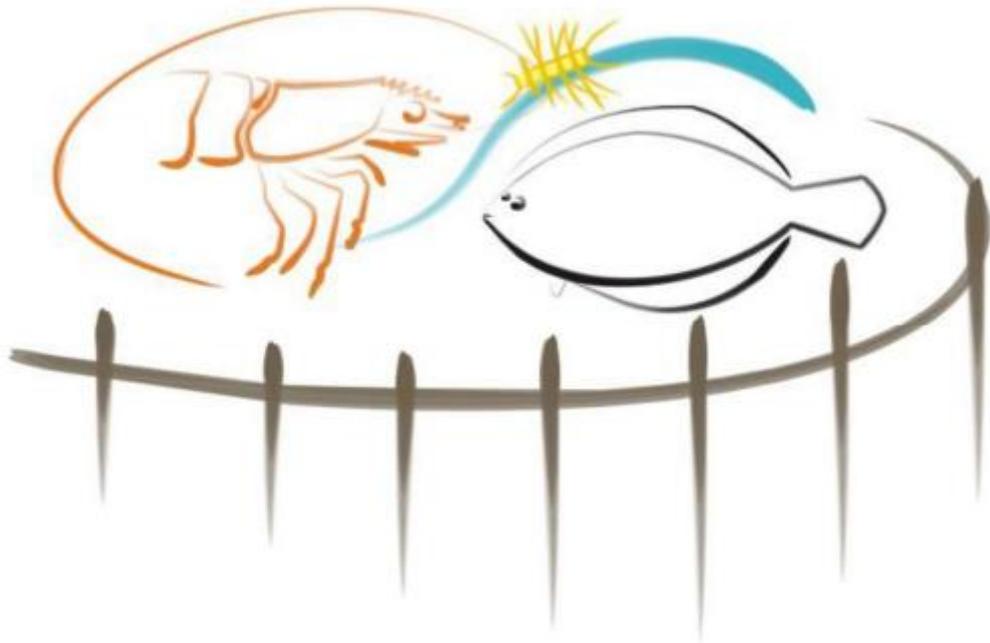


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**EFEITO DA REOXIGENAÇÃO E DIFERENTES TEMPERATURAS EM
JUVENIS DE PACU *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG 1887)**

Luana Gabrieli Lamberti

RIO GRANDE, RS

2022

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

**EFEITO DA REOXIGENAÇÃO E DIFERENTES TEMPERATURAS EM
JUVENIS DE PACU *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG 1887)**

LUANA GABRIELI LAMBERTI

ORIENTADOR: PROF. DR. LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA

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

RIO GRANDE, RS
JULHO DE 2022

Ficha Catalográfica

L223e Lambert, Luana Gabrieli.
Efeito da reoxigenação e diferentes temperaturas em juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG 1887) / Luana Gabrieli Lambert. – 2022.
50 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Rio Grande/RS, 2022.
Orientador: Dr. Luciano de Oliveira Garcia.

1. Hipóxia 2. Parâmetros sanguíneos 3. Peroxidação lipídica 4. ACAP I. Garcia, Luciano de Oliveira II. Título.

CDU 639.3

Catálogo na Fonte: Bibliotecária Valéria Carosso dos Santos Mazui CRB 10/2704

ATA 04/2022

DE DEFESA DA 213ª DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AQUICULTURA

No dia vinte e dois de julho de dois mil e vinte e dois, às nove horas, reuniu-se a Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado em Aquicultura, da **LUANA GABRIELI LAMBERTI**, orientada pelo Prof. Dr. Luciano de Oliveira Garcia composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. Luciano de Oliveira Garcia (orientador – IO/FURG), Prof. Dr. Ricardo Vieira Rodrigues (IO/FURG) e o Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti (UFBA). Título da dissertação: “EFEITO DA REOXIGENAÇÃO EM DIFERENTES TEMPERATURAS EM JUVENIS DE PACU *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG 1887).” Dando início à defesa, o Coordenador Adjunto do PPGAq Prof. Dr. Ricardo Vieira Rodrigues, passou a presidência da sessão ao Prof. Dr. Luciano de Oliveira Garcia, que na qualidade de orientador, passou a palavra para a candidata apresentar a Dissertação. Após ampla discussão entre os membros da Banca e a candidata, a Banca se reuniu sob a presidência do Coordenador em Exercício. Durante esse encontro ficou estabelecido que as sugestões dos membros da Banca Examinadora devem ser incorporadas na versão final da dissertação, ficando a cargo do Orientador o cumprimento desta decisão. A candidata **LUANA GABRIELI LAMBERTI** foi considerada **APROVADA**, devendo a versão definitiva da Dissertação ser entregue a Secretaria do PPGAq, no prazo estabelecido nas Normas Complementares do Programa. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, será assinada pela Banca Examinadora, pela candidata e pelo Coordenador do PPGAq.

Documento assinado digitalmente
LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA
Data: 04/08/2022 16:40:00-0300
Verifique em <https://verificador.br.br>

PROF. DR. LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA (ORIENTADOR – IO/FURG)

Documento assinado digitalmente
RICARDO VIEIRA RODRIGUES
Data: 04/08/2022 16:40:00-0300
Verifique em <https://verificador.br.br>

PROF. DR. RICARDO VIEIRA RODRIGUES (IO/FURG)

Documento assinado digitalmente
CARLOS EDUARDO COPATTI
Data: 04/08/2022 16:40:00-0300
Verifique em <https://verificador.br.br>

PROF. DR. CARLOS EDUARDO COPATTI (UFBA)

Documento assinado digitalmente
LUANA GABRIELI LAMBERTI
Data: 04/08/2022 16:40:00-0300
Verifique em <https://verificador.br.br>

LUANA GABRIELI LAMBERTI

Documento assinado digitalmente
RICARDO VIEIRA RODRIGUES
Data: 04/08/2022 16:40:00-0300
Verifique em <https://verificador.br.br>

PROF. DR. RICARDO VIEIRA RODRIGUES (Coordenador Adjunto do PPGAq)

1 Sumário

<u>Agradecimentos</u>	iii
<u>Resumo Geral</u>	iv
<u>Abstract General</u>	v
<u>2 Introdução Geral</u>	1
<u>3 Objetivos</u>	7
<u>3.1 Objetivo Geral</u>	7
<u>3.2 Objetivos Específicos</u>	7
<u>4 Referências Bibliográficas</u>	8
<u>Capítulo I</u>	15
<u>5 Conclusões</u>	32
<u>6 Referências Bibliográficas</u>	33

“Nós somos feitos da matéria de que são feitos os sonhos”.

- William Shakespeare.

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a todos os professores dos quais já fui aluna, em especial a minha orientadora da graduação, Dra. Alessandra Sayuri Kikuchi Tamajusuku Neis, por despertar o meu amor pela ciência; e ao meu orientador, Dr. Luciano Garcia, por todos os conhecimentos repassados nesta fase tão importante da minha vida que foi o mestrado.

Ao meu namorado, Jorge, por ser meu companheiro de jornada, meu melhor amigo e maior incentivador. Sem ti, talvez eu não estivesse escrevendo estas palavras neste documento agora. Só nós sabemos como foi difícil chegar até aqui, sair da zona de conforto, deixar família e amigos e mudar para uma cidade desconhecida, sozinhos, em meio à uma pandemia global. Mas superamos todos os percalços do caminho, sempre juntos. Quando eu achei que cairia, tu estavas lá para me amparar e me lembrar do motivo de estarmos aqui. Tu és meu porto seguro! Ao teu lado eu cresci e amadureci, passei de uma menina sonhadora a uma mulher que realiza seus sonhos, sempre com teu apoio incondicional. Somos nós dois contra o mundo, te amo!

A família do meu namorado, que considero minha também, que me acolheu quando eu mais precisei. Nunca esquecerei de tudo o que fizeram por mim quando mal nos conhecíamos. Sogrinhos, Vânia e Jorge, obrigada pelo carinho, cuidado e apoio, por me acolherem no seio familiar de vocês como se fosse uma filha e não apenas uma nora. Vocês são as melhores pessoas que eu conheço! Eu os amo com todo meu coração e espero que algum dia eu possa retribuir tudo que fizeram por mim.

A minha irmã, Isabella, por ser a minha força para superar todos os desafios que a vida me impôs. Desde que você nasceu, eu procuro ser uma pessoa melhor todos os dias, para que possa servir de exemplo para ti. Todas as minhas conquistas e realizações são para abrir caminho para ti futuramente. A maninha te ama profundamente, princesa!

Aos colegas do LAC, em especial a Liliane, Lilian e Lucas, que me ajudaram imensamente durante todo o mestrado; a Thalline e, mais recentemente, Nathália e Andressa. Obrigada por tudo pessoal, vocês são os melhores parceiros de laboratório que eu poderia ter. Aos funcionários do LAC, Dina, Rodrigo (Xandão) e os vigilantes, Eduardo e Aldemar.

A FURG pela oportunidade de realizar um mestrado de excelência. Ao programa de Pós-Graduação e a todo corpo docente. A CAPES, CNPq e FAPERGs pelo apoio financeiro.

Resumo

O objetivo do presente estudo foi verificar os efeitos a longo prazo da interação entre diferentes temperaturas e taxas de reoxigenação sobre os parâmetros sanguíneos, de crescimento e de estresse oxidativo de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Para o desenvolvimento deste estudo foram utilizados 216 animais, mantidos durante 45 dias em duas temperaturas ($24,11 \pm 0,10$ e $27,08 \pm 0,05^\circ\text{C}$) e submetidos a dois períodos de hipóxia severa, no 15º dia ($0,83 \pm 0,07 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) e 30º dia ($0,84 \pm 0,01 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$), de 8 h cada, com diferentes taxas de reoxigenações: abrupta (retorno aos níveis de normóxia em até 20 minutos) e gradual ($1,0 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ a cada hora, durante 5 horas). Foi estabelecido um tratamento controle para cada temperatura, mantidos em normóxia ($\geq 7,0 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) durante todo período experimental, totalizando 6 tratamentos (em triplicata). Ao final do experimento, foi realizada biometria ($n=36$ animais por tratamento) para verificar o desempenho de crescimento. Em seguida, foram coletadas amostras de sangue, brânquias, cérebro, fígado e músculo dos animais ($n=9$ animais por tratamento) para análise dos parâmetros hematológicos e de estresse oxidativo. Os resultados demonstraram que o crescimento é otimizado em 27°C e foi acompanhado por maior concentração de glicose sanguínea em relação aos juvenis mantidos em 24°C (independente da taxa de reoxigenação ou normóxia). A reoxigenação abrupta e gradual a 27°C levou à diminuição do número de eritrócitos e hemoglobina, além de maior volume corpuscular médio (VCM), tanto em relação ao tratamento normóxia a 27°C , quanto aos animais submetidos às mesmas taxas de reoxigenações a 24°C . A interação entre 24°C e ambas reoxigenações e 27°C e reoxigenação abrupta induziram o aumento da capacidade antioxidante total contra radicais peróxil (ACAP) no fígado e músculo. Além disso, estes mesmos tratamentos (exceto reoxigenação abrupta em 24°C) apresentaram maiores níveis de peroxidação lipídica (LPO) nos diferentes tecidos analisados. Não houve mortalidade dos juvenis de pacu, indicando que a espécie é tolerante à hipóxia severa e reoxigenação. Em conclusão, a exposição a diferentes temperaturas e taxas de reoxigenação causam alterações na ACAP e peroxidação lipídica em juvenis de pacu. Porém, os animais demonstraram maior capacidade de ajuste fisiológico e bioquímico quando submetidos a reoxigenação gradual em 27°C .

Palavras-chaves: hipóxia, parâmetros sanguíneos, peroxidação lipídica, ACAP.

