



KARLA LARISSA NASCIMENTO FABIANO

**FONTES DE ÓLEOS PARA JUVENIS DE TAMBAQUI
(*Collossoma macropomum*) EXPOSTO AO ESTRESSE
PELO FRIO**

**LAVRAS-MG
2022**

KARLA LARISSA NASCIMENTO FABIANO

**FONTES DE ÓLEOS PARA JUVENIS DE TAMBACUI (*Colossoma macropomum*)
EXPOSTO AO ESTRESSE PELO FRIO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia da Produção Animal, área de concentração em Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para obtenção do título de “Mestre”

Prof^ª. Dra. Priscila Vieira e Rosa
Orientadora

Dr. Renan Rosa Paulino
Coorientador

**LAVRAS-MG
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Fabiano, Karla Larissa Nascimento.

Fontes de óleos para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) exposto ao estresse pelo frio / Karla Larissa Nascimento Fabiano. - 2022.

54 p.

Orientador(a): Priscila Vieira e Rosa.

Coorientador(a): Renan Rosa Paulino.

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Nutrição de peixes. 2. Estresse Oxidativo. 3. Peixes Nativos.
I. Rosa, Priscila Vieira e. II. Paulino, Renan Rosa. III. Título.

KARLA LARISSA NASCIMENTO FABIANO

**FONTES DE ÓLEOS PARA JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)
EXPOSTO AO ESTRESSE PELO FRIO**

**SOURCES OF OILS FOR JUVENILES OF TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)
EXPOSED TO STRESS BY COLD**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia da Produção Animal, área de concentração em Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para obtenção do título de “Mestre”

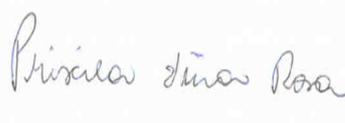
APROVADA EM 29 DE JUNHO DE 2022.

Dr. Prof^a. Dra. Priscila Vieira e Rosa, UFLA

Dr. Renan Rosa Paulino, UFLA

Dr. Diana Carla Fernandes Oliveira, UFLA

Prof^a. Dra. Priscila Vieira e Rosa
Orientadora



Dr. Renan Rosa Paulino
Coorientador

**LAVRAS-MG
2022**

DEDICATÓRIA

À minha família,

Minha mãe, **Maria José Nascimento Fabiano**, por ser a minha inspiração, pelo amor, carinho, e até pelas chamadas de atenção durante todos os acontecimentos da minha vida. Por ser sempre tão presente mesmo quando não concorda com as minhas escolhas. E por ser aquela professora que no fundo eu sempre quis ser. Obrigada por tanto! Obrigada por ter aceitado a missão de ser minha mãe.

Aos meus irmãos **Keith Nascimento** e **Kleyton Donizete**, as minhas cunhadas/irmãs **Elizabeth Kichel** e **Katia Pires**, e meus maravilhosos sobrinhos **Guilherme e Gustavo** e maravilhosas sobrinhas **Emanuelly e Natalia** por todo amor, apoio e por tornarem a caminhada mais leve.

Ao meu pai **João Donizete Fabiano**, por todos os momentos bons vividos juntos na minha infância.

Ao **Herus**, o melhor gato do mundo! Aquele que veio ao mundo com a missão de cuidar, amar incondicionalmente, ensinar sobre respeito e amor a nossa família. A ele que me acompanhou e me acalmou com apenas um olhar nesses quase 13 anos juntos. Sem você nada seria possível. Minha eterna gratidão.

Ao **Léo**, que retornou a terra um dia após a passagem do Herus. Que continua com a sua missão de cuidado, amor e ensinamentos a nossa família. E que me proporcionou uma nova alegria em viver.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todos os ensinamentos, toda proteção, amor, e por cada dia mais fortalecer a minha fé!

A todos os meus Professores e Professoras que desde os primeiros dias na escola me mostraram um mundo de possibilidades através da educação e da ciência. Eu devo tudo a cada um de vocês!

