

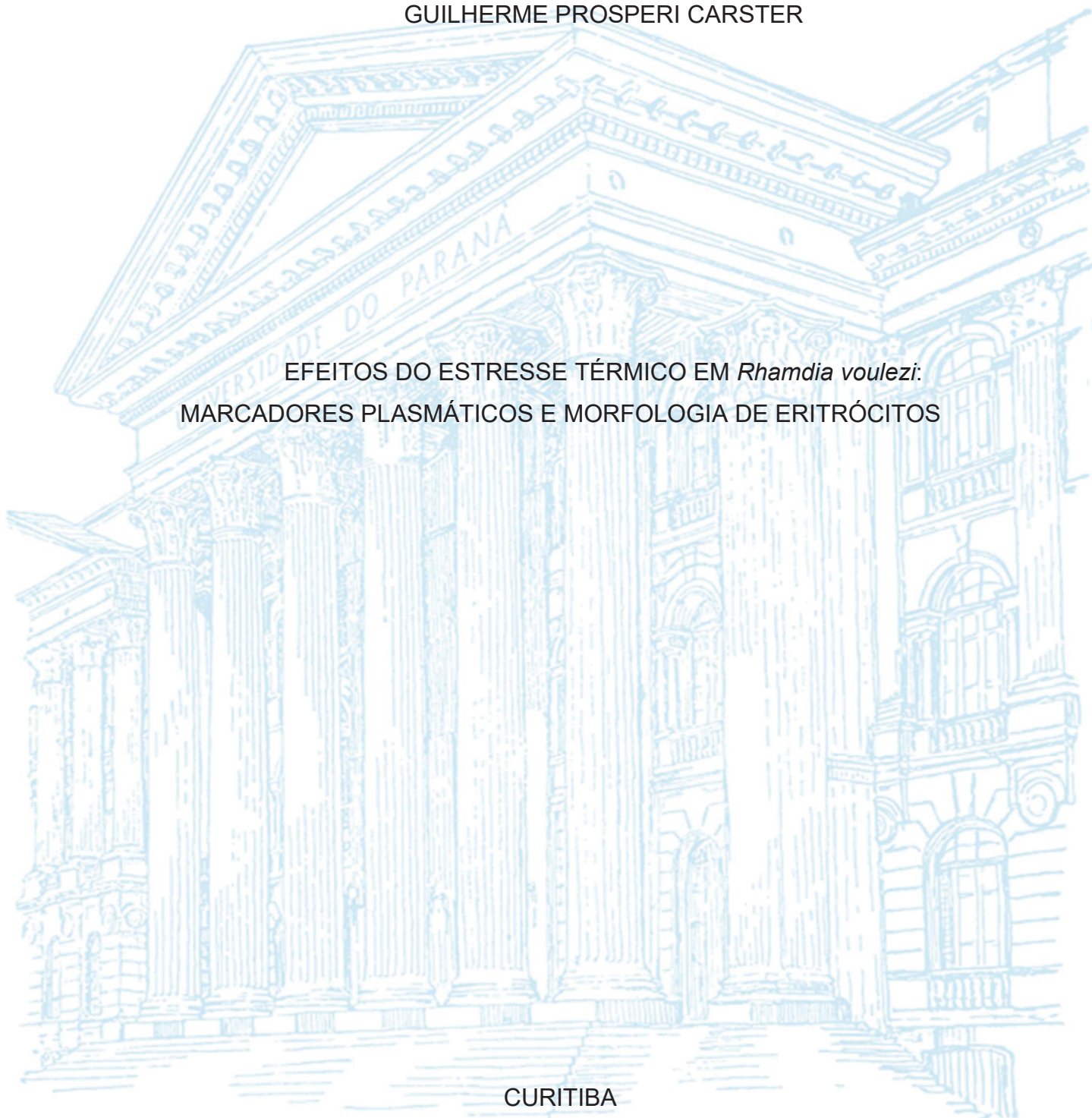
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GUILHERME PROSPERI CARSTER

EFEITOS DO ESTRESSE TÉRMICO EM *Rhamdia voulezi*:
MARCADORES PLASMÁTICOS E MORFOLOGIA DE ERITRÓCITOS

CURITIBA

2021



GUILHERME PROSPERI CARSTER

EFEITOS DO ESTRESSE TÉRMICO EM *Rhamdia voulezi*:
MARCADORES PLASMÁTICOS E MORFOLOGIA DE ERITRÓCITOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dr^a Lucélia Donatti

CURITIBA

2021

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas
(Giana Mara Seniski Silva – CRB/9 1406)

Carster, Guilherme Prospero

Efeitos do estresse térmico em *Rhamdia voulezi* : marcadores plasmáticos e morfologia de eritrócitos. / Guilherme Prospero Carster. – Curitiba, 2021.

76 p.: il.

Orientadora: Lucélia Donatti.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular.

1. Peixes. 2. Temperatura – Efeito fisiológico. 3. Estresse oxidativo. 4. Resposta ao choque térmico. 5. Eritrócitos. I. Título. II. Donatti, Lucélia, 1964-. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular.

CDD (22. ed.) 597.49



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO BIOLOGIA CELULAR E
MOLECULAR - 40001016007P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **GUILHERME PROSPERI CARSTER** intitulada: **Efeitos do estresse térmico em Rhamdia voulezi: marcadores plasmáticos e morfologia de eritrócitos**, sob orientação da Profa. Dra. LUCELIA DONATTI, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 27 de Abril de 2021.

Assinatura Eletrônica 28/04/2021 18:37:59.0

LUCELIA DONATTI

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica 30/04/2021 12:05:59.0

SILVIA ROMÃO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL)

Assinatura Eletrônica 28/04/2021 18:13:00.0

TATIANA HERRERIAS

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE)

“Eu não sou especialmente inteligente, nem especialmente dotado.
Sou apenas curioso, muito curioso.
Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, eu devo a vida e todas as oportunidades que nela tive e que espero um dia poder lhes retribuir.

À Prof^a. Dr^a. Lucélia Donatti, que ao longo de todo meu percurso eu tive o privilégio de trabalhar de perto. Sem ela não seria possível estar aqui hoje de coração repleto de orgulho.

À Prof^a. Dr^a. Maria Rosa Dmengeon Pedreiro de Souza pelo auxílio na execução de várias etapas deste trabalho, sempre com imensa dedicação e competência.

Amigos, família, a vocês eu deixo uma palavra gigante de agradecimento. Hoje sou uma pessoa realizada e feliz porque não estive só nesta longa caminhada. Vocês foram meu apoio.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa e pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular da UFPR e aos professores que contribuíram para a minha formação.

À banca examinadora, professoras doutoras Silvia Romão (UFFS – Campus Laranjeiras do Sul/PR) e Tatiana Herrerias (UNICENTRO – Guarapuava/PR) por aceitarem o convite e pela disponibilidade em realizar a correção desta dissertação.

E por fim, a quem não mencionei, mas esteve junto eu prometo reconhecer essa proximidade, ajuda e incentivo todos os dias da minha vida.

RESUMO

Os peixes apresentam estratégias conhecidas como respostas ao estresse, para enfrentar os estressores ambientais, as quais estão relacionadas à sua evolução e estilo de vida. Peixes tropicais convivem próximos dos seus limites superiores de tolerância térmica e os parâmetros plasmáticos, além das alterações morfológicas, são utilizados como identificadores fisiológicos de resposta ao estresse, sendo que suas alterações podem ser resultados do choque térmico. Este trabalho teve como objetivo analisar o efeito do estresse térmico sobre a morfologia de eritrócitos e nos parâmetros plasmáticos em *Rhamdia voulezi*, expostos a temperaturas de $21 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ (controle) e $31 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ (experimental) por 2, 6, 12, 24 ou 96 horas. Análises morfológicas dos eritrócitos mostraram que o aumento de temperatura ocasionou maior frequência de alterações no formato celular e vesículas na membrana plasmática do eritrócito, como também a ocorrência de lise celular. Cortisol, glicose e aspartato aminotransferase aumentaram a atividade (24h), sendo que estes marcadores sofreram alterações somente ao longo dos tempos. Em *R. voulezi* o aumento da temperatura a 31°C diminuiu os níveis de ureia (12h). Proteínas totais e fósforo tiveram aumento em 24h de exposição e foram alterados pela interação das duas variáveis testadas neste trabalho, tempo e temperatura. Os resultados obtidos indicam que *R. voulezi* tem plasticidade metabólica para manter a homeostase celular nas temperaturas testadas (21°C e 31°C).

Palavras-chave: Peixes tropicais. Temperatura. Estresse celular. Glóbulos vermelhos. Parâmetros hematológicos.

ABSTRACT

plasma parameters

Fish present strategies known as stress responses, to face environmental stressors, which are related to their evolution and lifestyle. Tropical fish live near their thermal limit and plasma parameters, in addition to morphological alterations, are used as physiological indicators of stress response that can result from a thermal shock. This study had the objective of analyzing the thermal stress effect on the erythrocytes morphology and the plasma parameters in *Rhamdia voulezi*, exposed to the temperatures of $21 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ (control) e $31 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ (experimental) for 2, 6, 12, 24 and 96 hours. Morphological analysis of the erythrocytes showed that the increase in temperature caused a higher frequency of alterations in cell shape and vesicles in the plasma membrane of the erythrocyte, as well as cellular lysis. Cortisol, glucose and aspartate aminotransferase increased their activities (24h), and they suffered alterations along the exposure time. In *R. voulezi*, the increase in temperature to 31°C reduced the levels of urea (12h). Total protein and phosphorus had an increase in 24h of exposure and were altered by the interaction of the two variables tested in this study: time and temperature. The obtained results indicate that *R. voulezi* presents metabolic plasticity to maintain cellular homeostasis in the tested temperatures (21°C and 31°C).

Keywords: Tropical fishes. Temperature. Cellular stress. Red blood cells. Hematological parameters.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - SEQUÊNCIA DE RESPOSTA AO ESTRESSE.....	5
FIGURA 2 - LOCAL DE ESTUDO: BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO IGUAÇU ..	13
Figura 3 – LOCALIZAÇÃO DA BACIA DO RIO IGUAÇU NA AMÉRICA DO SUL E NO BRASIL, MOSTRANDO OS LIMITES DAS REGIÕES DO ALTO, MÉDIO E BAIXO RIO IGUAÇU	14
Figura 4 - ESPÉCIE ESTUDADA: <i>Rhamdia voulezi</i>	16
Figura 5 – TANQUES UTILIZADOS PARA ACLIMATAÇÃO DE <i>Rhamdia voulezi</i>	18
Figura 6 – COLETA DE SANGUE DE <i>Rhamdia voulezi</i>	20
FIGURA 7 - ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS OBSERVADAS EM ERITRÓCITOS DE RHAMDIA VOULEZI FRENTE AO ESTRESSE TÉRMICO DE CURTO PRAZO I	24
Figura 8 - ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS OBSERVADAS EM ERITRÓCITOS DE <i>Rhamdia voulezi</i> FRENTE AO ESTRESSE TÉRMICO DE CURTO PRAZO II	25
Figura 9 – NÍVEIS DOS MARCADORES PLASMÁTICOS <i>Rhamdia voulezi</i> FRENTE AO ESTRESSE TÉRMICO DE CURTO PRAZO I	28
Figura 10 – NÍVEIS DOS MARCADORES PLASMÁTICOS <i>Rhamdia voulezi</i> FRENTE AO ESTRESSE TÉRMICO DE CURTO PRAZO II	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - RESULTADOS DO TESTE DE ANOVA (DUAS-VIAS) PARA OS MARCADORES PLASMÁTICOS DE Rhamdia voulezi.....	27
------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	ESTRESSE CELULAR.....	1
1.2	ESTRESSE TÉRMICO EM PEIXES	5
1.3	ERITRÓCITOS E TEMPERATURA	10
1.4	RIO IGUAÇU E <i>Rhamdia voulezi</i>	12
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1	COLETAS E ACLIMATAÇÃO DE <i>Rhamdia voulezi</i>	17
3.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	18
3.3	PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS	20
3.3.1	ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS	20
3.3.2	MARCADORES PLASMÁTICOS	21
4	RESULTADOS.....	22
4.1	ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS	23
4.2	MARCADORES PLASMÁTICOS	26
5	DISCUSSÃO	30
5.1	ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS	30
5.2	MARCADORES PLASMÁTICOS	31
6	CONCLUSÃO	37
7	BIBLIOGRAFIA	38

1 INTRODUÇÃO

1.1 ESTRESSE CELULAR

A estrutura biológica dos ecossistemas é influenciada por agentes de natureza química (COSTA et al., 2004), dentre eles, poluentes orgânicos e inorgânicos (CARVALHO e FERNANDES, 2006) e estressores físicos como temperatura, manuseio, captura ou transporte e densidade populacional (URBINATI et al., 2004).

Para poder lidar com as variações ambientais, as populações biológicas possuem mecanismos fisiológicos e ecológicos que possibilitam adaptações a estas variações e que envolvem todos os níveis de organização, desde a célula (HIGHTOWER, 1991) até a estrutura populacional (ADAMS, 1990). Comunidades existentes em diferentes ecossistemas respondem de forma distinta a agentes estressores (SMITH, 2012) ocasionando muitas vezes a perda da biomassa (VAN DORST et al., 2019), danos a biodiversidade (FICKE, MYRICK e HANSEN, 2007) e aumento da susceptibilidade a patógenos e a doenças infecciosas (INOUE, SANTOS-NETO e MORAES, 2003; BOWDEN, 2008; LEE, JI e CHOI, 2014).

Ao longo do processo evolutivo a sobrevivência dos organismos esteve relacionada a capacidade de se ajustar aos agentes estressores (WENDELAAR BONGA, 1997; BARTON, 2002; OBA et al., 2009; COGO et al., 2009). O agente estressor desencadeia um conjunto de respostas tanto comportamental quanto fisiológica no ser vivo, permitindo uma adaptação para a sua sobrevivência (IVERSEN, 2009), através da recuperação da homeostase (CHROUSUS, 2009). O desenvolvimento de sistemas antioxidantes para proteger as células de espécies reativas de oxigênio (EROs) (DROGE, 2002; LUO et al., 2014) é um exemplo. Quando os sistemas de defesa antioxidantes são ineficazes na neutralização da formação de EROs, a função celular pode ser afetada (LESSER, 2006; COPATTI et al., 2019). Esse desequilíbrio entre a produção das EROs e o sistema antioxidante é chamado de estresse oxidativo e pode levar a distúrbios metabólicos e funcionais (CHENG et al., 2015; LUO et al., 2015a; DA COSTA e STREIT, 2019).

A formação de EROs ocorre prioritariamente em função da produção mitocondrial de ATP de forma aeróbica (ZEBRAL, 2019). O gás oxigênio passou a ser metabolizado no processo de respiração, e é responsável pela produção de radicais estressores como íon superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (OH) e oxigênio livre (O) ou até mesmo espécies reativas de nitrogênio, como o peroxinitrito (PAMPLONA e CONSTANTINI, 2011). Essas espécies reativas podem ser letais as células (STADTMAN e LEVINE, 2000; STOLIAR e LUSHCHAK, 2012, ARMILIATO, 2014, MASSARSKY, KOZAL e DI GIULIO, 2017). As EROs acarretam danos a membrana celular, através da peroxidação lipídica (LPO) devido à alta concentração de ácidos graxos poli-insaturados (AURICH, 2005; MARTÍNEZ-PÁRAMO et al., 2012; CHENG et al., 2018).

O termo estresse é uma expressão genérica que se refere a ajustes fisiológicos, tais como ritmo cardíaco e respiratório e temperatura, os quais ocorrem durante a exposição do animal a condições adversas (BROSSI et al., 2009). Segundo Kooalhaas et al. (2011) o estresse pode ser definido como uma condição onde uma demanda ambiental excede a capacidade natural regulatória de um organismo ou conforme Schreck e Tort (2016) o estresse é resultado de respostas fisiológicas a situações de ameaça, ao tentar evitar a fatalidade ou restabelecer a homeostase em relação ao distúrbio negativo.

As respostas ao estresse podem ser agudas ou crônicas (IWANA, 1993) e segundo Boonstra (2013) não devem ser baseadas na duração do agente estressor e sim na duração das consequências na fisiologia do animal. O estresse agudo possui uma duração limitada e com forte magnitude e geralmente é motivado por ocorrências temporárias. Este processo é acompanhado de efeitos imunossupressores, catabólicos e antianabólicos, temporariamente benéficos e sem consequências particularmente adversas. Mas estudos recentes têm mostrado evidências de que estressores ambientais agudos podem induzir danos ao DNA (LUO et al., 2016a; CHENG et al., 2017). Como exemplo, podemos citar a biometria e o transporte dos peixes, possuindo um efeito imunossupressor (CASTRO e FERNANDES, 2009). O crônico ocorre quase diariamente e com menor intensidade e atinge a maioria das espécies por um período longo. No

estresse crônico, o peixe geralmente não consegue restabelecer as características de homeostase (SCHERECK, 2000).

Muitos fatores determinam a resposta fisiológica ao estresse (FLOHR et al., 2017) e existe uma organização hierárquica entre as diferentes respostas comportamentais para cada espécie (BAERENDS; BRAUWER e WALTERBOLK, 1955; BATESON e GLUCKMAN, 2012). As respostas ao estresse envolvem todos os níveis de organização do animal, sendo chamadas de respostas integradas ao estresse (JOËLS e BARAM, 2009; KOAKOSKI et al., 2012), caracterizando a Síndrome da Adaptação Geral (SAG) (SELYE, 1936).

A SAG é composta por três fases sucessivas chamadas de reação de alarme, estágio de resistência e estágio de exaustão (SILVA e GOULART, 2018) ou fase primária, secundária e terciária (WENDEMEYER et al., 1990; BARTON, 2002; DAVIS, 2004) (Figura 1). A SAG é uma abordagem geral da resposta ao estresse, mas generaliza as respostas para todos os fatores estressantes, o que não ocorre na prática (BARCELLOS et al., 2018).

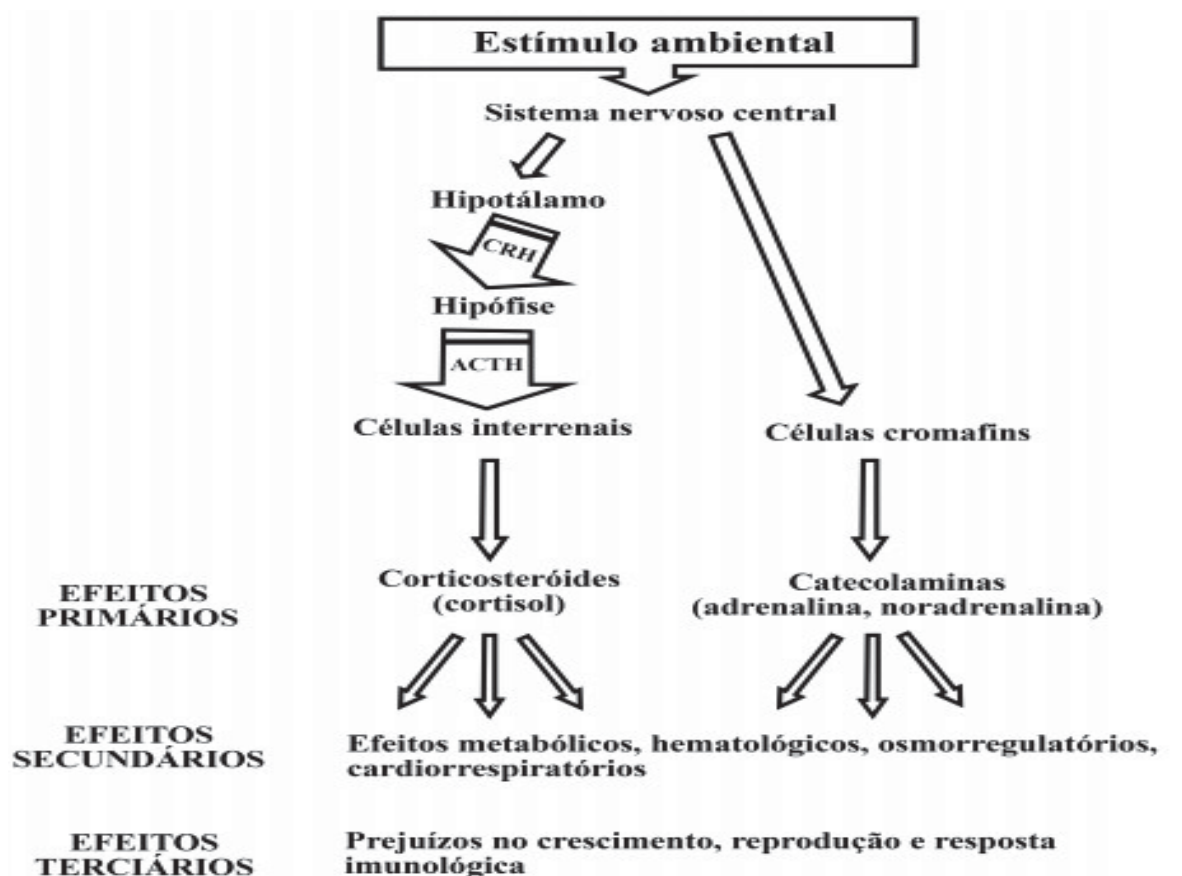
A resposta primária ao estresse compreende a ativação de dois eixos neuroendócrinos: eixo Hipotálamo-Sistema Nervoso Simpático-Células Cromafins (HSC) e o eixo Hipotálamo-Hipófise-Interrenal (HHI) (CASTRO e FERNANDES, 2009; KOAKOSKI et al., 2012) com consequente liberação de catecolaminas (entre elas adrenalina e noradrenalina) e corticosteroides (como o cortisol e a cortisona) (SCHRECK e TORT, 2016). Quando um estressor é percebido pelo organismo há um estado de alerta com uma série de alterações fisiológicas decorrentes de uma cascata hormonal que produz as respostas iniciais ao estresse (SCHRECK, 2000), dentre elas, uma mudança no comportamento alimentar que pode ser desencadeado por meio de aminoácidos ou outras substâncias de valor apetitivo (CANDELIER et al., 2015). Essas alterações também envolvem a ativação de mecanismos cerebrais, que facilitam o nível de adaptabilidade ao ambiente através do consumo de energia, disponíveis para lidar com alterações no estado basal de funcionamento (LUPIEN et al., 2007).

