruguai e Paraguai (ZANIBONI FILHO et al. 2006), que atualmente está no livro vermelho da fauna classificada como em perigo de extinção (2018). Diante disto, estudos para conservar as populações naturais através da criação *ex situ* e posteriormente serem utilizados em programas de repovoamento têm sido um dos objetivos por parte dos pesquisadores. Um exemplo deste objetivo foi o estudo de Lopera-Barrero et al. (2014), que avaliaram os efeitos de diferentes sistemas reprodutivos, seminatural e por extrusão, sobre a sobrevivência dos reprodutores e a diversidade genética da progênie de piracanjuba, e concluíram que o sistema reprodutivo seminatural foi o que melhor preservou a diversidade genética da progênie e diminuiu a mortalidade dos reprodutores.

A temperatura segundo Baldisserotto (2009) influencia diretamente na fisiologia dos peixes, desde velocidade e ponto de equilíbrio de reações químicas intra e intermoleculares, podendo causar distúrbios ou efeitos letais. O estresse térmico em *Takifugu obscurus* foi observado no estudo de Cheng et al. (2018) onde concluíram que baixas temperaturas podem induzir a geração de espécies reativas ao oxigênio (EROs), desequilibrar a homeostase e induzir a apoptose celular. Porém, Madeira et al. (2013) avaliaram os efeitos do aumento da temperatura sobre parâmetros oxidativos e concluíram que catalase, glutathione S-transferase, e peroxidação lipídica em *Diplodus vulgaris*, *D. sargus*, *Dicentrarchus labrax*, *Gobius Níger* e *Liza ramada* são altamente sensíveis à temperatura. Além dos parâmetros bioquímicos, também pode ser analisado o acúmulo de lipídios no fígado através de técnicas histológicas para avaliar alterações no metabolismo. No entanto, existem espécies que toleram grandes faixas de variação térmica. Segundo Santo et al. (2018), trabalhando com a tolerância térmica do *Piaractus brachypomus*, observaram que esta espécie apresenta a capacidade de tolerar temperaturas altas e baixas a níveis crônicos.

Para a piracanjuba não há registro dos efeitos da temperatura na fisiologia de crescimento da espécie. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o desempenho zootécnico e o comportamento fisiológico através de indicadores metabólicos, peroxidação lipídica e danos hepáticos de juvenis de piracanjuba expostos em diferentes temperaturas de cultivo.

Material e Métodos

Local, animais e instalações

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquicultura (AQUAM), na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Foram utilizados 600 juvenis de piracanjuba, com idade de 60 dias, peso médio de $4,47 \pm 1,08$ g e $7,35 \pm 0,64$ cm de comprimento total. Os animais foram mantidos em quatro sistemas de recirculação independentes, divididos em oito tanques com capacidade de 500 litros, com densidade de 75 peixes/unidade experimental, equipados com filtro mecânico e biológico, fotoperíodo controlado (12 horas luz/ 12 horas escuro) e trocadores de calor independentes. Os animais foram mantidos em temperatura ambiente durante o período de dez dias para aclimação ao ambiente experimental e posteriormente submetidos aos tratamentos em quatro temperaturas: 20, 23, 26 e 29°C, com duas repetições para cada tratamento, durante 120 dias. Os peixes foram alimentados duas vezes por dia (9:00 e 16:00h) até a saciedade aparente, com ração comercial Supra® (32% de proteína bruta).

Medidas de Desempenho Zootécnico

A cada trinta dias foram realizadas biometrias, coletando-se 20 peixes por tratamento. Os animais foram anestesiados com benzocaína (50mg/Kg) e em seguida avaliado as seguintes variáveis: Ganho em peso (peso final – peso inicial), Fator de

condição corporal (peso médio total/ganho tecidual total³*100), Taxa de crescimento específico ($100 * [(ln \text{ peso final} - ln \text{ peso inicial}) / \text{dias}]$), Conversão alimentar aparente (quantidade de ração fornecida/ganho de peso) e Índice hepatossomático ((peso do fígado/peso corporal) *100).

Parâmetros bioquímicos

Durante as biometrias foram coletados o fígado de 10 peixes, e em seguida pesados 50 mg de tecido para fazer o homogenato com solução tampão TFK (20 mM, pH=7,5), centrifugados a 17.150 g durante 10 minutos (para aminoácidos livres, colesterol, proteínas totais e TBARS). Os aminoácidos livres foram determinados pela técnica de Spies (1957), o colesterol e as proteínas totais foram determinados utilizando kits de ação enzimática (Lab Test® seguindo as recomendações do fabricante), e o TBARS (substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico) foi determinado pela técnica preconizada por Buege e Aust (1978).

Outras 50 mg de tecido, foram utilizadas, para fazer o homogenato com solução tampão TCA (10%), e centrifugados a 3500 rpm durante 10 minutos, para determinação da amônia, glicose e lactato. A amônia foi determinada pela técnica de salicilato (VERDOUW, et al. 1978). A glicose foi determinada utilizando kit enzimático (Lab Test® seguindo as recomendações do fabricante), e o lactato foi determinado pela técnica de Buege e Aust (1978).

Análise Histológica

Em cada biometria foram coletados fragmentos de fígado de três peixes de cada tratamento. Os fragmentos foram fixados em solução formalina tamponada 10% (pH 7,2). Após 24 horas os tecidos foram desidratados em níveis crescentes de álcool etílico (50, 70, 80, 90 e 100%) e incluídos em parafina (Luna, 1960). Foram realizados seis cortes seriados de 3 µm de espessura corados com Hematoxilina e Eosina, quanto às alterações estruturais e celulares. As lâminas foram analisadas a partir da captura com uma câmera digital (Opton 4072) acoplada a microscópio óptico (Nikon eclipse E200), em objetiva de 40X. Foram escolhidas aleatoriamente três fotomicrografias por lâmina com o uso de tabela de randomização. Em cada imagem determinou-se as áreas, raio e diâmetro estruturais de melanomacrófagos (MMs) e de esteatose hepática (E), obtendo os resultados convertidos em µm². Para realizar as análises foi utilizado o software Image-Pro Plus® v. 4.5.0.29, desenhando um diâmetro horizontal (máximo) e perpendicular linha fazendo um ângulo de 90°.

Análise Estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade, e quando necessário foi realizado a transformação dos mesmos, para atingir a normalidade. Após o atendimento dos pressupostos estatísticos, foi realizada a Análise de Variância (ANOVA) de duas vias, utilizando como fatores as temperaturas (20, 23, 26 e 29°C) contrastadas no mesmo período de avaliação (30, 60, 90 e 120 dias) e cada temperatura

de ensaio ao longo do tempo. Quando observado diferenças significativas ($P < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com 5% de significância. Para os dados que não atenderam os pressupostos estatísticos, foi feita a análise de Kruskal-Wallis, seguido de teste de Dunn, sendo utilizado o pacote estatístico SAS® 9.2.

Resultados

Desempenho zootécnico

Ganho em peso

O ganho de peso dos animais (Figura A.1) diferiu em relação as temperaturas ($P < 0,001$), ao longo do tempo ($P < 0,0014$) e na interação do tempo e tratamento ($P < 0,001$).

O ganho de peso dos animais (Figura A.1) diferiu entre as temperaturas ao longo tempo assim como na mesma temperatura ao longo do tempo ($P < 0,001$). Desde a primeira biometria (30 dias) os animais que estavam submetidos na temperatura de 29, 26 e 23°C ganharam mais peso. Quando analisou-se as piracanjubas dentro do mesmo tratamento ao longo do tempo, os animais submetidos as temperaturas de 26 e 29°C não diferiram entre si e apresentaram os melhores resultados, porem aos 120 dias os animais tratados nesses temperaturas diferiram entre si ($P < 0,001$).

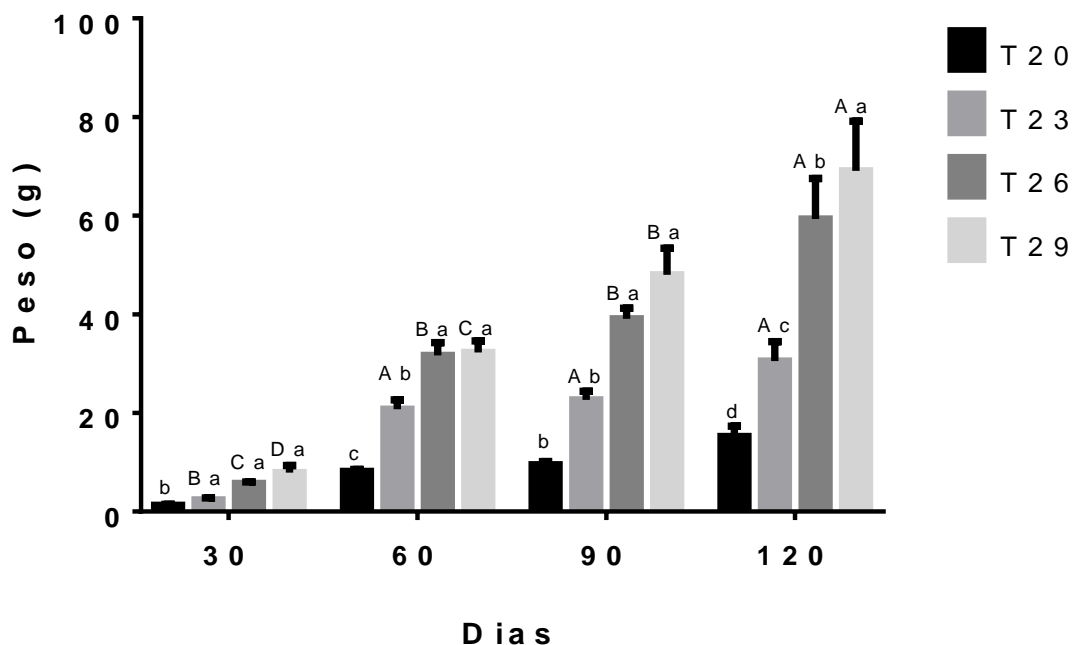


Figura A.1. Ganho de peso de piracanjubas submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas

indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperaturas ao longo do tempo.