Abstract

The aim of the present study was to verify the long-term effects of the interaction between different temperatures and reoxygenation rates on blood parameters, growth and oxidative stress in pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*). For the development of this study, 216 animals were used, kept for 45 days, at two temperatures ($24,11 \pm 0,10$ and $27,8 \pm 0,05$ °C) and submitted at two periods of severe hypoxia, on the 15th day ($0,83 \pm 0,07$ mg O₂ L⁻¹) and 30th day ($0,84 \pm 0,01$ mg O₂ L⁻¹), of 8 h each, with different reoxygenation rates: abrupt (return to normoxia levels within 20 minutes) and gradual (1.0 mg O₂ L⁻¹ every hour, for 5 hours). A control treatment was established for each temperature, maintained in normoxia (≥ 7.0 mg O₂ L⁻¹), throughout the experimental period, totaling 6 treatments (in triplicate). At the end of the experiment, biometry was performed (n=36 per treatment) to verify the growth performance. Then, blood, gills, brain, liver and muscle samples were collected from the animals (n=9 per treatment) for analysis of hematological parameters and oxidative stress. The results demonstrate that growth is optimized at 27 °C and was accompanied by higher blood glucose concentration compared to juveniles maintained at 24 °C (regardless of the reoxygenation rate or normoxia). Abrupt and gradual reoxygenation at 27 °C led to a decrease in the number of erythrocytes and hemoglobin, in addition to a higher mean corpuscular volume (MCV), both in relation to the normoxia treatment at 27 °C, and to animals submitted to the same reoxygenation rates at 24 °C. The interaction between 24 °C and abrupt reoxygenation and 27 °C and abrupt reoxygenation induced an increase in total antioxidant capacity against peroxy radicals (ACAP) in liver and muscle. Furthermore, these same treatments (except abrupt reoxygenation at 24 °C) showed higher levels of lipid peroxidation (LPO) in the different tissues analyzed. There was no mortality of pacu juveniles, indicating that the species is tolerant to severe hypoxia and reoxygenation. In conclusion, the exposure at different temperatures and reoxygenation rates caused changes in ACAP and lipid peroxidation in pacu juveniles. However, the animals showed a greater capacity for physiological and biochemical adjustment when submitted to gradual reoxygenation at 27 °C.

Keywords: hypoxia, blood parameters, lipid peroxidation, ACAP.

2 Introdução Geral

O pacu *Piaractus mesopotamicus* (Figura 1), nativo da bacia do Paraná-Paraguai (Godoy, 1975), é uma das espécies de peixes de maior importância na América do Sul (Valladão *et al.*, 2016; Claudiano *et al.*, 2019). Seu sucesso na aquicultura deve-se a características como rusticidade, rápido crescimento, hábito alimentar onívoro, carne de ótima qualidade e boa aceitação do mercado consumidor. Além disso, tolera baixos níveis de oxigênio dissolvido (Nitz *et al.*, 2020a), níveis médios a altos de amônia (Nitz *et al.*, 2019) e pH ácidos e alcalinos (Copatti *et al.*, 2019; Pellegrin *et al.*, 2020). Em virtude disso, apresenta ótima adaptabilidade em sistemas de cultivo intensivos.



Figura 1 – Exemplar de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Fonte: Arquivo pessoal - Luana Lamberti).

Na natureza, preferem águas acima de 22°C, contudo, a espécie também é conhecida por sua capacidade de tolerar grandes variações térmicas (Pinto *et al.*, 2019; Nitz *et al.*, 2020a). Esta característica torna viável seu cultivo no Rio Grande do Sul, já que o estado apresenta grandes variações térmicas sazonais, onde as temperaturas médias da água podem variar entre 9 e 28°C (Garcia *et al.*, 2008).

Para ectotérmicos aquáticos, como os peixes, que regulam sua temperatura corporal de acordo com a temperatura do ambiente, as variações de temperatura afetam diretamente processos fisiológicos e bioquímicos (Yang *et al.*, 2018) como metabolismo, crescimento (Pinto *et al.*, 2020), taxas de fertilização (Qiang *et al.*, 2019), função dos espermatozoides (Dadras *et al.*, 2016), tempo de esvaziamento gástrico (Das *et al.*, 2018),

utilização adequada dos nutrientes (Pinto *et al.*, 2020), atividades de enzimas antioxidantes e níveis de hormônio de estresse (Yang *et al.*, 2018), entre outros.

Além de seu impacto direto sobre os organismos aquáticos, a temperatura também afeta outros parâmetros de qualidade da água, como o oxigênio dissolvido, visto que a solubilidade dos gases é inversamente proporcional a temperatura da água (Ultsch & Nordlie, 2019). Do mesmo modo que a temperatura, o oxigênio dissolvido (OD) influencia o crescimento e desenvolvimento dos peixes (Magnoni *et al.*, 2018; Marcek *et al.*, 2020), pois dele dependem muitos processos fisiológicos e metabólicos vitais para organismos aeróbicos (Buentello *et al.*, 2000; Wexler *et al.*, 2011).

Nos ambientes aquáticos, a concentração de OD depende de fatores como temperatura, salinidade, taxa de fotossíntese e pressão atmosférica - que varia de acordo com a altitude (Ultsch & Nordlie, 2019). Devido a isto, os níveis de OD sofrem variações diárias e/ou sazonais (Riffel *et al.*, 2012). Em ambientes controlados, como em pisciculturas, a concentração de OD pode ser controlada através de renovação de água e aeração mecânica. No entanto, mesmo em ambientes controlados, podem surgir situações com potencial de influenciar na concentração de oxigênio, como a taxa de decomposição de matéria orgânica, o aumento da temperatura e a respiração dos organismos presentes no meio (Ultsch & Nordlie, 2019). Nestas situações pontuais, quando há uma depleção drástica nos níveis de oxigênio, a concentração de OD pode atingir níveis abaixo dos exigidos pela maioria dos animais, condição conhecida como hipóxia.

Tais condições são comuns nos ambientes aquáticos, devido à grande influência dos fatores supracitados, por isso os peixes desenvolveram diversas estratégias adaptativas ao longo de sua evolução (Zhu *et al.*, 2013; Xiao, 2015). Dentre os principais mecanismos estão a respiração aquática de superfície (aquatic surface respiration - ASR), depressão metabólica, aumento no volume ventilatório e frequência cardíaca, bem como da superfície labial (Figura 2), entre outros. Ainda assim, quando a condição de hipóxia é frequente, os peixes podem apresentar déficit na ingestão do alimento, taxa de crescimento e sobrevivência (Magnoni *et al.*, 2018; Marcek *et al.*, 2020), além de aumentarem os níveis de estresse (Bernier *et al.*, 2012; Copatti *et al.*, 2019) dentre outras alterações bioquímicas e fisiológicas (Abdel-Tawwab *et al.*, 2019).



Figura 2 – Prolapso labial inferior em exemplar de pacu exposto a condições hipóxicas (Fonte: Arquivo pessoal - Luana Lamberti).

Originalmente, o estresse foi definido como “uma resposta não específica do corpo frente a qualquer estímulo nocivo”, com o tempo este conceito tem sido confrontado por novas definições de diversos autores (McEwen e Wingfield, 2010; Koolhaas *et al.*, 2011; Johnstone *et al.*, 2012). Porém, apesar das inúmeras tentativas, a definição desta condição permanece ambígua e a palavra é usada em diferentes contextos de maneiras distintas. Ademais, existe uma baixa precisão na definição entre os termos estressor, estresse e resposta ao estresse, já que alguns autores não as distinguem entre si e assim, o termo “estresse”, é frequentemente usado de forma vaga ao referir-se tanto ao fator ambiental que provoca a resposta, quanto a resposta em si (Schulte, 2014).

Por estarem em constante contato com o meio, os peixes são altamente suscetíveis ao estresse, tendo como um dos principais agentes estressores as alterações nos parâmetros de qualidade da água, principalmente temperatura e níveis de oxigênio dissolvido (Sánchez-Vázquez *et al.*, 2019). Os animais, quando expostos a estes estressores, respondem com um conjunto complexo de alterações comportamentais e bioquímicas, como fuga, aumento dos níveis de glicose e lactato, no equilíbrio iônico e ácido-base e na concentração de hemoglobina (Samaras *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2016; Nitz *et al.*, 2020b).

O sangue é um importante biomarcador do estresse fisiológico em peixes, que pode fornecer informações importantes acerca da saúde e bem-estar dos animais (Ahmed *et al.*, 2020). Parâmetros hematológicos como a determinação da contagem de eritrócitos (Eri), hematócrito (Hct), concentração de hemoglobina (Hb) e índices hematimétricos - volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração média de hemoglobina corpuscular (CHCM) - são comumente utilizados em avaliações de rotina, por serem consideradas importantes ferramentas diagnósticas de peixes (Fazio, 2019).

Além das alterações fisiológicas devido ao estresse, as variações ambientais também podem induzir estresse oxidativo nos peixes, que é definido como uma mudança entre o equilíbrio pró-oxidante e antioxidante, favorecendo o primeiro. Durante o estresse oxidativo são produzidos os radicais livres, os ânions superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila ($\bullet OH$) (Lushchak, 2011), denominados de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Birnie-Gauvin *et al.*, 2017).

Normalmente, a concentração de ERO encontra-se em homeostase, ou seja, a quantidade produzida está em equilíbrio com a eliminada (nível estacionário); porém, durante o estresse oxidativo ocorre um aumento na produção, sobrecarregando o sistema de defesa antioxidante (SDA) do organismo, podendo danificar lipídios, proteínas e DNA (Vinagre *et al.*, 2012; Biller & Takahashi, 2018). Nestas situações, caso o potencial do sistema antioxidante seja eficiente e a demanda seja suficiente, a concentração de ERO retornará aos níveis basais rapidamente (Lushchak, 2011).

A resposta do sistema antioxidante pode ser provocada por diversas circunstâncias e é dependente do tecido, da duração da exposição, de fatores ambientais e fisiológicos (Atli *et al.*, 2016; Chowdhury & Saikia, 2020). Assim, temperaturas fora da faixa de conforto podem induzir um quadro pró-oxidante em peixes (Vinagre *et al.*, 2012; Garcia *et al.*, 2015) e provocar diversas alterações na peroxidação lipídica (LPO), na capacidade antioxidante total contra radicais peróxil (ACAP) e na atividade das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutathione redutase (GSH), glutathione peroxidase (GPx) e glutathione-S-Transferase (GST) (Vinagre *et al.*, 2012; Baker *et al.*, 2020).

Em geral, maiores níveis de OD aumentam a produção de ERO devido a maior probabilidade dos elétrons se combinarem com o oxigênio molecular (Birnie-Gauvin *et al.*, 2017). No entanto, alguns estudos demonstraram que o oposto também pode ser

verdadeiro, ou seja, situações onde há pouco ou nenhum (hipóxia/anóxia) oxigênio dissolvido podem provocar alterações no SDA em diferentes espécies de peixes (Yang *et al.*, 2017; Sun *et al.*, 2019). Para Hermes-Lima *et al.* (1998), estas alterações no sistema antioxidante em situações de hipóxia resultam de uma possível resposta adaptativa antecipatória denominada “preparação para o estresse oxidativo”. Esta hipótese preconiza a elevação do potencial antioxidante, a fim de evitar ou minimizar o estresse oxidativo gerado pela reoxigenação, após o período de hipóxia.

Estudos sobre os efeitos da reoxigenação nos parâmetros de estresse oxidativo validam esta hipótese ao observarem aumento nos níveis de danos proteicos no fígado de carpa (*Cyprinus carpio*) após 14 horas de recuperação (Lushchak *et al.*, 2005), e alterações nos índices de estresse oxidativo, como aumento nos níveis de peroxidação lipídica (LPO) no fígado e cérebro de *Pelteobagrus vachelli* após 6,5 horas de reoxigenação, logo após serem submetidos ao mesmo período de tempo à concentração de 0,7 mg O₂ L⁻¹ (Zhang *et al.*, 2016). Wang *et al.* (2021) relataram aumento significativo nos níveis de malondialdeído (MDA – que reflete o grau de dano no organismo), bem como na atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT durante a fase de reoxigenação no cérebro e fígado de *Pelteobagrus fulvidraco*.

Porém, em estudos recentes, autores relatam que a hipóxia é capaz de provocar estresse oxidativo por si só, através da produção excessiva de ERO. Johannsson *et al.* (2018) observaram que os tecidos de *Cyphocharax abramoides* sofreram danos oxidativos durante exposição a hipóxia sem efeitos deletérios adicionais durante a reoxigenação, independente da taxa de reoxigenação avaliada. Estes mesmos autores sugerem três hipóteses para explicar tal efeito: (i) a taxa de reoxigenação não importa, (ii) os animais já estavam aclimatados a episódios de reoxigenação e/ou (iii) a exposição hipóxica ativou as respostas antioxidantes para prevenir ou reduzir maiores danos provocados pela reoxigenação - hipótese que corroboraria o pressuposto de “preparação para o estresse oxidativo” (Hermes-Lima *et al.*, 1998). Já Nitz *et al.* (2020a) observaram que a exposição a hipóxia de moderada a severa afetam os biomarcadores de estresse oxidativo em pacu e que estas alterações foram órgão específicas. Os mesmos autores também verificaram que a interação entre 23°C e hipóxia causam grandes distúrbios nos tióis proteicos (PSH) nas brânquias e fígado, bem como na peroxidação lipídica no músculo.