As universidades públicas e todos os seus colaboradores (professores, técnicos, servidores de base) que além de me conduzirem a evolução intelectual e pessoal, permitiu que eu tivesse o melhor ensino do nosso país. Minha eterna gratidão ao ensino/serviço público do Brasil.

Aos meus amigos que na verdade fazem parte da minha família. Liliane, Henrique, manuzinha que nasceu do amor dos dois passarinhos, e Renata. Sou grata pela nossa amizade, pelos nossos debates, pelas nossas inquietações, pelos nossos cuidados, pela ecologia ter nos apresentado. Não sei imaginar minha vida sem a presença de vocês. Agradeço pela forte presença de vocês na minha base de formação acadêmica e pelo apoio, orientação, debate e auxílio no desenvolvimento dessa dissertação.

A todos os meus amigos (as) e familiares que me apoiaram e torceram pelo meu desenvolvimento.

Ao Renan, pela amizade, por todas as conversas, ensinamentos, debates e pelo estímulo nessa jornada da aquicultura. Sem a sua motivação eu não teria iniciado esse Mestrado Profissional na UFLA.

A Professora Dr. Priscila Vieira e Rosa, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Produção Animal e a UFLA pela oportunidade de fazer esse mestrado e adquirir mais conhecimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

RESUMO

O óleo de peixe (OP) é uma fonte onerosa e finita utilizada na nutrição de peixes. Existe uma necessidade em substituí-la por fontes mais sustentáveis sem efeitos prejudiciais no crescimento e sobrevivência dos peixes. O tambaqui é um peixe onívoro de água doce que ocorre no rio Amazonas, adaptado a temperatura mais altas da água e com baixa resistência ao frio, sendo a espécie mais produzida na região amazônica e a segunda mais produzida no Brasil. A exposição ao aumento ou queda da temperatura da água foi relatada para elevar os níveis de biomarcadores de estresse oxidativo lipídico e criou diferentes padrões de resposta de enzimas antioxidantes em peixes. O presente estudo visa esclarecer o efeito de diferentes fontes de óleos vegetais sobre o cortisol plasmático e o estado oxidativo em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) sob desafio pelo frio. Foram utilizados 180 peixes, os quais foram distribuídos aleatoriamente em 18 em tanques termorregulados ($28,0 \pm 0,41$ ° C), cada tanque continha de 10 peixes cada (peso médio inicial de $42,8 \pm 0,9$ g). Três dietas foram formuladas com diferentes fontes de óleo: uma dieta com óleo de peixe (OP) e duas dietas com óleos vegetais (óleo de linhaça - OL e óleo de milho - OM) e ofertadas durante um período de 49 dias. No final das 7 semanas, os peixes foram contados e pesados após jejum de 24 horas. Os peixes foram selecionados aleatoriamente para amostrar a homeostase (H). Posteriormente, os peixes remanescentes foram mantidos em tanque por uma semana para prosseguir com o desafio pelo frio. A temperatura foi reduzida de 28 ° C para 21 ° C em 40 minutos. Duas amostras experimentais foram realizadas após o desafio, foram realizadas coletas às 3 horas (3H) e 24 horas (24H) após o alcance da temperatura. As fontes de óleo utilizados neste trabalho não afetaram o crescimento, sinais patológicos e mortalidade, sugerindo que podem ser boas fontes de lipídeos nas dietas da espécie estudada. Quanto aos efeitos dietéticos da fonte de óleo sobre os parâmetros plasmáticos e morfométricos verificou-se que foram afetados pela dieta e HPD, exceto IHS, que foi alterado apenas pelo HPD. Após as 24 hrs as 3 dietas apresentaram redução do fator de condição, provavelmente em resposta ao desafio do estresse. O IHS foi alterado pelo frio, pois o animal utilizou o glicogênio nas respostas ao estresse. E por esse motivo também o animal reduz o fator de condição. Essas alterações foram apresentadas após 24 hrs. Quanto aos efeitos da fonte de óleo da dieta sobre os marcadores antioxidantes hepáticos, verificou-se que exceto para GPX, houve uma interação significativa entre as dietas e HPD nas atividades de todas as enzimas. Esses resultados podem ter relação com o equilíbrio n-3/n-6 das dietas onde os animais ou ficaram mais vulneráveis e com o sistema imunológico e fisiológicos mais fragilizados (OM) ou apresentaram melhor resposta ao agente estressor também devido a relação n-3/n-6 (OP/OL). Considerando se também que a redução de temperatura pode ocasionar a diminuição da atividade do organismo que pode ser intensificada caso o animal não apresente boas condições para reagir a esse estresse. Neste estudo foi verificado que o óleo vegetal (OV) que apresentou melhores resultados foi o OL devido ao seu equilíbrio de n-3/n-6 possibilitando ao Tambaqui um melhor desempenho e uma melhor resposta ao fator estressante.