Fator de condição

O fator de condição dos animais (Figura A.2) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P<0,001$), porem não diferiu entre os tratamentos ($P=0,62$) e na interação do tempo e tratamento ($P=0,714$). Sendo o período de 30 dias apresentou os maiores resultados para o fator de condição em comparação aos resultados obtidos ao longo do tempo nos demais tratamentos, sem diferir entre os tratamentos.

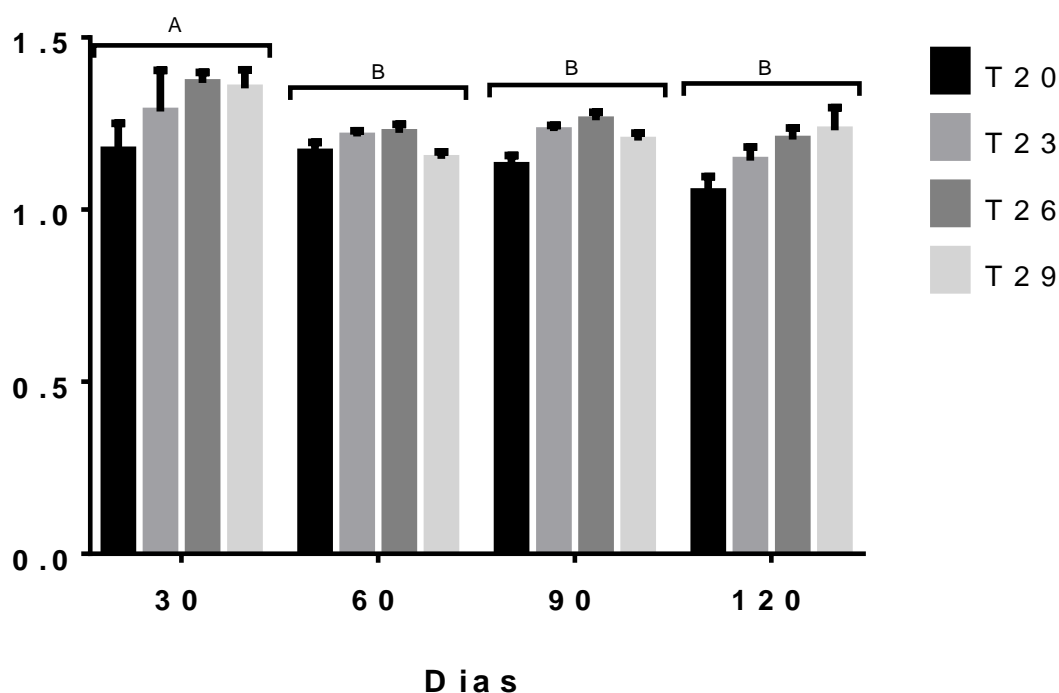


Figura A.2. Fator de condição de piracanjubas submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

Taxa de crescimento específico

A taxa de crescimento específico dos animais (Figura A.3) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P<0,001$), ao tratamento ($P<0,0014$) e na interação do tempo e tratamento ($P<0,001$).

Se na primeira avaliação (30 dias) da taxa de crescimento específico os animais submetidos na temperatura de 29° C tiveram o maior ganho ($P<0,001$), quando a avaliação ocorreu com 120 dias, não houve diferença ($P<0,001$) entre os animais nas quatro temperaturas testadas. Por outro lado, na avaliação das piracanjubas com 60 dias

houve o maior ganho ($P < 0,05$) na taxa de crescimento específico em todas as temperaturas em relação as outras avaliações, 30, 90 e 120 dias.

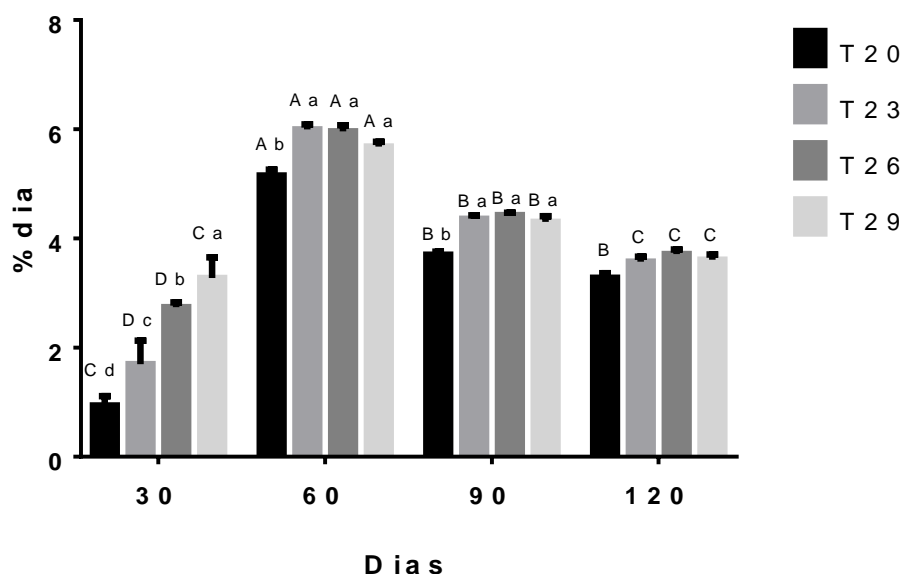


Figura A.3. Taxa de crescimento específico de piracanjuba submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

Conversão alimentar aparente

A conversão alimentar dos animais (Figura A.4) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P < 0,001$), ao tratamento ($P < 0,0014$) e na interação do tempo e tratamento ($P < 0,001$).

Inicialmente, com 30 dias, as piracanjubas submetidas nas temperaturas mais altas (26 e 29°C), a conversão foi mais baixa ($P < 0,001$). Porém, a partir de 90 dias não houve diferença ($P > 0,05$) entre os animais submetidas em todas as temperaturas. Quanto as conversões alimentares ao longo do tempo, foi observado o melhor ($P < 0,001$) desempenho com 90 e 120 dias as piracanjubas, com exceção dos animais em 20°C.

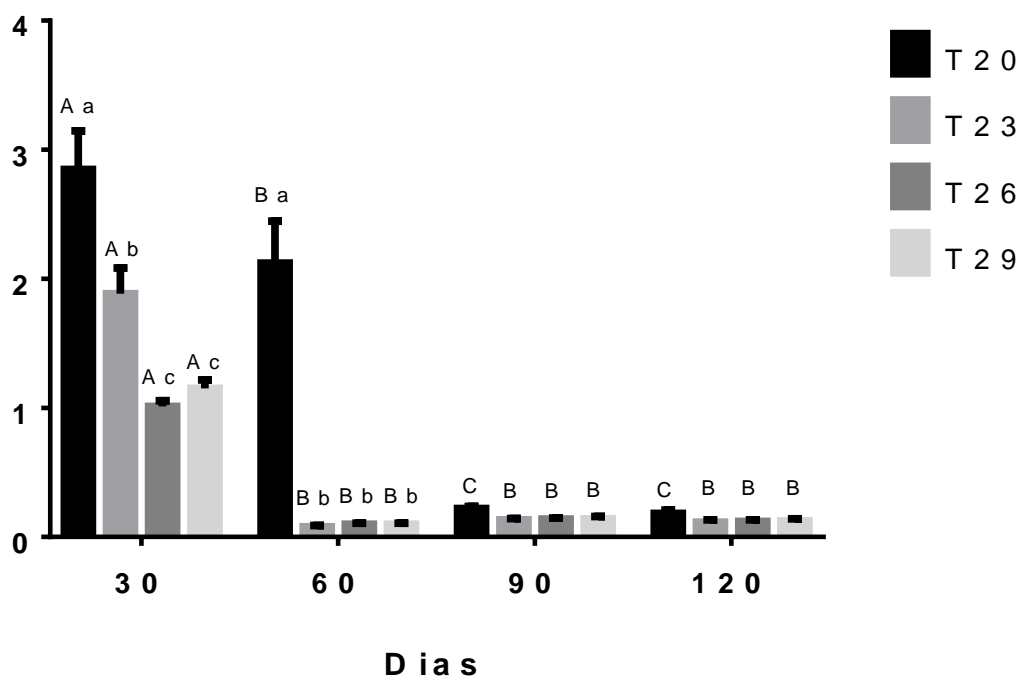


Figura A.4. Conversão alimentar aparente de piracanjubas submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

Índice hepatossomático (IHS)

O IHS dos animais (Figura A.5) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P < 0,001$), ao tratamento ($P < 0,0014$) e na interação do tempo e tratamento ($P < 0,001$).

Nos primeiros 30 dias de experimento, o IHS dos animais submetidos na temperatura de 29°C foi o mais baixo contrapondo o de 20°C o mais alto ($P < 0,05$). Entretanto, com 120 dias (final do experimento) os valores foram invertidos e assim os animais expostos nas temperaturas de 20°C o IHS foi menor que os submetidos na temperatura de 29°C ($P < 0,05$). Quanto ao IHS das piracanjubas ao longo do tempo, independente da temperatura testada, foi o mais elevado ($P < 0,05$) na primeira coleta (30 dias) (Figura A.5).

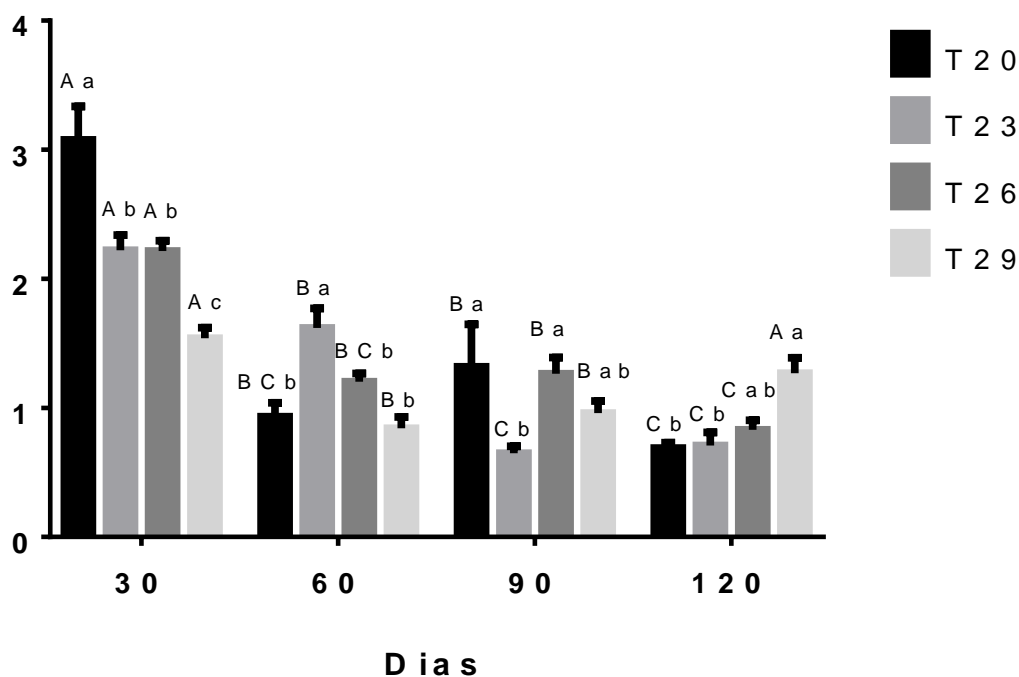


Figura A.5. Índice hepatossomático, de piracanjubas submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

Parâmetros bioquímicos

Glicose no fígado

A glicemia dos animais (Figura A.6) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P < 0,001$), ao tratamento ($P < 0,0014$) e na interação do tempo e tratamento ($P < 0,001$).