Portanto, estas evidências vão contra ao proposto por Hermes-Lima *et al.* (1998) e podem significar que as respostas antioxidantes observadas durante a hipóxia, em estudos anteriores, podem estar relacionadas a um cenário pró-oxidante, ao invés de indicar uma resposta adaptativa para a posterior reoxigenação; logo, a possibilidade de que a reoxigenação pode provocar estresse oxidativo precisa ser melhor estudada (Johannsson *et al.*, 2018).

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Analisar os efeitos da interação entre diferentes temperaturas com períodos recorrentes de hipóxia e diferentes velocidades de reoxigenação (abrupta e gradual) em diferentes parâmetros de juvenis de pacu.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar os efeitos da interação entre diferentes temperaturas e velocidades de reoxigenação (abrupta e gradual) no desempenho zootécnico de juvenis de pacu.
- Determinar os efeitos da interação entre diferentes temperaturas e velocidades de reoxigenação (abrupta e gradual) nos parâmetros sanguíneos de juvenis de pacu.
- Analisar os efeitos da interação entre diferentes temperaturas e velocidades de reoxigenação (abrupta e gradual) nos parâmetros de estresse oxidativo em diferentes tecidos de juvenis de pacu.

4 Referências

- Abdel-Tawwab, M., Monier, M.N., Hoseinifar, S.H., Faggio, C., 2019. Fish response to hypoxia stress: growth, physiological, and immunological biomarkers. *Fish Physiol. Biochem.* 45, 997-1013. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00614-9>
- Ahmed, I., Reshi, Q.M., Fazio, F., 2020. The influence of the endogenous and exogenous factors on hematological parameters in different fish species: a review. *Aquac. Int.* 28, 869-899. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00501-3>
- Atli, G., Canli, E.G., Eroglu, A., Canli, M., 2016. Characterization of antioxidante system parameters in four freshwater fish species. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 126, 30-37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.012>
- Baker, B.P., Wie, I.V., Braun, E., Jumenez, A.G., 2020. Thermal stability vs. Variability: Insights in oxidative stress from a eurytolerant fish. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Interg. Physiol.* 249, 110767. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2020.110767>
- Bernier, N.J., Gorissen, M., Flik, G., 2012. Differential effects of chronic hypoxia and feed restriction on the expression of leptin and its receptor, food intake regulation and the endocrine stress response in common carp. *J. Exp. Biol.* 215, 2273-2282. <https://doi.org/10.1242/jeb.066183>
- Birnie-Gauvin, K., Costantini, D., Cooke, S.J., Willmore, W.G., 2017. A comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: A review. *Fish Fish.* 1-15. <https://doi.org/10.1111/faf.12215>
- Biller, J.D., Takahashi, L.S., 2018. Oxidative stress and fish immune system: phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity. *An. Acad. Bras. Cien.* 90, 3403-3414. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820170730>
- Buentello, J.A., Gatlin, D.M., Neill, W.H., 2000. Effects of water temperature and dissolved oxygen on daily feed consumption, feed utilization and growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquac.* 182, 339-352. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00244-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00244-4)
- Chowdhury, S., Saikia, S.K., 2020. Oxidative stress in fish: A review. *J. Sci. Res.* 12, 145-160. <https://doi.org/10.3329/jsr.v12i1.41716>
- Claudio, G.S., Yunis-Aguinaga, J., Marinho-Neto, F., Miranda, R.L., Martins, I.M., Otani, F.S., Mundim, A.V., Marzocchi-Machado, C.M., Moraes, J.R.E., de Moraes, F.R.,

2019. Hematological and immune changes in *Piaractus mesopotamicus* in the sepsis induced by *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol.* 88, 259-265. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.01.044>
- Copatti, C.E., Baldisserotto, B., Souza, C.F., Garcia, L., 2019. Protective effect of high hardness in pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) under acidic or alkaline pH: Biochemical and haematological variables. *Aquac.* 502, 250-257. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.028>
- Dadras, H., Dzyuba, B., Cosson, J., Golpour, A., Siddique, M.A.M., Linhart, O., 2016. Effect of water temperature on the physiology of fish spermatozoon function: a brief review. *Aquac. Res.* 48, 729-740. <https://doi.org/10.1111/are.13049>
- Das, S.K., Noor, N.M., Kai, K.S., Juan, Q.Z., Mohd Iskandar, N.S., De, M., 2018. Effects of temperature on the growth, gastric emptying time, and oxygen consumption rate of mahseer (*Tor tambroides*) under laboratory conditions. *Aquac. Rep.* 12, 20-24. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2018.08.004>
- Fazio, F., 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquac.* 500, 237– 242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>
- Garcia, L.O., Copatti, C.E., Wachholz, F., Pereira Filho, W., Baldisserotto, B., 2008. Freshwater temperature in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil, and its implication for fish culture. *Neotrop. Ichthyol.* 6, 257-281. <https://doi.org/10.1590/s1679-62252008000200016>
- Garcia, L.O., Okamoto, M.H., Riffel, A.P.K., Saccol, E.M., Pavanato, M.A., Sampaio, L.A.N., 2015. Oxidative stress parameters in juvenile Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) (Pleuronectiformes: Paralichthyidae) exposed to cold and heat shocks. *Neotrop. Ichthyol.* 13, 607-612. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20140148>
- Godoy, M.P., 1975. Peixes do Brasil: subordem Characoidei. Bacia do rio Mogi-Guaçu. Piracicaba: Franciscana, v.1-4, 216 p.
- Hermes-Lima, M., Storey, J.M., Storey, K.B., 1998. Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol.* 120, 437-448. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(98\)10053-6](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(98)10053-6)

- Johannsson, O.E., Giacomini, M., Sadauskas-Henrique, H., Campos, D., Braz-Mota, S., Heinrichs-Caldas, W., Baptista, R., Wood, C.M., Almeida-Val, V.M.F., Val, A.L., 2018. Does hypoxia or different rates of re-oxygenation after hypoxia induce an oxidative stress response in *Cyphocharax abramoides* (Kner 1858), a Characid fish of the Rio Negro?. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 224, 53-67. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.05.019>
- Johnstone, C.P., Reina, R.D., Lill, A., 2012. Interpreting indices of physiological stress in free-living vertebrates. *J. Comp. Physiol. B.* 182, 861-879. <https://doi.org/10.1007/s00360-012-0656-9>
- Koolhaas, J.M., Bartolomucci, A., Buwalda, B., De Boer, S.F., Flügge, G., Korte, S.M., Meerlo, P., Murison, R., Olivier, B., Palanza, P., Richter-Levin, G., Sgoifo, A., Steimer, T., Stiedl, O., Van Dijk, G., Wöhr, M., Fuchs, E., 2011. Stress revisited: A critical evaluation of the stress concept. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35, 1291-1301. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.02.003>
- Lushchak, V.I., Bagnyukova, T.V., Lushchak, O.V., Storey, J.M., Storey, K.B., 2005. Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 37, 1319-1330. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.01.006>
- Lushchak, V.I., 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic. Toxicol.* 101, 13-30. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>
- McEwen, B.S., Wingfield, J.C., 2010. What is in a name? Integrating homeostasis, allostasis and stress. *Horm. Behav.* 57, 105-111. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2009.09.011>
- Magnoni, L.J., Eding, E., Leguen, I., Prunet, P., Geurden, I., Ozório, R.O.A., Schrama, J.W., 2018. Hypoxia, but not an electrolyte-imbalanced diet, reduces feed intake, growth and oxygen consumption in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Sci. Rep.* 8, 4965. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23352-z>
- Marcek, B.J., Burbacher, E.A., Dabrowski, K., Winslow, K.P., Ludsins, S.A., 2020. Interactive effects of hypoxia and temperature on consumption, growth, and condition of juvenile hybrid striped bass. *Trans. Am. Fish. Soc.* 149, 71-83. <https://doi.org/10.1002/tafs.10210>

- Nitz, L.F., Maltez, L.C., Pellegrin, L., Garcia, L.O., Barbas, L.A.L., Prentice-Hernández, C., 2019. Flesh quality and stress responses of *Piaractus mesopotamicus* after exposure to sublethal levels of ammonia and subsequent recovery. *Bol. Inst. Pesca.* 45, 352. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.1.325>
- Nitz, L.F., Pellegrin, L., Maltez, L.C., Pinto, D., Sampaio, L.A., Monserrat, J.M., Garcia, L., 2020a. Temperature and hypoxia on oxidative stress responses in pacu *Piaractus mesopotamicus*. *J. Therm. Biol.* 92, 102682. <https://doi.org/10.1016/j.therbio.2020.102682>
- Nitz, L.F., Pellegrin, L., Pinto, D.S.B., Maltez, L.C., Copatti, C.E., Garcia, L., 2020b. Secondary stress responses to hypoxia and re-oxygenation at different temperatures in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles. *Aquac. Res.* 51, 4471-4481. <https://doi.org/10.1111/are.14792>
- Pellegrin, L., Nitz, L.F., Maltez, L.C., Copatti, C.E., Garcia, L., 2020. Alkaline water improves the growth and antioxidant responses of pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquac.* 519, 734713. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734713>
- Pinto, D., Pellegrin, L., Nitz, L.F., Da Costa, S.T., Monserrat, J.M., Garcia, L., 2019. Haematological and oxidative stress responses in *Piaractus mesopotamicus* under temperature variations in water. *Aquac. Res.* 00, 1-11. <https://doi.org/10.1111/are.14260>
- Pinto, D., Pellegrin, L., Nitz, L.F., Monserrat, J.M., Garcia, L., 2020. Influence of temperature on growth, feed consumption and chemical composition in the muscle of pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquac. Res.* 51, 3760-3767. <https://doi.org/10.1111/are.14726>
- Qiang, J., Zhong, C.Y., Bao, J.W., Liang, M., Liang, C., Tao, Y.F., Li, H.X., He, J., Xu, P., 2019. Synergistic effect of water temperature and dissolved oxygen concentration on rates of fertilization, hatching and deformity of hybrid yellow catfish (*Tachysurus fulvidraco*♀ × *Pseudobagrus vachellii*♂). *J. Therm. Biol.* 83, 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.05.003>
- Riffel, A.P.K., Garcia, L.O., Fimanor, I.A., Saccol, E.M.H., Meira, M., Kolberg, C., Horst, A., Partata, W., Llesuy, S., Baldisserotto, B., Pavanato, M.A., 2012. Redox profile in liver of *Leporinus macrocephalus* exposed to different dissolved oxygen levels. *Fish Physiol. Biochem.* 38, 797-805. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9536-3>

- Samaras, A., Papandroulakis, N., Costari, M., Pavlidis, M., 2015. Stress and metabolic indicators in a relatively high (*European sea bass, Dicentrarchus labrax*) and a low (meagre, *Argyrosomus regius*) cortisol responsive species, in different water temperatures. *Aquac. Res.* 47, 3501-3515. <https://doi.org/10.1111/are.12800>
- Sánchez-Vázquez, F.J., López-Olmeda, J.F., Vera, L.M., Migaud, H., Lopez-Patiño, M.A., Míguez, J.M., 2019. Environmental cycles, melatonin and circadian control of stress response in fish. *Front. Endocrinol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00279>
- Schulte, P.M., 2014. What is environmental stress? Insights from fish living in a variable environment. *J. Exp. Biol.* 217, 23-34. <https://doi.org/10.1242/jeb.089722>
- Sun, J.-L., Zhao, L.-L., Liao, L., Tang, X.-H., Cui, C., Liu, Quiao, L., He, K., Ma, J.-D., Jin, L., Yan, T., Zhou, J., Yang, S., 2019. Interactive effect of thermal and hypoxia on largemouth bass (*Micropterus salmoides*) gill and liver: Aggravation of oxidative stress, inhibition of immunity and promotion of cell apoptosis. *Fish Shellfish Immunol.* 98, 923-936. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.056>
- Ultsch, G.R., Nordlie, F.G., 2019. The case for reporting PO₂ (partial pressure of oxygen), in addition to DO (dissolved oxygen), in studies of aquatic systems. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Amp. Interg. Physiol.* 235: 66-68. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.05.007>
- Valladão, G. M. R., Gallani, S. U., Pilarski, F. 2016. South American fish for continental aquaculture. *Rev. Aquac.* 10, 351–369. <https://doi.org/10.1111/raq.12164>
- Vinagre, C., Madeira, D., Narciso, L., Cabrasl, H.N., Diniz, M., 2012. Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juveniles seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Ecol Indic.* 23, 274-279. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.04.009>
- Wang, M., Wu, F., Xie, S., Zhang, L., 2021. Acute hypoxia and reoxygenation: Effect on oxidative stress and hypoxia signal transduction in the juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquac.* 531, 735903. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735903>
- Wexler, J.B., Margulies, D., Scholey, V.P., 2011. Temperature and dissolved oxygen requirements for survival of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 404, 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.05.002>