Na resposta secundária ao estresse ocorrem mudanças nas taxas respiratória e cardiovascular (RODNICK e PLANAS, 2016) acarretando, dentre outros, aumento dos batimentos cardíacos, da absorção de oxigênio, da

mobilização de substratos de energia e a perturbação do balanço hidromineral, causado pela alteração da adrenalina (IWAMA et al., 1999; AFONSO et al., 2008). Alterações nos níveis plasmáticos de aminoácidos, ácidos graxos livres e colesterol também podem ocorrer (MARTINS DA ROCHA, CARVALHO e URBINATI, 2004). Se o estresse persiste, mas não o suficiente para acarretar a morte, o animal entra na fase de resistência, onde ele tenta se adaptar utilizando os mecanismos de proteção ao estressor (SCHRECK, OLLA e DAVIS, 1997). Nessa fase o organismo pode superar o estressor e se aproximar dos níveis homeostáticos normais ou iniciar uma trajetória a qual pode levar a morte (GONÇALVES et al., 2008).

Na resposta terciária a o estresse, os agentes estressores podem induzir uma série de alterações patológicas e a resposta ao estresse pode perder seu valor adaptativo e se tornar disfuncional (BALDISSEROTTO, 2002; KOEYPUDSA e JONGJAREANJAI, 2011). Alterações na saúde e resistência a doenças (CONTE, 2004; YADA e TORTO, 2016), no fluxo da demanda energética levando ao baixo crescimento dos peixes (SADOUL e VIJAYAN, 2016), nas taxas de reprodução do animal, atingindo dessa forma populações inteiras de peixes (PANKHURTS, 2016), além de poder conduzir à morte do animal (BARTON, 1997), são alguns exemplos.

FIGURA 1 - SEQUÊNCIA DE RESPOSTA AO ESTRESSE



LEGENDA: CHR: Hormônio Liberador de Corticotrofinae ACTH: Hormônio Adrenocorticotrófico. FONTE: URBINATI e CARNEIRO, 2004.

1.2 ESTRESSE TÉRMICO EM PEIXES

Os peixes fazem parte de um dos grupos de animais mais diversos do planeta possuindo uma gama de hábitos alimentares, métodos reprodutivos, ciclos de vida e as mais importantes respostas às alterações ambientais (OBA; MARIANO e SANTOS, 2009).

Segundo SILVA (2000), o estresse térmico é definido como a força exercida pelos componentes do ambiente térmico sobre um organismo, causando nele uma reação fisiológica proporcional à intensidade da força aplicada e a capacidade do organismo em compensar os desvios causados pela força.

Eventos climáticos extremos são evidências das mudanças climáticas globais e estão se tornando cada vez mais frequentes e intensos desde a última década do século XX, resultando em significativos impactos ambientais e socioeconômicos (STOCKER, 2014; LAZOGLOU et al., 2019). As mudanças

climáticas globais são uma grande ameaça à sobrevivência das espécies e ecossistemas, principalmente os aquáticos (MERINO et al., 2012; COX, HUNTINGFORD e WILLIAMSON, 2018; IPCC, 2019). O aquecimento global em escalas regionais resulta em maior variabilidade de mudanças ambientais extremas e maior probabilidade de ocorrência (IMADA et al., 2018; EL KENAWY et al., 2019).

A temperatura é um fator abiótico que deve ser analisado no contexto dos seus múltiplos efeitos nos peixes (FRY, 1947; GONZÁLEZ-MIRA et al., 2016). Temperaturas adequadas promovem o crescimento e desenvolvimento dos peixes, enquanto temperaturas que excedem um limite específico têm efeitos negativos (VIDAL et al., 2008; ALAM, RAHMAN e PARWEEN, 2014; LEAL et al., 2018). A fisiologia e o metabolismo em animais ectotérmicos sofre influência direta da temperatura da água (PORTNER et al., 2001; DÜLGER et al., 2012; MATOO et al., 2013; LEE et al., 2014; CHENG et al., 2018; FU et al., 2018; ISLAM et al., 2020).

Fatores fisiológicos combinados com fatores anatômicos e ambientais fazem com que a temperatura corporal dos peixes se adapte às temperaturas da água (BEITINGER; BENNETT e MCCAULEY, 2000). Através da passagem do sangue pelas lamelas primárias e secundárias das brânquias durante o processo respiratório, a temperatura corporal é resfriada pela água (SCHMIDT-NIELSEN, 2010). Os peixes possuem sensibilidade térmica devido às terminações nervosas especializadas que contêm um conjunto de canais iônicos específicos (SAITO e SHINGAI, 2006) responsáveis pelas respostas comportamentais frente à exposição ao calor e ao frio (PROBER, ZIMMERMAN e MYERS, 2008). Exposições prolongadas desencadeiam uma sequência de reações adaptativas que visam otimizar a diversidade de processos metabólicos fundamentais, mas também a reestruturação dos parâmetros estruturais e funcionais do tecido do animal (MCCLELLAND et al., 2006).

As espécies de peixes possuem uma faixa de tolerância à temperatura na qual pode sobreviver e uma faixa mais estreita onde sua *performance* e seu crescimento saudável é ótimo (WILSON e NAGLER, 2006; KATERSKY e CARTER, 2007; SHARMA et al., 2015, CHOUGULE, 2018). A temperatura crítica

máxima (CTMax), caracteriza o limite máximo de temperatura onde as funções fisiológicas ocorrem (SOMERO, 2009). Os padrões globais de temperatura e precipitação mudaram acentuadamente nas últimas décadas e devem mudar ainda mais (JEPPESEN et al., 2015) fazendo com que as espécies de peixes sobrevivam próximos as suas CTMax. Os limites superiores tendem a se tornarem críticos com maior facilidade que os inferiores (ODUM, 2010).

A tolerância térmica está fortemente ligada às variações de temperatura pelas quais as espécies são submetidas no seu habitat natural, sendo interespecífica (HOCHACHKA e SOMERO, 2002). Os peixes são capazes de aumentar sua tolerância ao calor, mais rapidamente do que podem aumentar sua tolerância a baixas temperaturas (DOUDOROFF, 1942; BRETT, 1946; DAVIES, 1973). Juvenis de muitas espécies de peixes preferem temperaturas mais quentes quando comparados com indivíduos adultos (MCCAULEY e HUGGINS, 1979; PEDERSEN e JOBLING, 1989).

As espécies temperadas de peixes são menos tolerantes ao calor do que as tropicais (DEUTSCH et al., 2008; TEWKSBURY et al., 2008) que convivem próximas dos seus limites superiores de tolerância térmica, muitas vezes em ambientes com a temperatura acima da ideal para que os processos fisiológicos ocorram de forma correta (PECK et al., 2014).

A tolerância térmica a altas temperaturas reflete as habilidades morfológicas e fisiológicas dos peixes, mas, ao longo do tempo, coloca em risco a sobrevivência das espécies frente às mudanças climáticas globais. Pode ocorrer desvio energético para a obtenção de oxigênio, diminuindo assim, o crescimento quando a temperatura se encontra acima da temperatura ideal do animal (GOMES et al., 2000). A taxa metabólica do consumo de oxigênio pode ser influenciada pelo aumento da temperatura (BAGNYUKOVA et al., 2007; MCBRYAN et al., 2013; REMEN et al., 2016) e um aumento na formação de EROs pode ocorrer como consequência direta do estresse térmico ou da re-oxigenação do tecido durante a recuperação (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999; CHENG et al., 2018). As EROs aumentam os fatores de choque térmico (LESSER, 2011; OLSVIK et al., 2013) e a interação entre estresse oxidativo, antioxidantes e HSPs são extremamente importantes para a sobrevivência de

uma espécie, através de ligações nas proteínas não-nativas impedindo que essas proteínas se agreguem irreversivelmente (HEISE et al., 2006; Li et al., 2013).

O aumento da temperatura da água pode levar a efeitos deletérios nos organismos aquáticos, por exemplo, promovendo a depressão metabólica (AURÉLIO et al., 2013) e mudanças acentuadas na maquinaria fisiológica que desempenham um papel fundamental na defesa celular (MADEIRA et al., 2013). A capacidade dos organismos de se adaptarem ao aumento da temperatura apresentará grandes desafios em nível de espécie, população e comunidade (MAULVAULT et al., 2017).

É essencial compreender o impacto do aumento da temperatura na resposta fisiológica, no desempenho do crescimento e em outros parâmetros relevantes para os peixes (ALMEIDA; GRAVATO; GUILHERMINO, 2015; CAMPOS et al., 2019). O estresse a alta temperatura pode induzir apoptose em peixes (CHENG et al., 2015), modificar o custo energético do equilíbrio fisiológico e da regulação osmótica e iônica (DE BOECK et al., 2015; SHRIVASTAVA et al., 2017), alterar o cortisol, metabólitos e concentrações iônicas plasmáticas (VANDER VYVER et al., 2013; ALMEIDA et al., 2015; SILVEIRA et al., 2018) e ocasionar alterações histológicas no fígado (ISLAM et al., 2020).

Temperaturas mais altas ativam mecanismos de transporte de íons e enzimáticos com o custo de energia do crescimento (SILVEIRA et al., 2018). Níveis elevados de cortisol fornecem fortes evidências de comprometimento da bomba de íons em peixes sob aumento de temperatura (DANG et al., 2000). Peixes estressados geralmente possuem níveis reduzidos de triglicérides (MAULVAULT et al., 2017; FEIDANTSIS et al., 2018). O aumento do índice hepatossomático (HSI), a hiperplasia e a hipertrofia hepática foram relatados em várias espécies de peixes expostas ao estresse ambiental, dentre eles a temperatura (REISER et al., 2010; FUCHS et al., 2015; WANG et al., 2019). A regulação positiva dos níveis de mRNA de HSP70 serve como um excelente indicador precoce de estresse induzido pela temperatura nos teleósteos (STORCH et al., 2009; EISSA e WANG, 2016; EISSA et al., 2017).

Os efeitos da temperatura de crescimento combinado com o tamanho do animal já foram descritos para várias espécies de peixes (JONASSEN; IMSLAND

e STEFANSSON, 1999; IMSLAND et al., 2006). Quanto maior a temperatura, mais acelerado é o metabolismo e a atividade do peixe (BARAS e LUCAS, 2001). A massa corporal do tambaqui (*Colossoma macropomum*) está relacionada diretamente com a quantidade de amônia excretada e inversamente relacionada com a temperatura (ISMINO-ORBE et al., 2003). Em juvenis de tainha (*Mugil cephalus*), a temperatura apresentou um efeito diretamente proporcional ao crescimento dentro da faixa de temperatura testada, se mostrando maior em 30°C (OKAMOTO, 2006).

A temperatura possui efeitos deletérios na capacidade reprodutiva dos teleósteos, que podem ser manifestados em vários níveis endócrinos, como exemplos, reduzir a síntese de células gonadotrópicas (GtH) I e II e gonadotrofinas (BARTON e IWAMA, 1991; PANKURST e VAN DER KRAAK, 2000) e suprimir ou alterar o padrão de esteroides gônadais (OKUZAWA et al., 1989). A influência do pH sobre a fertilização dos ovos de peixes está ligada a variação da temperatura da água (FERREIRA et al., 2001). Segundo Taranger e Hansen (1993) o salmão (*Salmo salar*) apresentou queda aproximada de 41% na taxa de ovulação em temperaturas acima de 13°C em comparação com animais aclimatados a 7°C. A determinação sexual em peixes tem a temperatura como principal fator desencadeador (RIBEIRO e MOREIRA, 2012).

Parâmetros hematológicos podem ser usados como indicadores fisiológicos de resposta ao estresse nos peixes (SANTOS e PACHECO, 1996; CATALDI et al., 1998, BURGOS-ACEVES et al. 2010). O choque térmico pode resultar em diferenças nos padrões dos parâmetros plasmáticos, incluindo alterações no lactato, glicemia, magnésio, sódio, potássio, cloreto e proteínas além da osmolaridade (GUYNN et al. 2002; LOWE e DAVISON 2005; PETZEL 2005; DEVOR et al. 2016; BARCELOS, 2018; KANDALSKI et al., 2018). Durante o estágio inicial de estresse de alta temperatura, pode se observar um aumento acentuado no conteúdo sérico de glicose para manter o equilíbrio dinâmico (LERMEN et al., 2004; XU et al., 2010; WEI et al., 2018).

Em relação à atividade enzimática Moura et al. (2007) observaram aumento linear à medida que a temperatura da água se elevou até 32°C na atividade da catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) em

tilápias (*Oreochromis niloticus*), sendo o mesmo observado em outras espécies de peixes (ALMROTH et al., 2015; ZHAO et al., 2018). Aumentos das atividades da alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) no plasma sanguíneo foram observados em organismos aquáticos sob estresse térmico (MING et al., 2012; CHENG et al., 2017, 2018; LIU et al., 2019).

Aumentos nos níveis plasmáticos de cortisol e de catecolaminas são considerados as primeiras respostas ao estresse (KANDALSKI et al., 2018). O cortisol plasmático é tradicionalmente regulado por uma via de sinalização hormônio liberador de corticotrofina (CRH), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), dentro do eixo HPI (NESAN e VIJAYAN, 2016). Níveis de cortisol plasmático e alterações no metabolismo de carboidratos, tais como glicose plasmática e concentrações de lactato desidrogenase (LDH) podem ser usados como indicadores gerais de estresse em peixes (LUDRI e SARMA, 1985; SANTOS e PACHECO, 1996; BARCELLOS et al., 2010; CHENG et al., 2017; YUAN et al., 2020). Estudos com *Rhamdia quelen*, demonstraram ocorrer variação no tempo de resposta do cortisol ao estressor conforme a idade e o estágio de desenvolvimento do peixe (WENDELAAR BONGA, 1997; BARCELLOS et al., 2002; KOAKOSKI et al., 2012).

1.3 ERITRÓCITOS E TEMPERATURA

Anormalidades morfológicas, tanto celulares quanto nucleares dos eritrócitos são fatores importantes para avaliar o estresse causado por fatores ambientais, dentre eles, as variações de temperatura (VAL et al., 1996; TAVARES-DIAS e MORAES, 2004; DA SILVA; LIMA; BLANCO, 2012; GHAFAR et al., 2015). As células sanguíneas são vulneráveis a danos oxidativos induzidos por estresse térmico ou diminuição de oxigênio (VAL et al., 1996; CHENG et al., 2015, DOURADO, 2019). A elevada temperatura ambiental pode interferir no percentual de células morfológicamente anormais (CHEMINEAU, 2004; FERREIRA et al., 2006).

Os eritrócitos realizam o transporte do oxigênio principalmente por meio da hemoglobina (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004), um pigmento respiratório

rico em ferro, que fornece coloração vermelha ao sangue. A maioria dos peixes possuem eritrócitos nucleados, geralmente de oval para elípticos, com um núcleo basófilo central (CLAUSS; DOVE e ARNOLD, 2008; DE CARVALHO et al., 2009; CAMPBELL, 2011 e 2012; GRANT, 2015). Segundo Rocha (2001) o rim cefálico é o primeiro local de produção dos eritrócitos nos peixes, mas a atividade eritropoiética pode ocorrer também no baço (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004) e variar entre as diferentes famílias de peixes (RODRIGUEZ-FORERO, 1995; PIMPÃO, 2006).

A quantidade e o tamanho dos eritrócitos varia de acordo com as espécies. O aumento da temperatura reduz o oxigênio dissolvido na água, fazendo com que o peixe aumente o seu metabolismo (ASHAF-UD-DOULAH et al., 2019) e o nível de hemoglobina (ALLEN, 1993; HLAVOVA, 1993; YTRESTOYL; FINSTAD e MCKINLEY, 2001; BRIX; THORKILDSEN e COLOSIMO, 2004). A variação da temperatura pode causar uma redução na contagem de células sanguíneas nos teleósteos (QI et al., 2013; CHENG et al., 2017). Peixes mais ativos possuem eritrócitos maiores e em maior número quando comparados com espécies menos ativas ou sedentárias, provavelmente pela maior razão superfície/volume (FÄNGE, 1992; YILMAZ, 2015). Evolutivamente, a habilidade natatória, a demanda respiratória e a taxa metabólica influenciaram a quantidade e o tamanho dos eritrócitos (TANDON e JOSHI, 1976; RAMBHASKAR e SRINIVASA-RAO, 1987). Um número elevado de eritrócitos grandes não ocorre em animais saudáveis, pois isso pode aumentar a viscosidade do sangue e impedir a rápida taxa de circulação celular necessária para atender à demanda de oxigênio no tecido (HAWKEY, 1991).

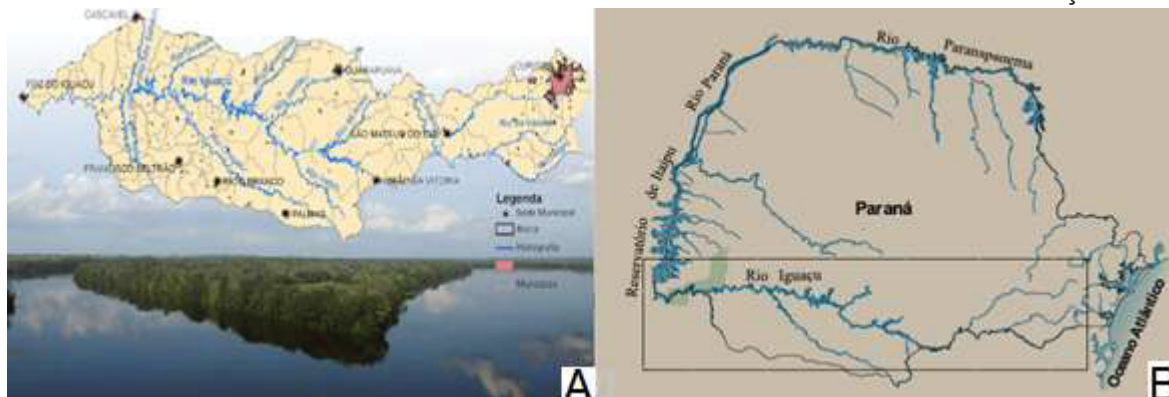
A razão do tamanho núcleo/citoplasma é muito maior em eritrócitos jovens e decresce à medida que as células vermelhas maturam permitindo assim o aumento gradativo da hemoglobina (GRANT, 2015), mostrando diferentes níveis de maturação, incluindo alterações citoplasmáticas, tamanho nuclear e densidade da cromatina. Eritrócitos imaturos tendem a ser mais arredondados do que ovais com uma coloração citoplasmática azulada e maior, e mais núcleo heterocromático quando corados e analisados em microscopia de luz (CLAUSS et al., 2008).

Alterações nucleares em eritrócitos estão conectadas com mudanças na homeostase e podem ser usadas para rastrear os estressores ambientais, tais como o estresse térmico em espécies de peixes (BARCELLOS et al. 2003; MONTSERRAT et al. 2007; ZAFALON-SILVA, 2017). Estudos sobre elevações de temperatura podem induzir danos ao DNA pela DNase, liberação de lisossomos e inativação térmica de enzimas responsáveis pelo reparo do DNA, levando a alterações morfológicas nucleares nas células (ASANAMI e SHIMONO 1999; SHUEY et al. 2006; MONTSERRAT et al. 2007; ZAFALON-SILVA, 2017). A degradação no DNA pode ocorrer em consequência do excesso de produção de radicais livres, os quais danificam membranas celulares, acarretando danos irreversíveis (ÇIMEN, 2008; ASHAF-UD-DOULAH, 2019). Essas alterações podem ser produzidas devido a alteração nos constituintes lipídicos, fluidez da membrana e interação proteína-lipídio das células sanguíneas acarretados pela mudança na temperatura (KREPS, 1981; DEY et al., 1993; AVROVA, 1999). Dentre essas anormalidades podem ser citadas fusões, alongamentos, entre outras, sendo uma das possíveis causas dessas anormalidades o aumento dos produtos de peroxidação lipídica nos eritrócitos (BAI et al., 2014; GHAFFAR et al., 2015).

1.4 RIO IGUAÇU E *Rhamdia voulezi*

O rio Iguaçu tem cerca de 1.060 km de extensão, cruza os três planaltos paranaenses até desaguar no rio Paraná, declinando quase 830 metros desde suas origens até as Cataratas do Iguaçu (PAIVA, 1982) (Figura 2). Sua origem remonta a era Mesozóica e início da Paleozóica (MINEROPAR, 2010).

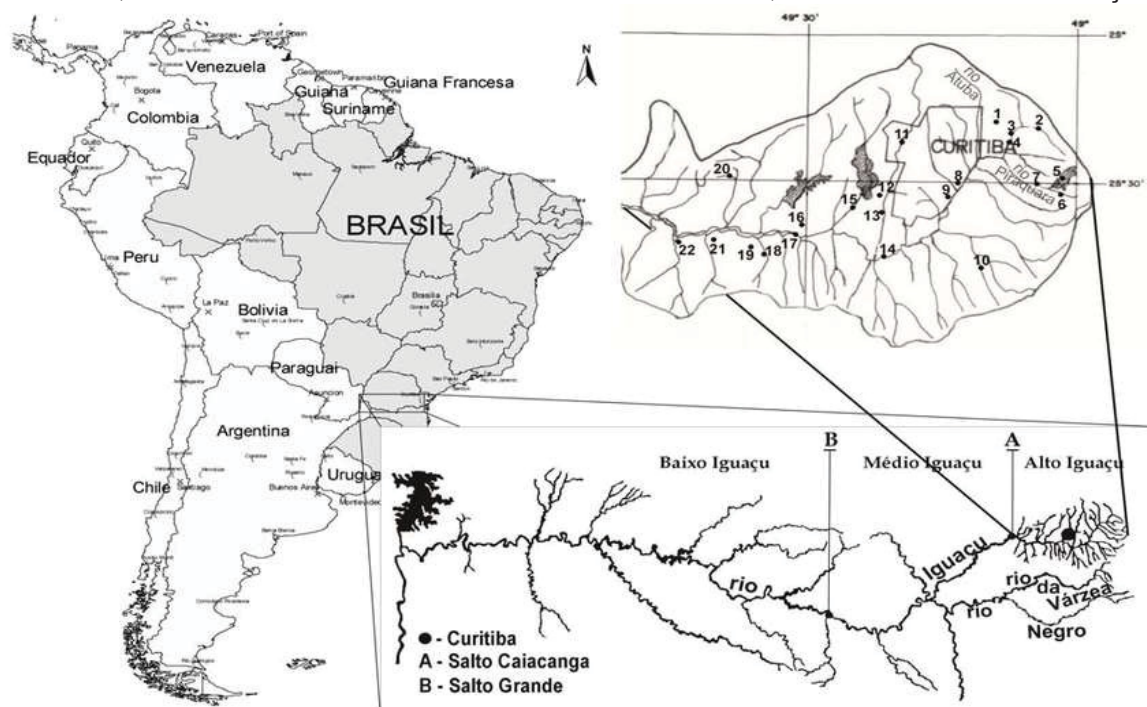
FIGURA 2 - LOCAL DE ESTUDO: BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO IGUAÇU



LEGENDA: A: Hidrografia da bacia do rio Iguazu, B: Mapa do estado do Paraná, com destaque a localização do rio Iguazu. FONTE: REVISTA BACIAS HIDROGRÁFICAS DO PARANÁ (2015) e BAUMGARTNER (2012) respectivamente.