Os animais que estavam estocados na temperatura de 20°C, sempre apresentaram os mais elevados níveis de glicose no fígado ($P < 0,05$) nas três primeiras avaliações, por vezes em relação aos animais estocados em 26 e 29°C (30 e 90 dias) ou em relação aos animais estocados na temperatura de 23°C (60 e 90 dias). Porém, quando foi avaliado os animais aos 120 dias, o índice glicêmico dos animais em 20°C foi menor ($P < 0,05$) em relação aos animais estocados nas demais temperaturas (23, 26 e 29°C).

Ao longo do tempo constatou-se que o índice glicêmico foi o mais elevado ($P < 0,05$) quando os animais estavam com 120 dias de vida, com exceção dos animais que estavam submetidos na temperatura de 20°C (Figura A.6).

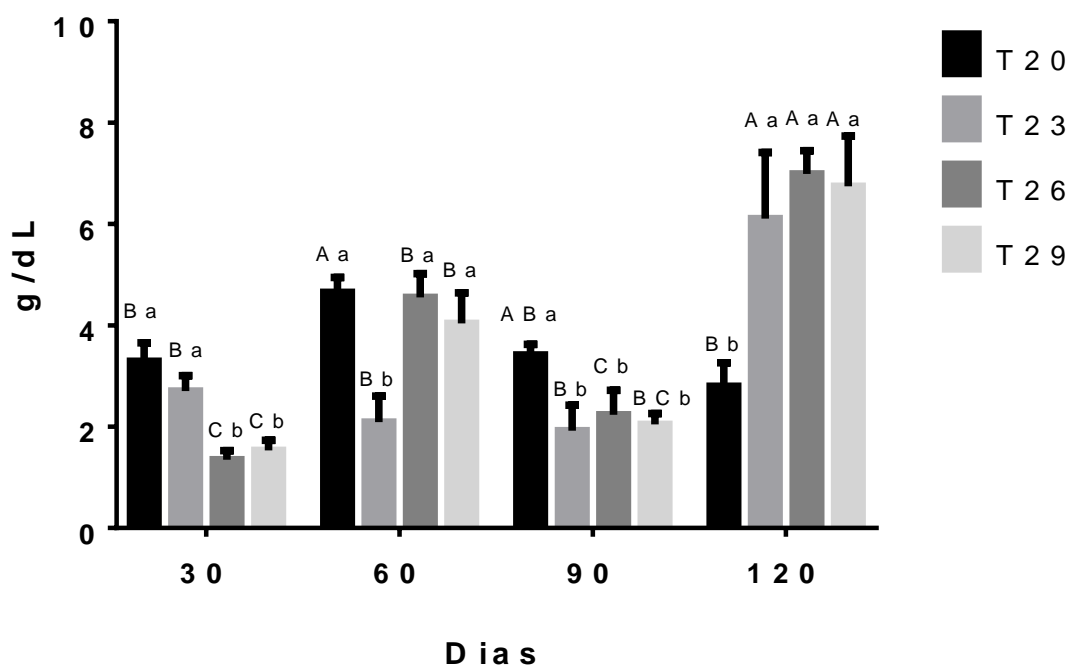


Figura A.6. Glicose no fígado de piracanjubas submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

Amônia no fígado

A amônia dos animais (Figura A.7) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P < 0,001$), ao tratamento ($P < 0,0014$) e na interação do tempo e tratamento ($P < 0,001$).

Notadamente duas observações podem ser registradas em relação a concentração de amônia nos tecidos das piracanjubas. A concentração de amônia foi mais elevada ($P < 0,05$) nos tecidos dos animais estocados nas temperaturas mais baixas, nas avaliações de 60 e 120 dias (20°C) e 30, 60 e 90 dias (23°C). E com passar do tempo os animais estocados em 20 e 23°C também 120 e 60 dias respectivamente, estavam com a concentração de amônia mais elevada ($P < 0,05$) nos tecidos em relação aos demais tempos de estocagem (Figura A.7).

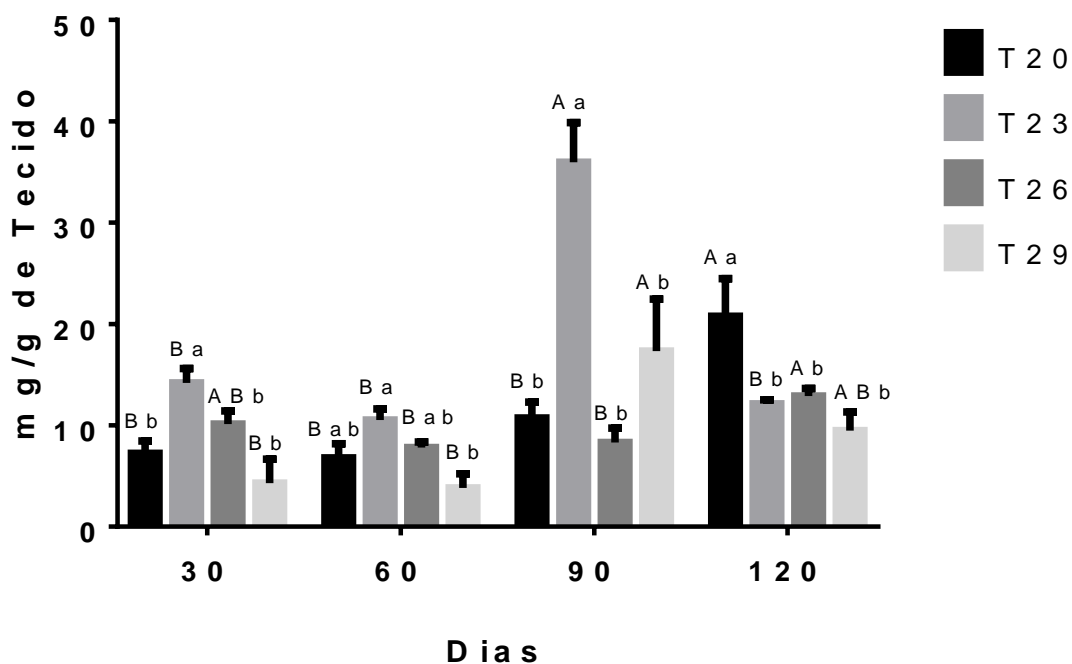


Figura A.7. Concentração de amônia no fígado de piracanjubas submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras minúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

Lactato no fígado

O lactato dos animais (Figura A.8) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P < 0,001$), ao tratamento ($P < 0,0014$) e na interação do tempo e tratamento ($P < 0,001$).

A presença do lactato no tecido chegou a ser mais elevada ($P < 0,05$) nos animais estocados na temperatura de 20°C em relação às demais temperaturas na primeira avaliação (30 dias), novamente na terceira avaliação (90 dias) e na última avaliação o mais elevado foi observado nos animais estocados em 20°C. Quanto as maiores concentrações de lactato encontrada nos animais, ela foi observada na avaliação com 30 dias nas temperaturas de 20, 23, 26 e 29°C e com 60 dias de experimento apenas na de 20°C.

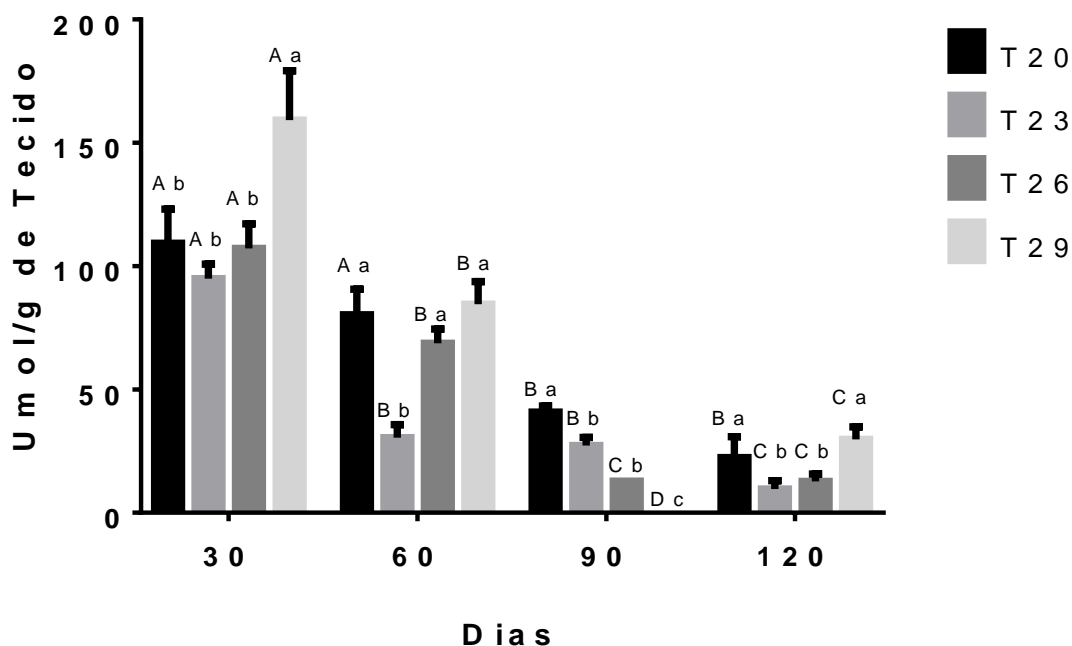


Figura A.8. Concentração de lactato no fígado das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

Proteínas totais no fígado

A proteínas totais dos animais (Figura A.9) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P=0,264$), ao tratamento ($P<0,0014$) e na interação do tempo e tratamento ($P=0,114$).