PALAVRAS-CHAVE: Nutrição. Estresse oxidativo. Peixes nativos. Óleos vegetais. Enzima.

ABSTRACT

Fish oil (OP) is an expensive and finite source used in fish nutrition. There is a need to replace it with more sustainable sources without harmful effects on fish growth and survival. Tambaqui is an omnivorous freshwater fish that occurs in the Amazon River, adapted to higher water temperatures and with low resistance to cold, being the most produced species in the Amazon region and the second most produced in Brazil. Exposure to rising or falling water temperatures has been reported to elevate levels of lipid oxidative stress biomarkers and create different patterns of antioxidant enzyme response in fish. The present study aims to clarify the effect of different vegetable oil sources on plasma cortisol and oxidative status in juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) under cold challenge. A total of 180 fish were used, which were randomly distributed into 18 in thermoregulated tanks (28.0 ± 0.41 °C), each tank contained 10 fish each (average initial weight of 42.8 ± 0.9 g). Three diets were formulated with different sources of oil: a diet with fish oil (OP) and two diets with vegetable oils (linseed oil - OL and corn oil - OM) and offered during a period of 49 days. At the end of the 7 weeks, the fish were counted and weighed after a 24-hour fast. Fish were randomly selected to sample homeostasis (H). Subsequently, the remaining fish were kept in a tank for a week to proceed with the cold challenge. The temperature was reduced from 28°C to 21°C in 40 minutes. Two experimental samples were performed after the challenge, collections were performed at 3 hours (3H) and 24 hours (24H) after reaching the temperature. The oil sources used in this work did not affect growth, pathological signs and mortality, suggesting that they may be good sources of lipids in the diets of the species studied. As for the dietary effects of the oil source on plasma and morphometric parameters, it was found that they were affected by diet and HPD, except for IHS, which was changed only by HPD. After 24 hrs, the 3 diets showed a reduction in the condition factor, probably in response to the stress challenge. The IHS was altered by the cold, as the animal used glycogen in the stress responses. And for that reason also the animal reduces the condition factor. These changes were presented after 24 hrs. As for the effects of dietary oil source on hepatic antioxidant markers, it was found that, except for GPX, there was a significant interaction between diets and HPD in the activities of all enzymes. These results may be related to the n-3/n-6 balance of the diets where the animals were either more vulnerable and the immune and physiological systems more fragile (OM) or showed a better response to the stressor also due to the n-3 relationship. /n-6 (OP/OL). Considering also that the reduction of temperature can cause a decrease in the activity of the organism that can be intensified if the animal does not present good conditions to react to this stress. In this study, it was verified that the vegetable oil (VO) that presented the best results was OL due to its n-3/n-6 balance, enabling Tambaqui to have a better performance and a better response to the stress factor.