A cabeceira está localizada na Serra do Mar perto de Curitiba (GARAVELLO et. al., 2012), sendo formada pelo encontro dos rios Irai e Atuba. Considerando a soma das áreas do Brasil e da Argentina, a bacia do rio Iguazu cobre uma superfície aproximada de 70.800 km² e no estado do Paraná possui área total de 54.820,4 Km² (SEMA, 2007). Conforme Resolução nº 49/2006/CERH/PR a bacia do rio Iguazu está dividida em Unidades Hidrográficas de Gestão de Recursos Hídricos: sendo Alto Iguazu com amplas curvaturas e extensas várzeas, Médio Iguazu com grandes corredeiras e Baixo Iguazu com pequenas corredeiras e cachoeiras (MAACK, 1981) (Figura 3).

FIGURA 3 – LOCALIZAÇÃO DA BACIA DO RIO IGUAÇU NA AMÉRICA DO SUL E NO BRASIL, MOSTRANDO OS LIMITES DAS REGIÕES DO ALTO, MÉDIO E BAIXO RIO IGUAÇU



LEGENDA: Localização da bacia do rio Iguacu na América do Sul e no Brasil. FONTE: Disponível em <https://www.researchgate.net/figure/> Acesso em: novembro de 2020.

A bacia do rio Iguazu possui a cobertura vegetal dividida em três unidades fitogeográficas: Floresta Ombrófila Mista (floresta com araucária), Floresta Estacional Semidecidual e as Estepe (RODERJAN et al., 2002) que possuem regimes térmicos distintos (AZEVEDO, 2006). As influências dessas formações estão relacionadas a importantes fatores para a manutenção da bacia hidrográfica, tais como a estabilidade das margens, o equilíbrio térmico das águas e a ciclagem de nutrientes (BARBOSA, 1999).

Comparado com outras bacias, o rio Iguazu não possui uma ictiofauna muito diversa (BAUMGARTNER, 2012). As Cataratas do Iguazu podem ter exercido um isolamento geográfico, pois o rio teve caráter endêmico da fauna de peixes estimado em 75% do total de espécies (ZAWADZKI, RENESTO e BINI, 1999), que vem sendo reduzido devido a ações antrópicas como a introdução de espécies não nativas (BAUMGARTNER et al., 2006). Buckup et al. (2006) listaram 22 espécies nativas na bacia do rio Iguazu enquanto que Garavello et al. (1997) listaram 52 espécies acima das Cataratas do Iguazu. Sendo *Psalidon bifasciatus*

(antigo *Astyanax bifasciatus*) uma das espécies mais abundantes no Baixo Iguaçu (DELARIVA, 2002).

Rhamdia voulezi (Figura 4), popularmente conhecido como jundiá ou bagre, é um peixe teleósteo pertencente à ordem Siluriformes e família Pimelodidae (BOOCKMANN e GUAZZELLI, 2003). É um peixe de água doce, onívoro que ocorre desde a região central da Argentina até o sul do México (DIEMER, et al., 2012). Possui distribuição geográfica restrita à bacia hidrográfica do rio Iguaçu (REIS et al., 2012), tendo sido registrada em vários ambientes por Baumgartner et al. (2006).

A alimentação é bem variada, incluindo peixes, crustáceos, restos vegetais e detritos orgânicos sendo classificado com hábito alimentar onívoro (GUEDES, 1980). Possuem preferência por ambientes calmos, mas podem ser encontrados em diferentes biótopos como fundo de rios, poços e lagunas. Piaia et. al. (1999) observaram em alevinos de *Rhamdia* grande aversão à luz e procura por locais escuros enquanto que Gomes et. al. (2000) relatam que indivíduos adultos se escondem entre pedras e troncos apodrecidos.

O corpo e as nadadeiras de *Rhamdia voulezi* (Figura 4) possuem coloração cinza, mais claro na região ventral. O corpo é alongado, arredondado próximo à cabeça e comprimido na região da base (BAUMGARTNER et al., 2012). Peixe de couro, crânio achatado, boca grande sem a presença de dentes e com três pares de barbilhões sensitivos (STINGELIN et al., 1998). Possuem bons resultados em condições de cativeiro, através de rápido crescimento, eficácia alimentar, boa resistência ao manejo, além de uma carne saborosa, tendo boa aceitação pelos consumidores (DIEMER et al., 2012).

As baixas temperaturas no inverno e o clima subtropical característico do sul brasileiro, onde a temperatura da água pode chegar próximo a 10° C (DOTTA, 1985), pode reduzir significativamente a possibilidade de criação de várias espécies de peixes nativos. Peixes que podem sobreviver a invernos frios e crescer rapidamente nos verões quentes são os ideais para cultivo, sendo que *Rhamdia quelen* tem essas características (BARCELLOS et al., 2002). Está bem adaptado ao clima subtropical e tem sido cada vez mais utilizado na piscicultura (CHIPPARI-GOMES; GOMES; BALDISSEROTTO, 1999; LERMEN et al., 2004).

FIGURA 4 - ESPÉCIE ESTUDADA: *RHAMDIA VOULEZI*

LEGENDA: A: Ilustração representativa do jundiá, *Rhamdia* sp. B: Foto de um indivíduo adulto de *Rhamdia voulezi*. FONTE: www.cpt.com.br e <https://en.wikipedia.org/wiki/Rhamdia>.

O conhecimento sobre a tolerância térmica das espécies de peixes pode fornecer informações ecológicas sobre a distribuição e as capacidades adaptativas a diferentes temperaturas (FERNANDES e RANTIN, 1986). É de grande importância entender e conhecer a interação de um peixe com seu ambiente térmico, como exemplo as temperaturas ideais de sobrevivência, para poder determinar a viabilidade de cultivo de uma determinada espécie de peixe (DEACON e HECHT, 1996).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as respostas fisiológicas, metabólicas e antioxidantes no plasma e as alterações morfológicas em eritrócitos do peixe *Rhamdia voulezi* frente ao estresse térmico (31°C) de curto prazo (2 a 96 horas).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

– Avaliar a variação do parâmetro endócrino plasmático: cortisol de *R. voulezi* submetidos ao estresse térmico (31°C) de curto prazo (2 a 96 h).

– Avaliar os parâmetros metabólicos plasmáticos: glicose, triglicerídeos, proteínas totais e ureia de *R. voulezi* submetidos ao estresse térmico (31°C) de curto prazo (2 a 96 h).

- Avaliar os níveis plasmáticos de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) de *R. voulezi* submetidos ao estresse térmico (31°C) de curto prazo (2 a 96 h).

– Avaliar os parâmetros iônicos plasmáticos: cloreto e fósforo inorgânico de *R. voulezi* submetidos ao estresse térmico (31°C) de curto prazo (2 a 96 h).

– Avaliar as variações nas atividades do marcador da defesa antioxidante plasmático: catalase de *R. voulezi* submetidos ao estresse térmico (31°C) de curto prazo (2 a 96 h).

– Avaliar as alterações morfológicas em eritrócitos de *R. voulezi* submetidos ao estresse térmico (31°C) de curto prazo (2 a 96 h).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETAS E ACLIMATAÇÃO DE *Rhamdia voulezi*

A licença ambiental de coleta de animais foi obtida via Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (SISBIO/ICMBio: n° 63551-1, emitida em 27/06/2018) e a licença de experimentação animal n° 1228 foi obtida na Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA-BIO/UFPR).

Exemplares de *R. voulezi* foram coletados na região do médio Iguaçu (Sul 26°14'58.50" e Oeste 51°6'33.07"), no município de União da Vitória-PR, com o auxílio de linhas de pesca. Os indivíduos foram acondicionados em sacos plásticos com aeração constante e transportados até o Centro de Pesquisas e Extensão em Aquicultura Ildo Zago, da Universidade Estadual do Paraná

(UNESPAR), no município de União da Vitória – PR, local onde os experimentos foram realizados.

Visando aclimação às condições de laboratório, os peixes foram transferidos para tanques com capacidade aproximada de 1000 litros (Figura 5), configurando sistemas estáticos, limpos por sucção diária, com aproximadamente 10% da água renovada diariamente (LERMEN et al., 2004) com água originária de nascente própria. Nestes tanques foram instalados previamente termostatos (Aquaterm 08 (Full Cauge) para regulação e controle da temperatura.

FIGURA 5 – TANQUES UTILIZADOS PARA ACLIMATAÇÃO DE *RHAMDIA VOULEZI*



FONTE: IEDA CRISTINA SCHLEGER

Medidas abióticas foram realizadas durante os 8 dias de aclimação, sendo temperatura ($21 \pm 0,5$ °C), O_2 dissolvido ($7,5 \pm 1,0$ mg/L), amônia ($0,18 \pm 0,5$ mg/L) e pH ($7.0 \pm 0,5$). Os peixes foram alimentados diariamente (1% do peso do animal) com ração comercial para peixes (Supra® Aqua Line, com teor de proteína de 42%) (CHUNG, 2000; LERMEN et al., 2004). Para todos os grupos, o primeiro dia de aclimação foi o primeiro dia do fornecimento de alimentos e a última alimentação foi fornecida entre 22 e 24 horas antes da eutanásia (VINAGRE et al., 2014; MADEIRA; VINAGRE; DINIZ, 2016).

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Exemplares de *Rhamdia voulezi* ($n = 73$; comprimento total = $25,06 \pm 4,47$ cm; comprimento padrão = $20,71 \pm 3,94$ cm; peso = $142,94 \pm 85,77$ g) foram aleatoriamente selecionados e transferidos diretamente, simulando choque térmico, para tanques de 460 litros contendo água com temperatura a $31 \pm 1,0^\circ\text{C}$ (experimental) ou a $21 \pm 1,0^\circ\text{C}$ (controle) por 2, 6, 12, 24 ou 96 horas. O número de animais por experimento/controle (n amostral) foi de 7 peixes, com exceção de 96 horas, controle e experimental, com n amostral de 8 indivíduos.

A faixa de temperatura escolhida para os experimentos foi baseada nas temperaturas ambientais onde *R. quelen*, espécie próxima a *R. voulezi*, é encontrado na América do Sul e em situações experimentais (CHIPPARI-GOMES et al., 1999; TAVARES-DIAS et al., 2002; LERMEN et al., 2004). Espécimes de *R. quelen*, aclimatados a 21°C , apresentaram faixa de sobrevivência a rápidas mudanças de temperatura da água entre 11 e 31°C e em 100% dos animais (CHIPPARI-GOMES et al., 1999). Valores encontrados por Tavares-Dias et al. (2002) em *R. quelen* à 25°C , relatam que esta espécie possui boa tolerância para a variação de temperatura testada.

A água foi mantida nas temperaturas estabelecidas por sistema de aquecimento elétrico e com termostatos (Aqua One®, VigoAr® e Atman®, com potência de 200 e 500 W), sendo rigorosamente controlada. Durante os experimentos, os animais foram mantidos em tanques com água em vazão constante de 1 L/min, em uma densidade média de $4,3 \pm 1,4\text{g/L}$. Foram mensurados durante os experimentos os parâmetros de amônia tóxica (NH_3) ($0,003 \pm 0\text{mg/L}$), oxigênio dissolvido ($9 \pm 1,41\text{ mg/L}$) e pH ($7,15 \pm 0,21$). A oferta de alimento foi idêntica a aclimação e descrita no item 3.1 – coletas e aclimação de *Rhamdia voulezi*.

Após a realização dos experimentos, o sangue total foi retirado, com seringa contendo EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), da veia caudal (Figura 6) e em seguida foi centrifugado durante 10 minutos a 2.000 g. O plasma foi retirado, colocado em microtubo e as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e mantidas em freezer a -80°C até o processamento.

Os eritrócitos após, retirada do plasma, foram fixados com fixador Karnovsky com adaptações (paraformaldeído 2%, glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato 01 M – pH 7.2 a 4°C) (KARNOVSKY, 1965), durante 24 horas e posteriormente transferidos para tampão cacodilato 0,1M pH 7.2 a 4°C para as análises morfológicas tanto de microscopia eletrônica de varredura (MEV) quanto de microscopia de luz (ML).

FIGURA 6 – COLETA DE SANGUE DE *RHAMDIA VOULEZI*



LEGENDA: Obtenção de sangue em *Rhamdia voulezi* por meio da punção da veia caudal realizada com seringa contendo EDTA. FONTE: Diego Mauro Carneiro Pereira.

As amostras de plasma e eritrócitos foram transportadas para o Laboratório de Biologia Adaptativa do Departamento de Biologia Celular do Setor de Ciências Biológicas (SCB) da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, onde foram realizadas as análises plasmáticas e morfológicas.

3.3 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

3.3.1 ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS

Para as análises em microscopia de luz (ML), depois de fixado o material, esfregaços sanguíneos foram feitos, corados com Rosenfeld (1947) e obtido imagens utilizando o microscópio com escâner Zeiss – Imager.Z2, através do programa MetaSystems/VSViewer (MetaSystems Group, Inc) do Setor de Ciências Biológicas (SCB) da UFPR.

Para as análises em microscopia eletrônica de varredura (MEV), os eritrócitos foram submetidos a uma bateria de desidratação, sendo, álcool 50%, 70% e 90% (1x – 10 minutos/por concentração), álcool 95% (1x – 10 minutos) e álcool 100% (3x – 10 minutos cada). Em seguida foram submetidos ao ponto crítico através de um Bal-tec CPD – 030 com gás carbônico e metalizados em ouro em um Balzers SCD – 030. As análises e eletromicrografias foram feitas em microscópio eletrônico de varredura JEOL-JSM 6360 do Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná (CME–UFPR).

3.3.2 MARCADORES PLASMÁTICOS

As análises foram realizadas em espectrofotômetro de microplaca (EPOCH Microplate Spectrophotometer, BioTek, Winooski, VT, USA).

A concentração do cortisol foi determinada através de procedimento de imunoenensaio enzimático, de kit comercial Cortisol ELISA (IBL AMERICA, referência IB79343). A absorbância foi medida em 450 nm.

A glicose foi mensurada utilizando kit comercial (Gold Analisa Diagnóstica Ltda., referência 434, MS 80022230067), baseado na metodologia enzimática-colorimétrica, com reação de oxidação da glicose pelas enzimas glicose oxidase e peroxidase, medida em absorbância de 505 nm.

A determinação de triglicerídeos foi realizada por kit comercial (Gold Analisa Diagnóstica Ltda., referência 459, MS 80022230062), após hidrólise enzimática com lipases, com formação de quinoneimina e a absorbância do complexo foi medida em 500 nm.

Para a determinação de proteínas totais foi utilizado kit comercial (Gold Analisa Diagnóstica Ltda., referência 418, MS 80022230087), a partir do método colorimétrico Biureto, com leitura em absorbância de 545 nm.

A ureia foi determinada por kit comercial (Gold Analisa Diagnóstica Ltda, referência 427, MS 80022230063), com método enzimático-colorimétrico, em reação com formação de indofenol, com leitura da absorbância realizada em 600 nm.

Os níveis da atividade da aspartato aminotransferase (AST, EC 2.6.1.2) foram determinados a partir de kit comercial (Gold Analisa Diagnóstica Ltda, referência 352, MS 80022230149), através da catalisação e a transferência do grupo amina da aspartato para o cetoglutarato, com absorbância medida em 505 nm.

Os níveis de atividade da alanina aminotransferase (ALT, EC 2.6.1.1), foram determinados por meio de kit comercial (Gold Analisa Diagnóstica Ltda, referência 353, MS 80022230150), com formação de glutamato e piruvato, com absorbância medida em 505 nm.

A determinação de cloretos foi realizada a partir de kit comercial (Gold Analisa Ltda, referência 408, MS 80022230172), através do método colorimétrico-tiocianato, com formação de tiocianato férrico, lido em absorbância de 470 nm.

A concentração de fósforo foi determinada por kit comercial (Gold Analisa Diagnóstica Ltda, referência 412, MS. 80022230097), pelo método ultravioleta, através da reação do fosfato inorgânico (Pi), formando um complexo de fosfomolibdato de amônio não reduzido. A absorbância do complexo formado foi medida em 340 nm.

A determinação da atividade da catalase (CAT, EC 1.11.1.6) foi realizada em meio de reação com 50mM de tampão Tris-HCl (pH 8,0) e 30mM de H₂O₂, com consumo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e formação de oxigênio e água. A absorbância foi medida em 240 nm (AEBI, 1984).

4 RESULTADOS

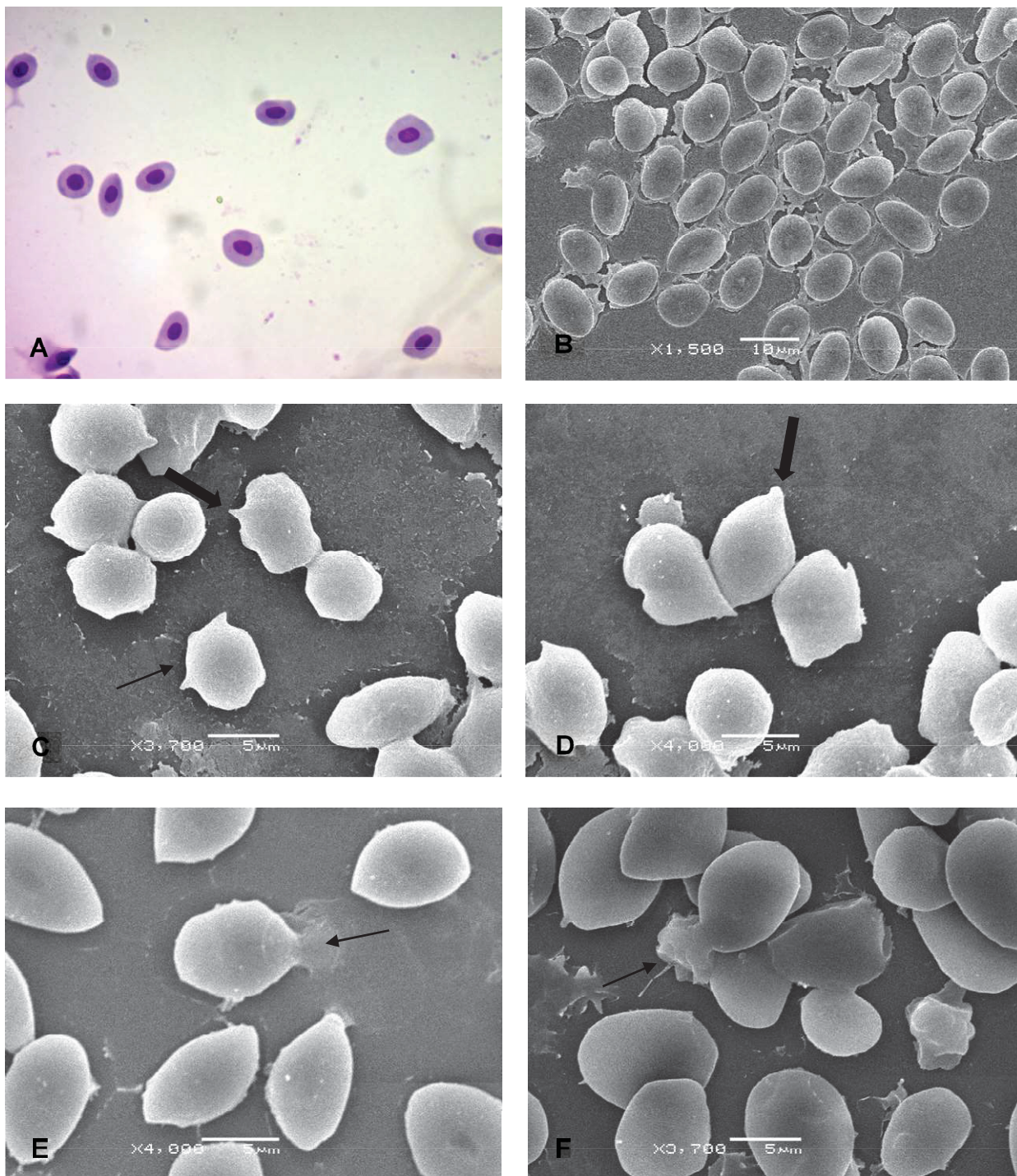
Os animais sobreviveram ao longo dos tempos experimentais (2, 6, 12, 24 e 96 horas) e nas temperaturas testadas (21°C e 31°C), com exceção de morte de 1 peixe em 2h (31°C); 3 peixes em 2h (21°C) e 1 peixe em 6h (21°C).

4.1 ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS

Eritrócitos controle (21°C) de *R. voulezi* expostos ao choque térmico de curto prazo podem ser visualizados em ML (Figura 7A) e MEV (Figura 7B) e possuem um formato oval a elipsoide tendo um núcleo central, que acompanha o formato da célula e bastante basófilo quando analisado em ML (Figura 7A).