Com trinta dias de experimento, a concentração de proteína total no fígado foi o mais elevado ($P<0,05$) nas temperaturas extremas testadas, 20 e 29°C. Comportamento este que não se repetiu para 29°C em 90 e 120 dias, apenas para os animais submetidos na temperatura de 20°C continuou proteína total no fígado sendo mais elevada. Quanto ao período em que foram avaliados a concentração de proteína total no fígado, apenas na temperatura de 20°C, não houve diferença nas duas primeiras avaliações (30 e 60 dias), nas demais temperaturas durante as demais avaliações os índices foram sempre menores.

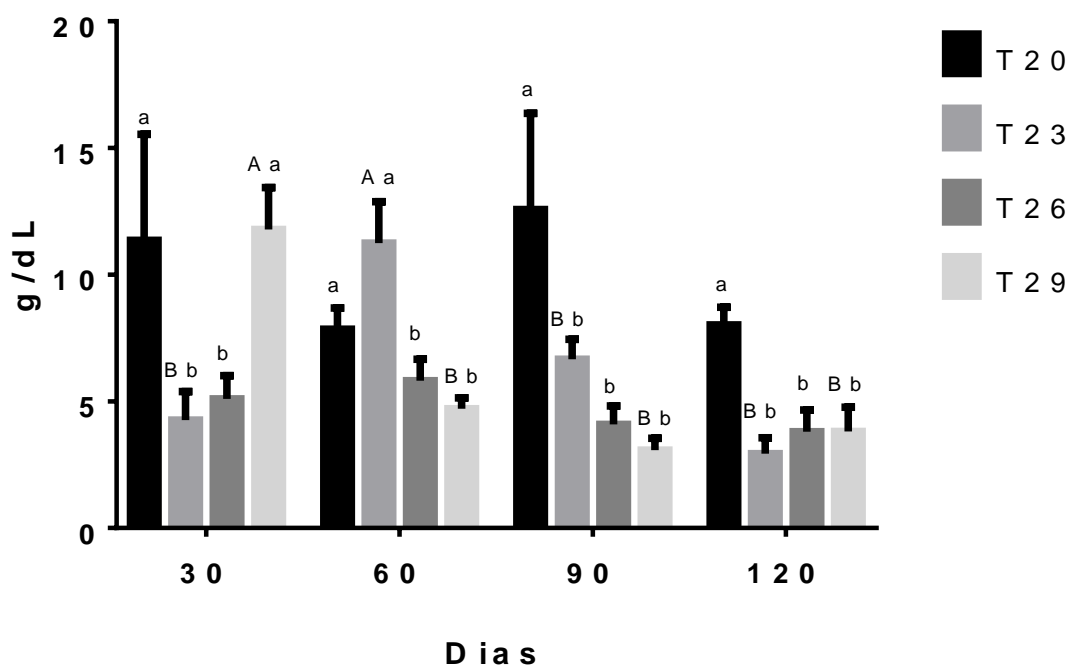


Figura A.9. Proteínas totais no fígado das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

Colesterol hepático

O colesterol hepático dos animais (Figura A.10) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P=0,401$), ao tratamento ($P=0,04$) e na interação do tempo e tratamento ($P=0,230$).

Apenas com 120 dias de experimento foi observado diferença do colesterol no fígado entre os animais submetidos nas quatro diferentes temperaturas. Neste caso os animais em 20°C apresentaram uma concentração aos animais submetidos a temperatura de 29°C. Ao longo do tempo não houve aumento ou redução significativa ($P<0,05$), independente da temperatura a qual os animais estivessem submetidos.

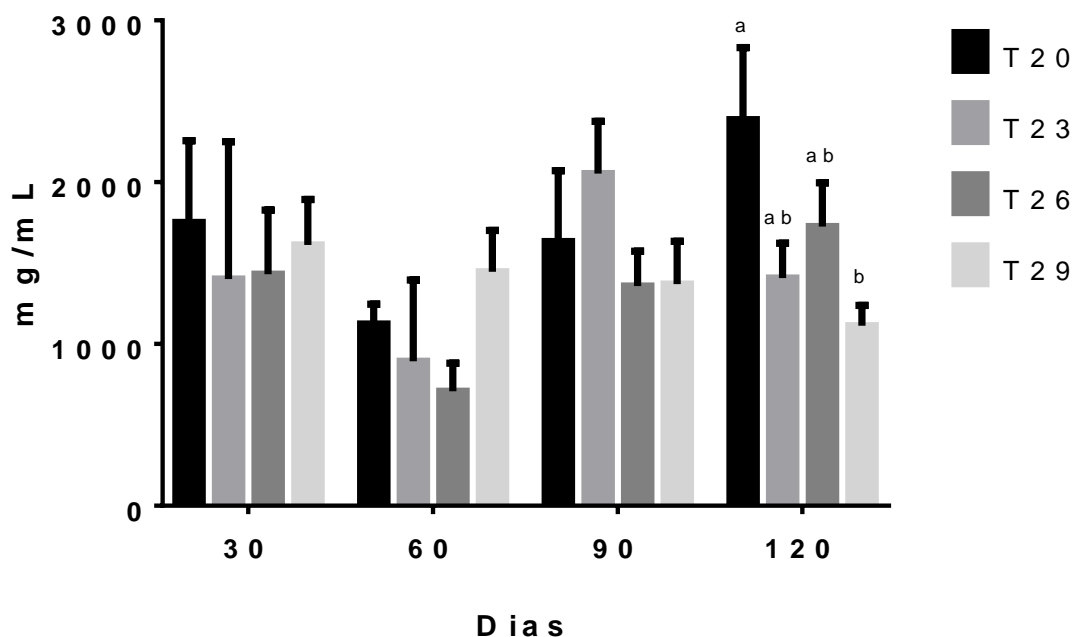


Figura A.10. Colesterol hepático das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

Aminoácidos livres no fígado

Os aminoácidos livres dos animais (Figura A.11) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P < 0,001$), ao tratamento ($P = 0,217$) e na interação do tempo e tratamento ($P = 0,245$).

Em dois momentos, com 60 e 120 dias foi constatado diferença na presença de aminoácidos livres no fígado dos animais submetidos em diferentes temperaturas, de modo antagônico para as duas temperaturas extremas testadas. Com 60 dias de exposição em temperatura de 20°C foi observado maior concentração de aminoácidos de aminoácidos livres no fígado ($P < 0,05$) em relação as outras três temperaturas. Porém, com 120 dias foi observado o índice de aminoácidos livres no fígado ($P < 0,05$) maior nos animais expostos na temperatura de 26°C, assim como em 29°C (Figura A.11). Quando avaliou-se em que momento a houve uma maior concentração de aminoácidos livres no fígado, nos primeiros 30 dias em todas as temperaturas o índice foi maior ($P < 0,05$) que os demais momentos, 60, 90 e 120 dias (Figura A.11).

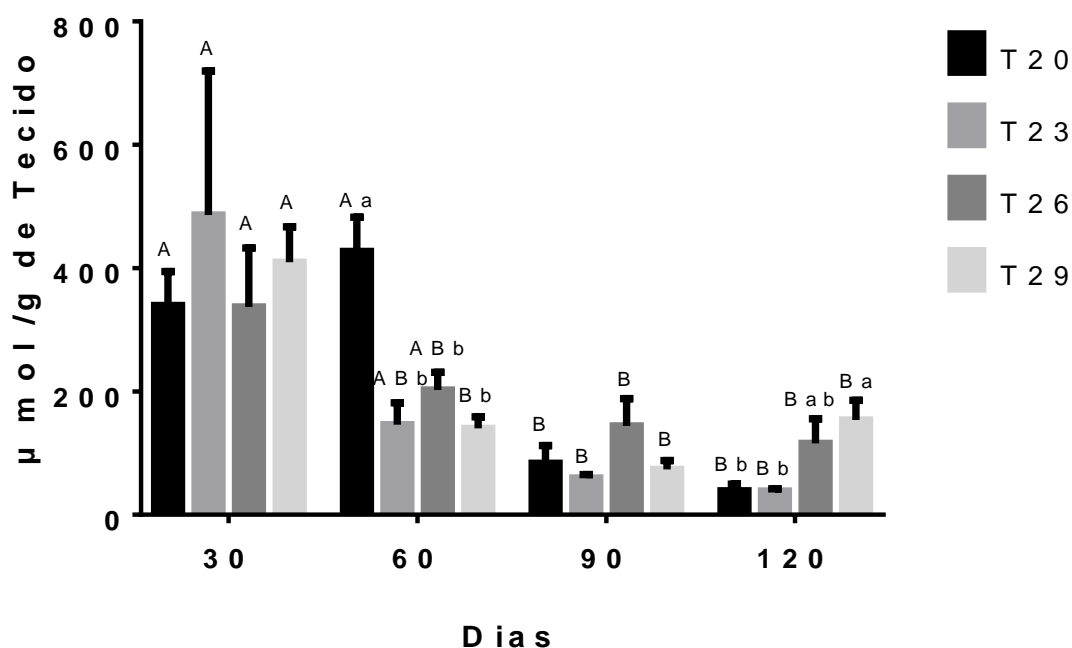


Figura A.11. Aminoácidos livres no fígado das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

TBARS

O TBARS dos animais (Figura A.12) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P < 0,001$), ao tratamento ($P = 0,335$) e na interação do tempo e tratamento ($P = 0,254$).

Em dois momentos o TBARS sofreu variação na concentração a partir dos animais expostos em diferentes temperaturas, com 60 e 120 dias de experimento. Porém, chamou atenção a diferença significativa da concentração de TBARS nos animais submetidos na temperatura de 29°C, que foi menor ($P < 0,05$) em relação aos animais expostos nas outras três temperaturas. Com relação a concentração do TBARS analisando nos animais submetidos em diferentes temperaturas, apenas os animais em 20 e 26°C tiveram diferença. Neste caso, ressalta-se que os animais em 20°C produziram um aumento significativo no período máximo de tempo, 120 dias, em relação a 30, 60 e 90 dias.