KEYWORDS: Nutrition. Oxidative stress. Native fish. Vegetable oils. Enzymes.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

OP	Óleo de Peixe
OL	Óleo de Linhaça
OM	Óleo de Milho
OVs	Óleos Vegetais
MDA	Malondialdeído
FID	Detector de ionização de chama
GSSG	Glutathiona oxidada
H	Homeostase
FC	Fator de condição
IHS	Índice hepatossomático
HPD	Horas pós o desafio
GPX	Glutathiona peroxidase (glutathione peroxidase)
LA	Ácido linoleico n6
LNA	Ácido α -linolênico n3
AG	Ácidos graxos
AGE	Ácidos graxos essenciais
HUFA	Ácidos graxos altamente insaturados
PUFA	Ácidos graxos poliinsaturados
EPA	Ácido eicosapentaenóico
DHA	Ácido docosahexanóico
ARA	Ácido araquidônico
ERO	Espécies reativas de oxigênio
LPO	Peroxidação lipídica (Lipid Peroxidation)
CAT	Catalase
SOD	Superóxido dismutase (superoxide dismutase)
G6PDH	Glicose-6-fosfato desidrogenase (glucose-6-phosphate dehydrogenase)

GR	Glutationa redutase (glutathione reductase)
ASB	Albumina de soro bovino
SAFA	Ácidos graxos saturados
HC	Hormônio do crescimento

SUMÁRIO

Sumário

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Ômega- 3 e Ômega-6: Fontes primárias e alternativas na nutrição de peixes	12
2.2 Os radicais livres e o estresse oxidativo	14
2.3 O estresse no metabolismo dos peixes	15
2.4 Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Experimento	17
3.1.2 Dietas experimentais e teste de alimentação	17
3.1.3 Condições animais e experimentais	19
3.1.4 Amostras e estresse pelo frio	19
3.1.5 Composição de dietas e análise do perfil de ácidos graxos	20
3.1.6 Análises de sangue	20
3.1.7 Atividade enzimática	20
3.1.8 Ensaio de peroxidação lipídica	22
3.1.9. Estatística	22
4. RESULTADOS E DISCUSÃO	22
5. CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS	34
ANEXOS	48

1. INTRODUÇÃO

O óleo de peixe (OP) é uma fonte cara e finita usada na nutrição de peixes e há uma necessidade de substituí-la por fontes de alimentação mais sustentáveis. OP pode ser substituído por óleos vegetais (OV) sem efeitos prejudiciais no crescimento e mortalidade de peixes (HARDY; SCOTT; HARRELL, 1987; DOSANJH et al., 1998; BENDIKSEN; JOBLING, 2003), principalmente em dietas de peixes tropicais como tambaqui (*Collossoma macropomum*) (PAULINO, et al., 2018; FERRAZ; KABEYA; LOPES-MARQUES, 2019). OVs são desprovidos de ácidos graxos n-3 altamente insaturados (HUFA), incluindo ácido eicosapentaenóico (EPA, 20: 5n-3) e ácido docosahexaenóico (DHA, 22: 6n-3), embora contenham altos níveis de C18 PUFA, ácido linoléico (LA; 18: 2n – 6) e ácido linolênico (LNA; 18: 3n – 3), precursores de HUFA. O LA e o LNA não podem ser sintetizados e devem ser obtidos a partir da dieta, sendo considerados ácidos graxos essenciais (AGE) na nutrição de peixes tropicais (GANGA; MONTERO; BELL, 2011).

Os HUFA têm papéis funcionais específicos como reguladores importantes do metabolismo como eles próprios ou como seus derivados (TOCHER; GLENCROSS, 2015). Estudos relataram que HUFA pode modular a resposta ao estresse (MONTERO et al., 1998; MONTERO et al., 2003; TAGO et al., 1999; BONGA, 1997), mediada parcialmente por eicosanóides (KOVEN et al., 2001; KOVEN et al., 2001; VAN ANHOLT et al., 2004; GANGA et al., 2006; GANGA; MONTERO; BELL, 2011) em situações estressantes. Além disso, relações n-6 / n-3 desequilibradas nas dietas podem alterar o estado oxidativo na tilápia, possivelmente por alterar a incorporação celular de ácido graxo muscular (AG) (LI et al., 2016) e modificar a liberação de cortisol na dourada (GANGA et al., 2006; MONTERO et al., 2003) e salmão chinook (WELKER; CONGLETON, 2003).