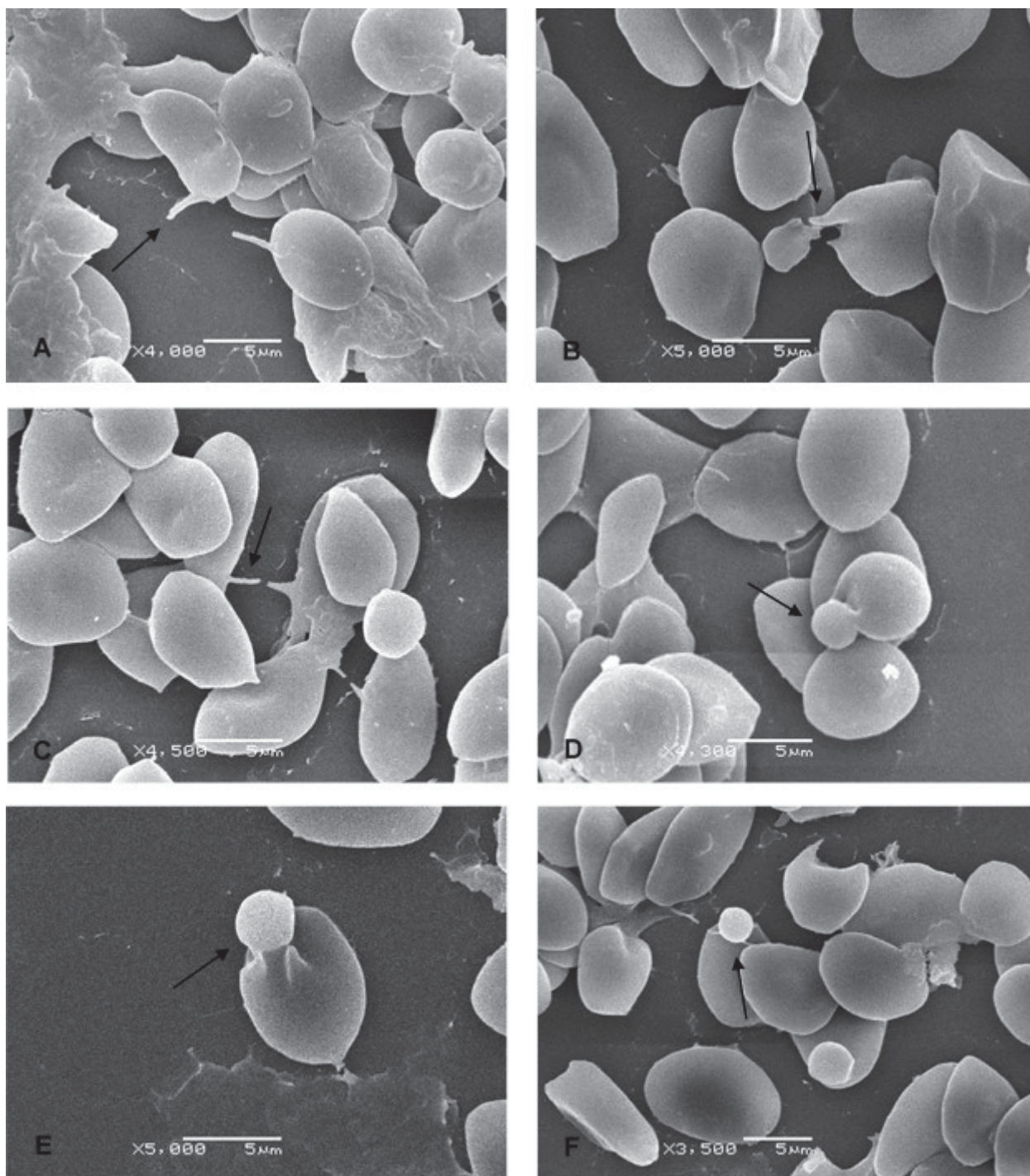
Qualitativamente, as análises dos eritrócitos de *R. voulezi* experimentais (31°C) indicaram a presença de alterações na morfologia celular, onde os eritrócitos perderam a forma oval original adquirindo formato irregular (Figuras 7C e D). Lise celular foi observada, havendo rompimento de membranas e extravasamento do citoplasma celular (Figuras 7E e F). Membranas plasmáticas foram alteradas, com ondulações ou saliências (Figuras 8A, B e C), havendo formação de vesículas (Figuras 8D, E e F).

FIGURA 7 - ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS OBSERVADAS EM ERITRÓCITOS DE RHAMDIA VOULEZI FRENTE AO ESTRESSE TÉRMICO DE CURTO PRAZO I



LEGENDA: A = Microscopia de luz, aumento $\times 100$. B – F = Microscopia eletrônica de varredura. A e B = eritrócitos considerados controle (21°C) em 2 horas e 96 horas respectivamente. C e D = eritrócitos com formato irregular (setas finas) e com ondulações e saliências na membrana plasmática (seta grossa) em 96 horas experimentais em ambas as imagens. E e F = lise celular (seta) com rompimento de membranas e extravasamento do citoplasma celular em 96 horas e 2 horas experimentais respectivamente. FONTE: o autor

FIGURA 8 - ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS OBSERVADAS EM ERITRÓCITOS DE RHAMDIA VOULEZI FRENTE AO ESTRESSE TÉRMICO DE CURTO PRAZO II



LEGENDA: A – F = Microscopia eletrônica de varredura. A – B – C = eritrócitos com membranas plasmáticas com ondulações ou saliências (setas) em 12 horas, 2 horas e 96 horas experimentais respectivamente. D - E – F = eritrócitos com formação de vesículas (setas) em 12 horas, 2 horas e 2 horas experimentais respectivamente. FONTE: o autor

4.2 MARCADORES PLASMÁTICOS

Os resultados da ANOVA (Tabela 1) indicam para os marcadores analisados, diferenças entre temperaturas (controle *versus* tratamento, agrupando-se os tempos de cada temperatura testada), diferenças entre os tempos (para cada temperatura testada) e finalmente diferenças entre as temperaturas e sua interação com os tempos (que avalia a diferença entre controle e experimental em um determinado tempo).

Em *Rhamdia voulezi* o aumento da temperatura a 31°C e os diferentes tempos de exposição não foram capazes de alterar as concentrações de triglicerídeos (Figura 9C) e cloretos (Figura 10C) e as atividades das enzimas CAT (Figura 10E) e ALT (Figura 10B). No entanto, as concentrações plasmáticas de proteínas totais e de fósforo foram alteradas pela interação das duas variáveis testadas neste trabalho, tempo e temperatura. Sendo que ambos os marcadores apresentaram maior concentração em 31°C se comparados a 21°C, em 24 horas. Além disso, as variações observadas ao longo dos tempos, ocorreram em 31°C, sendo que a concentração de proteínas totais, foi maior em 24 horas se comparada à 2 horas (Figura 9D). E a concentração de fósforo foi maior em 24 horas se comparada à 12 e 96 horas (Figura 10D).

A concentração de ureia foi alterada pela temperatura, sendo que em 2 horas a 31°C a concentração foi menor se comparada a 21°C, e ao longo dos tempos de exposição a concentração de ureia foi maior em 6 horas se comparada a 12, 24 e 96 horas e em 24 horas a concentração de ureia foi menor se comparada a 2 horas (Figura 9E).

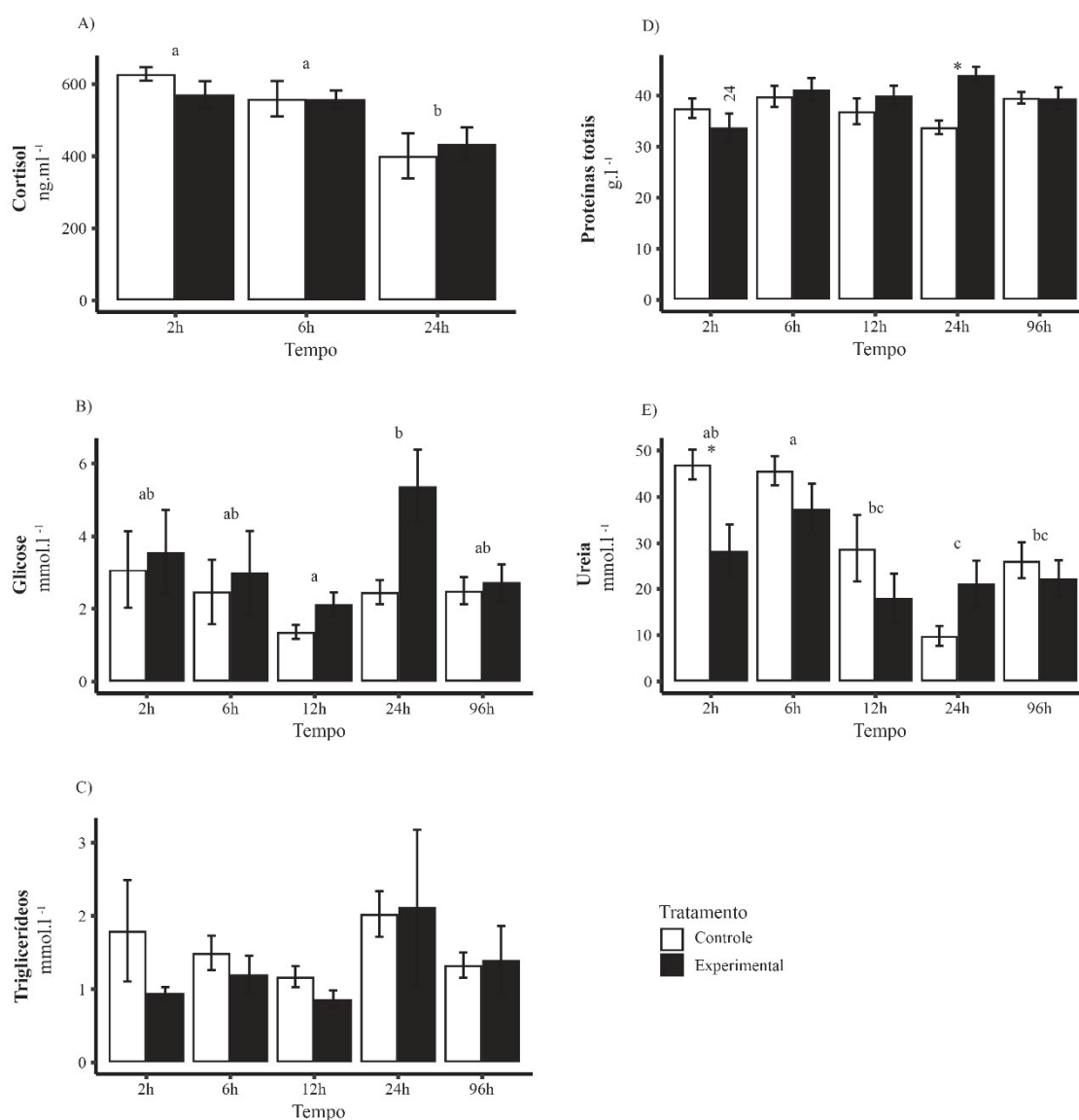
Os marcadores analisados neste trabalho que sofreram alterações somente ao longo dos tempos, foram: cortisol, glicose e AST. A concentração de cortisol plasmático foi alterada apenas em 24 horas, sendo menor neste período se comparado à 2 e 6 horas (Figura 9A). Os níveis de glicose aumentaram em 24 horas em relação a 12 horas (Figura 9B). E ainda, em *Rhamdia voulezi* a atividade da AST foi maior em 2 horas se comparada a 24 e 96 horas (Figura 10A).

TABELA 1 - RESULTADOS DO TESTE DE ANOVA (DUAS-VIAS) PARA OS MARCADORES PLASMÁTICOS DE RHAMDIA VOULEZI

Biomarcador	Temperatura		Tempo		Temperatura x Tempo	
	F	P	F	P	F	P
Cortisol	0,03	0,87	7,91	0,002 **	0,40	0,68
Glicose	5,18	0,03 *	2,69	0,04 *	1,20	0,32
Triglicérides	0,59	0,45	1,78	0,15	0,32	0,86
Proteínas totais	3,00	0,09	1,68	0,17	2,82	0,03 *
Ureia	2,03	0,159	8,35	0,00003***	6,33	0,04 .
AST	1,00	0,32	4,28	0,005 **	1,31	0,28
ALT	0,02	0,89	0,92	0,46	0,74	0,57
Cloretos	0,36	0,55	1,26	0,30	0,62	0,65
Fósforo	0,21	0,65	3,05	0,03 *	3,96	0,007 **
CAT	0,96	0,33	0,45	0,77	1,25	0,30

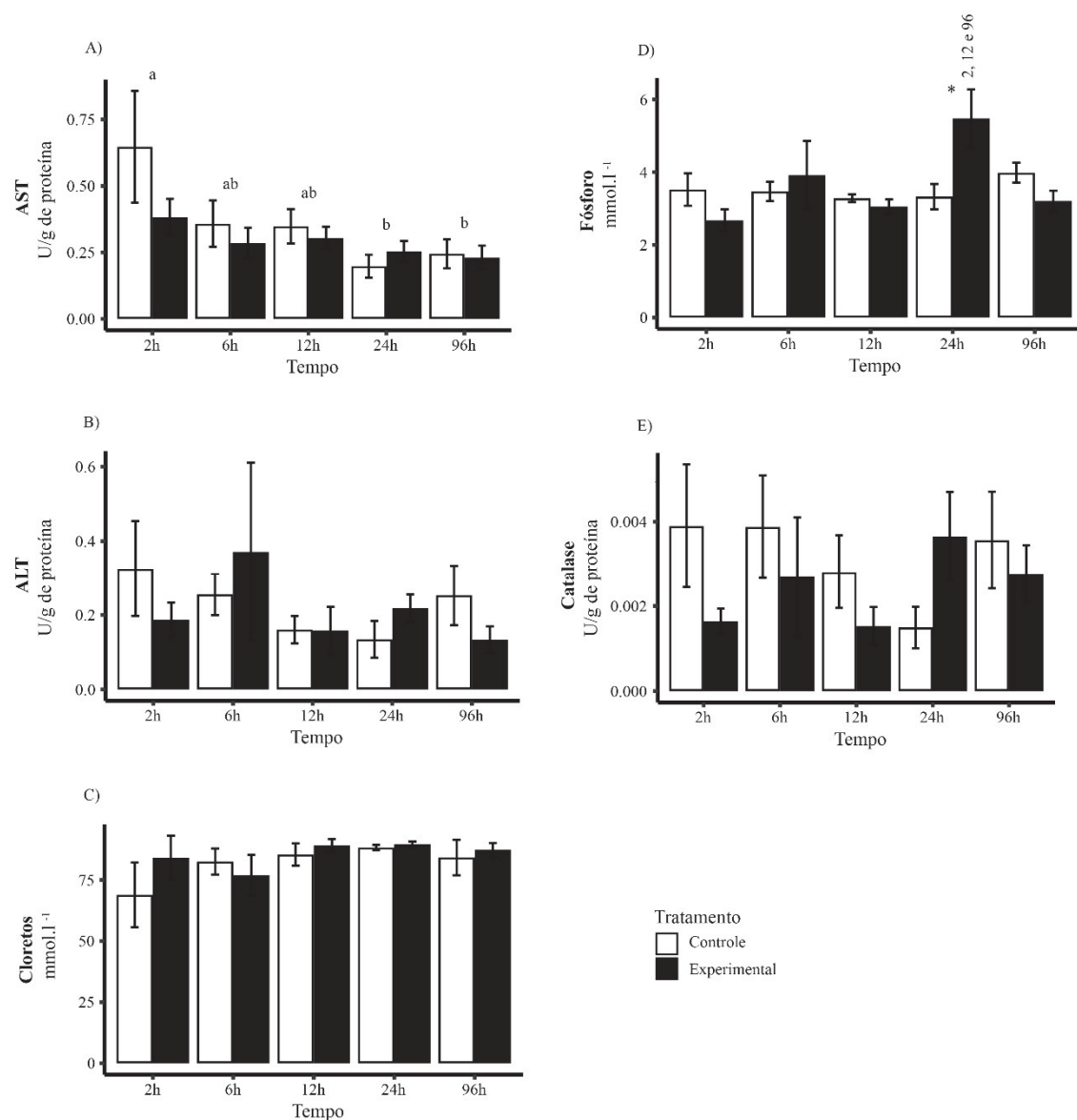
LEGENDA: Fatores: Temperatura (21° e 31°C) e tempo de exposição (2, 6, 12, 24 e 96 horas). AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase), CAT (catalase). Os asteriscos indicam diferenças significativas (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

FIGURA 9 – NÍVEIS DOS MARCADORES PLASMÁTICOS *RHAMDIA VOULEZI* FRENTE AO ESTRESSE TÉRMICO DE CURTO PRAZO I



LEGENDA: Níveis dos marcadores plasmáticos - cortisol (A), glicose (B), triglicerídeos (C), proteínas totais (D) e ureia (E) de *Rhamdia voulezi*, expostos a 21°C (controle) e 31°C (experimentais) durante 2,6,12, 24 e 96 horas. O asterisco indica diferença significativa ($p \leq 0,05$), pela interação dos fatores temperatura (21°C e 31°C) versus tempo de exposição (2, 6, 12, 24 e 96 horas). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os tempos de exposição. Os números indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os diferentes tempos dentro de cada temperatura, avaliados quando houve interação temperatura versus tempo

FIGURA 10 – NÍVEIS DOS MARCADORES PLASMÁTICOS *RHAMDIA VOULEZI* FRENTE AO ESTRESSE TÉRMICO DE CURTO PRAZO II



LEGENDA: Níveis dos marcadores plasmáticos - aspartato aminotransferase (AST) (A), alanina aminotransferase (ALT) (B), clóretos (C), fósforo (D) e catalase (E) de *Rhamdia voulezi* expostos a 21°C (controle) e 31°C (experimentais) durante 2,6,12,24 e 96 horas. O asterisco indica diferença significativa ($p \leq 0,05$), pela interação dos fatores temperatura (21°C e 31°C) *versus* tempo de exposição (2, 6, 12, 24 e 96 horas). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os tempos de exposição. Os números indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os diferentes tempos dentro de cada temperatura, avaliados quando houve interação temperatura *versus* tempo

5 DISCUSSÃO

Decorrente das mudanças ambientais de curto e longo prazo o conceito de adaptação é um dos princípios básicos da evolução do ser vivo (HOCHACHKA e SOMERO, 2002). Uma temperatura ambiental elevada desencadeia alterações fisiológicas e moleculares para atingir a homeostase necessária para a sobrevivência (SHAHJAHAN et al., 2018; GOGOI et al., 2021). Mas devido as táticas de vida de cada espécie, é possível respostas contrastantes de aclimatação, isto é, imediata ou tardia (ASHAF-UD-DOULAH et al., 2019; JOHANSEN, 2021). Dependendo da aptidão que uma espécie possui em encarar os desafios térmicos, as alterações nos parâmetros plasmáticos bioquímicos e na morfologia de células, neste estudo eritrócitos, podem variar.

5.1 ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS

Mudanças morfológicas nas células sanguíneas estão associadas a agentes estressores de natureza diversa (KUTTAPPAN et al., 2013; e SILVA et al., 2021), dentre eles, os ambientais (VOSYLIENE, 1999) e as substâncias tóxicas (SADIQUL et al., 2016 e ISLAM et al., 2019). O estresse térmico em eritrócitos de peixes acarreta modificações nos parâmetros celulares que alteram a sua homeostase (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004; RAVIKUMAR et al., 2016; SZABELAK et al., 2020).

A diminuição do oxigênio frente ao aumento da temperatura e a necessidade de aumentar a capacidade de transporte de oxigênio (TAVARES-DIAS, 2004) são fatores que influenciam a formação das alterações morfológicas em eritrócitos. Alterações na morfologia celular e nuclear nos eritrócitos podem ocorrer por modificações das propriedades físico-químicas das membranas plasmáticas dos eritrócitos (ASHAF-UD-DOULAH, 2019), danos ao DNA, liberação de lisossomos e inativação térmica de enzimas de reparo (DAVIS et al., 2008; ZAFALON-SILVA et al., 2017). Além disso, as alterações morfológicas estão interligadas (OSMAM e HARABAWY, 2010; AMBUMANI e MOHANKUMAR,

2012), por exemplo, a presença de micronúcleos pode ser decorrente de núcleos bilobados ou outras alterações como fissura no núcleo (HARABAWY e MOSLEH, 2014).

Neste trabalho alterações no formato celular dos eritrócitos de *R. voulezi* expostos ao aumento de temperatura (31°C) foram corroboradas por ISLAM et al., 2020 que estudaram o aumento da temperatura (33°C) em robalo (*Dicentrarchus labrax*). Além disso, rompimento de membranas e extravasamento celular também foram observados. ANBUMANI e MOHANKUMAR (2012) sugerem que alterações no formato celular acarretam perda de conteúdo citoplasmático e antecedem eventos apoptóticos. Estudos sugerem ruptura do citoesqueleto, principalmente filamentos de actina, e desintegração da membrana celular como resultado da desnaturação de proteínas de membrana (ANBUMANI e MOHANKUMAR, 2012; SZABELAK et al., 2021), bem como alteração dos constituintes lipídicos, pelo aumento de compostos de peroxidação lipídica (ISLAM et al., 2020b), viscosidade da bicamada lipídica e interações proteínas-lipídios dos eritrócitos (DEY et al., 1993; AVROVA, 1999 e ISLAM et al., 2019). As mudanças morfológicas e bioquímicas das membranas tornam os eritrócitos mais vulneráveis a estourar ao cruzar pequenos capilares (ASHAF-UD-DOULAH et al., 2019).

Eritrócitos com formação de vesículas na membrana plasmática foram observados em *R. voulezi* mantidos a 31°C e muito estudados em humanos (GREENWALT, 2006). Em peixes WONG *et al.* (2012) foram os primeiros a descrever essa alteração em eritrócitos de *Sparus sarba*, e embora os marcadores de fragmentação nuclear e ativação de caspases tenham indicado processos de morte celular, corpos apoptóticos não foram visualizados. A formação de vesículas ocorreria pelo enfraquecimento do citoesqueleto em determinadas áreas (WONG *et al.*, 2012), e o fluxo citoplasmático nestas regiões formaria as saliências (TAYLOR *et al.*, 2008) vistas em microscopia eletrônica como o observado neste trabalho.

5.2 MARCADORES PLASMÁTICOS

Parâmetros plasmáticos estão sendo utilizados, cada vez mais, como indicadores de estresse fisiológico em peixes, indicando alterações de respostas endógenas para manter a homeostase (LERMEN et al., 2004). Alguns marcadores, neste trabalho, apresentaram alterações ao longo dos tempos de exposição, e foram eles: cortisol, AST, glicose, fósforo, ureia e proteínas totais. Diversos fatores podem ter influenciado estas alterações, dentre eles, a alimentação. Neste trabalho os animais expostos às condições experimentais foram alimentados ao mesmo tempo e da mesma maneira que os seus respectivos controles. Além disso, peixes desenvolveram um relógio biológico para lidar com os ciclos ambientais, exibindo ritmos circadianos para a maioria das funções fisiológicas, incluindo respostas ao estresse (SÁNCHEZ-VÁZQUEZ et al., 2019), o que pode ter ocorrido para os animais confinados por tempos diferentes. Mas, como dito anteriormente, todas as condições de alimentação, trocas de água e fotoperíodo foram rigorosamente iguais para animais expostos a 21°C ou 31°C, garantindo, assim, que as diferenças observadas entre grupos experimentais e controles deva-se a temperatura, única variável testada neste trabalho.

A temperatura da água é um fator abiótico que influencia aspectos fisiológicos e pode afetar o crescimento e o metabolismo em peixes (AKHTAR et al., 2013; MINTENBECK et al., 2012; LERMEN et al. 2004). Desta forma alterações na temperatura da água podem desencadear respostas metabólicas ao estresse, envolvendo diversos processos celulares, a fim de garantir a homeostase do organismo (PÖRTNER, 2010; MADEIRA et al., 2016). A liberação no plasma de catecolaminas, hormônios corticóides e outros hormônios esteroides é considerada como uma resposta primária ao estresse (LERMEN et al., 2004; WARING et al., 1996). O aumento plasmático de cortisol, desencadeia por sua vez, as repostas secundárias ao estresse como a rápida mobilização de reservas energéticas (BARTON, 2002; CHENG et al., 2017). Além disso, o cortisol está envolvido também em processos de osmorregulação, pois pode estimular a atividade da Na⁺K⁺ATPase, e na redução da osmolalidade sérica (GUYNN et al., 2002; PETZEL, 2005). Como a liberação do cortisol é mais lenta, seus efeitos são considerados mais duradouros, quando comparados com as catecolaminas

(WARING et al., 1996). No entanto, em resposta a aumentos de temperatura, esta liberação plasmática de cortisol pode variar de acordo com a espécie, a intensidade e a duração do estresse, e os valores podem variar de 1 a 500 ng.ml⁻¹ (KANDALSKI et al., 2018; BARTON, 2002; GAMPERL et al., 1994; PANKHURST, 2011).