- Wu, Z., You, F., Wen, A., Ma, D., Zhang, P., 2016. Physiological and morphological effects of severe hypoxia, hypoxia and hyperoxia in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquac. Res.* 47, 219-227. <https://doi.org/10.1111/are.12483>
- Xiao, W., 2015. The hypoxia signaling pathway and hypoxic adaptation in fishes. *Sci. China Life Sci.* 58, 148-155. <https://doi.org/10.1007/s11427-015-4801-z>
- Yang, S., Yan, T., Wu, H., Xiao, Q., Fu, H. M., Luo, J., Zhou, J., Zhao, L. L., Wang, Y., Yang, S. Y., Sun, J. L., Ye, X., Li, S. J., 2017. Acute hypoxia stress: Effect on blood parameters, antioxidant enzymes, and expression of HIF-1 α and GLUT-1 genes in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Fish Shellfish Immunol.* 67, 449-458. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.06.035>
- Yang, S., Yan, T., Zhao, L., Wu, H., Du, Z., Yan, T., Xiao, Q., 2018. Effects of temperature on activities of antioxidant enzymes and Na⁺/K⁺ - ATPase, and hormone levels in *Schizothorax prenanti*. *J. Therm. Biol.* 72, 155-160. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.02.005>
- Zhang, G., Mao, J., Liang, F., Chen, J., Zhao, C., Yin, S., Wang, L., Tang, Z., Chen, S., 2016. Modulated expression and enzymatic activities of Darkbarbel catfish, *Pelteobagrus vachelli* for oxidative stress induced by acute hypoxia and reoxygenation. *Chemosphere.* 151, 271-279. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.072>
- Zhu, C.-D., Wang, Z.-H., Yan, B., 2013. Strategies for hypoxia adaptation in fish species: a review. *J. Comp. Physiol. B.* 183, 1005-1013. <https://doi.org/10.1007/s00360-013-0762-3>

Capítulo I

Manuscrito

Influência da reoxigenação em diferentes temperaturas no crescimento, parâmetros hematológicos e de estresse oxidativo em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Luana G Lamberti¹, Lilian F Nitz¹, Liliane S Presa¹, José M Monserrat², Luciano Garcia^{1*}.

¹Instituto de Oceanografia, Laboratório de Aquacultura Continental, Universidade Federal do Rio Grande, FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

²Instituto de Ciências Biológicas, Laboratório de Bioquímica Funcional de Organismos Aquáticos, Universidade Federal do Rio Grande, FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

*Autor correspondente: Luciano Garcia - Laboratório de Aquacultura Continental, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, 96203-900, Rio Grande, RS, Brazil. E-mail: garcia_log@hotmail.com

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da interação entre diferentes temperaturas e taxas de reoxigenação nos parâmetros de desempenho de crescimento, hematológicos e bioquímicos em juvenis de pacu. Os animais foram expostos a 8 h de hipóxia severa, no 15º dia ($0,83 \pm 0,07 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) e 30º dia ($0,84 \pm 0,01 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) seguida de reoxigenação abrupta (retorno a normóxia em até 20 minutos) ou gradual ($1,0 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ a cada hora, durante 5 horas, até atingir a normóxia), em duas temperaturas ($24,11 \pm 0,10$ e $27,08 \pm 0,05$ °C). Para cada temperatura também foi estabelecido um tratamento controle, mantidos em normóxia ($\geq 7,0 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) durante todo período experimental (45 dias), totalizando 6 tratamentos (em triplicata). Foi realizada biometria final ($n=36$ animais por tratamento), coleta de sangue e de tecidos (brânquias, cérebro, fígado e músculo; $n=9$ por tratamento) para determinação do desempenho de crescimento, dos parâmetros hematológicos, da capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP) e peroxidação lipídica (LPO). Os resultados mostraram que os parâmetros de crescimento (peso médio final, comprimento total médio final, ganho de peso, taxa de crescimento específico e fator de condição corporal) foram maiores em 27°C. Nesta temperatura, os animais apresentaram níveis de hiperglicemia em comparação com os juvenis mantidos em 24 °C (independente da taxa de reoxigenação ou normóxia). Os peixes submetidos às diferentes taxas de reoxigenação em 27 °C apresentaram redução da hemoglobina e do número de eritrócitos, além de maior volume corpuscular médio (VCM) em relação ao tratamento normóxia na mesma temperatura e aos animais expostos às mesmas taxas de reoxigenação em 24 °C. Os menores níveis de ACAP foram observados no fígado e músculo dos peixes mantidos em 24 °C em comparação com os animais mantidos em 27 °C. A interação entre 24°C, normóxia e reoxigenação gradual, e 27°C e reoxigenação abrupta induziram maiores níveis de LPO em todos os tecidos. Em conclusão, o crescimento da espécie é otimizado em 27°C, além disso, nesta temperatura os animais apresentam melhores condições fisiológicas frente a uma reoxigenação gradual, podendo ser considerados tolerantes à hipóxia e reoxigenação.

Palavras-chaves: hipóxia, parâmetros hematológicos, estresse oxidativo, capacidade antioxidante total, peroxidação lipídica.

1 Introdução

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é encontrado nas bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai (Godoy, 1975), seu cultivo tem grande importância nos países da América do Sul, como Argentina e Paraguai (Valladão *et al.*, 2016), pois apresenta um conjunto de características, como fácil adaptação aos diferentes sistemas de cultivo, rápida taxa de crescimento, conversão alimentar eficiente, rusticidade e boa qualidade do filé. Além de apresentar uma grande tolerância a baixos níveis de oxigênio dissolvido (OD, Nitz *et al.*, 2020a), amplas faixas de temperaturas (Pinto *et al.*, 2020) e níveis variados de pH (Copatti *et al.*, 2019a) e amônia (Nitz *et al.*, 2019) o que demonstra o potencial promissor para o cultivo da espécie em sistemas intensivos (Pellegrin *et al.*, 2021).

Nos sistemas aquícolas, variações na concentração de OD são comuns, uma vez que esta depende de aeradores mecânicos, que são suscetíveis a problemas como a falta de energia (Dong *et al.*, 2011), densidade de estocagem (Bittencourt *et al.*, 2010) e concentração de matéria orgânica em decomposição que consome OD do meio.

Flutuações extremas de oxigênio, denominadas de hipóxia, podem ser frequentes e resultar em possível redução do consumo do alimento, da taxa de crescimento e sobrevivência dos peixes (Magnoni *et al.*, 2018; Marcek *et al.*, 2020). A hipóxia também afeta as respostas fisiológicas e bioquímicas, incluindo respostas hematológicas (Moraes *et al.*, 2002) e de estresse oxidativo (Copatti *et al.*, 2019b).

Porém, ainda que a hipóxia represente um grande desafio para a sobrevivência e bem-estar dos peixes, a subsequente reoxigenação pode ser ainda mais estressante, principalmente devido à grande produção de espécies reativas de oxigênio (Reactive Oxygen Species – ROS; Lushchack e Bagnyukova, 2006a). O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre a produção de ROS e as defesas antioxidantes do organismo, e pode causar hidroxilação do DNA, desnaturação de proteínas, peroxidação lipídica, apoptose e dano celular (Martínez-Álvarez *et al.*, 2005).

O sistema de defesa antioxidante é dividido em dois grupos, (i) enzimático, composto por enzimas sintetizadas pelo organismo como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx), glutatona redutase (GR) e glutatona-S-Transferase (GST) (Leveelahti *et al.*, 2014) e (ii) não-enzimático (Wang *et al.*, 2021). A atividade das enzimas antioxidantes está relacionada com a taxa metabólica dos organismos e, portanto, está sujeita à influência da temperatura (Hermes-Lima *et al.*, 2004; Welker *et al.*, 2013).

Para a maioria das espécies de peixes, o crescimento é otimizado em uma estreita faixa de temperatura e a exposição dos animais a temperaturas fora desta faixa ideal pode induzir um quadro pró-oxidante (Feng *et al.*, 2012; Vinagre *et al.*, 2012). Para o pacu, a melhor temperatura para o cultivo varia entre 23 e 29 °C (Garcia *et al.*, 2008; Pinto *et al.*, 2020).

O objetivo do presente estudo foi verificar os efeitos da interação entre diferentes temperaturas (~24 e ~27 °C) e taxas de reoxigenação abrupta (níveis de normóxia restabelecidos em até 20 minutos) ou gradual (níveis de normóxia restabelecidos em até 5 h), após 8 h de hipóxia, nos parâmetros sanguíneos, de crescimento e de estresse oxidativo de juvenis de pacu, após 45 dias.

2 Material e Métodos

2.1 Ética Animal

O protocolo experimental para desenvolvimento deste trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande – FURG, protocolo nº P025/2021.

2.2 Aclima tação e Experimento

Foram utilizados 216 juvenis de pacu ($15,79 \pm 0,16$ g; $9,14 \pm 0,03$ cm), adquiridos comercialmente de uma piscicultura em Victor Graeff, Rio Grande do Sul, Brasil. Até o início do experimento, os peixes foram mantidos em sistemas de recirculação com filtro mecânico e biológico em tanques de 310 L (250 L de volume útil). A alimentação foi realizada duas vezes ao dia (9 e 16 h), com dieta com 32% de proteína bruta, até a saciedade aparente. O mesmo protocolo de alimentação foi seguido durante o período de aclimatação às condições experimentais. O arraçoamento foi suspenso durante todo o período de hipóxia.

Previamente a realização do experimento, os animais foram distribuídos aleatoriamente em 18 tanques de 80 L de volume útil e aclimatados as temperaturas de 24 e 27°C, em seis sistemas de recirculação, com filtros mecânicos e biológicos, aeração constante e fotoperíodo fixado em 9 L/15 E, durante 10 dias.

Para a realização do experimento, a temperatura da água das unidades experimentais (UE) foi ajustada com auxílio de ar condicionado (24 °C) e aquecedores com termostatos (27 °C). As temperaturas foram escolhidas de acordo com o observado por Pinto *et al.* (2020) para a espécie.

A manutenção dos níveis de OD em normóxia ($7,40 \pm 0,02 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) foi realizada com um soprador de ar (1 HP) que abasteceu as UE individualmente, através do sistema de aeração. Ao longo dos 45 dias experimentais, os animais foram submetidos a condições de hipóxia, duas vezes, no 15º ($0,83 \pm 0,07 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) e 30º dia ($0,84 \pm 0,01 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$), durante 8 horas, nas duas diferentes temperaturas ($24,11 \pm 0,10 \text{ °C}$, $27,08 \pm 0,05 \text{ °C}$). Estes períodos foram escolhidos devido a Para isso, foi injetado nitrogênio puro (gás) através de difusores individuais em cada tanque até que os níveis desejados de hipóxia fossem obtidos.

Antes de iniciar a injeção de nitrogênio na água das UE, o sistema de aeração foi desligado, e assim que os níveis de hipóxia foram atingidos, a manutenção foi realizada por meio de monitoramento constante (a cada 1 hora) com auxílio de oxímetro digital (YSI® 200A).

Passado o período de exposição hipóxica, dois tipos de taxas de reoxigenação foram imediatamente realizadas: abrupta, na qual a condição de normóxia foi restabelecida em até 20 minutos; ou gradual onde a concentração de OD foi elevada gradualmente, em 1 mg/L/h, durante 5 h. Durante a reoxigenação gradual, a saturação de oxigênio também foi monitorada continuamente com oxímetro digital. As taxas de reoxigenação foram determinadas de acordo com Nitz *et al.* (2020b).