A modificação do estado oxidativo e as respostas adaptativas das defesas antioxidantes como resultado da variação da temperatura da água também foram descritas em peixes (CASTRO et al., 2012). Geralmente, essas situações são acompanhadas por estresse oxidativo, ou seja, a produção desequilibrada de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) como O₂, H₂O₂, OH, ROO (HEISE et al., 2006). Consequentemente, a exposição ao aumento ou queda da temperatura da água foi relatada para elevar os níveis de biomarcadores de estresse oxidativo lipídico (PARIHAR et al., 1996; CHIEN; HWANG, 2001; MALEK; SAJADI; ABRAHAM, 2004; HEISE et al., 2006; BAGNYUKOVA et al., 2007; AN et al., 2010; GRIM; MILES; CROCKETT, 2010; IBARZ et al., 2010; SHIN; YOO; MIN, 2010;

KAMMER et al., 2011; PARK et al., 2011; CASTRO et al., 2012) e criou diferentes padrões de resposta de enzimas antioxidantes (HEISE et al., 2007; GRIM; MILES; CROCKETT, 2010; KAMMER et al., 2011; PARK et al., 2011; CASTRO et al., 2012).

Como uma das espécies mais consumidas na Amazônia, o tambaqui é a espécie mais produzida na região amazônica (OLIVEIRA et al., 2012) servindo como recurso econômico para diversas comunidades, e a segunda mais produzida no Brasil (GOMES et al., 2012; GOMES; SIMÕES; ARAÚJO-LIMA, 2010). O Tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) é um peixe onívoro de água doce, ocorre naturalmente no rio Amazonas, é adaptado a alta temperatura da água e tem baixa resistência ao frio, com temperatura ótima de 27-29°C (LOVSKIN, 1980). O Norte do Brasil tem um clima tropical e ao longo do ano as temperaturas médias das águas ficam acima de 24°C. Os tambaqui não toleram temperaturas inferiores a 16°C, que geralmente ocorrem nos meses mais frios do sul do Brasil (GARCIA et al., 2008). O presente estudo visa esclarecer o efeito de diferentes fontes de óleo sobre o cortisol plasmático e o estado oxidativo em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) sob desafio pelo frio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ômega- 3 e Ômega-6: Fontes primárias e alternativas na nutrição de peixes

Os peixes não sintetizam os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) da série Ômega3 (n-3) ácido Alfa-linolênico (ALA) e Ômega6 (n-6) ácido linoleico (LA), pois não possuem as enzimas delta-12 ($\Delta 12$) e delta-15 ($\Delta 15$) dessaturase que realizam a inserção das duplas ligações em suas respectivas posições adequadas, produzindo n-6 e n-3 a partir do Ômega9 (n-9). Esses ácidos graxos são os principais substratos para vários reguladores lipídicos, sendo considerados como ácidos graxos essenciais (AGE). Devido a esse fato é necessário realizar a suplementação desses ácidos graxos na dieta desses animais (HENDERSON; TOCHER, 1987; SARGENT; TOCHER; BELL, 2002; CALDER, 2003; NRC 2011).

Apesar da maioria dos vertebrados não sintetizarem AGEs do tipo n-3 e n-6, alguns peixes dulcícolas possuem a capacidade de alongar e dessaturar Ácido linoleico (LA) n-6 para ácido araquidônico (ARA) e alongar e dessaturar Ácido Alfa-linolênico (ALA) n-3 para ácido eicosapentaenóico (EPA) e depois para ácido docosahexaenóico (DHA). Dessa forma é essencial a existência dos ácidos graxos Linoléico e Alfa-linolênico para que ocorra a síntese

dos ácidos graxos altamente insaturados (HUFAs) (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002; GLENCROSS, 2009).