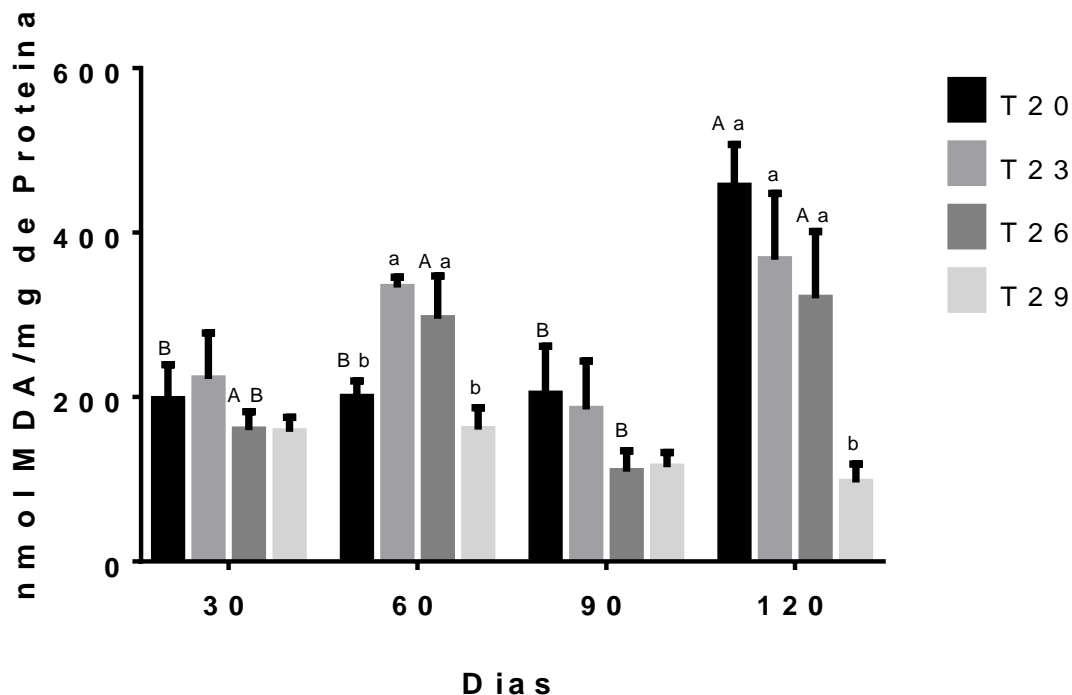


Figura A.12. TBARS no fígado das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

Parâmetros Histológicos

Tamanho do diâmetro de melanomacrófagos (DMMs)

O tamanho do diâmetro de melanomacrófagos dos animais (Figura A.13) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P < 0,001$), ao tratamento ($P < 0,001$) e na interação do tempo e tratamento ($P < 0,001$).

Não houve um padrão de resposta semelhante para os DMMs avaliados nos animais estocados em diferentes temperaturas em cada período avaliado. Ao passo que os animais estocados na temperatura de 26°C tiveram os maiores ($P < 0,05$) DMMs no período de 60, 90 e 120 dias (estes dois últimos períodos acompanhados dos animais nas temperaturas de 20 e 23° e 29°C, respectivamente), os animais na temperatura de 29° C sempre apresentaram menor ($P < 0,05$) DMMs ao longo do tempo, com exceção do período de 90 dias. Ao longo do tempo, os animais estocados nas duas temperaturas menores, 20 e 23°C, com 30 dias possuíam o maior ($P < 0,05$) DMMs, enquanto que os animais na temperatura de 29°C, não variou ($P < 0,05$) o tamanho do DMMs ao longo das quatro amostragem: 30, 60, 90 e 120 dias de experimento (Figura A.13).

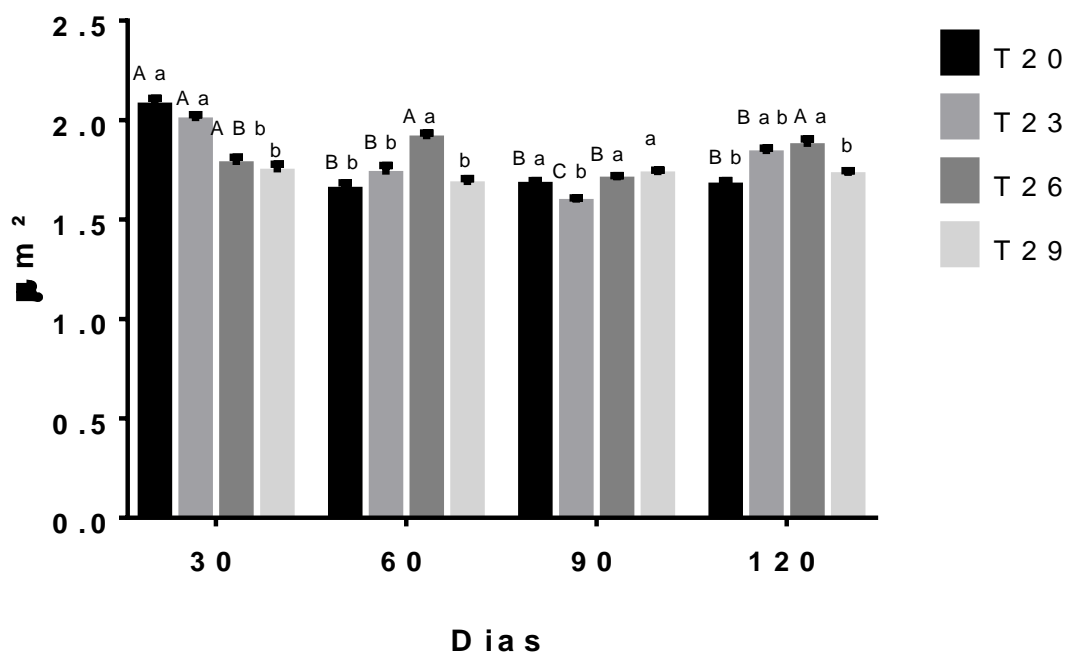


Figura A.13. Tamanho do diâmetro de melanomacrófos das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

Tamanho da área de melanomacrófos (AMMs)

O tamanho da área de melanomacrófos dos animais (Figura A.14) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P < 0,001$), ao tratamento ($P < 0,001$) e na interação do tempo e tratamento ($P < 0,001$).

Assim como o DMMs, não houve um padrão de resposta para o AMMs dos animais submetidos nas diferentes temperaturas quanto ao tempo de experimento. Assim, enquanto em um primeiro momento (30 dias de experimento) os animais estocados nas temperaturas de 20 e 23°C produziram maior ($P < 0,05$) AMMs, quando a amostragem foi realizada com 60 dias as piracanjubas estocadas em 26°C passaram a apresentar um maior ($P < 0,05$) AMMs e em 90 dias passou a ser os animais nas temperaturas de 20, 26 e 29°C. Por fim com 120 dias de experimento, os animais na temperatura 23°C produziram maior ($P < 0,05$) AMMs. No que se refere ao tempo, os animais avaliados com 30 dias de experimento apresentaram maior ($P < 0,05$) AMMs nos animais estocados em 20 e 23°C e não houve variação ($P < 0,05$) ao longo do tempo no AMMs para os animais estocados na temperatura de 29°C (Figura A.14).

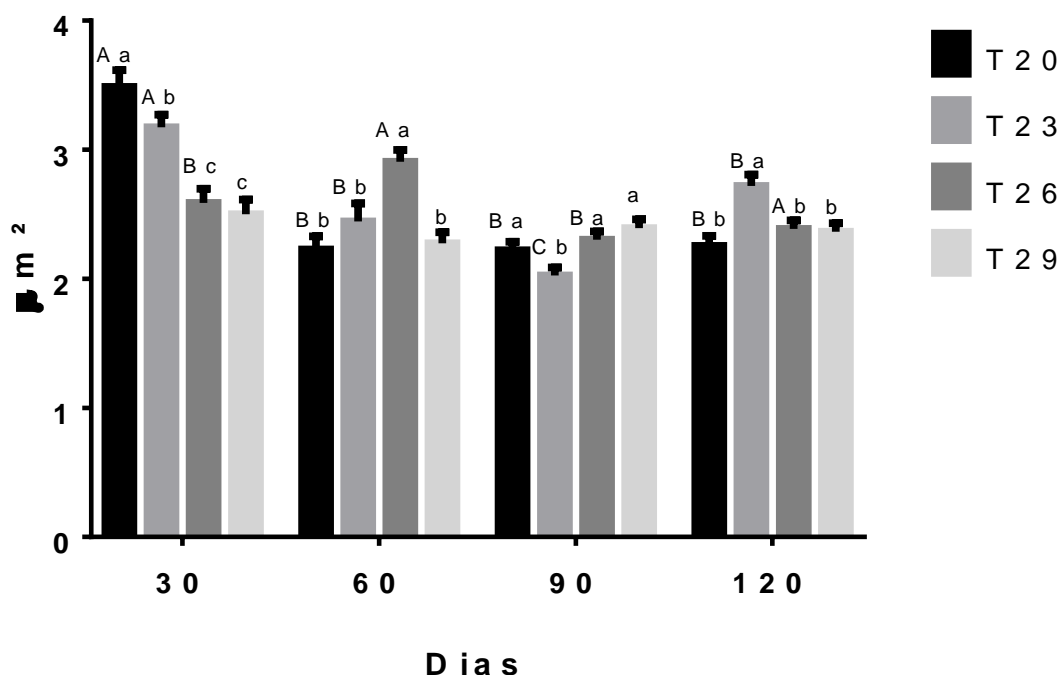


Figura A.14. Tamanho da área de melanomacrófaos das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperaturas ao longo do tempo.

Tamanho da área de deposição lipídica hepática (DPH)

O tamanho do tamanho da área ocupada pela gordura no fígado dos animais (Figura A.15) diferiu em relação ao tempo de amostragem ($P < 0,001$), ao tratamento ($P < 0,001$) e na interação do tempo e tratamento ($P < 0,001$).