Um tratamento controle, mantido em normóxia ($\geq 7,0 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$), sem exposição à hipóxia ou à reoxigenação foi exposto às mesmas temperaturas. Ao total, o protocolo experimental contou com seis tratamentos randomizados em triplicata ($n = 12$ peixes por repetição).

2.3 Qualidade da Água

Os parâmetros de qualidade da água foram mantidos em níveis desejáveis para a espécie durante o período de aclimação e experimentação - exceto o OD, que foi alterado apenas para a realização do experimento. As variáveis físico-químicas da água, temperatura ($24,11 \pm 0,10 \text{ °C}$; $27,08 \pm 0,05 \text{ °C}$) e OD ($7,40 \pm 0,02 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$; oxímetro

YSI 200A), pH ($8,03 \pm 0,09$; pHmetro HANNA HI8424), amônia total ($0,18 \pm 0,003$ mg N-NH₃ L⁻¹; UNESCO, 1983), nitrito ($0,12 \pm 0,02$ mg N-NO₂ L⁻¹; Boyd & Tucker, 2014) e alcalinidade ($66,17 \pm 4,80$ mg CaCO₃ L⁻¹; Eaton *et al.*, 2005) foram monitoradas diariamente.

2.4 Coletas e Biometrias

Para determinação do desempenho zootécnico foram realizadas duas biometrias com todos os animais, no início (dia 0) e ao final do período experimental (45º dia). Para isso, os animais foram retirados dos tanques, um de cada vez, anestesiados com hidrocloreto de benzocaína (50 ppm), com a finalidade de minimizar o estresse provocado pelo manuseio, pesados em balança digital (Bioprecisa® - JH2102; precisão de 0,01g) e mensurado comprimento padrão e total com auxílio de ictiômetro. Os seguintes cálculos foram realizados para o desempenho zootécnico:

- Peso médio final (PF, g) = \sum peso final dos animais vivos (g) / nº total de animais;
- Comprimento total médio final (CT, cm) = \sum comprimento total final dos animais vivos (cm) / nº total de animais;
- Ganho de peso (GP, g) = peso médio final (g) – peso médio inicial (g);
- Taxa de crescimento específico (TCE, % por dia) = $[(\text{peso médio final (g)} - \text{peso médio inicial (g)}) / \text{nº de dias}] \times 100$;
- Fator de condição corporal (FC, g cm⁻³) = $[(\text{peso médio final (g)} / \text{comprimento total médio final (cm)})^3] \times 100$;
- Sobrevivência (%) = $(\text{nº final de animais} / \text{nº inicial de animais}) \times 100$.

Após os procedimentos de biometria, três peixes por tanque (n = 9 por tratamento) foram amostrados aleatoriamente para coleta de sangue (1,5 mL), via punção venosa caudal com seringas heparinizadas. Imediatamente após a coleta de sangue os mesmos animais foram finalizados em dose letal de hidrocloreto de benzocaína (500 ppm) para realização da coleta de tecidos.

As amostras de brânquia, cérebro, fígado e músculo foram armazenadas em microtubos de 2 mL, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer (-80°C) até o momento das análises dos parâmetros de estresse oxidativo.

2.5 Análises dos Parâmetros Sanguíneos

A glicemia foi analisada com glicosímetro digital (Accu-check Performa/Roche®); e o pH sanguíneo foi mesurado com um pHmetro de bancada (HANNA HI 2210®), com sonda própria para este fim. Posteriormente, as amostras foram transferidas para capilares heparinizados e centrifugadas a 4°C a 12.000 g por 5 minutos, para determinação do hematócrito (Htc) pelo método do microhematócrito (Goldenfarb *et al.*, 1971). Para determinação do número de eritrócitos (Eri), 0,02 mL de amostra foi diluída (1:200) em solução de cloreto de sódio 0,65% (Ranzani-Paiva *et al.*, 2013) e contada em câmara de Neubauer, com auxílio de microscópio óptico (40x). A concentração de hemoglobina (Hb) foi quantificada com kit colorimétrico (Labtest®) e lida em espectrofotômetro a 540 nm. Os índices hematimétricos foram estimados de acordo com as seguintes equações:

- Volume corpuscular médio (VCM, fL) = $Htc \times 10 / Eri (\times 10^6 \mu L)$;
- Hemoglobina corpuscular média (HCM, pg) = $Hb \times 10 / Eri e$;
- Concentração média de hemoglobina corpuscular (CHCM g dL⁻¹) = $Hb \times 100 / Htc$.

2.6 Homogeneização dos tecidos

As amostras de tecido foram homogeneizadas (1:5, m/v) em solução tampão (100 mM Tris-HCl, 2mM EDTA e 5mM Mg Cl₂.6H₂O, pH 7,75; Da Rocha *et al.*, 2009), centrifugadas (10.000 g, 20 minutos, 4°C) e os sobrenadantes foram utilizados para todas as análises posteriores. O teor de proteínas totais dos homogeneizados foi determinado em leitor de microplacas (BioTek LX 800) pelo método de Biureto (550 nM) usando kit comercial (Doles®).

2.7 Capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP)

A ACAP foi determinada segundo a metodologia proposta por Amado *et al.* (2009). As amostras foram diluídas com tampão de homogeneização e expostas a radicais peroxil, gerados por termod decomposição (37 °C) do 2-metilpropionamidina (dicloridrato de 2,2'-azobis) (ABAP, 4 mM). Logo após, foi mensurada a fluorimetria (excitação: 485 nm; emissão: 520 nm) em espectrofluorímetro (Victor 2, Perkin Elmer), com leituras a cada 5 min, durante 30 min.

Os resultados foram expressos em área relativa (diferença entre as áreas com e sem ABAP dividida pela área sem ABAP), na qual, quanto menor a área relativa, maior a capacidade antioxidante da amostra e vice-versa.

2.8 Peroxidação lipídica (LPO)

Os níveis de LPO foram determinados de acordo com Oakes & Van Der Kraak (2003). Para determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) pelo MDA (malondialdeído) foram adicionados 20 µL de solução de BHT (67 µM), 150 µL de solução de ácido acético a 20%, 150 µL de solução TBA a 0,8%, 50 µL de água Milli-Q e 20 µL de SDS a 8,1% às amostras (brânquia: 40 µL, cérebro: 30 µL, fígado: 30 µL e músculo: 100 µL). Posteriormente, foram aquecidas em banho maria (95 °C) durante 30 min; após este período, foram adicionados 100 µL de água de Milli-Q e 500 µL de n-butanol à solução final; em seguida, as soluções foram transferidas para microtubos (2 mL) e centrifugadas (3000 × g, 10 min, 15 °C); depois, o sobrenadante remanescente foi utilizado para determinar a fluorescência (excitação: 520 nm, emissão: 580 nm). Os resultados foram expressos como nmol TMP (tetrametoxipropano – substância utilizada como padrão) mg tecido proteína⁻¹.

2.9 Análise Estatística

Os tratamentos foram analisados em triplicatas. Todos os resultados estão expressos como média ± erro padrão. A normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias foram previamente testadas pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. Os dados foram submetidos à ANOVA de duas vias (temperatura x OD ou reoxigenação), seguida de um teste post-hoc de Tukey. Foi estabelecido um nível mínimo de significância de 5% em todos os casos (p < 0,05).

3 Resultados

3.1 Desempenho de Crescimento

Não houve mortalidade durante os períodos de aclimação e experimentação. Os animais mantidos na temperatura de 27 °C apresentaram índices de desempenho de

crescimento (peso médio final (PF, g), comprimento total médio final (CT, cm), ganho de peso (GP, g), taxa de crescimento específico (TCE, % por dia)) significativamente maiores ($p < 0,05$) se comparados com os peixes expostos a 24 °C; exceto o fator de condição corporal (FC, g cm^{-3}), que não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre temperaturas. Os juvenis do tratamento normóxia e 27 °C apresentaram o fator de condição corporal significativamente maior ($p < 0,05$) se comparado ao tratamento de reoxigenação abrupta (Tabela 1).

3.2 Parâmetros Sanguíneos

Os níveis de glicose foram significativamente maiores ($p < 0,05$) nos animais mantidos a 27 °C, em relação aos animais mantidos a 24 °C, na mesma taxa de reoxigenação ou normóxia. O número de eritrócitos foi significativamente maior ($p < 0,05$) nos animais do tratamento normóxia a 27 °C se comparado com os peixes expostos a reoxigenação abrupta e gradual na mesma temperatura. Também em 27 °C, os animais submetidos a reoxigenação abrupta e gradual apresentaram concentrações de Hb significativamente menores ($p < 0,05$) em relação aos animais mantidos em normóxia na mesma temperatura. A concentração de Hb dos juvenis do tratamento normóxia 27 °C também foi significativamente maior ($p < 0,05$) se comparado com os peixes do tratamento normóxia a 24 °C (Tabela 2).

Na temperatura de 27 °C, os animais apresentaram níveis significativamente maiores ($p < 0,05$) de VCM em comparação com os animais de 24 °C, na mesma taxa de reoxigenação. O tratamento normóxia em 27 °C apresentou VCM significativamente menor ($p < 0,05$) em relação aos animais mantidos na mesma temperatura e submetidos a reoxigenação gradual (Tabela 2).

3.3 Capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP)

De maneira geral, os níveis de ACAP foram significativamente menores (maior área relativa) ($p < 0,05$) no fígado e músculo de juvenis de pacu (Figura 1C, 1D, respectivamente) mantidos em 27 °C se comparado com os animais em 24 °C. Além disso, no fígado (Figura 1C), todos os tratamentos diferiram entre si ($p < 0,05$) em 27 °C, onde o tratamento normóxia apresentou a maior área relativa.

Os peixes submetidos às diferentes taxas de reoxigenação (abrupta e gradual) apresentaram níveis significativamente maiores de ACAP (menor área relativa) ($p < 0,05$) no fígado e músculo, em 24 °C, se comparado com o tratamento normóxia na mesma temperatura.

3.4 Peroxidação lipídica (LPO)

Em geral, os níveis de LPO foram significativamente maiores ($p < 0,05$) nos diferentes tecidos (Figura 2) dos animais criados em 24 °C em comparação com os animais mantidos a 27 °C, exceto no tratamento reoxigenação abrupta, no qual os níveis de LPO foram significativamente menores ($p < 0,05$) nos animais expostos a 24 °C.

Em 24 °C, os maiores níveis ($p < 0,05$) de LPO foram apresentados pelo tratamento normóxia, seguidos pelo tratamento reoxigenação gradual, com níveis intermediários ($p < 0,05$) de LPO em todos os tecidos (Figura 2). Os menores níveis ($p < 0,05$) de LPO foram observados nos tecidos dos juvenis de pacu submetidos a reoxigenação gradual em nesta temperatura.

Os tratamentos reoxigenação abrupta e normóxia em 27 °C, apresentaram níveis significativamente maiores ($p < 0,05$) de LPO nas brânquias (Figura 2A) e cérebro (Figura 2B), e no fígado (Figura 2C) e músculo (Figura 2D), respectivamente. Os peixes submetidos a reoxigenação gradual em 27 °C apresentaram níveis de LPO significativamente menores ($p < 0,05$) em todos os tecidos em comparação com os demais tratamentos em 27 °C.

4 Discussão

A temperatura da água atua diretamente sobre as taxas metabólicas dos peixes, afetando a atividade enzimática e seu crescimento (Duan *et al.*, 2017; Islam *et al.*, 2019). Nosso estudo demonstrou que os índices do desempenho de crescimento da espécie foram otimizados em 27 °C, independente do tratamento a que os animais foram submetidos. Este resultado já era esperado, uma vez que em altas temperaturas o metabolismo dos animais ectotérmicos tende a acelerar, ocasionando maiores taxas de crescimento (Yang *et al.*, 2018; Pinto *et al.*, 2020). Nestas situações, os peixes podem apresentar alterações em diversos parâmetros metabólicos, principalmente na concentração da glicose sanguínea (Martínez-Porchas *et al.*, 2009); relação evidenciada no presente estudo, no

qual os tratamentos de 27°C apresentaram simultaneamente maior ganho de peso e níveis de glicose.