Embora os níveis plasmáticos de cortisol sejam um método tradicional para a avaliação de estresse em peixes (CARBAJAL et al., 2019; SCHRECK e TORT, 2016), há poucos relatos na literatura sobre qual é o pico de liberação de cortisol pelos peixes após a exposição ao agente estressor, e possivelmente esta resposta é espécie dependente. Por exemplo, sabe-se que para adultos de *R. quelen*, o pico de liberação de cortisol é de 60 minutos após a exposição ao estressor (KOAKOSKI et al., 2012). Neste trabalho, o tempo máximo utilizado para a coleta de cortisol foi de 24 horas, mas não foram observadas alterações nos níveis de cortisol em *R. voulezi*, nas coletas realizadas em 2, 6 e 24 horas em relação a temperatura. Resultados semelhantes foram observados por Diemer (2014), ao avaliar o estresse de manejo e confinamento, em parâmetros reprodutivos de *R. voulezi*, e registrar a ausência de alterações no cortisol plasmático dos animais. Em *Carassius auratus*, expostos abruptamente à 31°C, os níveis de cortisol plasmático aumentaram após 200 minutos de exposição (WANG et al., 2019). No entanto além de ser uma espécie diferente, a amplitude térmica testada pelos autores foi maior da utilizada neste trabalho, pois os animais passaram de 17°C para 31°C, sendo que *R. voulezi* foi de 21°C para 31°C. É possível que a ausência de alterações no cortisol observada neste trabalho, indique que o aumento na temperatura em 10°C, não foi capaz de induzir a liberação do hormônio em *R. voulezi*. Ou ainda, que o tempo mínimo escolhido para a coleta (2h), tenha ocorrido após o pico de liberação de cortisol, não sendo possível identificar o aumento da liberação do hormônio. A escolha de outros tempos de coleta como 30 minutos e 1 hora poderiam ser uma opção em trabalhos futuros, no entanto o excesso de manipulação dos animais pode gerar estresse e afetar os resultados. No entanto, recentemente Carbajal et al. (2019), conduzindo um estudo sobre avaliação de estresse por quantificação de cortisol com *Oncorhynchus mykiss*, sugeriram que a medição de cortisol através do muco

da pele dos animais é um método menos invasivo e menos sujeito a interferências pelo estresse de manipulação. Além de afirmarem que os níveis de cortisol na pele refletem melhor a circulação plasmática do hormônio quando os animais estão respondendo à um estresse, os autores propõem uma escala de níveis de estresse em relação à concentração de cortisol no muco da pele. Assim, esta metodologia proposta por Carbajal et al. (2019), poderia ser utilizada futuramente para a quantificação de cortisol em intervalos de tempo menores dos que foram utilizados neste trabalho.

Além do cortisol, a avaliação da defesa antioxidante sanguínea em peixes teleósteos é uma importante ferramenta para a interpretação de estresse térmico (Lowe; DAVISON, 2005; LU et al., 2016; CHENG et al., 2017; KLEIN et al., 2017; ROSSI et al., 2017; ZAFALON-SILVA et al., 2017). Alguns estudos com peixes demonstraram que a exposição ao estresse térmico, principalmente de maneira aguda, pode resultar também em danos oxidativos (BAGNYUKOVA et al., 2007; MUELLER et al., 2012; GRIM et al., 2013). Em geral, a elevação da atividade antioxidante, pode indicar respostas adaptativas dos organismos para neutralizar o efeito oxidativo das EROs (ABHIJITH et al., 2016; HEGAZI et al., 2010). Neste trabalho, não foram observadas alterações na CAT plasmática, em *R. voulezi* submetidos a estresse térmico de 31°C por até 96 horas. Tal resultado pode indicar que os diversos tecidos desta espécie apresentem níveis capazes de neutralizar os efeitos do estresse oxidativo causado pelo estresse térmico (ENZOR e PLACE, 2014). Sabe-se que os tecidos que apresentam os maiores níveis de CAT são, o hepático e o renal, e no sangue os maiores níveis de CAT estão presentes nos eritrócitos (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1989). Para compreender melhor como o estresse térmico influencia as respostas antioxidantes sanguíneas de *R. voulezi*, são necessários ainda mais estudos. Como por exemplo, avaliar de maneira ampla o sistema de defesa antioxidante, quantificando as atividades de outras enzimas e avaliando a capacidade antioxidante do plasma sanguíneo, através da dosagem de proteínas protetoras como a transferrina e a ceruloplasmina que neutralizam íons como o ferro e o cobre, diminuindo assim a produção de EROs no sangue (ALVES, 2003; GUTTERIDGE e QUINLAN 1993).

A AST e a ALT são enzimas que participam do metabolismo de aminoácidos, ambas transferem grupos amina para o α -cetoglutarato, formando glutamato e piruvato, no caso da AST e glutamato e oxaloacetato, no caso da ALT. No entanto a dosagem das duas enzimas no plasma é utilizada como indicador de lesões celulares, pois injúrias teciduais afetam o parênquima tissular, liberando uma maior quantidade destas enzimas para a corrente sanguínea, elevando os níveis séricos das AST e ALT (ALVES 2003; SPARLING et al. 1998). O aumento da temperatura à 31°C por até 96 horas não foi capaz de alterar os níveis de AST e ALT no plasma de *R. voulezi*, o que pode indicar ausência de lesões tissulares devido ao estresse térmico.

A mensuração dos níveis de glicose é eficientemente utilizada para avaliar estresse em peixes (SCHRECK et al., 2016) e neste trabalho foi observado a ausência de alteração dos níveis de glicose plasmática. Outra fonte importante de substrato energético durante o estresse são os triglicerídeos, que em peixes são hidrolisados e formam ácidos graxos livres e glicerol, sendo liberados no sangue para fornecer energia aos tecidos (LIU et al., 2019; IENA e LEBECK, 2018; MÉNDEZ-GIMÉNEZ et al., 2014). Alguns estudos com peixes relataram que o estresse térmico de baixa temperatura é capaz de alterar a concentração dos triglicerídeos, indicando que substratos lipídicos podem ser mobilizados frente ao estresse (LIU, 2011; JI et al., 2009; CHEN et al., 2006). Mas, assim como a glicose, a concentração de triglicerídeos plasmáticos não foi alterada no presente estudo, e as respostas da glicemia e dos triglicerídeos, observadas em *R. voulezi*, acompanharam a ausência de alterações no cortisol (em até 24 horas), uma vez que a liberação do hormônio seria responsável por uma hiperglicemia (BARTON, 2002; CHENG et al., 2017).

Os níveis de proteínas totais (albuminas e globulinas) podem ser utilizados como indicadores da condição fisiológica do peixe, pois são extremamente estáveis no sangue (PERES et al., 2015). A presença de proteínas no soro sanguíneo e suas variações de concentração podem variar em diferentes condições fisiológicas e patológicas (PEYGHAN 2014). Além disso, as proteínas totais atuam como tampão não-bicarbonato na regulação ácido-base (STROBEL et al., 2012). No presente trabalho, os níveis de proteínas totais aumentaram

apenas nos animais submetidos à 31°C por 24 horas, o que pode indicar uma maior mobilização de proteínas como reserva energética neste período. A albumina é considerada a principal proteína plasmática em teleósteos (PERES et al., 2015), além de possuir um papel relevante na manutenção da pressão oncótica no plasma de vertebrados, sendo uma proteína de reserva facilmente disponível, produzida pelo fígado (JAVED; USMANI, 2015). Acredita-se que a proteólise ocorra quando as demais reservas energéticas disponíveis já foram esgotadas (NAVARRO e GUTIRREZ, 1995). Já as globulinas, compreendem vários tipos de proteínas heterogêneas, que estão envolvidas em processos metabólicos, de transporte, coagulação, inflamatórios e imunológicos (HOSEINI et al., 2014). A elevação desta classe de proteínas é associada ao sistema imunológica e uma resposta mais eficiente ao estresse (KUMAR et al., 2005; JHA et al., 2007).

Em relação aos níveis de ureia plasmática, foi observada a diminuição em 2 horas a 31°C, e esta alteração pontual pode estar relacionada à menor metabolização de proteínas pelos peixes. Alterações na concentração plasmática de ureia podem estar relacionadas à desidratação, estresse de confinamento, alcalinidade da água e concentração externa de amônia (MELO et al., 2006). No entanto, com exceção do estresse térmico testado, as características da água e da alimentação foram iguais e dentro da normalidade para todos os animais analisados.

Em relação às variações iônicas no plasma, observou-se isoladamente o aumento do íon fósforo em 24 horas a 31°C, sendo que níveis anormais de fósforo inorgânico associados à Mg^{2+} e Ca^{2+} podem prejudicar o crescimento e a mineralização óssea em peixes (POLEDNIK et al., 2008). Podem ocorrer também alterações na permeabilidade da membrana (PERES et al., 2015), disfunções mitocondriais (COWAN, 1995) o que pode levar a um prejuízo do metabolismo energético. A concentração de íons cloreto não foi alterada em *R. voulezi* submetidos à 31°C por até 96 horas. Estes resultados podem indicar que a espécie possui grande capacidade osmorregulatória para as condições testadas neste trabalho. Outros estudos obtiveram resultados semelhantes na espécie

congênera *Rhamdia quelen*, expostos ao aumento nas concentrações ambientais de amônia (CARNEIRO et al., 2009a; 2009b).

6 CONCLUSÃO

"O aumento da temperatura é capaz de afetar a morfologia de eritrócitos de *R. voulezi*". Eritrócitos de *R. voulezi* apresentaram alterações morfológicas frente ao aumento de temperatura (31°C) com perda de formato, rompimento de membranas com extravasamento do líquido citoplasmático e membranas alteradas com ondulações ou saliências havendo formação de vesículas.

Em *R. voulezi* os marcadores plasmáticos que sofreram alterações somente ao longo dos tempos, foram cortisol, glicose e AST, provavelmente decorrentes do ritmo circadiano. Concentrações plasmáticas de proteínas totais, ureia e de fósforo foram alteradas pela interação do tempo e da temperatura enquanto que as concentrações de triglicerídeos e cloretos e as atividades das enzimas e ALT não foram alteradas.

7 BIBLIOGRAFIA

ABHIJITH, B. D.; RAMESH, M.; POOPAL, R. K. Responses of metabolic and antioxidant enzymatic activities in gill, liver and plasma of *Catla catla* during methyl parathion exposure, **The Journal of Basic & Applied Zoology**, V. 77, p. 31-40, 2016.

ADAMS, S. M. Biological indicators of stress in fish. **American Fisheries Society Symposium**, Series 8. Maryland. 1990.

AFONSO, P.; FONTES, J.; HOLLAND, K. N. e SANTOS, R. S. Social status determines behaviour and habitat usage in a temperate parrotfish: implications for marine reserve design. **Marine Ecology Progress Series**, v. 359, p. 215-227, 2008.

AKHTAR, M. S.; PAL, A. K.; SAHU, N. P.; CIJI, A.; MAHANTA, P. C. Thermal tolerance, oxygen consumption and haemato-biochemical variables of *Tor putitora* juveniles acclimated to five temperatures. *Fish Physiol. Biochem.* v. 39, p. 1387-1398. 2013a.

ALMEIDA, J. R.; GRAVATO, C.; GUILHERMINO, L. Effects of temperature in juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) biomarker responses and behaviour: implications for environmental monitoring. *Estuar. Coasts.* v. 38, p. 45–55. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12237-014-9792-7>. Acesso em set de 2019.

ALMEIDA, D. M.; PETESSE, M. L.; TACHIBANA, L.; DIAS, D. C.; MOREIRA, R.G.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. Monitoring whole blood, plasma and serum variables of Nile tilapia during 24 hours, after capture stress. **Boletim do Instituto de Pesca**, [S.l.], v. 44, n. 4, p. 1041-1045, dec. 2018.

ALVES, S. R. C. Respostas bioquímicas em tilápias mantidas no Rio do Braço, Joinville, SC. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina. 52 páginas

ANBUMANI, S. e MOHANKUMAR, M. N. Gamma radiation induced micronuclei and erythrocyte cellular abnormalities in the fish *Catla catla*. *Aquatic toxicology*, v. 122, p. 125-132, 2012.

ANGILLETTA JR, Michael J.; ANGILLETTA, Michael James. Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis. 2009.

AURÉLIO, M., FALEIRO, F., LOPES, V.M., PIRES, V., LOPES, A.R., PIMENTEL, M.S., REPOLHO, T., BAPTISTA, M., NARCISO, L., ROSA, R. **Physiological and behavioral responses of temperate seahorses (*Hippocampus guttulatus*) to environmental warming.** *Mar. Biol.* v. 160, p. 2663–2670. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00227-013-2259-8>. Acesso em dez de 2019.

AURICH, C. Factors affecting the plasma membrane function of cooled-stored stallion spermatozoa. **Animal Reproduction Science**, v. 89, n. 1-4, p. 65-75, 2005.

ALAM, M. M.; RAHMAN, M. T. e PARWEEN, S. Morphometric characters and condition factors of five freshwater fishes from Pagla river of Bangladesh. **International Journal of Aquatic Biology**, v. 2, n. 1, p. 14-19, 2014.

ALLEN, P. Determination of haematological parameters of *Oreochromis aureus* Steindachner and the effects of heparin on these. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 106, n. 2, p. 355-358, 1993.

ALMEIDA, J. R.; GRAVATO, C. e GUILHERMINO, L. Effects of temperature in juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) biomarker responses and behaviour: implications for environmental monitoring. **Estuar. Coasts**, v. 38, p. 45–55. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12237-014-9792-7>. 2015.

ALMEIDA, D. M.; PETESSE, M. L.; TACHIBANA, L.; DANIELLE DE CARLA, D. I. A. S.; MOREIRA, R. G. e RANZANI-PAIVA, M. J. T. Monitoring whole blood, plasma and serum variables of Nile tilapia during 24 hours, after capture stress. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, n. 4, p. 1041-1045, 2018.

ALMROTH, B.C.; ASKER, N.; WASSMUR, B.; ROSENGREN, M.; JUTFELT, F. Warmer water temperature results in oxidative damage in an Antarctic fish, the bald notothen. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol**, v. 468, p. 130–137, 2015.

ARMILIATO, N. Toxicidade celular e bioquímica do glifosato sobre ovários de peixe *Danio rerio*, 2014. 104f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e do Desenvolvimento), Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2014

ASANAMI, S.; SHIMONO, K. The effect of hyperthermia on micronucleus induction by mutagens in mice. **Mutat Res.**, v. 446, p. 149–154, 1999.

ASHAF-UD-DOULAH, M.; SHAHJAHAN, M.; ISLAM, S. M.; AL-EMRAN, M.; RAHMAN, M. S. e HOSSAIN, M. A. R. Thermal stress causes nuclear and cellular abnormalities of peripheral erythrocytes in Indian major carp, rohu *Labeo rohita*. **Journal of Thermal Biology**, v. 86, p. 102-450, 2019.

AVROVA, A. O.; STEWART, H. E.; DE JONG, W.; HEILBRONN, J.; LYON, G. D. e BIRCH, P. R. J. A Cysteine Protease Gene Is Expressed Early in Resistant Potato Interactions with *Phytophthora infestans*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 12, n. 12, p. 1114–1119, 1999.

AZEVEDO, L. C. Análise da precipitação pluvial da bacia do rio Iguaçu–Paraná. 2006. 109 f. il. Dissertação (mestrado em Geografia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá (PR), 2006.

BACILA, M. **Bioquímica Veterinária**. 2ª ed. São Paulo: Robe Editorial, 583 p. 2003.

BAI, M. M.; DIVYA, K.; HASEENA, B. S. K.; SAILAJA, G.; SANDHYA, D. e THYAGARAJU, K. Evaluation of genotoxic and lipid peroxidation effect of cadmium in developing chick embryos. **J. Environ. Anal. Toxicol.**, v.4, n. 238, 2014.

BAERENDS, G. P.; BROUWER, R. e WATERBOLK, H. T. Ethological studies on *Lebistes reticulatus* (Peters) 1. An analysis of the male courtship pattern. *Behaviour*, 249-334, 1955.

BAGNYUKOVA, T. V.; LUZHNA, L. I.; POGRIBNY, I. P. e LUSHCHAK, V. I. Oxidative stress and antioxidant defenses in goldfish liver in response to short-term exposure to arsenite. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 48, n. 8, p. 658-665, 2007.

BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura. **UFSM**, Santa Maria, 212p, 2002.

BALL, B.A. Oxidative stress, osmotic stress and apoptosis: impacts on sperm function and preservation in the horse. **Animal Reproduction Science**, v.107, n.3, p.257-267, 2008.

BANAEE, M.; SUREDA, A.; MIRVAGHEFI, A. R.; AHMADI, K. Biochemical and histological changes in the liver tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sub-lethal concentrations of diazinon. **Fish Physiol. Biochem.**, v. 39, p. 489-501, 2013;

BANAEE, M.; AKHLAGHI, M.; SOLTANIAN, S.; GHOLAMHOSSEINI, A.; HEIDARIEH, H.; FERREIDOUNI, M. S. Acute exposure to chlorpyrifos and glyphosate induces changes in hemolymph biochemical parameters in the crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). **Comp. Biochem. Physiol. C**, v. 222, p. 145-155, 2019.

BANAEE, M.; AKHLAGHI, M.; SOLTANIAN, S.; SUREDA, A.; GHOLAMHOSSEINI, A.; RAKHSHANINEJAD, M. Combined effects of exposure to sub-lethal concentration of the insecticide chlorpyrifos and the herbicide glyphosate on the biochemical changes in the freshwater crayfish *Pontastacus leptodactylus*. **Ecotoxicology**, v. 29, p. 1500-1515, 2020.

BARAS, E. e LUCAS, M. C. Impacts of man's modifications of river hydrology on the migration of freshwater fishes: a mechanistic perspective. **International Journal of Ecohydrology & Hydrobiology**, v. 1, n. 3, p. 291-304, 2001.

BARBOSA, F. A. R.; PADISÁK, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; BORICS G. e ROCHA, O. The cascading reservoir continuum concept (CRCC) and its application to the River Tietê-Basin, São Paulo State, Brazil. In: J.G. TUNDISI e M. STRASKRABA,

eds. Theoretical reservoir ecology and its applications. Leiden: **Backhuys Publishers**, p. 425-437, 1999.

BARCELLOS, L. J. G.; KREUTZ, L. C.; RODRIGUES, L. B.; FIOREZE, I.; QUEVEDO, R. M. e TERRA, S. Haematological and biochemical characteristics of male jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard *Pimelodidae*): changes after acute stress. **Aquaculture Research**, v. 34, p. 1465-1469, 2003.

BARCELLOS, L. J. G.; WASSERMANN, G. F.; SCOTT, A. P.; WOEHL, V. M.; LULHIER, F.; QUEVEDO, R. M.; ITZÉS, I. e KRIEGER, M. H. Plasma steroid concentrations in relation to the reproductive cycle of cultured male *Rhamdia quelen*. **J. Fish Biol.**, v. 61, n. 3, p. 751-763, 2002.

BARCELLOS, L. J. G.; MARQUEZE, A.; TRAPP, M.; QUEVEDO, R. M.; FERREIRA, D. The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundiá *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v. 300, n. 1-4, p. 231-236, 2010.

BARCELLOS, L. J. G.; de SOUSA, S. M. G.; WOEHL, V. M. Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causas e consequências (Revisão). **Boletim do Instituto de Pesca**. v. 26, n. 1, p. 99-111. 2018.

BARTON, B. A.; SCHRECK, C. B.; EWING, R. D.; HEMMINGSEN, A. R. e PATINO, R. Changes in plasma cortisol during stress and smoltification in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. **General and comparative endocrinology**, v. 59, n. 3, p. 468-471, 1985.

BARTON, B. A. e IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of fish diseases**, v. 1, p. 3-26, 1991.

BARTON, B. A. E DWYER, W. P. Physiological stress effects of continuous- and pulsed-DC electroshock on juvenile bull trout. **J. Fish Biol**, 1997.

BARTON, B. A. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, p. 517-525, 2002.

BATESON, P. e GLUCKMAN, P. Plasticity and robustness in development and evolution. **International Journal of Epidemiology**, v. 41, n. 1, p. 219-223, 2012.

BAUMGARTNER, D.; BAUMGARTNER, G.; PAVANELLI, C. S.; SILVA, P. R. L.; FRANA, V. A.; OLIVEIRA, L. C.; MICHELON, M. R. Fish, Salto Osório Reservoir, rio Iguaçu basin, Paraná, Brazil. São Paulo, v. 2, n. 1, p. 1-4, 2006.

BAUMGARTNER, G.; PAVANELLI, C. S.; BAUMGARTNER, D.; BIFI, A.G.; DEBONA, T.; FRANA, V.A. Peixes do baixo rio Iguaçu, 1ª edição, **EDUEM**, 203 p. 2012.

BEITINGER, T. L.; BENNETT, W. A. e MCCAULEY, R. W. Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. **Environmental biology of fishes**, v. 58, n. 3, p. 237-275, 2000.

BELHADJ SLIMEN, I., NAJAR, T., GHRAM, A., & ABDERRABBA, M. Heat stress effects on livestock: molecular, cellular and metabolic aspects, a review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 3, p. 401-412, 2016.

BIBIANO MELO, J. F.; LUNDSTEDT, L. M.; I. M.; BAANANTE, I. V.; MORAES, G. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae), **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 145, n. 2, p. 181-187, 2006.

BOOCKMANN, F. A.; GUAZZELLI, G. M. FAMILY HEPTAPTERIDAE. in: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS JUNIOR, C. J. Check list of the freshwater fishes of south and Central America. **EDIPUCRS**, p. 331-331, Porto Alegre, 2003.

BOONSTRA, R. The ecology of stress: a marriage of disciplines. **Functional Ecology**, v. 27, n. 1, p. 7-10, 2013.

BOWDEN TJ. Modulation of the immune system of fish by their environment. **Fish Shellfish Immunol**, v. 25, p.373-383, 2008.

BOYD, C. E. Water quality management for pond fish culture. **Elsevier Scientific Publishing Co.**, 1982.