O maior tamanho ($P < 0,05$) de DPH (superior a $400 \mu\text{m}^2$) foi encontrado nos animais estocados em 20°C no período inicial experimental, de 30 dias, contrastando com o período de 120 dias que o perímetro médio do DPH recuou para aproximadamente $50 \mu\text{m}^2$, mais baixo ($P < 0,05$) comparado com os animais submetidos na temperatura de 29°C . Quanto ao período experimental, os primeiros 30 dias, também foi o mais crítico, pois os valores de DPH, independeram da temperatura que os animais estavam estocados, já que foram os mais elevados ($P < 0,05$) frente aos outros períodos de análise (Figura A.15).

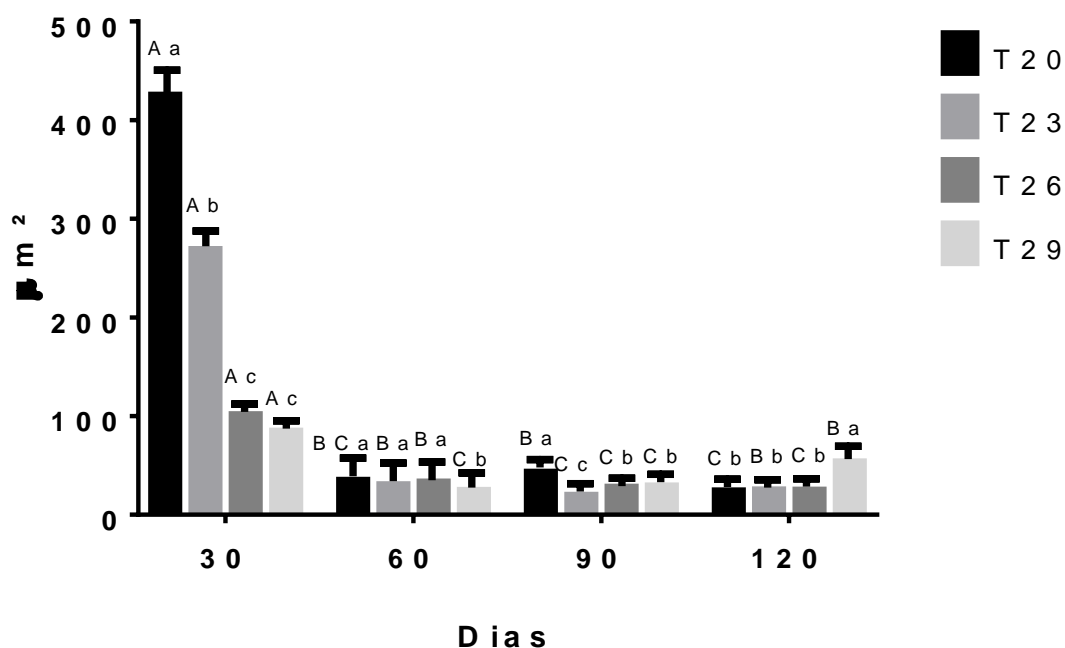


Figura A.15. Tamanho da área de deposição lipídica hepática das piracanjubas, submetidas em quatro temperaturas diferentes (20, 23, 26 e 29°C) avaliadas ao longo de 120 dias. Letras minúsculas indicam a comparação das temperaturas na mesma coleta, e letras maiúsculas em cada temperatura ao longo do tempo.

Discussão

No presente estudo foi possível observar que os peixes mantidos em temperaturas mais altas apresentaram um melhor ganho em peso e conversão alimentar aparente, porém no último período experimental não foram observadas diferenças significativas entre todos os tratamentos para a taxa de crescimento específica. Santos et al. (2017), observaram que pacus (*Piaractus mesopotamicus*) mantidos em temperaturas entre 28 e 32°C, apresentaram melhores resultados para o ganho em peso e conversão alimentar aparente em comparação a menor temperatura de 24°C, similar ao resultado encontrado no presente estudo. Esse efeito pode ser explicado pelo aumento do consumo de ração e metabolismo devido ao aumento da temperatura, em conjunto com a fase de vida do animal. Este conceito é reforçado no experimento e conclusão de Sun & Chen (2014) que trabalharam com *Rachycentron canadum* em diferentes classes de peso em diferentes temperaturas. Os autores observaram que os animais com 10 gramas expostos a temperaturas entre 27-33°C, apresentaram melhores resultados de desempenho, aumento do consumo de ração e metabolismo energético. Cabe ressaltar, porém que no período de 120 dias o fator de condição e a taxa de crescimento específico não diferiram em nenhuma temperatura.

Já para o índice hepatossomático, foi possível verificar variação ao longo do tempo em todos os tratamentos. Foi observado uma redução deste índice em todas as temperaturas ao longo do tempo, porém não foi observada diferença significativa para

esta variável na temperatura de 29°C entre os períodos de 30 e 120 dias. Este fato pode estar relacionado também com o ganho devido ao aumento do metabolismo dos peixes do presente estudo.

A concentração de proteína no fígado proporcionou um melhor entendimento dos efeitos da temperatura sobre o metabolismo dos juvenis. Segundo García-Carreño et al. (2002), a piracanjuba apresenta atividade enzimática máxima a 60°C das proteases intestinais e 50°C das proteinases gástricas, característica de espécies de clima tropical e temperado. Devido a esta característica os peixes submetidos às temperaturas mais altas, poderiam ter aproveitado melhor a proteína da dieta depositando este nutriente no filé, resultando em maior ganho de peso e crescimento, em comparação aos peixes submetidos à temperatura mais baixa.

O lactato apresentou grande variação ao longo do período experimental. Em contraste com a glicose hepática, que apresentou grandes variações ao longo do período experimental, onde foi observado um grande aumento da concentração de glicose no período de 120 dias nas temperaturas de 23, 26 e 29°C. Isso pode ter ocorrido devido o lactato no fim de seu ciclo (Cori) resultar como produto final a glicose (SILVEIRA et al. 2009), e por conta do aumento do metabolismo dos peixes, consequentemente ocorreu aumento do metabolismo do lactato e geração de glicose, aumentando a sua concentração. Os níveis que eram elevados de lactato no início do experimento foram reduzindo gradativamente ao longo do tempo, em todos os tratamentos. Porém, o fato dos animais que estavam estocados nas temperaturas de 20° e 29°C possuírem os maiores níveis de lactato presente no fígado no período de 120 dias experimentais, pode ser resultado do efeito da temperatura sobre o metabolismo energético anaeróbico dos peixes. Um cenário semelhante foi observado por Lermen et al. (2004) no jundiá (*Rhamdia quelen*) testados em diferentes temperaturas, em que houve diminuição do lactato muscular, resultado do efeito do catabolismo aeróbico da glicose nos peixes expostos a temperatura de 31°C. Possivelmente de acordo com Wen et al. (2017) ocorreu uma mobilização desta via para compensar a demanda energética. Estes autores analisando a atividade da enzima lactato desidrogenase em *Symphysodon aequifasciatus*, expostos em baixas temperaturas, observaram redução da atividade desta enzima no início do experimento, todavia ao longo do período experimental de 28 dias, houve aumento da sua atividade. Em nosso estudo com a piracanjuba foi utilizado um período experimental de 120 dias, diferente do estudo citado, e foi observado que a partir da temperatura de 23°C, houve uma redução gradativa do lactato no fígado dos juvenis submetidos às temperaturas de 23, 26 e 29°C ao longo de todo o período experimental, apenas para os juvenis expostos à temperatura de 20°C foi observado redução do lactato a partir do período de 90 dias. Este fenômeno é resultado de uma adaptação e regulação desta via metabólica anaeróbia. Cabe ressaltar que nas temperaturas de 20 e 29°C foi observado um aumento na concentração de lactato no fígado dos juvenis, demonstrando uma mobilização desta via.

Em nosso estudo também foi possível observar, a partir dos resultados obtidos pelas concentrações de amônia e aminoácidos livres, no fígado dos juvenis em

diferentes temperaturas, a influência da temperatura sobre o metabolismo da amônia e dos aminoácidos nos peixes. Segundo Geda et al. (2017) a temperatura pode influenciar no metabolismo dos aminoácidos em peixes. Estes autores estudaram o efeito em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e carpa (*Cyprinus carpio*), expostos a uma temperatura ideal de 25°C e a temperatura elevada de 30°C, e observaram diferenças entre os níveis de aminoácidos no músculo entre cada uma das espécies, a carpa apresentou um maior nível de histidina e a tilápia a taurina. No entanto, para o colesterol foi observado efeito contrário, a menor temperatura apresentou maior concentração de colesterol no fígado em comparação com a temperatura mais alta no período de 120 dias, e não diferiu entre as demais. Borda et al. (2003) avaliaram a relação da proteína:lipídio em dietas para alevinos de piracanjuba, e observaram que os níveis de 30 e 32% de proteína bruta da dieta independente dos níveis de lipídio, apresentaram maior acúmulo de lipídios nos peixes sem poupar a proteína. Possivelmente devido ao aumento do metabolismo dos peixes e o elevado nível de proteína da dieta, houve um aumento da concentração de colesterol no fígado dos juvenis.

O TBARS é uma técnica utilizada para avaliar os danos de estresse oxidativo, que consiste na reação do ácido tiobarbitúrico com o malondialdeído, substância resultante da peroxidação lipídica, que reage com o ácido e oferece a fluorescência para a análise (MONSERRAT et al., 2017). No presente estudo foi observada ocorrência da redução dos níveis de TBARS nos juvenis tratados nas temperaturas de 20 e 29°C em comparação aos demais no período de 60 dias, porém no período de 120 dias apenas os juvenis mantidos na temperatura de 29°C apresentaram menores níveis de TBARS no fígado, sugerindo então que, quanto mais baixa for a temperatura, maior será a peroxidação lipídica para esta espécie. Cabe ressaltar de acordo com Monserrat et al. (2017) o ácido tiobarbitúrico pode reagir com outros metabólitos, ou seja, isoladamente não pode ser definitivo, sendo necessário outras análises complementares para confirmar o seu resultado. Deste modo, glicose, colesterol, proteínas totais e o lactato são metabólitos utilizados para avaliar o estresse em peixes, incluindo por temperatura, e podem ser utilizados para complementar a análise de TBARS. Todavia, os resultados obtidos através destas análises e as suas correlações, não caracterizam uma reação de estresse, mesmo apresentando efeito da temperatura sobre o metabolismo dos juvenis. Bao et al. (2018) avaliaram os efeitos do estresse em alta temperatura (35°C) em tilápias do Nilo, e observaram aumento dos níveis séricos de glicose, colesterol total e proteínas totais e justificaram estes eventos como uma adaptação dos peixes ao estresse, entretanto não foi observado este efeito no presente trabalho.