A temperatura pode ser uma indutora glicêmica mais eficiente do que aqueles ligados à homeostase interna (Polakof *et al.*, 2012). Diversos autores relatam aumento nos níveis de glicose em espécies de peixes comerciais, como *Horabagrus brachysoma* aclimatados a 33 e 36 °C (Dalvi *et al.*, 2017), *Pangasianodon hypophthalmus* expostos a 36 °C (Shahjahan *et al.*, 2018) e pacu mantidos em 30 °C (Pinto *et al.*, 2019). Desta forma, os maiores níveis de glicose, observados em 27 °C, no presente estudo provavelmente se devem à influência da temperatura sobre a taxa metabólica dos peixes.

Em sistemas de cultivo aquícolas, situações de hipóxia e reoxigenação são comuns devido a problemas como alta densidade de estocagem, falta de energia, entre outros (Bittencourt *et al.*, 2010; Dong *et al.*, 2011). Quando expostos a tais situações, os peixes elevam a capacidade de transporte de oxigênio do sangue através do aumento do número de eritrócitos, da afinidade hemoglobina-oxigênio, bem como da diminuição do CHCM, entre outros (Nikinmaa, 2001; Wu *et al.*, 2016; Jia *et al.*, 2021). Estudos anteriores demonstraram que os parâmetros hematológicos primários como número de eritrócitos, taxa de Hb e hematócrito aumentaram em tambaqui (*Colossoma macropomum*, Affonso *et al.*, 2002), esturjão (*Acipenser schrenckii*, Ni *et al.*, 2014) e salmão do Atlântico (*Salmo salar*, Wood *et al.*, 2019) durante quadros hipóxicos.

Em contrapartida, no presente estudo, observamos uma redução no número de eritrócitos, na concentração de Hb, bem como aumento do VCM nos animais expostos à hipóxia e reoxigenação em 27°C em relação ao tratamento normóxia. Sugerindo um ajuste tardio a um possível quadro hemolítico, provocado pelo sinergismo entre hipóxia severa (< 1 mg O₂ L⁻¹) e reoxigenação (abrupta e/ou gradual); vez que o menor número de eritrócitos e concentração de Hb podem indicar que está ocorrendo hematopoiese. Isto fica evidente devido a maior concentração de Hb nos animais do tratamento normóxia em 27 °C, visto que em hemácias maduras a concentração desta proteína é maior (Bastos *et al.*, 1977; Clark *et al.*, 1988). Além disso, para peixes previamente submetidos ao estresse (neste caso, hipóxia severa), a resposta menos dispendiosa fisiologicamente é o aumento do volume celular pelo qual a afinidade hemoglobina-oxigênio é indiretamente aumentada. Pois, quando há recrutamento esplênico de eritrócitos, ocorre uma sobrecarga cardiovascular e depleção do reservatório de hemácias (Caldwell e Hinshaw, 1994). No

presente estudo esta relação foi observada nos animais expostos aos agentes estressores em 27 °C. Além disso, os menores valores de VCM nos animais expostos a reoxigenação em 24 °C, podem ser explicados pela maior disponibilidade de OD em temperaturas mais baixas (Witeska, 2013).

No presente estudo a interação entre temperatura, hipóxia e reoxigenação gradual e abrupta induziu danos às brânquias, cérebro, fígado e músculo de juvenis de pacu em 24 e 27 °C. Além disso, observou-se alterações na capacidade antioxidante total no fígado e músculo, sugerindo que o sistema de defesa antioxidante dos animais foi afetado pela interação entre temperatura e taxa de reoxigenação. Não houve mortalidade dos juvenis de pacu, comprovando que esta espécie é tolerante à hipóxia severa e reoxigenação, o mesmo evidenciado em trabalho de Nitz *et al.* (2020a).

A ACAP é o conjunto das respostas enzimáticas e não-enzimáticas do sistema de defesa antioxidante para neutralizar a oxidação e manter a homeostase do organismo (Amado *et al.*, 2009; Pinto *et al.*, 2019). Independente da temperatura e taxa de reoxigenação ou normóxia a qual os juvenis de pacu foram expostos, em nosso estudo, não houveram alterações da ACAP nas brânquias e cérebro. Tais resultados poderiam indicar que o SDA foi capaz de neutralizar os danos oxidativos a longo prazo nestes órgãos. Porém, foi observado aumento nos níveis de LPO nas brânquias e cérebro em 24 °C (normóxia e gradual) e 27 °C (normóxia e abrupta). Estas respostas indicam que a defesa antioxidante pode ter sido insuficiente para reduzir a produção de ERO nestes tecidos (Wang *et al.*, 2021), principalmente em 24 °C, que apresentou os maiores níveis de danos nas diferentes reoxigenações.

De um modo geral, os níveis de LPO foram maiores nas brânquias, cérebro e músculo nos animais mantidos em 24 °C, nos tratamentos normóxia e reoxigenação gradual, em relação aos animais expostos a 27 °C nos mesmos tratamentos. Já os níveis de ACAP foram maiores no fígado e músculo dos juvenis de pacu em 24 °C, em todos os tratamentos (exceto no músculo do tratamento normóxia), em relação aos mesmos tratamentos em 27 °C. Indicando que o SDA destes animais realmente foi menos eficiente na proteção contra os danos oxidativos provocados pela interação entre 24 °C e taxas de reoxigenação. Mudanças de temperatura podem provocar alterações na resposta do SDA, através da redução da atividade de algumas enzimas antioxidantes e depleção do sistema

de defesa não enzimático (Lushchak e Bagnyukova, 2006b; Pinto *et al.*, 2019), o que corrobora com nossos resultados.

Em temperaturas baixas, o metabolismo dos animais ectotérmicos é reduzido, provocando a diminuição do consumo do alimento e um aumento no grau de insaturação lipídica de membranas biológicas (Nitz *et al.*, 2020a). Vinagre *et al.* (2012) observaram que o estresse térmico afeta a resposta antioxidante de juvenis de *Dicentrarchus labrax*, uma vez que os níveis de LPO e a atividade da enzima catalase no músculo foram menores perto da temperatura ótima (24 °C) e maiores em peixes expostos a temperaturas fora da faixa ideal (acima e abaixo) para a espécie. Portanto, nossos resultados indicam que 27 °C é a melhor temperatura para o cultivo de pacu devido aos animais apresentarem melhores índices de desempenho zootécnico, capacidade antioxidante total e menores níveis de peroxidação lipídica quando submetidos a reoxigenação gradual.

Exposições à hipóxia desencadeia as respostas do SDA, levando a um alto risco de estresse oxidativo (Chowdhury e Saikia, 2020). Além disso, o processo de reoxigenação também é capaz de provocar o estímulo da produção de ERO em tecidos e células, resultando em estresse oxidativo e desordem do SDA em peixes (Lushchack *et al.*, 2005; Lushchak e Bagnyukova, 2006a). Isto pode ser observado em trabalho de Lushchak *et al.* (2001), os quais verificaram que 14 h após reoxigenação rápida (retorno aos níveis normóxicos em até 30 minutos) os níveis de LPO e a atividade de GPx aumentaram no fígado e cérebro de *Carassius auratus*, respectivamente. Em outro estudo, Zhang *et al.* (2016), verificaram aumento nos níveis de MDA e LPO no fígado de *Pelteobagrus vachelli* após 4 e 6,5 h de recuperação hipóxica.

No presente estudo, verificamos alterações na capacidade antioxidante total no fígado e músculo, bem como altos níveis de LPO nos quatro tecidos analisados de juvenis de pacu, após 15 dias de reoxigenação gradual e abrupta em 24 °C e 27 °C, respectivamente. Estes resultados indicam que o SDA dos juvenis de pacu encontrava-se ativo, em resposta ao estresse, provocada pelas taxas de reoxigenação nas diferentes temperaturas. Resultados semelhantes foram encontrados por Shuang *et al.* (2022), que observaram um aumento na atividade da enzima SOD e no conteúdo de MDA nas brânquias de *Megalobrama amblycephala* após sete dias de reoxigenação. Em nosso estudo, ficou evidenciado que houve lesão tecidual nos tecidos mais afetados (brânquias, cérebro e músculo), devido ao excesso de ERO, provocado pela reoxigenação gradual em 24°C e

reoxigenação abrupta à 27 °C, o mesmo observado por Sun *et al.* (2020) no estômago e intestino de *Lateolabrax maculatus*.

Em nosso estudo, as respostas ao estresse oxidativo foram órgão-específico, visto que os quatro tecidos apresentaram níveis de LPO e ACAP distintos em ambas as taxas de reoxigenação. Estes resultados indicam que a resposta órgão-específica está ligada à atividade metabólica de cada órgão e, conseqüentemente, às suas defesas antioxidantes características (Lushchak e Bagnyukova, 2007).

O mesmo padrão de resposta foi observado em trabalho de Nitz *et al.* (2020a) para a mesma espécie quando submetidos a diferentes temperaturas e níveis de oxigênio dissolvido. Entretanto, brânquias e cérebro apresentaram boa capacidade antioxidante. A peroxidação lipídica apresentou-se aumentada nestes tecidos quando submetidos à reoxigenação gradual e/ou abrupta em 24 e 27 °C, respectivamente. Uma resposta semelhante foi observada no fígado dos animais expostos à reoxigenação abrupta e gradual em 24 °C, e reoxigenação gradual em 27 °C. Porém, neste caso houve uma redução na ACAP, em ambas as temperaturas, que foi acompanhada de maiores níveis de LPO neste tecido nas mesmas taxas de reoxigenação (exceto para reoxigenação abrupta em 24 °C). No músculo, apesar do menor valor de ACAP nas diferentes taxas de reoxigenação à 27 °C, os níveis de LPO foram reduzidos nos tratamentos normóxia e reoxigenação gradual em relação aos animais das mesmas taxas mantidos em 24 °C. Indicando que as respostas

Em resumo, o presente trabalho mostrou que situações de hipóxia e reoxigenação gradual e abrupta em 24 e 27°C, respectivamente, induzem peroxidação lipídica aos tecidos de juvenis de pacu a longo prazo.

5 Conclusões

Em conclusão, os juvenis de pacu têm os índices de crescimento otimizados quando criados em 27 °C. A exposição a diferentes temperaturas e taxas de reoxigenação causam alterações na capacidade antioxidante e peroxidação lipídica em pacu. A interação entre hipóxia severa, 24°C e reoxigenação gradual, e 27°C e reoxigenação abrupta provocaram danos oxidativos nos animais. Contudo, os peixes demonstraram melhor capacidade de manter suas defesas e diminuir os danos lipídicos quando submetidos a reoxigenação gradual em 27 °C.

6 Referências

- Affonso, E.G., Polez, V.L.P., Corrêa, C.F., Mazon, A.F., Araújo, M.R.R., Moraes, G., Rantin, F.T., 2002. Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. *Comp. Biochem. Physiol. C.* 133, 375-382. [https://doi.org/10.1016/s1532-0456\(02\)00127-8](https://doi.org/10.1016/s1532-0456(02)00127-8)
- Amado, L.L., Garcia, M.L., Ramos, P.B., Freitas, R.F., Zafalon, B., Ferreira, J.L.R., Yunes, J.S., Monserrat, J.M., 2009. A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: application to evaluate microcystins toxicity. *Sci. Total Environ.* 407, 2115-2123. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.11.038>
- Bastos, R.N., Volloch, Z., Aviv, H., 1977. Messenger RNA population analysis during erythroid differentiation: A kinetical approach. *J. Mol. Biol.* 110, 191-203. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(77\)80068-5](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(77)80068-5)
- Bittencourt, F., Feiden, A., Signor, A. A., Boscolo, W. R., Lorenz, E. K., & Maluf, M. L. F., 2010. Densidade de estocagem e parâmetros eritrocitários de pacus criados em tanques-rede. *R. Bras. Zootec.* 39, 2323–2329. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001100002>
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 2014. Handbook for aquaculture water quality. Auburn, AL: Craftmaster Printers Inc.
- Caldwell, C.A., Hinshaw, J., 1994. Physiological and haematological responses in rainbow trout subjected to supplemental dissolved oxygen in fish culture. *Aquac.* 126, 183-193. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90259-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90259-3)
- Chowdhury, S., Saikia, S.K., 2020. Oxidative stress in fish: a review. *J. Sci. Res.* 12, 145-160. <https://dx.doi.org/10.3329/jsr.v12i1.41716>
- Clark, M.R., 1988. Senescence of red blood cells: Progress and Problems. *Physiol. Rev.* 68, 503-554. <https://doi.org/10.1152/physrev.1988.68.2.503>
- Copatti, C.E., Baldisseroto, B., Souza, C.F., Garcia, L., 2019a. Protective effect of high hardness in pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) under acidic or alkaline pH: Biochemical and haematological variables. *Aquac.* 502, 250-257. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.028>