BRASSAC, N. M., ATAB, D. R., LANDUCCI, M., VISINONI, N. D., & LUDWIG, T. V. Diatomáceas cêntricas de rios na região de abrangência da usina hidrelétrica de Salto Caxias, PR, (Bacia do rio Iguaçu). **Acta Botanica Brasilica**, v. 13, n. 3, p. 277-289, 1999.

BRETT, J. R., Rate of gain of heat tolerance in goldfish (*Carassius auratus*). **Univ. Toronto Stud. Biol.**, v. 53, n. 64, p. 9-28, 1946.

BRIX O.; THORKILDSEN S.; COLOSIMO A. Temperature acclimation modulates the oxygen binding properties of the Atlantic Cod (*Gadus morhua L.*) genotypes Hbl*1/1, Hbl*1/2, and Hbl*2/2- by changing the concentrations of their major hemoglobin components. **Comp. Biochem. Physiol. A**, v. 138, p. 241-251, 2004.

BROSSI, C.; CONTRERAS-CASTILLO, C. J.; AMAZONAS, E. A.; AMAZONAS, E. A.; MENTEN, J. F. M. Estresse térmico durante o pré-abate em frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 4, p. 1296- 1305, 2009.

BUCKUP, P. A.; TEIXEIRA, J. M. S. Família Cichlidae. In BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil. Rio de Janeiro, **Museu Nacional**, p. 139-148, 2007.

BURGOS-ACEVES, M. A.; CAMPOS-RAMOS R.; GUERRERO-TORTOLERO, D.A. Description of peripheral blood cells and differential blood analysis of captive female and male leopard grouper *Mycteroperca rosacea* as an approach for diagnosing diseases. **Fish Physiol. Biochem.**, p. 1263-1269, 2010.

BURGOS-ACEVES, M. A.; LIONETTI, L. E FAGGIO, C. Multidisciplinary haematology as prognostic device in environmental and xenobiotic stress-induced response in fish. *Sci. Total Environ.*, v. 670, p. 1170-1183, 2019.

CAMPBELL, T. W. Hematology of fish. In: Thrall MA, Weiser G, Allison R, et al, editors. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Ames (IA): John Wiley & Sons, v. 25, p. 298–312, 2012.

CAMPBELL, T. W.; ELLIS C. K. Avian and exotic animal hematology and cytology. **Ames (IA)**, John Wiley & Sons; 2007.

CAMPOS, D. F.; BRAZ-MOTA, S.; VAL, A. L. e ALMEIDA-VAL, V. M. F. Predicting thermal sensitivity of three Amazon fishes exposed to climate change scenarios. **Ecological Indicators**, v. 101, p. 533-540, 2019.

CANDELIER, F.; EINARSSON, J.; LUNDELL, F.; MEHLIG, B. E ANGILELLA, J. The role of inertia for the rotation of a nearly spherical particle in a general linear flow, **Phys. Rev. E**, v. 91, 2015.

CANPANA, S. E.; MOHN, R. K.; SMITH, S. J.; CHOUINARD, G. A. Reply: spatial implications of a temperature-based growth model for Atlantic cod (*Gadus morhua*) off the eastern coast of Canada. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, v. 53, p.2909–2911, 1996.

CARBAJAL, A., REYES-LÓPEZ, F.E., TALLO-PARRA, O., LOPEZ-BEJAR, M., TORT, L. Comparative assessment of cortisol in plasma, skin mucus and scales as a measure of the hypothalamic-pituitary-interrenal axis activity in fish. *Aquaculture* v. 506, p. 410–416, 2019.

CARNEIRO, P. C. F.; KAISELER, P. H. S.; SWAROFISKY, E. A. C.; BALDISSEROTTO, B. Transport of jundiá *Rhamdia quelen* juveniles at different loading densities: water quality and blood parameters. *Neotrop. Ichthyol.* V. 7, n. 2, p. 283-288, 2009a

CARNEIRO, P. C. F.; SWAROFISKY, E. A. C.; SOUZA, D. P. E.; RAMOS, T. M.; BAGLIOLI, B.; BALDISSEROTTO, B. Ammonia-, sodium chloride-, and calcium sulfate-induced changes in the stress responses of jundiá, *Rhamdia quelen*, juveniles. *J. World. Aquac. Soc.* V. 40, p. 810-817, 2009b

CARVALHO, C. S.; FERNANDES, M. N. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responde in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. **Aquaculture**, V. 251, p. 109–117, 2006.

CASTRO, F. J. e FERNANDES, M. N. Efeitos da infestação por parasitos argulídeos na fisiologia e mecanismos de defesa inata em peixes cultivados. In: TAVARES-DIAS, M. (Org). Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá: **Embrapa Amapá**, p. 361-388, 2009.

CATALDI, E.; DI MARCO, P.; MANDICH, A.; CATAUDELLA, S. Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes); effects of temperature and stress. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 121A, p. 351-354. 1998.

CECH JR, J. J. e WOHLSCHLAG, D. E. Seasonal patterns of respiration, gill ventilation, and hematological characteristics in the striped mullet, *Mugil cephalus* L. **Bulletin of Marine Science**, v. 32, n. 1, p. 130-138, 1982.

CHEMINEAU, P.; DAVEAU, A.; COGNIÉ, Y.; AUMONT, G.; CHESNEAU, D. Seasonal ovulatory activity exists in tropical Creole female goats and Black Belly ewes subjected to a temperate photoperiod. **BMC Physiol.**, v. n. 12, 2004. Disponível em: doi:10.1186/1472-6793-4-12.

CHEN, S.; FAN, Z.; CHEN, W. The relationship of respiratory rate and oxygen consumption rate in common carp (*Cyprinus (C.) carpio* haematopterus Temminck et Schlegel) under different temperature. **J. Northeast. Agri. Univ.** v. 37, p. 352–356, 2006.

CHENG, C. H.; YANG, F. F.; LIAO, S. A.; MIAO, Y. T.; YE, C. X.; WANG, A. L.; TAN, J. W.; CHEN, X. Y. High temperature induces apoptosis and oxidative stress in pufferfish (*Takifugu obscurus*) blood cells. **J. Therm. Biol.** v. 53, p. 172–179, 2015.

CHENG, C. H.; YE, C. X.; GUO, Z. X.; WANG, A. L. Immune and physiological responses of pufferfish (*Takifugu obscurus*) under cold stress. **Fish. Shellfish Immunol.** V. 64, p. 137–145, 2017.

CHENG, C. H.; GUO, Z. X.; LUO, S. W. e WANG, A. L. Effects of high temperature on biochemical parameters, oxidative stress, DNA damage and apoptosis of pufferfish (*Takifugu obscurus*). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 150, p. 190-198, 2018.

CHIPPARI-GOMES, A. R.; GOMES, L. C. e BALDISSEROTTO, B. Lethal temperatures for silver catfish, *Rhamdia quelen*, fingerlings. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 9, n. 4, p. 11-21, 1999.

CHOUGULE, A. J.; WADE, M. R.; MANWAR, S. J.; KURALKAR, S. V.; KHOSE, K. K. HEDAU, M. Effect of supplementation heat stress alleviating agents on growth performance of broilers subjected to heat stress. 2018.

CHROUSOS, G. P. Stress and disorders of the stress system. **Nature Reviews Endocrinology**, n. 5, v. 7, p.374–381, 2009.

CHUNG, K. S. Heat resistance and thermal acclimation rate in tropical tetra *Astyanax bimaculatus* of Venezuela. **Environmental Biology of Fishes**, v. 57, n. 4, p. 459–463, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1007696027169>. Acesso em setembro de 2019.

CLAUSS T. M.; DOVE, A. D.; ARNOLD, J. E. Hematologic disorders of fish. **Vet Clin North Am Exot Anim Pract**, v. 11, n. 3, p. 445–462, 2008.

COGO, A. J.; SIQUEIRA, A. F.; RAMOS, A. C.; CRUZ, Z. M. e SILVA, A. G. Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais. **Natureza on line**, v. 7, n. 1, p. 37-42, 2009.

COPATTI, C. E., BALDISSEROTTO, B., DE FREITAS SOUZA, C., & GARCIA, L. Protective effect of high hardness in pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) under acidic or alkaline pH: Biochemical and haematological variables. **Aquaculture**, v. 502, p. 250-257, 2019.

CONTE, F. S. Stress and the welfare of cultured fish. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 86, p. 205-223, 2004.

COSTA, O. F. T.; FERREIRA, D. J. S.; MENDONÇA, F. L. P.; FERNANDES M. N., Susceptibility of the Amazonian fish, *Colossoma macropomum* (Serrasalminae) to short-term exposure to nitrite. **Aquaculture**, V. 232, p. 627-636, 2004.

COWAN, J. A. Introduction to the biological chemistry of magnesium ion. *The Biological Chemistry of Magnesium*, p. 1–23, 1995.

COX, P.M.; HUNTINGFORD, C.; WILLIAMSON, M.S. Emergent constraint on equilibrium climate sensitivity from global temperature variability. **Nature**, v. 553, p. 319. 2018.

CUNHA, M. A. Anestesia em jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a substâncias isoladas de plantas. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – **Universidade Federal de Santa Maria**, Santa Maria, 2007.

ÇIMEN, M. Y. B. Free radical metabolism in human erythrocytes. **Clinica Chimica Acta**, v. 390, p. 1-11, 2008.

DA COSTA, B. B., e STREIT Jr, D. P. Estresse oxidativo e antioxidantes no de sêmen de peixes. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 2019.

DA SILVA, A. S. E.; DE LIMA, J. T. A. X. e BLANCO, B. S. Hematologia em peixes. **Revista Centauro**, v. 3, n. 1, p. 24 - 32, 2012.

DANG, Z. H. I. C. H. A. O.; BALM, P. H.; FLIK, G. E. R. T.; BONGA, S. W. e LOCK, R. A. Cortisol increases Na (+)/K (+)-ATPase density in plasma membranes of gill chloride cells in the freshwater tilapia *Oreochromis mossambicus*. **Journal of Experimental Biology**, v. 203, n. 15, p. 2349-2355, 2000.

DAVIES, P. W.; NELMES, G.; WILLIAMS, K. R. e WILSHIRE, B. Stress-change experiments during high-temperature creep of copper, iron, and zinc. **Metal Science Journal**, v. 7, n. 1, p. 87-92, 1973.

DE BOECK, G.; VLAEMINCK, A.; VAN DER LINDEN, A.; BLUST, R. The energy metabolism of common carp (*Cyprinus carpio*) when exposed to salt stress: an increase in energy expenditure or effects of starvation. **Physiol. Biochem. Zool.** v. 73, p. 102–111. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/316717>. Acesso em ago de 2019.

DE CARVALHO FRANCA, L. F.; DA SILVA, F. R. P.; DI LENARDO, D.; ALVES, E. H. P.; NASCIMENTO, H. M. S.; DA SILVA, I. A. T. e VASCONCELOS, D. F. P. Comparative analysis of blood parameters of the erythrocyte lineage between patients with chronic periodontitis and healthy patients: results obtained from a meta-analysis. **Archives of oral biology**, v. 97, p. 144-149, 2019.

DEACON, N., and HECHT, T. The effect of temperature and photoperiod on the growth of juvenile spotted grunter *Pomadourys commersonii* (Pisces, Haemulidae). Africa do Sul, **Journal of Marine Science**, v. 17, p. 55-60. 1996.

DELARIVA, R. L. **Ecologia trófica da ictiofauna do rio Iguaçu-PR sob efeitos do represamento do Salto Caxias**. 2002. 65 f. Tese (Doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá (PR), 2002.

DEUTSCH, C. A.; TEWKSBURY, J. J.; HUEY, R. B.; SHELDON, K. S.; GHALAMBOR, C. K.; HAAK, D. C. e MARTIN, P. R. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 18, p. 6668-6672, 2008.

DEVOR, D. P.; KUHN, D. E.; O'BRIEN, K. M. e CROCKETT, E. L. Hyperoxia does not extend critical thermal maxima (CT_{max}) in white-or red-blooded Antarctic notothenioid fishes. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 89, n. 1, p. 1-9, 2016.

DEY, I.; BUDA, C.; WIJK, T.; HALVER, J. E. e FARKAS, T. Molecular and structural composition of phospholipid membranes in livers of marine and freshwater fish in relation to temperature. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, n. 16, p. 7498–7502, 1993. Disponível em: [doi:10.1073/pnas.90.16.7498](https://doi.org/10.1073/pnas.90.16.7498).

DIEMER, O.; NEU, D. H.; BITTENCOURT, F.; SIGNOR, A.; BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. Eugenol como anestésico para jundiá (*Rhamdia voulezi*) em diferentes pesos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 4, p. 1495-1500, 2012. Disponível em <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n4p1495>. Acesso em set de 2019.

DIEMER, O. Níveis de lisina em dietas para reprodutores de *Rhamdia voulezi* em tanques-rede. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2014.

DOTTA, J. **Desempenho da carpa comum (*Cyprinus carpio L., 1758*) em tanques de terra, tratados com adubos orgânico e inorgânico, durante os períodos de outono e inverno**. 1985, Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria (RS)

DOUDOROFF, P. The resistance and acclimation of marine fishes to temperature changes I. Experiments with *Girella nigricans* (Ayres). **Biol. Bull.**, v. 83, p.219-244, 1942.

DOURADO, P. L. R. Interferência do inseticida fipronil nas respostas ao estresse oxidativo de Tilápias do Nilo mediadas pelo ácido gama aminobutírico (GABA), durante períodos de hipóxia. Brasil, 2019. 118F. Tese (Doutorado em Biociências) – UNESP, São José do Rio Preto, 2019. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/181972>.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological reviews**, 2002.

DÜLGER, N.; KUMLU, M.; TÜRKMEN, S.; ÖLÇÜLÜ, A.; EROLDUĞAN, O. T.; YILMAZ, H. A. e ÖÇAL, N. Thermal tolerance of European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles acclimated to three temperature levels. **Journal of Thermal Biology**, v. 37, n. 1, p. 79-82, 2012.

EISSA, N. e WANG, H. P. Transcriptional stress responses to environmental and husbandry stressors in aquaculture species. **Reviews in Aquaculture**, v. 8, n. 1, p. 61-88, 2016.

EISSA, N.; WANG, H. P.; YAO, H.; SHEN, Z. G.; SHAHEEN, A. A. e ABOU-ELGHEIT, E. N. Expression of Hsp70, Igf1, and three oxidative stress biomarkers in response to handling and salt treatment at different water temperatures in yellow perch, *Perca flavescens*. **Frontiers in physiology**, v. 8, p. 683, 2017.

EL KENAWY, A. M.; LOPEZ-MORENO, J. I.; MCCABE, M. F.; ROBAA, S. M.; DOMÍNGUEZ-CASTRO, F.; PEÑA-GALLARDO, M. e VICENTE-SERRANO, S. M. Daily temperature extremes over Egypt: Spatial patterns, temporal trends, and driving forces. **Atmospheric Research**, v. 226, p. 219-239, 2019.

ENZOR, L. A.; PLACE, S. P. Is warmer better? Decreased oxidative damage in notothenioid fish after long-term acclimation to multiple stressors. *Journal of Experimental Biology*, v. 217, n. 18, p. 3301–3310, 2014.

FANGE R. Fish Blood Cells. In: Hoar WS, Randall DJ, Farrell AP, editors. **Fish Physiology**, Vol 12B, p. 1-54. San Diego, 1992.

FERNANDES, M. N. e RANTIN, F. T. Lethal temperatures of *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 46, p. 589-595, 1986.

FERREIRA, A. A.; DE OLIVEIRA NUÑER, A. P. e ESQUIVEL, J. R. Influência do pH sobre ovos e larvas de jundiá, *Rhamdia quelen* (Osteichthyes, Siluriformes). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 23, p. 477-481, 2001.

FEIDANTSIS, K.; MELLIDIS, K.; GALATOU, E.; SINAKOS, Z. e LAZOU, A. Treatment with crocin improves cardiac dysfunction by normalizing autophagy and inhibiting apoptosis in STZ-induced diabetic cardiomyopathy. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 28, n. 9, p. 952-961, 2018.

FERREIRA, F.; PIRES, M. F. A.; MARTINEZ, M. L.; COELHO, S. G.; CARVALHO, A. U.; FERREIRA, P. M. e CAMPOS, W. E. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 732-738, 2006.

FICKE, A. D.; MYRICK, C. A.; HANSEN, L. J. Potential impacts of global climate change on freshwater fisheries. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 17, n 4, p. 581–613, 2007.

FLOHR, B. M.; HUNT, J. R.; KIRKEGAARD, J. A. e EVANS, J. R. Water and temperature stress define the optimal flowering period for wheat in south-eastern Australia. **Field Crops Research**, n. 209, p. 108-119, 2017.

FRY, F. E. J. Effects of the environment on animal activity. **Pub. Ontario Fish. Lab. U. Toronto Studies, Biol. Ser.**, 55, 1-52. 1947.

FU, K.K.; FU, C.; QIN, Y.L.; BAI, Y.; FU, S.J. The thermal acclimation rate varied among physiological functions and temperature regimes in a common cyprinid fish. **Aquaculture**, v. 495, p. 393-301. 2018.

FUCHS, V. I.; SCHMIDT, J.; SLATER, M. J.; ZENTEK, J.; BUCK, B. H. e STEINHAGEN, D. The effect of supplementation with polysaccharides, nucleotides, acidifiers and *Bacillus* strains in fish meal and soy bean based diets on growth performance in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture**, v. 437, p. 243-251, 2015.

GAMPERL, A. K.; VIJAYAN, M. M.; BOUTILIER, R. G. Experimental control of stress hormone levels in fishes: techniques and applications. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, v. 4, n. 2, p. 215–255, 1994.

GARAVELLO, J.C.; PAVANELLI, C.S.; SUZUKI, H.I. Caracterização da ictiofauna do rio Iguaçu. In: AGOSTINHO, A.A.; GOMES, L.C. (Eds.) **Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo**, Maringá, Editora da Universidade Estadual de Maringá, p.61-84, 1997.

GARAVELLO, J. C.; BRITSKI, H. A.; ZAWADZKI, C. H. The cascudos of the genus *Hypostomus* Lacépède (Ostariophysi: Loricariidae) from the rio Iguaçu basin. *Neotrop. ichthyol.* [online]., v. 10, n. 2, p. 263-283, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252012000200005>. Acesso em set de 2019.

GHAFFAR, A., RIAZ, H., AHRAR, K., ABBAS, R.Z. Hemato-biochemical and genetic damage caused by triazophos in freshwater fish *Labeo rohita*. *Int. J. Agric. Biol.*, v. 17, p. 637-642, 2015.

GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A. R. C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). *Ciência Rural*, v. 30, p.179-185. 2000.

GRANT, K. R. Fish Hematology and Associated Disorders. *Vet. Clin. Exot. Anim.* v. 18, p. 83–103, 2015.

GRIM, J. M.; SIMONIK, E. A.; SEMONES, M. C.; KUHN, D. E.; CROCKETT, E. L. The glutathione dependent system of antioxidant defense is not modulated by temperature acclimation in muscle tissues from striped bass, *Morone saxatilis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, A. p.164,383–390, 2013.

GONÇALVES, A. F. N.; SANTOS, E. C. C.; FERNANDES, J. B. K.; e TAKAHASHI, L. S. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. v. 30, n. 3, p. 339-344.,2008 Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v30i3.108110.4025/actascianimsci.v30i3.1081>

GONZÁLEZ-MIRA, A, *et al.* **Drugs of environmental concern modify *Solea senegalensis* physiology and biochemistry in a temperature-dependent manner.** *Environmental Science and Pollution Research*, v. 23, p. 20937–20951, 2016.

GONZÁLEZ-MIRA A.; VARÓ I.; SOLÉ M.; TORREBLANCA A. Drugs of environmental concern modify *Solea senegalensis* physiology and biochemistry in a temperature-dependent manner. *Environ Sci Pollut Res Int.* v. 23, n. 20, p. 20937-20951, 2016. Disponível em: [10.1007/s11356-016-7293-x](https://doi.org/10.1007/s11356-016-7293-x).

GUEDES, D. C. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação do Jundiá (*Rhamdia ssp.*) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, Pimelodidae)**. 1980, Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria (RS).

GUTTERIDGE J. M. C.; QUINLAN G. Antioxidant protection against organic and inorganic oxygen radicals by normal human plasma: the important primary role for iron-binding and iron-oxidising proteins. *Biochim. et Biophys. Acta*. V. 1156, p. 144-150. 1993.

GUYNN, S.; DOWD, F. e PETZEL, D. Characterization of gill Na/K-ATPase activity and ouabain binding in Antarctic and New Zealand notothenioid fishes. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 131 A, p. 363– 374, 2002.

GROFF, J. M.; ZINKL, J. G. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish. **Vet. Clin. North Am Exot Anim Pract.**, v. 2, n. 3, p. 741-776, 1999.

HALL, F. G.; GRAY, I. E. The hemoglobin concentration of the blood of marine fishes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 81, n. 3, p. 589-594, 1929.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in Biology and Medicine. 2 ed. Oxford: Clarendon Press, 1989. *Links JIn*: SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants **Exp. Physiol.**, v.82, p. 291-295, 1997.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. **Oxford University Press**, Oxford, 1999.

HAWKEY, C. M.; BENNETT, P. M.; GASCOYNE, S. C.; HART, M. G. e KIRKWOOD, J. K. Erythrocyte size, number and haemoglobin content in vertebrates. **British journal of haematology**, v. 77, n. 3, p. 392-397, 1991.

HEDAYATI, A. e TARKHANI, R. Hematological and gill histopathological changes in iridescent shark, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878) exposed to sublethal diazinon and deltamethrin concentrations. **Fish Physiol. Biochem.**, v. 40, n. 3, p. 715-720, 2014.

HEGAZI, M. M.; ATTIA, Z. I.; ASHOUR, O. A. Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and white muscle of Nile tilapia in chronic ammonia exposure. **Aquat. Toxicol.** V. 99, p. 118-125, 2010.

HEISE, K.; PUNTARULO, S.; NIKINMAA, M.; ABELE, D.; PÖRTNER, HANS-O. Oxidative stress during stressful heat exposure and recovery in the North Sea eelpout *Zoarces viviparus* L. **The Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 353-363, 2006.

HIBIYA, T. **An atlas of fish histology**. Kodansha, Tokyo, Japão, 1982.

HIGHTOWER, L. E. Heat shock, stress proteins, chaperones, and proteotoxicity. **Cell**, v. 66, n2, p. 191–197, 1991.

HLAVOVÁ, V. Reference values of the haematological indices in grayling (*Thymallus thymallus* Linnaeus). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 105, n. 3, p. 525-532, 1993.