No presente estudo foi possível observar que as variáveis de melanomacrófagos possuíam uma grande variação ao longo do experimento. Por outro lado, para a deposição lipídica hepática, ocorreu uma redução gradativa ao longo do experimento para todos os tratamentos, no entanto, as temperaturas de 20° e 29°C apresentaram maior área de gordura no fígado em comparação aos demais tratamentos. Os melanomacrófagos são células que atuam na neutralização dos radicais livres

produzidos pela fagocitose de lipídios poliinsaturados (AGIUS & ROBERTS, 2003). Em um recente estudo desenvolvido por KLIEMANN et al. (2018), os autores afirmam que as alterações ocorrem pelo acúmulo de glicogênio e lipídios no fígado dos peixes, possivelmente devido a dieta desbalanceada.

Qualhato et al. (2018) trabalhando com *Poecilia reticulata* expostas a nanopartículas de óxido de ferro (IONPs) apresentaram níveis elevados de centros de melanomacrófagos (MMC) no fígado dos peixes. Já Kliemann et al. (2018) observaram lesões e alterações histopatológicas, incluindo MMCs no fígado de *Oreochromis niloticus* e *Geophagus cf. proximus* próximos a região de produção de peixes em tanques-rede. Por outro lado, Boucher et. al (2014) estudaram os efeitos de diferentes temperaturas, de 13,5° e 17,5°C, em conjunto à diferentes substratos na larvicultura de *Acipenser transmontanus*, e não observaram relação com a temperatura sobre a morfologia do fígado das larvas. No presente estudo não foram observados a formação dos MMCs, entretanto, foram observados variações no tamanho (área e diâmetro) destas células, nas diferentes temperaturas e ao longo do período experimental. Ao analisar este resultado podemos constatar que os juvenis de piracanjubas sofreram alterações no seu metabolismo lipídico, proporcionando um maior acúmulo de lipídeo hepático nos peixes. Todavia, não foi observada a formação de centros de melanomacrófagos, que são considerados alterações histopatológicas severas.

Conclusão

Com os resultados obtidos no presente estudo, podemos concluir que juvenis de piracanjuba apresentam uma boa adaptação térmica entre 20 e 29°C, apresentando seu melhor desempenho zootécnico na temperatura de 29°C, proporcionando aos juvenis um melhor ajuste metabólico da demanda e aproveitamento dos nutrientes da dieta.

Referências

AKAMA, A.; NETTO-FERREIRA, A. L.; ZANATA, A. M.; CALEGARI, B. B.; FIGUEIREDO, C. A. A.; ALVES, C. B. M.; CRAMER, C. A.; ZAWADZKI, C. H.; RÖPKE, C. P.; MOREIRA C. R.; GUBIANI, E. A.; DARIO, F. D.; VIEIRA, F.; MARTINS, F. O.; BECKER, F. G.; CARVALHO, F. R.; MELO, F. A. G.; LIMA, F. C. T.; LANGEANI, F.; VARELLA, H. R.; FICHBERG, I.; SENHORINI, J. A.; SOUZA, L. M.; SILVA, L. V. V.; PY-DANIEL, L. H. R.; SARMENTO-SOARES, L. M.; TENCATT, L. F. D. S.; BRITTO, M. R.; LOEB, M. V.; OYAKAWA, O. T.; ALBORNOZ, P. C. L.; CARVALHO, P. H.; OTA, R. P.; OTA, R. R.; BRITZKE, R.; REIS, R. E.; PINHEIRO, R. F. M.; SOUZA-LIMA, R.; DEBONA, T.; CARVALHO, T. P.; ABILHOA, V.; FRANA, V. A.; GOMES, V. N.; GRAÇA, W. J.; OHARA, W. M.; WOSIACKI, W. B. 2018. *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1850). In: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (Org.). Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume VI – Peixes. Brasília: ICMBio. p. 91-94.

AGIUS, C.; ROBERTS, R. J., 2003. Melano-macrophage centers and their role in fish pathology. **Journal of Fish Diseases**, v. 26, p. 499-509.

- AGOSTINHO, A. A.; THOMAZ, S. M.; GOMES, L. C., 2005. Conservation of the biodiversity of Brasil's inland Waters. **Conservation Biology**, v. 19, p. 646-652.
- BALDISSEROTTO, B., 2009. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 2º edição, Editora UFSM.
- BAO, J. W.; QIANG, J.; TAO, Y. A.; LI, H. X.; HE, J.; XU, P.; CHEN, D. J., 2018. Responses of blood biochemistry, fatty acid composition and expression of microRNAs to heat stress in genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Thermal Biology**, v. 73, p. 91-97.
- BORBA, M. R.; FRACALOSSO, D. M.; PEZZATO, L. E.; MENOYO, D.; BAUTISTA, J. M., 2003. Growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. **Aquatic Living Resources**, v. 16, p. 362-369.
- BOUCHER, M. A.; MCADAM, S. O.; SHRIMPTON, J. M., 2014. The effect of temperature and substrate on the growth, development and survival of larval white sturgeon. **Aquaculture**, v. 430, p. 139-148.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D., 1978. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol**, v.52, p. 302-309.
- CHENG, C. H.; GUO, Z. X.; WANG, A. L., 2018. The protective effects of taurine on oxidative stress, cytoplasmic free-Ca²⁺ and apoptosis of pufferfish (*Takifugu obscurus*) under low temperature stress. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 77, p. 457-464.
- GARCÍA-CARREÑO, F. L.; ALBURQUERQUE-CAVALCANTI, C.; TORO, M. A. N.; ZANIBONI, E., 2002. Digestive proteinases of *Brycon orbignyanus* (Characidae, Teleostei): characteristics and effects of protein quality. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v. 132, p. 343-352.
- GEDA, F.; DECLERCQ, A. M.; REMO, S. C.; WAAGBO, R.; LOURENÇO, M.; JANSSENS, G. P. J., 2017. The metabolic response in fish to mildly elevated water temperature relates to species-dependent muscular concentration of imidazole compounds and free amino acids. **Journal of Thermal Biology**, v. 65, p. 1-7.
- KLIEMANN, B. C. K.; DELARIVA, R. L.; AMORIM, J. P. A.; RIBEIRO, C. S.; SILVA, B.; SILVEIRA, R. V.; RAMOS, I. P., 2018. Dietary changes and histophysiological responses of a wild fish (*Geophagus cf. proximus*) under the influence of tilapia cage farm. **Fisheries Research**, v. 204, p. 337-347.
- LERMEN, C. L.; LAPPE, R.; CRESTANI, M.; VIEIRA, V. P.; GIODA, C. R.; SCHETINGER, M. R. C.; BALDISSEROTTO, B.; MORAES, G.; MORSCH, V. M., 2004. Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v. 239, p. 497-507.

LOPERA-BARRERO, N. M.; ALVAREZ, C. A. R.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M. P.; POVH, J. A.; VARGAS, L.; STREIT, D. P.; SIROL, R. N.; RIBEIRO, R. P., 2014. Genetic diversity and paternity of *Brycon orbignyanus* offspring obtained for different reproductive systems. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, p. 541-554.

LUNA, L. G., 1960. Histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3. ed. New York, Mc-Graw Hill.

MADEIRA, D.; NARCISO, L.; CABRAL, H. N.; VINAGRE, C.; DINIZ, M. S. 2013. Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 166, p. 237-243.

MONSERRAT, J. M.; SEIXAS, A. L. R.; FERREIRA-CRAVO, M.; BÜRGUER-MENDONÇA, M.; GARCIA, S. C.; KAUFMANN, C. G.; VENTURA-LIMA, J., 2017. Interference of single walled carbon nanotubes (SWCNT) in the measurement of lipid peroxidation in aquatic organisms through TBARS assay. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 140, p. 103-108, 2017.

QUALHATO, G.; SABÓIA-MORAIS, S. M. T.; SILVA, L. D.; ROCHA, T. L., 2018. Melanomacrophage response and hepatic histopathologic biomarkers in the guppy *Poecilia reticulata* exposed to iron oxide (maghemite) nanoparticles. **Aquatic Toxicology**.

SANTO, V. D.; JORDAN, H. L.; COOPER, B.; CURRIE, R. J.; BEITINGER, T. L.; BENNETT, W. A., 2018. Thermal tolerance of the invasive red-bellied pacu and the risk of establishment in the United States. **Journal of Thermal Biology**, v. 74, p. 110-115.

SANTOS, V. B.; OLIVEIRA, M. W. M.; SALOMÃO, R. A. S.; SANTOS, R. S.; PAULA, T. G.; SILVA, M. D. P.; MARECO, E. A., 2017. Influence of temperature and exercise on growth performance, muscle, and adipose tissue in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Journal of Thermal Biology**, v. 69, p. 221-227.

SILVEIRA, U. S.; LOGATO, P. V. R.; PONTES, E. C., 2009. Utilização e metabolismo dos carboidratos em peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, n. 1, p. 817-836.

SPIES, J. R., 1957. Colorimetric procedures for amino acids. **Methods in Enzymology**, v. 3, p. 467-477.

SUN, L.; CHEN, H., 2014. Effects of water temperature and fish size on growth and bioenergetics of cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 426-427, p. 172-180.

VERDOUW, H.; VAN ECHELD, C. J. A.; DEKKERS, E. M. J., 1978. Ammonia determination based on indophenol formation with sodium salicylate. **Water Research**, v. 12, n. 6, p. 399-402.

WEN, B.; JIN, S. R.; CHEN, Z. Z.; GAO, J. Z.; WANG, L.; LIU, Y.; LIU, H. P., 2017. Plasticity of energy reserves and metabolic performance of discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*) exposed to low-temperature stress. **Aquaculture**, v. 481, p. 169-176.

ZANIBONI-FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D.; WEINGARTNER, M., 2006. Potencialidad del género *Brycon* en la piscicultura brasileña. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 19, n. 2, p. 233-240.