- Copatti, C.E., Bolner, K.C.S., Londero, É.P., De Rosso, F.L., Pavanato, M.A., Baldisserotto, B., 2019b. Low dissolved oxygen levels increase stress in piava (*Megaleporinus obtusidens*): iono-regulatory, metabolic and oxidative responses. An. Acad. Bras. Cienc. 91, e20180395. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201920180395>
- Da Rocha, A.M., Salomão De Freitas, D.P., Burns, M., Vieira, J.P., De La Torre, F.R., Monserrat, J.M., 2009. Seasonal and organ variations in antioxidant capacity, detoxifying competence and oxidative damage in freshwater and estuarine fishes from Southern Brazil. Comp. Biochem. Phys. C 150, 512–520. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2009.07.012>
- Dalvi, R.S., Das, T., Debnath, D., Yengkokpam, S., Baruah, K., Tiwari, L.R., Pal, A.K., 2017. Metabolic and cellular stress responses of catfish, *Horabagrus brachysoma* (Günther) acclimated to increasing temperatures. J. Therm. Biol. 65, 32-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.02.003>
- Das, S.K., Noor, N.M., Kai, K.S., Juan, Q.Z., Iskandar, N.S.M., De, M., 2018. Effects of temperature on the growth, gastric emptying time, and oxygen consumption rate of mahseer (*Tor tambroides*) under laboratory conditions. Aquac. Rep. 12, 20-24. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2018.08.004>
- Dong, X.Y., Qin, J.G., Zhang, X.M., 2011. Fish adaptation to oxygen variations in aquaculture from hypoxia to hyperoxia. J. Fish. Aquac. 2, 23–28.
- Duan, Y., Zhang, Y., Dong, H., Wang, Y., Zhnag, J., 2017. Effect of the dietary probiotic *Clostridium butyricum* on growth, intestine antioxidant capacity and resistance to high temperature stress in kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*. J. Therm. Biol. 66, 93-100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.04.004>
- Eaton, A.D., Clesceri, L.S., Rice, E.W., Greenberg, A.E., 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington, DC: APHA.
- Feng, G.P., Zhuang, P., Zhang, L.Z., Duan, M., Liu, J.Y., 2012. Effects of temperature on oxidative stress biomarkers in juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) under laboratory conditions. Adv. Mater. Res. 343, 497–504. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.343-344.497>
- Garcia, L.O., Copatti, C.E., Wachholz, F., Pereira Filho, W., Baldisserotto, B., 2008. Freshwater temperature in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil, and its

implication for fish culture. *Neotrop. Ichthyol.* 6, 257-281. <https://doi.org/10.1590/s1679-62252008000200016>

Godoy, M.P., 1975. Peixes do Brasil: subordem Characoidei. Bacia do rio Mogi-Guaçu. Piracicaba: Franciscana, v.1-4, 216 p.

Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E., Brosious, E., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: The microhematocrit determination. *Am. J. Clin. Pathol.* 56, 35-39. <https://doi.org/10.1093/ajcp/56.1.35>

Hermes-Lima, M., 2004. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In K. B. Storey (Ed.), *Functional metabolism: Regulation and adaptation* (pp. 319–366). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/047167558X.ch12>

Islam, Md. A., Uddin, Md. H.; Uddin, Md. J., Shahjahan, Md., 2019. Temperature changes influenced the growth performance and physiological functions of Thai pangas *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquac. Rep.* 13, 100179. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100179>

Jia, Y., Wang, J., Gao, Y., Huang, B., 2021. Hypoxia tolerance, hematological, and biochemical response in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*. L). *Aquac.* 535, 736380. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736380>.

Lefevre, S., Wang, T., Jensen, A., Cong, N.V., Huong, D.T.T., Phuong, N.T., Bayley, M., 2014. Air-breathing fishes in aquaculture. What can we learn from physiology? *J. Fish Biol.* 84(3), 705-731. <https://doi.org/10.1111/jfb.12302>.

Leveelahti, L., Rytönen, K.T., Renshaw, G.M.C., Nikinmaa, M., 2014. Revisiting redox-active antioxidant defenses in response to hypoxic challenge in both hypoxia-tolerant and hypoxia-sensitive fish species. *Fish Physiol. Biochem.* 40, 183-191. <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9835-1>

Lushchak, V.I., Lushchak, L.P., Mota, A.A., Hermes-Lima, M., 2001. Oxidative stress and antioxidant defenses in goldfish *Carassius auratus* during anoxia and reoxygenation. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 280, R100-R107. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2001.280.1.R100>.

Lushchak, V.I., Bagnyukova, T.V., Lushchak, O.V., Storey, J.M., Sotery, K.B., 2005. Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common

- carp (*Cyprinus carpio*) tissues. *Int. J. Biochem. Cell. B.* 37, 1319-1330. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.01.006>.
- Lushchak, V.I., Bagnyukova, T.V., 2006a. Effects of different environmental oxygen levels on free radical processes in fish. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 144, 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2006.02.014>.
- Lushchak, V.I., Bagnyukova, T.V., 2006b. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 2. Antioxidant and associated enzymes. *Comp. Biochem. Physiol. C.* 143, 36-41. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2005.11.018>.
- Lushchak, V.I., Bagnyukova, T.V., 2007. Hypoxia induces oxidative stress in tissues of a goby, the rotan *Perccottus glenii*. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 148, 390-397. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2007.07.007>.
- Lushchak, V.I., 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquat. Toxicol.* 101, 13–30. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>.
- Magnoni, L.J., Eding, E., Leguen, I., Prunet, P., Geurden, I., Ozório, R.O.A., Schrama, J.W., 2018. Hypoxia, but not an electrolyte-imbalanced diet, reduces feed intake, growth and oxygen consumption in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Sci. Rep.* 8(1), 4965. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23352-z>.
- Marcek, B.J., Burbacher, E.A., Dabrowski, K., Winslow, K.P., Ludsin, S.A., 2020. Interactive effects of hypoxia and temperature on consumption, growth, and condition of juvenile hybrid Striped Bass. *Trans. Am. Fish. Soc.* 149(1), 71-83. <https://doi.org/10.1002/tafs.10210>.
- Martínez-Álvarez, R.M., Morales, A.E., Sanz, A., 2005. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. *Rev. Fish Biol. Fisheries.* 15, 75-88. <https://doi.org/10.1007/s11160-005-7846-4>
- Martínez-Porchas, M., Martínez-Córdova, L.R., Ramos-Enriquez, R., 2009. Cortisol and Glucose: reliable indicators of fish stress? *Pan-Am. J. Aquat. Sci.* 4(2), 158-178.
- Moraes, G., Avilez, I.M., Altran, A.E., Barbosa, C.C., 2002. Biochemical and hematological responses of the banded knife fish *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) exposed to environmental hypoxia. *Braz. J. Biol.* 62(4A), 633–640. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842002000400011>.

- Ni, M., Wen, H., Li, J., Chi, M., Bu, Y., Ren, Y., Zhang, M., Song, Z., Ding, H., 2014. The physiological performance and immune responses of juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) to stocking density and hypoxia stress. *Fish Shellfish Immunol.* 36, 325-335. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2013.12.002>.
- Nikinmaa, M., 2001. Haemoglobin function in vertebrates: Evolutionary changes in cellular regulation in hypoxia. *Respir. Physiol.* 128, 317-329. [https://doi.org/10.1016/s0034-5687\(01\)00309-7](https://doi.org/10.1016/s0034-5687(01)00309-7).
- Nitz, L.F., Maltez, L.C., Pellegrin, L., Garcia, L.O., Barbas, L.A. L., Prentice-Hernández, C., 2019. Flesh quality and stress responses of *Piaractus mesopotamicus* after exposure to sublethal levels of ammonia and subsequent recovery. *Bol. Inst. Pesca.* 45(1), 352. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.1.325>.
- Nitz, L.F., Pellegrin, L., Maltez, L.C., Pinto, D., Sampaio, L.A., Monserrat, J.M., Garcia, L., 2020a. Temperature and hypoxia on oxidative stress responses in pacu *Piaractus mesopotamicus*. *J. Therm. Biol.* 92, 102682. <https://doi.org/10.1016/j.therbio.2020.102682>.
- Nitz, L.F., Pellegrin, L., Pinto, D.S.B., Maltez, L.C., Copatti, C.E., Garcia, L., 2020b. Secondary stress responses to hypoxia and re-oxygenation at different temperatures in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles. *Aquac. Res.* 51, 4471-4481. <https://doi.org/10.1111/are.14792>.
- Oakes, K.D., Van Der Kraak, G.J., 2003. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluente. *Aquatic. Toxicol.* 63, 447-463. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(02\)00204-7](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(02)00204-7).
- Pellegrin, L., Nitz, L.F., Pinto, D.S.B., Copatti, C.E., Wasielesky, W., Garcia, L., 2021. Effects of suspended solids in the survival and haematological parameters of pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) in a bifloc technology culture system. *Aquac. Res.* 00, 1-9, <https://doi.org/10.1111/are.15575>.
- Pinto, D., Pellegrin, L., Nitz, L.F., Da Costa, S.T., Monserrat, J.M., Garcia, L., 2019. Haematological and oxidative stress responses in *Piaractus mesopotamicus* under temperature variations in water. *Aquac. Res.* 00, 1-11. <https://doi.org/10.1111/are.14260>.
- Pinto, D., Pellegrin, L., Nitz, L.F., Monserrat, J.M., Garcia, L., 2020. Influence of temperature on growth, feed consumption and chemical composition in the muscle of

- Pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquac. Res.* 51, 3760-3767. <https://doi.org/10.1111/are.14726>.
- Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J.L., Moon, T.W., 2012. Glucose metabolism in fish: a review. *J. Comp. Physiol. B.* 182, 1015-1045. <https://doi.org/10.1007/s00360-012-0658-7>.
- Quiang, J., Zhong, C.Y., Bao, J.W., Liang, C., Tao, Y.F., Li, H.X., He, J., Xu, P., 2019. Synergistic effect of the water temperature and dissolved oxygen concentration on rates of fertilization, hatching and deformity of hybrid yellow catfish (*Tachysurus fulvidraco* ♀ × *Pseudobagrus vachellii* ♂). *J. Therm. Biol.* 83, 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.05.003>
- Ranzani-Paiva, M.J.T., de Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., Egami, M.I., 2013. Métodos para análise hematológica e peixes. Maringá: EDUEM.
- Shahjahan, Md., Uddin, Md. H., Bain, V., Haque, Md M., 2018. Increased water temperature altered hemato-biochemical parameters and structure of peripheral erythrocytes in striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. *Fish Physiol. Biochem.* 44, 1309-1318. <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0522-0>
- Shuang, L., Su, X.-l., Zheng, G.-d., Zou, S.-m., 2022. Effects of hypoxia and reoxygenation on gill remodeling, apoptosis, and oxidative stress in hypoxia-tolerant new variety blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Fish Physiol. Biochem.* 48, 263-274. <https://doi.org/10.1007/s10695-022-01047-7>
- Sun, Y.X., Dong, H.B., Zhan, A.J., Wang, W.H., Duan, Y.F., Xie, M., Liu, Q.S., Li, H., Zhang, J.S., 2020. Protection of teprenone against hypoxia and reoxygenation stress in stomach and intestine of *Lateolabrax maculatus*. *Fish Physiol. Biochem.* 46, 575-584. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00732-4>
- Ultsch, G.R., Nordlie, F.G., 2019. The case for reporting PO₂ (partial pressure of oxygen), in addition to DO (dissolved oxygen), in studies of aquatic systems. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Amp. Interg. Physiol.* 235: 66-68. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.05.007>.
- UNESCO, 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Intergovernmental Oceanographic Commission, Paris.

- Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Pilarski, F., 2016. South American fish for continental aquaculture. *Rev. Aquac.* 0, 1-19. <https://doi.org/10.1111/raq.12164>
- Vinagre, C., Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H.N., Diniz, M., 2012. Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Ecol. Indic.* 23, 274-279. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.04.009>.
- Wang, M., Wu, F., Xie, S., Zhang, L., 2021. Acute hypoxia and reoxygenation: Effect on oxidative stress and hypoxia signal transduction in the juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquac.* 531, 735903. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735903>.
- Welker, A.F., Moreira, D.C., Campos, É.G., Hermes-Lima, M., 2013. Role of redox metabolism for adaptation of aquatic animals to drastic changes in oxygen availability. *Comp. Biochem. Physiol. Part A: Mol. Integ. Physiol.* 165, 384-404. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.04.003>
- Witeska, M., 2013. Erythrocytes in teleost fishes: a review. *Zool. Ecol.* 23(4), 275-281. <http://dx.doi.org/10.1080/21658005.2013.846963>.
- Wood, A.T., Andrewartha, S.J., Elliott, N.G., Frappell, P.B., Clark, T.D., 2019. Hypoxia during incubation does not effect aerobic performance or haematology of Atlantic salmon (*Salmo salar*) when re-exposed in later life. *Conserv. Physiol.* 7(1), coz088. <https://doi.org/10.1093/conphys/coz088>.
- Wu, Z., You, F., Wen, A., Ma, D., Zhang, P., 2016. Physiological and morphological effects of severe hypoxia, hypoxia and hyperoxia in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquac. Res.* 47, 219-227. <https://doi.org/10.1111/are.12453>.
- Yang, S., Yan, T., Zhao, L., Wu, H., Du, Z., Yan, T., Xiao, Q., 2018. Effects of temperature on activities of antioxidant enzymes and Na⁺/K⁺ ATPase, and hormone levels in *Schizothorax prenanti*. *J. Therm. Biol.* 72, 155-160. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.02.005>
- Zhang, G., Mao, J., Liang, F., Chen, J., Zhao, C., Yin, S., Wang, L., Tang, Z., Chen, S., 2016. Modulated expression and enzymatic activities of Darkbarbel catfish, *Pelteobagrus vachelli* for oxidative stress induced by acute hypoxia and reoxygenation. *Chemosphere.* 151, 271-279. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.072>.

Tabelas

Tabela 1 - Resultados de desempenho zootécnico e sobrevivência de juvenis de pacu (*P. mesopotamicus*) expostos à interação entre diferentes temperaturas e reoxigenação abrupta (20 min) ou gradual (5 h), ou mantidos apenas sob normóxia (7,40 mg O₂ L⁻¹) por 45 dias.

Variáveis	24°C			27°C		
	Normóxia	Abrupta	Gradual	Normóxia	Abrupta	Gradual
PF (g)	31,84 ± 1,05 ^{Ba}	35,01 ± 1,24 ^{Ba}	32,74 ± 1,14 ^{Ba}	53,00 ± 2,03 ^{Aa}	49,89 ± 1,68 ^{Aa}	52,03 ± 1,61 ^{Aa}
CT (cm)	10,96 ± 0,11 ^{Ba}	11,24 ± 0,16 ^{Ba}	11,19 ± 0,13 ^{Ba}	13,00 ± 0,18 ^{Aa}	12,96 ± 0,15 ^{Aa}	13,05 ± 0,16 ^{Aa}
GP (g)	16,94 ± 0,94 ^{Ba}	17,78 ± 1,28 ^{Ba}	17,53 ± 1,06 ^{Ba}	38,55 ± 2,25 ^{Aa}	33,08 ± 1,82 ^{Aa}	35,86 ± 1,69 ^{Aa}
TCE (% por dia)	37,65 ± 2,10 ^{Ba}	39,51 ± 2,85 ^{Ba}	38,95 ± 2,36 ^{Ba}	85,67 ± 4,52 ^{Aa}	73,52 ± 4,05 ^{Aa}	79,69 ± 3,76 ^{Aa}
FC (g cm ⁻³)	2,37 ± 0,03 ^{Aa}	2,39 ± 0,05 ^{Aa}	2,33 ± 0,04 ^{Aa}	2,39 ± 0,01 ^{Aa}	2,31 ± 0,01 ^{Ab}	2,33 ± 0,03 ^{Aab}
S (%)	100	100	100	100	100	100

Os dados são expressos como média ± EP (n = 36). Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as temperaturas na mesma taxa de reoxigenação (p < 0,05). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as taxas de reoxigenação na mesma temperatura (p < 0,05). Abreviações: PF, peso final; CT, comprimento total; GP, ganho de peso; TCE, taxa de crescimento específico; FC, fator de condição corporal; S, sobrevivência.

Tabela 2 - Parâmetros hematológicos de juvenis de pacu (*P. mesopotamicus*) expostos à interação entre diferentes temperaturas e reoxigenação abrupta (20 min) ou gradual (5 h), ou mantidos apenas sob normóxia (7,40 mg O₂ L⁻¹) e por 45 dias.

Variáveis	24 °C			27 °C		
	Normóxia	Abrupta	Gradual	Normóxia	Abrupta	Gradual
Glicose (mg L⁻¹)	63,67 ± 1,83 ^{Ba}	67,22 ± 1,47 ^{Ba}	69,33 ± 1,93 ^{Ba}	72,78 ± 3,13 ^{Aa}	77,22 ± 3,42 ^{Aa}	78,00 ± 3,28 ^{Aa}
pH (un)	7,42 ± 0,03 ^{Aa}	7,51 ± 0,02 ^{Aa}	7,49 ± 0,04 ^{Aa}	7,47 ± 0,02 ^{Aa}	7,52 ± 0,03 ^{Aa}	7,52 ± 0,03 ^{Aa}
Htc (%)	27,44 ± 1,23 ^{Aa}	26,56 ± 1,72 ^{Aa}	27,56 ± 1,75 ^{Aa}	29,33 ± 1,85 ^{Aa}	30,33 ± 1,80 ^{Aa}	29,67 ± 1,87 ^{Aa}
Eri (10⁶ μL⁻¹)	1,75 ± 0,09 ^{Aa}	1,57 ± 0,09 ^{Aa}	1,54 ± 0,14 ^{Aa}	1,70 ± 0,04 ^{Aa}	1,51 ± 0,04 ^{Ab}	1,41 ± 0,07 ^{Ab}
Hb (g dL⁻¹)	7,80 ± 0,12 ^{Ba}	7,64 ± 0,15 ^{Aa}	7,71 ± 0,21 ^{Aa}	8,63 ± 0,20 ^{Aa}	7,19 ± 0,19 ^{Ab}	7,59 ± 0,23 ^{Ab}
VCM (fL)	169,03 ± 5,69 ^{Aa}	160,64 ± 7,66 ^{Ba}	170,48 ± 10,41 ^{Ba}	179,20 ± 6,47 ^{Ab}	194,55 ± 6,92 ^{Aab}	209,80 ± 8,41 ^{Aa}
HCM (pg)	45,37 ± 2,38 ^{Aa}	45,76 ± 1,21 ^{Aa}	50,85 ± 2,40 ^{Aa}	50,97 ± 1,51 ^{Aa}	47,61 ± 1,10 ^{Aa}	52,84 ± 1,83 ^{Aa}
CHCM (g dL⁻¹)	29,04 ± 1,81 ^{Aa}	28,71 ± 1,59 ^{Aa}	27,95 ± 1,99 ^{Aa}	30,32 ± 2,01 ^{Aa}	24,48 ± 1,83 ^{Aa}	26,31 ± 1,67 ^{Aa}

Os dados são expressos como média ± EP (n = 9). Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as temperaturas na mesma taxa de reoxigenação (p < 0,05). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as taxas de reoxigenação na mesma temperatura (p < 0,05). Abreviações: Hct, hematócrito; Eri, eritrócitos; Hb, hemoglobina; VCM, volume corpuscular médio; HCM, hemoglobina corpuscular média; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média.

Legendas das figuras

Figura 1 - Capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP) nas brânquias (A), cérebro (B), fígado (C) e músculo (D) de juvenis de pacu (*P. meropotamicus*) expostos à interação entre diferentes temperaturas e reoxigenação abrupta (20 min) ou gradual (5 h), ou mantidos apenas sob normóxia (7,40 mg O₂ L⁻¹), por 45 dias. Resultados expressos em média ± EPM (n = 9). Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as temperaturas na mesma taxa de reoxigenação (p <0,05). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as taxas de reoxigenação na mesma temperatura (p <0,05).

Figura 2 - Peroxidação lipídica (LPO) nas brânquias (A), cérebro (B), fígado (C) e músculo (D) de juvenis de pacu (*P. meropotamicus*) expostos à interação entre diferentes temperaturas e reoxigenação abrupta (20 min) ou gradual (5 h), ou mantidos apenas sob normóxia (7,40 mg O₂ L⁻¹), por 45 dias. Resultados são expressos em média ± EPM (n = 9). Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as temperaturas na mesma taxa de reoxigenação (p <0,05). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as taxas de reoxigenação na mesma temperatura (p <0,05).

Figura 1

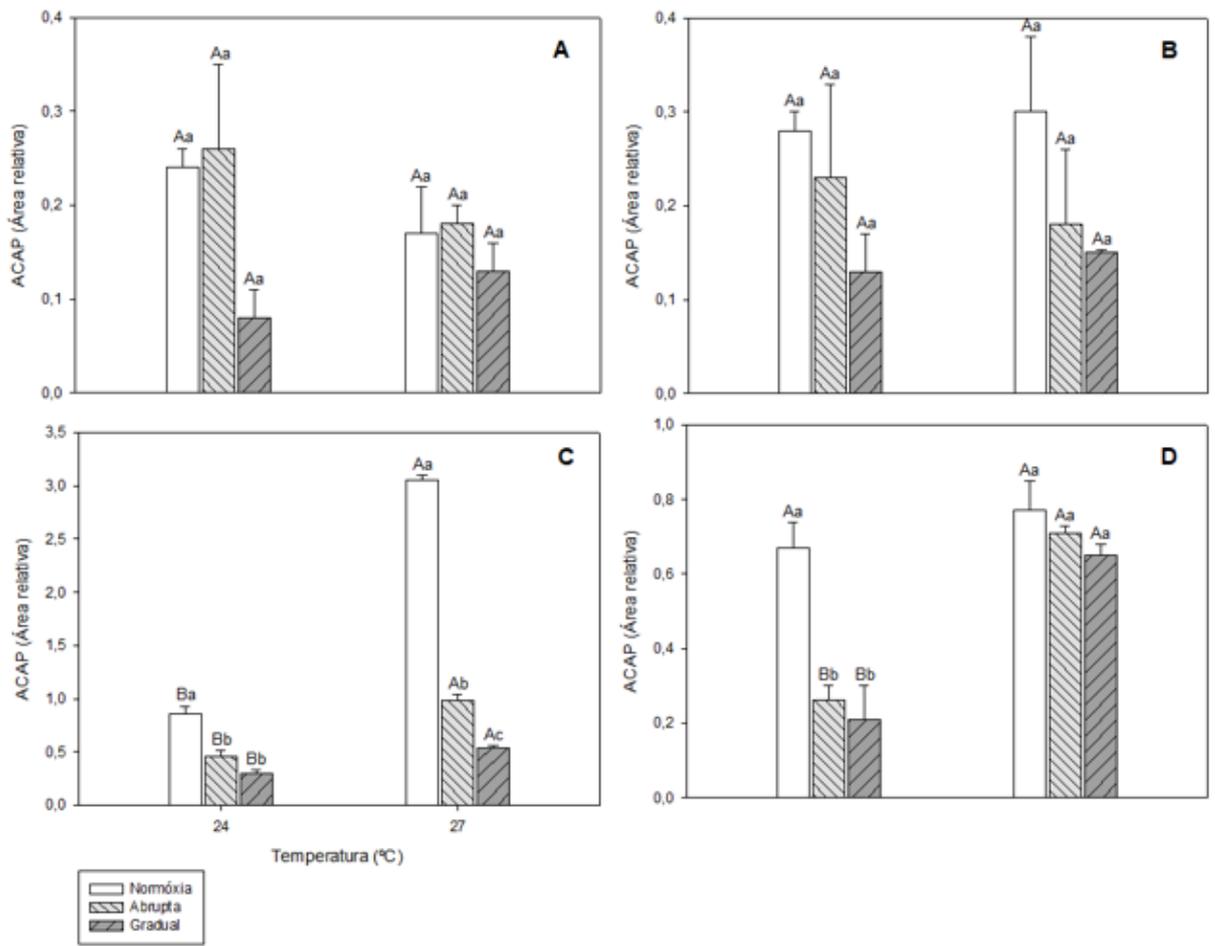


Figura 2