HOCHACHKA, P. W.; SOMERO, G. N. Biochemical Adaptation: Mechanisms and Process in Physiological Evolution; **University Press: Oxford**, UK, 2002.

HOSEINI, S. M.; HEDAYATI, A.; GHELICHPOUR, M. Plasma metabolites, ions and thyroid hormones levels, and hepatic enzymes[U+05F3] activity in Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) exposed to waterborne manganese. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 107, p. 84–89, 2014.

HRUBEC, T. C.; SMITH, S. A. Chapter 126 - Hematology of fishes. In: SCHALM'S VETERINARY HEMATOLOGY, 6. EDS: D. J. Weiss; K. J. Wardrop. Blackwell Publishing Ltd, p. 994-1004. EUA, 2010.

IENA, F. M.; LEBECK, J. Implications of aquaglyceroporin 7 in energy metabolism. **Int. J. Mol. Sci.** v. 19, p. 154, 2018.

IMADA, Y.; SHIOGAMA, H.; TAKAHASHI, C.; WATANABE, M.; MORI, M.; KAMAE, Y. e MAEDA, S. Climate change increased the likelihood of the 2016 heat extremes in Asia. **Bulletin of the American Meteorological Society**, v. 9, n. 1, p. S97-S101, 2018.

IMSLAND, A. K.; FOSS, A.; SPARBOE, L. O. e SIGURDSSON, S. The effect of temperature and fish size on growth and feed efficiency ratio of juvenile spotted wolffish *Anarhichas minor*. **Journal of Fish Biology**, v. 68, n. 4, p. 1107-1122, 2006.

INOUE, L. A. K. A.; SANTOS-NETO, C.; MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, v. 33 n. 5, p. 943-947, 2003.

IPCC Special Report on the Ocean and Cryosphere in a Changing Climate (IPCC, 2019).

ISEKI, K. K.; NEGRÃO, J. A.; DE LAURO CASTRUCCI, A. M. Efeito da temperatura e da fotofase nos níveis plasmáticos de melatonina em pacus maduros e em repouso reprodutivo. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 13, n. 2, p. 19-32, 2009.

ISLAM, M. A.; UDDIN, M. H.; UDDIN, M. J. e SHAHJAHAN, M. Temperature changes influenced the growth performance and physiological functions of Thai pangas *Pangasianodon hypophthalmus*. **Aquac. Reports.**, v. 13, p. 100-179, 2019.

ISLAM, M. J.; KUNZMANN, A.; THIELE, R. e SLATER, M. J. Effects of extreme ambient temperature in European seabass, *Dicentrarchus labrax* acclimated at different salinities: Growth performance, metabolic and molecular stress responses. **Science of The Total Environment**, v. 735, p. 139371, 2020.

ISLAM, M. J.; SLATER, M. J.; BÖGNER, M.; ZEYDIN, S. e KUNZMANN, A. Extreme ambient temperature effects in European seabass, *Dicentrarchus labrax*: growth performance and hemato-biochemical parameters. **Aquaculture**, v. 522, p. 735093, 2020b.

ISMINO-ORBE, R. A.; ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; GOMES, L. C. Excreção de amônia por tambaqui (*Colossoma macropomum*) de acordo com variações na temperatura da água e massa do peixe. **Pesq. agropec. bras**, v. 38, n. 10, p. 1243-1247, Brasília, 2003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2003001000015&lng=en&nrm=iso. Acesso em jan de 2020.

IVERSEN M.; ELIASSEN R. A. The effect of AQUI-S® sedation on primary, secondary, and tertiary stress responses during salmon smolt, *Salmo salar* L., transport and transfer to sea. **J. World Aquacult. Soc.** v. 40, n. 2, p. 216-225, 2009.

IWAMA, G. K. Intensive fish productions, GUIDED INDEPENDENT STUDY: COURSE MANUAL. UBC Access, University of British Columbia, Vancouver. 130p, 1993.

IWANA, G. K. **Stress in fish**. Annals of the New York Academy of Science, v.851, p.304-310, 1997.

IWAMA, G. K.; VIJAYAN, M. M.; FORSYTH, R. B. e ACKERMAN, P. A. Heat shock proteins and physiological stress in fish. **American Zoologist**, v. 39, n. 6, p. 901-909, 1999.

JAHAN, A.; NIPA, T.T.; ISLAM, S.M.; UDDIN, M.H.; ISLAM, M.S. e SHAHJAHAN, M. Striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) could be suitable for coastal aquaculture. **J. Appl. Ichthyol.**, 2019.

JAVED, M.; USMANI, N. Stress response of biomolecules (carbohydrate, protein and lipid profiles) in fish *Channa punctatus* inhabiting river polluted by Thermal Power Plant effluent. Saudi **Journal of Biological Sciences**, v. 22, n. 2, p. 237–242, 2015.

JEPPESEN, E.; BRUCET, S.; NASELLI-FLORES, L.; PAPASTERGIADOU, E.; STEFANIDIS, K.; NÖGES, T.; NÖGES, P.; ATTAYDE, J.L.; ZOHARY, T.; COPPENS, J.; BUCAK, T.; MENEZES, R.F.; FREITAS, F.R.S.; KERNAN, M.; SØNDERGAARD, M.; BEKLIOĞLU, M. Ecological impacts of global warming and water abstraction on lakes and reservoirs due to changes in water level and related

changes in salinity. *Hydrobiologia*. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10750-014-2169-x>. acesso em janeiro 2019.

JENTOFT, S.; AASTVEIT, A. H.; TORJESEN, P. A. e ANDERSEN, Ø. Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 141, n. 3, p. 353-358, 2005.

JHA, A. K.; PAL, A. K.; SAHU, N. P.; KUMAR, S.; MUKHERJEE, S. C. Haematoimmunological responses to dietary yeast RNA, ω -3 fatty acid and β -carotene in *Catla catla* juveniles. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 23, n. 5, p. 917–927, 2007.

Jl, D.; LI, M.; WANG, T.; ZHANG, C.; XU, Z; XU, W. Effects of low temperature stress periods on serum biochemical indexes in large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. **Fisheries Science (Dalian)**, v. 28, n. 1, p.1-4, 2009

JOBLING, M. **Fish Bioenergetics**. Chapman and Hall, London. 1994.

JOËLS, M.; BARAM, T. Z. The neuro-symphony of stress. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 459–466, 2009.

JONASSEN, T. M.; IMSLAND, A. K. e STEFANSSON, S. O. The interaction of temperature and fish size on growth of juvenile halibut. **Journal of Fish Biology**, v.54, n. 3, p. 556-572, 1999.

KANDALSKI, P. K.; DE SOUZA, M. R. D. P.; HERRERIAS, T.; MACHADO, C.; ZALESKI, T.; FORGATI, M. E DONATTI, L. Effects of short-term thermal stress on the plasma biochemical profiles of two Antarctic nototheniid species. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 28, n. 4, p. 925-940, 2018

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **J Cell. Biol.**, v. 27, p.137-138, 1965.

KATERSKY, R. S. e CARTER, C. G. High growth efficiency occurs over a wide temperature range for juvenile barramundi *Lates calcarifer* fed a balanced diet. **Aquaculture**, v. 272, n. 1-4, p. 444-450, 2007.

KIMBERLY, D. A., SALICE, C. J. **Interactive effects of contaminants and climate-related stressors: High temperature increases sensitivity to cadmium**. *Environmental Toxicology*, v. 32, p. 1337-1343, 2013.

KLEIN, R. D.; BORGES, V. D.; ROSA, C. E.; COLARES, E. P.; ROBALDO, R. B.; MARTINEZ, P. E.; BIANCHINI, A. Effects of increasing temperature on antioxidant defense system and oxidative stress parameters in the Antarctic fish *Notothenia coriiceps* and *Notothenia rossii*. **Journal of Thermal Biology**, v. 68, n. February, p. 110–118, 2017.

KOAKOSKI, G.; OLIVEIRA, T. A.; DA ROSA, J. G. S.; FAGUNDES, M.; KREUTZ, L. C.; E BARCELLOS, L. J. G. Divergent time course of cortisol response to stress in fish of different ages. **Physiology & behavior**, v. 106, n. 2, p. 129-132. 2012

KOEYPUDSA, W., & JONGJAREANJAI, M. Impact of water temperature and sodium chloride (NaCl) on stress indicators of hybrid catfish (*Clarias gariepinus Burchell* x *C. macrocephalus Gunther*). **Songklanakarin Journal of Science & Technology**, v. 33, n. 4, 2011.

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. Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept. **Neurosci Biobehav Rev.** v.35 n. 5, p. 1291-301. 2011. Disponível em: 10.1016/j.neubiorev.2011.02.003. acesso em: 12 ago de 2019.

KRANNER, I.; MINIBAYEVA, F. V.; BECKETT, R. P.; SEAL, C. E. **What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science.** New phytologist. Reino unido, 2010.

KREPS, E. M. Lipidy kletochnykh membran (lipids of cell membranes), Leningrad, 1981.

KUBITZA, F. **Transporte de peixes vivos. Parte 1.** Panorama Aquicult., v. 7, p. 20-26, 1997.

KUMAR, S.; SAHU, N. P.; PAL, A. K.; CHOUDHURY, D.; YENGGOKPAM, S.; MUKHERJEE, S. C. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 19, n. 4, p. 331–344, 2005.

LAZOGLOU, G.; ANAGNOSTOPOULOU, C.; SKOULIKARIS, C. e TOLIKA, K. Bias correction of climate model's precipitation using the copula method and its application in river basin simulation. **Water**, v. 11, n. 3, 600, 2019.

LEAL, M. J.; CLARK, B. E.; VAN EENENNAAM, J. P.; SCHREIER, A. D. e TODGHAM, A. E. The effects of warm temperature acclimation on constitutive stress, immunity, and metabolism in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) of different ploidies. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 224, p. 23-34, 2018.

LEE, S.; JI, K.; CHOI, K. Effects of water temperature on perchlorate toxicity to the thyroid and reproductive system of *Oryzias latipes*. **Ecotoxicol Environ Saf**, v.108, p. 311–317, 2014.

LERMEN, C. L.; LAPPE, R.; CRESTANI, M.; VIEIRA, V. P.; GIODA, C. R.; SCHETINGER, M. R. C.; MORSCH, V. M. Effect of different temperature regimes

on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, p. 497–507, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.021>.

LESSER, M. P. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. **Annu. Rev. Physiol.** V. 68, p. 253–278, 2006.

LESSER, M. P. Phylogenetic signature of light and thermal stress for the endosymbiotic dinoflagellates of corals (Family Symbiodiniaceae). **Limnology and Oceanography**, v. 64, n. 5, p. 1852-1863, 2019.

LOWE, C. J. e DAVISON, W. Plasma osmolarity, glucose concentration and erythrocyte responses of two Antarctic nototheniid fishes to acute and chronic thermal change. **Journal of Fish Biology**, v. 67, n. 3, p. 752-766, 2005.

LI, J.; LI, W.; JIANG, Z. G. E GHANBARI, H. A. Oxidative stress and neurodegenerative disorders. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 12, p. 24438-24475, 2013.

LIU, S.; WANG, D.; YIN, G.; LI, M. e LI, X. Experimental study on the microstructure evolution laws in coal seam affected by temperature impact. *Rock Mechanics and Rock Engineering*, p. 1-16, 2019.

LIU, C.; SHEN, W.; HOU, C.; GAO, XINMING, WANG, Q.; WU, X.; ZHU, J. Low temperature-induced variation in plasma biochemical indices and aquaglyceroporin gene expression. in the large yellow croaker *Larimichthys crocea*. **Scientific Reports**. V.9, p. 2717 2019.

LIU, B., WANG, M. Y., XIE, J., XU, P., GE, X. P., HE, Y. J., & PAN, L. K. Effects of acute cold stress on serum biochemical and immune parameters and liver HSP70 gene expression in GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Acta Ecologica Sinica**, v. 31, n. 17, p. 4866-4873, 2011

LUDRI, R. S.; SARMA, P. V. Cortisol concentrations in the blood plasma of lactating Beetal goats and their crosses. **Indian J. Anim. Sci.**, v. 55, n.6, p. 505-508, 1985.

LU, Y.; WU, Z.; SONG, Z.; XIAO, P.; LIU, Y.; ZHANG, P.; YOU, F. Insight into the heat resistance of fish via blood: Effects of heat stress on metabolism, oxidative stress and antioxidant response of olive flounder *Paralichthys olivaceus* and turbot *Scophthalmus maximus*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 58, p. 125–135, 2016.

LUO, S. W.; CAI, L.; LIU, Y.; Wang, W. N. Functional analysis of a dietary recombinant Fatty acid binding protein 10 (FABP10) on the *Epinephelus coioides* in response to acute low temperature challenge. **Fish. Shellfish Immunol**, v. 36, n. 2, p. 475–484, 2014.

LUO, S.; HUANG, Y.; XIE, F.; HUANG, X.; LIU, Y.; WANG, W.; QIN, Q. Molecular cloning, characterization and expression analysis of PPAR gamma in the orangespotted grouper (*Epinephelus coioides*) after the *Vibrio alginolyticus* challenge. **Fish. Shellfish Immunol.**, v. 43, n. 2, p. 310–324, 2015a.

LUO, S.W., WANG, W.N., XIE, R.C., XIE, F.X., KONG, J.R., XIAO, Y.C., HUANG, D., SUN, Z.M., LIU, Y., WANG, C. Molecular cloning and characterization of PTEN in the orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). **Fish. Shellfish Immunol.** V. 58, p. 686–700, 2016a.

LUPIEN, S. J.; MAHEU, F.; TU, M., FIOCCO, A.; SCHRAMEK, T. E. The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition. **Brain and Cognition**, v. 65, n. 3, p. 209–237, 2007.

MAACK, R. Geografia física do Estado do Paraná. Apresentação Riad Salumuni. Introdução Aziz Nacib Ab'Sabber. 2.ed. Rio de Janeiro: J. Olympio; Curitiba: Secretaria da Cultura e do Esporte do Estado do Paraná. 442p., 1981.

MADEIRA, D.; VINAGRE, C. e DINIZ, M. S. Are fish in hot water? Effects of warming on oxidative stress metabolism in the commercial species *Sparus aurata*. **Ecological Indicators**, v. 63, p. 324-331, 2016.

MADEIRA, D.; NARCISO, L.; CABRAL, H. N.; VINAGRE, C.; DINIZ, M. S. Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. **Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.** v. 166, p. 237–243, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.06.008>. acesso em out de 2019

MASSARSKY, A.; KOZAL, J. S. e DI GIULIO, R. T. Glutathione and zebrafish: old assays to address a current issue. **Chemosphere**, v. 168, p. 707-715, 2017.

MATOO, O. B.; IVANINA, A. V.; ULLSTAD, C.; BENIASH, E. e SOKOLOVA, I. M. Interactive effects of elevated temperature and CO₂ levels on metabolism and oxidative stress in two common marine bivalves (*Crassostrea virginica* e *Mercenaria mercenaria*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 164, n. 4, p. 545-553, 2013.

MATUSHIMA, E. R.; MARIANO, M. Kinetics of the inflammatory reaction induced by carrageenin in the swimbladder of *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 5-10, 1996.

MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, R. M.; MORALES, A. E. e SANZ, A. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. **Reviews in Fish Biology and fisheries**, v. 15, n. 1, p. 75-88, 2005.

MARTÍNEZ-PÁRAMO, S.; DIOGO, P.; DINIS, M. T.; HERRÁEZ, M. P.; SARASQUETE, C., e CABRITA, E. Sea bass sperm freezability is influenced by

motility variables and membrane lipid composition but not by membrane integrity and lipid peroxidation. **Animal reproduction science**, v. 131, n. 3-4, p. 211-218, 2012.

MARTINS DA ROCHA, R.; CARVALHO, E. G. e URBINATI, E. C. Physiological responses associated with capture and crowding stress in matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Aquaculture Research**, v. 35, n. 3, p. 245-249, 2004.

MAULVAULT, A.L.; BARBOSA, V.; ALVES, R.; CUSTÓDIO, A.; ANACLETO, P.; REPOLHO, T.; POUSÃO FERREIRA, P.; ROSA, R.; MARQUES, A.; DINIZ, M. Ecophysiological responses of juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax*) exposed to increased temperature and dietary methylmercury. **Sci. Total Environ.** v. 586, p. 551–558, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.016>.

MCBRYAN, T. L.; ANTTILA, K.; HEALY, T. M. e SCHULTE, P. M. Responses to temperature and hypoxia as interacting stressors in fish: implications for adaptation to environmental change. **Integrative and comparative biology**, v. 53, n. 4, p. 648-659, 2013.

MCCAULEY, R. W.; HUGGINS, N. W. Ontogenetic and non-thermal seasonal effects on thermal preference of fish. **American Zoologist**. V. 19, p. 267–271, 1979.

MCCLELLAND, G. B.; CRAIG, P. M.; DHEKNEY, K.; DIPARDO, S. H. Temperature and exercise induced gene expression and metabolic enzyme changes in skeletal muscle of adult zebrafish (*Danio rerio*). **J. Physiol.** v. 577, p. 739–751, 2006.

MELO, J. F. B.; LUNDSTEDT, L. M.; METÓN, I.; BAANANTE, I. V.; MORAES, G. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). **Com. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.** v. 145, n. 2, p. 181–187, 2006.

MÉNDEZ-GIMÉNEZ, L.; RODRÍGUEZ, A.; BALAGUER, I.; FRÜHBECK, G. Role of aquaglyceroporins and caveolins in energy and metabolic homeostasis. **Mol. Cell. Endocrinol.** V. 397, p. 78–92, 2014.

MERINO, G.; BARANGE, M.; BLANCHARD, J.; HARLE, J.; HOLMES, R.; ALLEN, ALLISON, E. H.; BADJECK, M. C.; DULVY, N. K.; HOLT, J.; JENNINGS, S.; MULLON, C.; RODWELL, L. D. Can marine fisheries and aquaculture meet fish demand from a growing human population in a changing climate?, **Global Environmental Change**, v. 22, n. 4, p. 795-806, 2012.

MING, J.; XIE, J.; XU, P.; GE, X.; LIU, W. e YE, J. Effects of emodin and vitamin C on growth performance, biochemical parameters and two HSP70s mRNA expression of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) under high temperature stress. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 32, n. 5, p. 651–661, 2012. Disponível em: [doi:10.1016/j.fsi.2012.01.008](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.01.008).

MINTENBECK, K.; BARRERA-ORO, E. R.; BREY, T.; JACOB, U.; KNUST, R.; MARK, F. C.; MOREIRA, E.; STROBEL, A.; ARNTZ, W. E. Impact of Climate Change on Fishes in Complex Antarctic Ecosystems. In: *Global change in multispecies systems*, v. 46, p. 351-426. 2012.

MONTSERRAT J. M.; MARTINEZ, P. E.; GERACITANO, L. A.; AMADO, L. L.; MARTINS, C. M. G.; PINHO, G. L. L.; CHAVES, I. S.; FERREIRA-CRAVO, M.; LIMA, J. V.; BIANCHINI, A. Pollution biomarkers in estuarine animals: critical review and new perspectives. **Comp Biochem Phys C.**, v. 146, n. 1–2, p. 221–234, 2007.

MINEROPAR, Parque Nacional do Iguaçu. Disponível em: <<http://www.mineropar.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=12>>. Acesso em: fev de 2020.

MOURA, G. S.; OLIVEIRA, M. G. A.; LANNA, E. T. A. Desempenho e atividade de amilase em tilápias-do-nilo submetidas a diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 11, p. 1609-1615, 2007.

MUELLER, I. A.; DEVOR, D. P.; GRIM, J. M.; BEERS, J. M.; CROCKETT, E. L.; O'BRIEN, K. M. Exposure to critical thermal maxima increases oxidative stress in hearts of whitebut not red-blooded Antarctic notothenioid fishes. *Journal of Experimental Biology*, v. 215, n. 20, p. 3655-3664, 2012.

MUJAHID, A.; SATO, K.; AKIBA, Y. e TOYOMIZU, M. Acute heat stress stimulates mitochondrial superoxide production in broiler skeletal muscle, possibly via downregulation of uncoupling protein content. **Poultry science**, v. 85, n. 7, p. 1259-1265, 2006.

NAVARRO, I.; GUTIERREZ, J. Fasting and Starvation. In *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes* (Hochachka, P.W. e Mommsen, T.P., eds), New York: Elsevier. 4: 393-433, 1995.

NESAN, D. e VIJAYAN, M. M. Maternal cortisol mediates hypothalamus-pituitary-interrenal axis development in zebrafish. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-11, 2016.

NWANI, C. D.; LAKRA, W. S.; NAGPURE, N. S.; KUMAR, R.; KUSHWAHA, B.; SRIVASTAVA, S. K. Toxicity of the herbicide atrazine: effects on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in the freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch). **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 7, p. 3298-3312, 2010.

OBA, E. T.; MARIANO, W. D. S. e SANTOS, L. D. (2009). Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. Manejo e sanidade de peixes em cultivo. **Embrapa**, Amapá, p. 226-247.

ODUM, E. P. *Ecologia*. 23^a ed. **Editora Guanabara**, Rio de Janeiro, 434p, 2010.

OKAMOTO, M. H.; SAMPAIO, L. A.; MAÇADA, A. P. Efeito da temperatura sobre o crescimento e a sobrevivência de juvenis da tainha *Mugil platanus* (Günther, 1880). **Revista Atlântica**, v.28, p. 61-66, 2006.

OKUZAWA, K.; FURUKAWA, K.; AIDA, K.; HANYU, I. Effects of photoperiod and temperature on gonadal maturation, and plasma steroid and gonadotropin levels in a cyprinid fish, the honmoroko *Gnathopogon caerulescens*. **General and comparative endocrinology**, v. 75, n. 1, p. 139-147. 1989.

OLIVEIRA, A. M. D. Efeito da Temperatura Sobre Os Parâmetros Hematológicos de Colossoma Macropomum Alimentados Com Vitamina C. **X Jornada de Iniciação Científica do PIBIC/INPA**. 2001.

OLSVIK, P. A., VIKESÅ, V., LIE, K. K., & HEVROY, E. M. Transcriptional responses to temperature and low oxygen stress in Atlantic salmon studied with next-generation sequencing technology. **BMC genomics**, v. 14, n. 1, p. 1-21, 2013.

PAIVA, M. P. Grandes represas do Brasil. **Editerra Editorial**, Brasília, 292p, 1982.

PAMPLONA, R., & COSTANTINI, D. Molecular and structural antioxidant defenses against oxidative stress in animals. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 301, n. 4, p. R843-R863, 2011.

PANKHURST, N. W. e VAN DER KRAAK, G. Evidence that acute stress inhibits ovarian steroidogenesis in rainbow trout in vivo, through the action of cortisol. **General and comparative endocrinology**, v. 117, n. 2, p. 225-237, 2000.