CAPÍTULO III

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo traz as primeiras informações sobre os efeitos da temperatura sobre o desempenho zootécnico e perfil metabólico da piracanjuba. E com estes dados, é esperado melhorar as condições de cultivo desta espécie, tanto para fins de conservação como também podendo ser utilizada futuramente para melhorar as técnicas de cultivo com objetivo comercial.

Este estudo também pode servir como base para futuros estudos sobre os efeitos da temperatura para a piracanjuba e também para outras espécies do gênero *Brycon*.

REFERÊNCIAS

- AKAMA, A. *et al.* *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1850). In: LIVRO vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção: volume VI – peixes. Brasília: ICMBio, 2018. p. 91-94.
- AGOSTINHO, A. A.; THOMAZ, S. M.; GOMES, L. C. Conservation of the biodiversity of Brasil's inland waters. **Conservation Biology**, Boston, v. 19, n.3, p. 646-652, 2005.
- AGIUS, C.; ROBERTS, R. J. Melano-macrophage centers and their role in fish pathology. **Journal of Fish Diseases**, Oxford, v. 26, n. 9, p. 499-509, 2003.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 2. ed. Santa Maria: UFSM, 2009.
- BESSION, M. *et al.* Influence of water temperature on the economic value of growth rate in the Mediterranean. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 462, p. 47-55, 2016.
- BORBA, M. R. *et al.* Growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. **Aquatic Living Resources**, Les Ulis, v. 16, n. 4, p. 362-369, 2003.
- BOUCHER, M. A; MCADAM, S. O.; SHRIMPTON, J. M. The effect of temperature and substrate on the growth, development and survival of larval white sturgeon. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 430, p. 139-148, 2014.
- CECCARELLI, P. S.; SENHORINI, J. A.; RÊGO, R. F. Piracanjuba, *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, 2005. p. 225-246.
- CHENG, C. H. *et al.* High temperature induces apoptosis and oxidative stress in pufferfish (*Takifugu obscurus*) blood cells. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 53, p. 172-179, 2015.
- CHIACCHIO, I. M. D. *et al.* Sperm quality and its freezing ability throughout the spawning season in *Prochilodus lineatus* and *Brycon orbignyanus*. **Theriogenology**, New York, v. 90, p. 284-288, 2017.
- FRANCISCO, C. J. **Fauna parasitária e alterações teciduais em peixes oriundos de piscicultura com mono ou policultivo do médio Vale do Itajaí, SC**. 2006. 58 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.
- FREATO, T. A. **Morfometria, rendimento no processamento e inter-relações na avaliação de carcaça de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* (VALENCIENNES, 1849)**. 2005. 102 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) –

Programa de Pós-Graduação Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2005.

GARCIA, J. E. *et al.* Utilização da fibra bruta na nutrição da piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 21, n. 3, p. 725-731, 1999.

GARCÍA-CARREÑO, F. L. *et al.* Digestive proteinases of *Brycon orbignyanus* (Characidae, Teleostei): characteristics and effects of protein quality. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part B**, Oxford, v. 132, n. 2, p. 343-352, 2002.

GANEKO, L. N. *et al.* Análise morfológica do desenvolvimento ovocitário de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, durante o ciclo reprodutivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 131-138, 2001.

HANDELAND, S. O.; IMSLAND, A. K.; STEFANSSON, S. O. The effect of temperature and fish size on growth, feed intake, food conversion efficiency and stomach rate of Atlantic salmon post-smolts. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 283, p. 36-42, 2008.

HE, J. *et al.* Changes in the fatty acid composition and regulation of antioxidant enzymes and physiology of juvenile genetically improved farmed tilapia *Oreochromis niloticus* (L.), subjected to short-term low temperature stress. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 53, p. 90-97, 2015.

HENARES, M. N. P. *et al.* Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do diquate na brânquia e no fígado do piauçu (*Leporinus macrocephalus*). **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 17, p. 107-116, 2007.

IMSLAND, A. K. *et al.* The interaction of temperature and fish size on growth of juvenile turbot. **Journal of Fish Biology**, London, v. 49, n. 5, p. 926-940, 1996.

KLIEMANN, B. C. K. *et al.* Dietary changes and histophysiological responses of a wild fish (*Geophagus cf. proximus*) under the influence of tilapia cage farm. **Fisheries Research**, Amsterdam, v. 204, p. 337-347, 2018.

LERMEN, C. L. *et al.* Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 239, p. 497-507, 2004.

LEE, J. S. F. *et al.* Investigation of long-term effects of larval rearing temperature on growth, deformities, flesh quality, and phenotypic sex of culture sablefish (*Anoplopoma fimbria*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 479, p. 91-99, 2017.

LOPERA-BARRERO, N. M. Conservation of *Brycon orbignyanus* natural populations and stocks for their reproductive, genetic, environmental sustainability: a model for threatened species of extinction. **Ciencia e Investigación Agraria**, Santiago, v. 36, n. 2, p. 191-208, 2009.

LOPERA-BARRERO, N. M. *et al.* Genetic diversity and paternity of *Brycon orbignyanus* offspring obtained for different reproductive systems. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 541-554, 2014.

LOPERA-BARRERO, N. M. *et al.* Caracterização genética de *Brycon orbignyianus* utilizando o sistema seminatural. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 1, p. 184-191, 2010.

LOPES, P. R. S. *et al.* Crescimento e alterações no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá alimentados com dietas com aflatoxinas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 10, p. 1029-1034, 2005.

MARECO, E. A. **Efeitos da temperatura na expressão de genes relacionados ao crescimento muscular em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) linhagem GIFT**. 2012. 66 f. Dissertação (Mestrado – Biologia Geral e Aplicada) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2012.

PAES, M. C. F. *et al.* Hatching, survival and deformities of piracanjuba (*Brycon orbignyianus*) embryos subjected to different cooling protocols. **Cryobiology**, San Diego, v. 69, n. 3, p. 451-456, 2014.

PAULINO, M. S. *et al.* Desempenho reprodutivo do pacu, piracanjuba e curimbá induzidos com extrato de buserelina. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 39-45, 2011.

PAULA, T. G. *et al.* Rearing temperature induces changes in muscle growth and gene expression in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, Oxford, v. 169, p. 31-37, 2014.

PIEDRAS, S. R. N.; MORAES, P. R. R.; POUHEY, J. L. O. F. Crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), de acordo com a temperatura da água. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 177-182, 2004.

RADONIÉ, M. *et al.* Effect of the incubation temperature on the embryonic development and hatching time of eggs of the red porgy *Pagrus pagrus* (Linne, 1758) (Pisces: Sparidae). **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, Vina del Mar, v. 40, n. 2, p. 91-99, 2005.

ROTILI, D. A. **Esteróides sexuais em piracanjuba (*Brycon orbignyianus*)**. 2018. 110 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

SANTAMARIA, F. M.; ANTUNES, S. A. Coloração e rendimento do filé de piracanjuba (*Brycon orbignyianus*, Valenciennes, 1849), (Pisces, Characidae) silvestre e criada em cativeiro. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 25, p. 27-30, 1998/1999.

SANTOS, V. B. *et al.* Influence of temperature and exercise on growth performance, muscle, and adipose tissue in pacus (*Piaractus mesopotamicus*). **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 69, p. 221-227, 2017.

SANTOS, D. M. S. **Qualidade da água e histopatologia de órgãos de peixes provenientes de criatórios do município de Itapecuru Mirim, Maranhão**. 2010. 96 f. Tese (Doutorado – Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências

Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Jaboticabal, 2010.

SUN, L.; CHEN, H.; HUANG, L. Effect of temperature on growth and energy budget of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, n. 3, p. 872-878, 2006.

TAKATA, R. *et al.* The effects of water temperature on muscle cellularity and gill tissue of larval and juvenile *Lophiosilurus alexandri*, a Neotropical freshwater fish. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 76, p. 80-88, 2018.

WEN, B. *et al.* Plasticity of energy reserves and metabolic performance of discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*) exposed to low-temperature stress. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 481, p. 169-176, 2017.

ZANIBONI FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D.; WEINGARTNER, M. Potencialidad del género *Brycon* en la piscicultura brasileña. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, Medellín, v. 19, n. 2, p. 233-240, 2006.

ZARDO, E. L. **Diferenciação sexual, estrutura populacional e ciclo reprodutivo de piracanjubas (*Brycon orbignyanus*) sob condições de cultivo**. 2018. 118 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

ZHANG, J. *et al.* Tributyltin promoted hepatic steatosis in zebrafish (*Danio rerio*) and the molecular pathogenesis involved. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 170, p. 208-215, 2016.

ANEXO – Journal of Thermal Biology instruções para autores

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Vitae

Submit a short (maximum 100 words) biography of each author, along with a passport-type photograph accompanying the other figures. Please provide the biography in an editable format (e.g. Word), not in PDF format.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials.

Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

Authors can make use of Elsevier's [Illustration Services](#) to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view [example Highlights](#) on our information site.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Electronic artwork*General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.

- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format. Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF) or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) in addition to color reproduction in print. [Further information on the preparation of electronic artwork](#).

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end.

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software](#).

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/journal-of-thermal-biology>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references can be listed either first alphabetically, then chronologically, or vice versa.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999)... Or, as demonstrated (Jones, 1999; Allan, 2000)... Kramer et al. (2010) have recently shown ...'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

<https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2018. The art of writing a scientific article. *Heliyon.* 19, e00205.

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Reference to a website:

Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK.

<http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. Mendeley Data, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. . In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for *Data in Brief* as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, *Data in Brief*. Please note an open access fee of 500 USD is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the [Data in Brief website](#). Please use [this template](#) to write your Data in Brief.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

VITA

Bruno da Silva Pires, nacido em 17 de março de 1997, no município de Uruguaiana, Rio Grande do Sul, filho de Madi dos Santos Pires e Santa Lurdes da Silva Pires.

Cursou o ensino médio no Instituto Estadual de Educação Elisa Ferrari Valls, no município de Uruguaiana. Em maio de 2014, ingressou no Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, na Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), vindo a colar grau em fevereiro de 2017, e em março deste mesmo ano ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no nível de Mestrado, sendo orientado pelo professor Dr. Danilo Pedro Streit Jr..