PANKHURST, N. W. The endocrinology of stress in fish: An environmental perspective. **General and Comparative Endocrinology**, v. 170, n. 2, p. 265–275, 2011.

PANKHURST, N. W. Reproduction and development. In FISH PHYSIOLOGY, v. 35, p. 295-331, **Academic Press**, 2016.

PECK, L. S.; MORLEY, S. A.; RICHARD, J.; CLARK, M. S. Acclimation and thermal tolerance in Antarctic marine ectotherms. **The Journal of Experimental Biology**. v. 217, p. 16-22, 2014.

PEDERSEN, T.; JOBLING, M. Growth rates of large, sexually mature cod, *Gadus morhua*, in relation to condition and temperature during an annual cycle. **Aquaculture**. v. 81, p. 161–168, 1989.

PERES, H.; COSTAS, B.; PEREZ-JIMENEZ, A.; GUERREIRO, I.; OLIVATELES, A. Reference values for selected hematological and serum biochemical parameters of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) juveniles under intensive aquaculture conditions. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 31, n. 1, p. 65–71, 2015.

PETZEL, D. Drinking in Antarctic fishes. **Polar Biology**, v. 28, n. 10, p. 763-768, 2005.

PEYGHAN, R.; KHADJEH, G. H., ENAYATI A. Effect of water salinity on total protein and electrophoretic pattern of serum proteins of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. **Vet Res Forum**. v. 5, n. 3, p. 225-229, 2014.

PIAIA, R.; TOWNSEND, C. R.; BALDISSEROTO, B. Growth and survival of fingerlings of silver catfish exposed to different photoperiods. **Aquaculture International**, v. 7, n. 3, p. 201-205, 1999.

PIMPÃO, T. C. **Avaliação aguda dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial nativo: estudo bioquímico e imunotóxico**. 2006, 102 f, Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba (PR).

POLEDNÍK, L.; REHULKA, J.; KRANZ, A. PLEDNÍKOVÁ, K.; HLAVÁČ, V.; KAZIHNITKOVÁ, H. Physiological responses of over-wintering common carp (*Cyprinus carpio*) to disturbance by Eurasian otter (*Lutra lutra*). *Fish physiology and biochemistry*, v. 34, n. 3, p. 223-234, 2008.

PÖRTNER, H.O.; BERDAL, B.; BLUST, R.; BRIX, O.; COLOSIMO, A.; DE WACHTER, B.; GIULIANI, A.; JOHANSEN, T.; FISCHER, T.; KNUST, R.; LANNIG, G.; NAEVDAL, G.; NEDENES, A.; NYHAMMER, G.; SARTORIS, F.J.; SERENDERO, I.; SIRABELLA, P.; THORKILDSEN, S.; ZAKHARTSEV, M. Climate induced temperature effects on growth performance, fecundity and recruitment in marine fish: developing a hypothesis for cause and effect relationships in Atlantic cod (*Gadus morhua*) and common eelpout (*Zoarces viviparus*). **Continental Shelf Res**. v. 21, p. 1975-1997. 2001.

PÖRTNER, H. O.; PECK, M. A. Climate change effects on fishes and fisheries: towards a cause-and-effect understanding. **Journal of Fish Biology**, v. 77, p. 1745–1779, 2010.

PROBER, D. A.; ZIMMERMAN, S.; MYERS, B. R. Zebrafish TRPA1 channels are required for chemosensation but not for thermosensation or mechanosensory hair cell function, **J. Neurosci**. v. 28, n. 40, p. 10102–10110, 2008.

QI, Z.H.; LIU, Y.F.; LUO, S.W.; CHEN, C.X.; LIU, Y.; WANG, W.N. Molecular cloning, characterization and expression analysis of tumor suppressor protein p53 from orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* in response to temperature stress. **Fish. Shellfish Immunol.**, v. 35, p. 1466–1476, 2013.

RAMBHASKAR, B., & SRINIVASA RAO, K. Comparative haematology of ten species of marine fish from Visakhapatnam Coast. **Journal of fish biology**, v.30, n. 1, p. 59-66, 1987.

REIS, E. S.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W. R.; FREITAS, J. M. A.; ZAMINHAN, M.; MAHL, I. Processamento da ração no desempenho de juvenis de jundiá (*Rhamdia voulezi*) cultivados em tanques-rede. **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n. 2, p. 205-212, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5216/cab.v13i2.15421>. Acesso em set de 2019.

REISER, S.; WUERTZ, S.; SCHROEDER, J. P.; KLOAS, W. e HANEL, R. Risks of seawater ozonation in recirculation aquaculture—Effects of oxidative stress on animal welfare of juvenile turbot (*Psetta maxima*, L.). **Aquatic Toxicology**, v. 105, n. 3-4, p. 508-517, 2011.

REMEN, M.; SIEVERS, M.; TORGERSEN, T. e OPPEDAL, F. The oxygen threshold for maximal feed intake of Atlantic salmon post-smolts is highly temperature-dependent. **Aquaculture**, v. 464, p. 582-592, 2016.

REYES-LÓPEZ, F. E.; TALLO-PARRAA, O.; LOPEZ-BEJARA, M.; TORTB, L. Comparative assessment of cortisol in plasma, skin mucus and scales as a measure of the hypothalamic-pituitary-interrenal axis activity in fish. *Anais Carbajala, Aquaculture*. v.506, p.410–416, 2019

RIBEIRO, C. S; MOREIRA, R. G. Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Rev. Biol.**, v. 8, p. 58-61, 2012.

ROCHA, R. M.; FLORES, C. Q. The ultrastructure of the hematopoietic tissue in the head kidney of matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1896) (Teleostei – Characidae). **Acta Microscopica, Caracas**, v. 2, supl. B, p. 207-208, 2001.

RODERJAN, C. V.; GALVÃO, F.; KUNIYOSHI, Y. S. e HATSCHBACH, G. G. As unidades fitogeográficas do estado do Paraná, Brasil. **Ciência & Ambiente**, v. 24, n. 1, p. 75-42, 2002.

RODNICK, K. J., & PLANAS, J. V. The stress and stress mitigation effects of exercise: cardiovascular, metabolic, and skeletal muscle adjustments. In **FISH PHYSIOLOGY**, v. 35, p. 251-294. **Academic Press**, 2016.

RODRIGUEZ-FORERO, A. Basic Hemtology of *Oncorhynchus mykiss* (Salmonidae) in Cundinamarca, Colombia. **Revista Laboratories**, Philadelphia, PA, 1995.

ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do may-grunwald e do giemsa num só corante de emprego rápido. **Mem. Inst. Butantan**, v.20, p.329-335, 1947.

ROSSI, A.; BACCHETTA, C.; CAZENAVE, J. Effect of thermal stress on metabolic and oxidative stress biomarkers of *Hoplosternum littorale*

(Teleostei, Callichthyidae). **Ecological Indicators**, v. 79, n. April, p. 361–370, 2017.

SADOUL, B. e VIJAYAN, M. M. Stress and growth. In FISH PHYSIOLOGY, v. 35, p. 167-205. **Academic Press**, 2016.

SAITO, S. H.; SHINGAI, R. Evolution of ThermoTRP ion channel homologs in vertebrates, *Physiol. Genomics*, v. 27, p. 219–230, 2006.

SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J.; LÓPEZ-OLMEDA, J. F.; VERA, L. M.; MIGAUD, H.; LÓPEZ-PATIÑO, M. A. E MÍGUEZ, J. M. Environmental Cycles, Melatonin, and Circadian Control of Stress Response in Fish. **Front. Endocrinol.** v. 10, p.:279, 2019.

SANTOS, M. A.; PACHECO, M. *Anguilla anguilla* L. stress biomarkers recovery in clean water and secondary-treated pulp mill effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 35, p. 96-100, 1996.

SCHMIDT-NIELSEN, K. *Fisiologia animal*. 5ª ed. Editora Santos. São Paulo, 611. 2010.

SCHRECK, C. B.; OLLA, B. L.; DAVIS, M. W. Behavioral responses to stress. In: IWANA, G.K., PICKERING, A.D. SUMPTER, J.P., SCHRECK, C.B. (eds) FISH STRESS AND HEALTH IN AQUACULTURE. **Society for Experimental Biology**, Seminar Series 62, Cambridge: Cambridge University Press. p.145-170, 1997.

SCHRECK, C. B. Accumulation and long-term effects os stress in fishes. In: MOBERG G.P.; MANCH, J.A. (Eds.) **The Biology of Animal Stress**. CAB International, p. 147–158, 2000.

SCHRECK, C. B.; TORT, L. The Concept of Stress in Fish. **Biology of Stress in Fish - Fish Physiology**, p. 1–34, 2016.

SCOTT, A.P., ELLIS, T., 2007. Measurement of fish steroids in water—a review. *Gen. Comp. Endocrinol.* 153, 392–400. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2006.11.006>.

SECRETARIA DE ESTADO DO MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS. **Revista Bacias Hidrográficas do Paraná**. SEMA, p.29-41, Curitiba, 2010.

SELYE, H. Thymus and Adrenals in the response of the Organism to Injuries and Intoxications. **The British Journal of Experimental Pathology**. v. 17, n. 3, p.234–248, 1936.

SELYE, H. **Stress, a tensão da vida**. Ibrasa - Instituição Brasileira de Difusão Cultural, São Paulo, 1959.

SELYE, H. **The evolution of the stress concept.** *American Scientist*, 61(6), 692–699. 1973.

SHAHJAHAN, M.; UDDIN, M.H.; BAIN, V.; HAQUE, M.M. Increased water temperature altered hemato-biochemical parameters and structure of peripheral erythrocytes in striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. **Fish. Physiol. Biochem.**, v. 44, p. 1309-1318, 2018.

SHAHJAHAN, M.; RAHMAN, M. S.; ISLAM, S. M. M.; UDDIN, M. H. e AL-EMRAN, M. Increase in water temperature increases acute toxicity of sumithion causing nuclear and cellular abnormalities in peripheral erythrocytes of zebrafish *Danio rerio*. **Environ. Sci. Pollut. Res.** 26, p. 36903–36912, 2019.

SHARMA, S.; GRAY, D. K.; READ, J. S.; O'REILLY, C. M.; SCHNEIDER, P.; QUDRAT, A.; GRIES, C.; STEFANOFF, S.; HAMPTON, S. E.; HOOK, S. e LENTERS, J. D. A global database of lake surface temperatures collected by in situ and satellite methods from 1985–2009. **Scientific data**, v. 2, p. 1-9, 2015.

SHARMIN, S.; SHAHJAHAN, M.; HOSSAIN, M. A.; HAQUE, M.A. e RASHID, H. Histopathological changes in liver and kidney of common carp exposed to sub-lethal doses of malathion. **Pakistan J. Zool.**, v. 47, p. 1495-1498, 2015.

SHRIVASTAVA, J.; SINHA, A.K.; CANNAERTS, S.; BLUST, R.; DE BOECK, G. Temporal assessment of metabolic rate, ammonia dynamics and ion-status in common carp during fasting: a promising approach for optimizing fasting episode prior to fish transportation, 2017. **Aquaculture**. v. 481, p. 218–228. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.008>. acesso em out de 2019.

SHUEY, D. L.; GUDI, R.; KRSMANOVIC, L.; GERSON, R. J. Evidence that oxymorphone-induced increases in micronuclei occur secondary to hyperthermia. **Toxicol Sci.**, v. 95, n. 2, p. 369–375, 2006.

SILFVERGRIP, A. M. C. A sistemática revisão de the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae). Stocolmo, Suíça, 1996.

SILVA, A. S. E. D. Perfil hematológico do peixe Beijupirá, *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766), cultivado em diferentes salinidades. 2012.

SILVA, R. G. Introdução à bioclimatologia animal. **Nobel**, p. 286, São Paulo, 2000.

SILVA R. M.; GOULART C. T.; GUIDO L. A. Evolução histórica do conceito de estresse. **Rev. Cient. Sena Aires**. v. 7, n. 2, p. 148-156, 2018.

SILVEIRA, T. L. R.; MARTINS, G. B.; DOMINGUES, W. B.; REMIÃO, M. H.; BARRETO, B. F.; LESSA, I. M.; SANTOS, L.; PINHAL, D.; DELLAGOSTIN, O. A.; SEIXAS, F.K.; COLLARES, T.; ROBALDO, R. B.; CAMPOS, V. F. **Gene and blood analysis reveal that transfer from brackish water to freshwater is less**

stressful to the silver side *Odontesthes humensis*. Front. Genet. v. 9, n. 28, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00028>.

SPARLING, D.W.; VANN, S.; GROVES, R.A. Blood changes in mallards exposed to white phosphorus. **Env. Toxic. and Chem.** v. 17, n. 12, p. 2521-2539, 1998

STADTMAN, E. R., e LEVINE, R. L. Protein oxidation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 899, n. 1, p. 191-208, 2000.

STINGELIN, L. A.; MIOTTO, H. C.; POUHEY, J. L. O. Rendimento de carcaça e carne do jundiá (*Rhamdia* sp) na faixa de 300 – 400 g de peso total cultivado na densidade de 1 peixe/m². In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 7., UFPEL/UCPEL/FURG, p.332, Pelotas, 1998.

STOCKER, T. Climate change 2013: the physical science basis: Working Group I contribution to the Fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. **Cambridge university press**, 2014.

STOLIAR, O. B., & LUSHCHAK, V. I. Environmental pollution and oxidative stress in fish. **OXIDATIVE STRESS-ENVIRONMENTAL INDUCTION AND DIETARY ANTIOXIDANTS**, p. 131-166, 2012.

STORCH, J. e MCDERMOTT, L. Structural and functional analysis of fatty acid-binding proteins. **Journal of lipid research**, v. 50, p. S126-S131, 2009.

SOLÉ, M.; VARÓ, I.; GONZÁLEZ-MIRA, A. e TORREBLANCA, A. Xenobiotic metabolism modulation after long-term temperature acclimation in juveniles of *Solea senegalensis*. **Marine Biology**, v. 162, p. 401–412, 2015.

SOMERO, G. N. Linking biogeography to physiology: Evolutionary and acclimatory adjustments of thermal limits. **Frontiers in Zoology**, v. 2, n. 1. 2005.

SOUZA, T. S.; FONTANETTI, C. S. **Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluente.** Mutation Research, v. 605, p. 87-93, 2006.

TANDON, B. N.; TANDON, H. D.; TANDON, R. K.; NARNDRANATHAN, M. e JOSHI, Y. K. An epidemic of veno-occlusive disease of liver in central India. *The Lancet*, v. 308, n. 7980, p. 271-272, 1976.

TARANGER, G. L. e HANSEN, T. Ovulation and egg survival following exposure of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., broodstock to different water temperatures. **Aquaculture Research**, v. 24, n. 2, p. 151-156, 1993.

TAVARES-DIAS, M.; BOZZO, F. R.; SANDRIN, E. F. S.; DE CAMPOS FILHO, E. E DE MORAES, F. R. Células sanguíneas, eletrólitos séricos, relação hepato e esplenossomática de carpa-comum, *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) na primeira

maturação gonadal. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 26, n. 1, p. 73-80, 2004.

TEWKSBURY, J.J.; HUEY, R.B.; DEUTSCH, C.A., Putting the heat on tropical animals. **Science**, v. 320, 1296–1297, 2008.

URBANATI, E. C.; ABREU, J.S.; CAMARGO, A. C. S.; LANDINES, M. A. Loading and transport stress in juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*) at variates densities. **Aquaculture**, v. 229, p. 389–400, 2004.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Eds.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. Sociedade Brasileira de Aquicultura e biologia Aquática**. p. 171-193. Editora Tecart. São Paulo, 2004.

VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL, V. M. F.; RANDALL, D. J. Physiology and biochemistry of the fishes of the Amazon. **INPA**, Manaus, 1996.

VAN DORST, R. M.; GÅRDMARK, A.; SVANBÄCK, R.; BEIER, U.; WEYHENMEYER, G. A. e HUSS, M. Warmer and browner waters decrease fish biomass production. **Global change biology**, v. 25, n. 4, p. 1395-1408, 2019.

VERMA, N.; ALYETHODI, R. R. A. KATHURIA, A.; ALEX, R.; HUSSAIN, S.; SINGH, U.; TYAGI, S.; SIROHI, A. S.; KUMAR, S.; DEB, R.; SENGAR, G. S.; RAJA, T. V.; PRAKASH, B. Effect of heat stress on superoxide anion production in native and crossbred cattle under in vitro whole blood culture model. **Journal of Thermal Biology**, v. 87, p. 102-457, 2020.

VAN DER VYVER, J.S.F.; KAISER, H.; POTTS, W.M.; JAMES, N. Using blood plasma cortisol concentration and fish behaviour to determine temperature avoidance in the estuarine-dependent fish species *Rhabdosargus holubi* (steindachner,1881) (sparidae). **J. Appl. Ichthyol.** v. 29, p. 1275–1278. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jai.12268>.

VIDAL, L. V. O.; ALBINATI, R. C. B.; ALBINATI, A. C. L.; LIRA, A. D. D.; ALMEIDA, T. R. D. e SANTOS, G. B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 8, p. 1069-1074, 2008.

VINAGRE, C.; SALGADO, J. P.; MENDONÇA, V.; CABRAL, H. e COSTA, M. J. Isotopes reveal fluctuation in trophic levels of estuarine organisms, in space and time. **Journal of Sea Research**, v. 72, p. 49-54, 2012.

VINAGRE, C., MADEIRA, D., MENDONÇA, V., DIAS, M., ROMA, J., & DINIZ, M. S. Effect of increasing temperature in the differential activity of oxidative stress biomarkers in various tissues of the Rock goby, *Gobius paganellus*. **Marine environmental research**, v. 97, p. 10-14, 2014.

WATSON, P.F. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. **Animal Reproduction Science**, v.60, p.481-492, 2000.

WANG, X., SHEN, M., ZHOU, J., & JIN, Y. Chlorpyrifos disturbs hepatic metabolism associated with oxidative stress and gut microbiota dysbiosis in adult zebrafish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 216, p. 19-28, 2019.

WANG, Y.; HAN, G.; CUONG V. P.; KOYANAGI, K.; SONG, Y.; SUDO, R.; LAUWEREYNS, J.; COCKREM, J. F; FURUSE, M; CHOWDHURY, V. S. An acute increase in water temperature can increase free amino acid concentrations in the blood, brain, liver, and muscle in goldfish (*Carassius auratus*). **Fish Physiol Biochem**. V. 45, p. 1343–1354, 2019.

WARING, C. P.; STAGG, R. M.; POXTON, M. G. Physiological responses to handling in turbot. **Journal of Fish Biology**. v. 48, n. 2, p. 161 – 173, 2005

WENDELAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. **Physiol. Rev.**, v. 77, p. 591–625, 1997.

WEDEMEYER, G. A.; BARTON, B. A.; MCLEAY, D. J. Stress and acclimation. In Schreck, C.B., Moyle, P.B. (eds.), **Methods for fish biology**. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, p. 451–489, 1990.

WEI, H.; ZHANG, R.; SU, Y.; BI, Y.; LI, X.; ZHANG, X. e BAO, J. (2018). Effects of acute cold stress after long-term cold stimulation on antioxidant status, heat shock proteins, inflammation and immune cytokines in broiler heart. **Frontiers in physiology**, v. 9, p.1589.

WILSON, S. M.; NAGLER, J. J. Age, but not salinity, affects the upper lethal temperature limits for juvenile walleye (*Sander vitreus*). **Aquaculture**, v. 257, p. 187-193, 2006.

WINTROBE, I. K. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematologica**, v. 54, p. 32-59, 1933.

Smith, W. H. Air pollution and forests: interactions between air contaminants and forest ecosystems. **Springer Science & Business Media**, 2012.

WOODWARD, C.C.; STRANGE, R. J. Physiological stress response in wild and hatchery reared rainbow trout. **Trans Am Fish Soc**, v. 116: p. 547-549, 1987.

XU, Y. Q.; CAO, Z. W.; DING, Z. K.; GAN, X. Effects and prevention of high temperature on fishes. **Fisheries science**, v. 29, p. 235-242, 2010.

YADA, T., & TORT, L. Stress and disease resistance: immune system and immunoendocrine interactions. In FISH PHYSIOLOGY, **Academic Press**, v. 35, p. 365-403, 2016.

YILMAZ, E. A Review on Hematology of Fish and Effect of Dietary Medicinal Herb on Blood Parameters of Fish Summary. **Science Journal (CSJ)**, v. 36, n. 2. Cumhuriyet University Faculty of Science, Turquia, 2015.

YTRESTOYL, T.; FINSTAD, B. E MCKINLEY, R. S. Swimming performance and blood chemistry in Atlantic salmon spawners exposed to acid river water with elevated aluminium concentrations. **Journal of Fish Biology**, v. 58, n. 4, p. 1025-1038, 2001.

YUAN, M.; LI, X.; LONG, T.; CHEN, Y. e LU, W. Dynamic responses of the Caudal Neurosecretory System (CNSS) under thermal stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 1560, 2020.

ZAFALON-SILVA, B.; ZEBRAL, Y. D.; BIANCHINI, A.; DA ROSA, C. E.; MARINS, L. F.; COLARES, E. P. e ROBALDO, R. B. Erythrocyte nuclear abnormalities and leukocyte profile in the Antarctic fish *Notothenia coriiceps* after exposure to short- and long-term heat stress. **Polar Biology**, v. 40, n. 9, p. 1755-1760, 2017.

ZAWADZKI, C. H.; RENESTO, E.; BINI, L. M. Genetic and morphometric analysis of three species of the genus *Hypostomus* Lacépède, 1803 (*Osteichthyes: Loricariidae*) from the Rio Iguazu basin (Brazil). **Revue Suisse de Zoologie**, Genebra, v. 106, n. 1, p. 91-105, 1999.

ZEBRAL, Y. D. Metabolismo energético e estado oxidativo no peixe *Poecilia vivipara*: efeitos da combinação entre aumento de temperatura e exposição ao cobre, 2019.

ZHAO, Q.; Zhou, L.; Liu, J.; Cao, Z.; Du, X.; Huang, F. e Cheng, F. Involvement of CAT in the detoxification of HT-induced ROS burst in rice anther and its relation to pollen fertility. **Plant Cell Reports**, v. 37, n. 5, p. 741-757, 2018.

ZUO, L. I.; CHRISTOFI, F. L.; WRIGHT, V. P.; LIU, C. Y.; MEROLA, A. J.; BERLINER, L. J. e CLANTON, T. L. Intra- and extracellular measurement of reactive oxygen species produced during heat stress in diaphragm muscle. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 279, n. 4, p. C1058-C1066, 2000.