Peixes marinhos de vida livre apresentam altos índices de ARA, EPA e DHA que são provenientes da sua dieta, como por exemplo, dos fitoplânctons. Devido ao fato dos ácidos graxos HUFAs virem direto da alimentação, esses animais foram perdendo a capacidade de alongar e dessaturar esses ácidos graxos pela diminuição das enzimas que realizavam essa reação (STEFFENS, 1997; DE SILVA et al., 1998; OLSEN, 1998). Já os peixes de água doce apresentam uma maior proporção de ácido linoleico e ácido araquidônico da série n-6 PUFA, que também são provenientes da sua base alimentar composta de fitoplâncton, larvas, crustáceos. Diferente dos peixes marinhos, os peixes dulcícolas possuem uma maior capacidade de alongar e dessaturar ácidos graxos PUFAs (FARKAS, 1970; STEFFENS, 1997). Com essa capacidade eles transformam alimentos de menor valor nutricional em alimentos nutricionalmente mais valiosos (MOREIRA et al., 2001).

Como os peixes não sintetizam esses ácidos graxos PUFAs da série n6 e n3, e eles são essências para a sobrevivência e melhor desempenho desses animais, esses AGs precisam ser adicionados nas dietas de animais de cultivo. A forma mais utilizada de fornecer n-3, n-6 e seus derivados (EPA, DHA, ARA) na alimentação desses animais é através da adição de óleo de peixe, sendo que o mais puro e de melhor qualidade é advindo de peixes marinhos, como o salmão, cavala, sardinha, arenque e menhaden (BELL et al., 2005; NG; WANG, 2011). O estoque pesqueiro é um recurso finito e vem sendo utilizado em grandes proporções ao longo dos anos, a utilização de óleo de peixe está se tornando por muitas vezes inviável financeiramente (PÉRON; MITTAINÉ; LE GALLIC, 2010; SPRAGUE; DICK; TOCHER, 2016). Na tentativa de não prejudicar a indústria aquícola atendendo a sua demanda e ao mesmo tempo não causar maiores danos aos ecossistemas marinhos, estão sendo estudadas possibilidades da utilização de óleos vegetais que possam fornecer esses ácidos graxos PUFAs para peixes dulcícolas em suas alimentações de modo que esses animais consigam alongar, dessaturar e depositar esses ácidos graxos em suas carcaças fornecendo um alimento de melhor qualidade para a sociedade (PÉRON; MITTAINÉ; LE GALLIC, 2010; SPRAGUE; DICK; TOCHER, 2016).

Alguns óleos vegetais são ricos em ácido graxo linoléico (n-6) e outros em linolênico (n-3), que são importantes precursores para a síntese de ácidos graxos de cadeia longa (GLENCROSS, 2009). Um óleo vegetal que tem se destacando por apresentar 50-55% de ácido linolênico, 15 % de ácido linoleico, 20 % de ácidos graxos monoinsaturados e 16% de saturados é o óleo de linhaça (NOVELO, 2012).

2.2 Os radicais livres e o estresse oxidativo

As espécies reativas são moléculas que apresentam alta capacidade de resposta e são divididas em três classes: Espécies reativas de oxigênio (EROs), Espécies reativas de nitrogênio (ERNs), e Espécies reativas de enxofre (EREs). Sendo que as espécies reativas ainda são divididas em Radicais Livres que possuem ao menos um elétron separado de seus orbitais externos, permitindo assim que ele transfira ou receba elétrons das moléculas vizinhas. O íon hidroxila (OH^\bullet) é um exemplo de radical livre. A outra divisão das espécies reativas são os compostos não radicalares, que não possuem elétrons separados de seus orbitais externos, apresentando menor instabilidade, mas ainda conseguindo reagir com outras moléculas. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um exemplo de compostos não radicalares (MAGDER, 2006; CAROCHO; FERREIRA, 2013).

Todas as espécies que realizam a quebra de aminoácidos fornecidos pela dieta com a finalidade de obtenção de energia, através da respiração celular na presença de nitrogênio ou oxigênio estão suscetíveis ao estresse oxidativo (FERREIRA; ABREU, 2007). As organelas citoplasmáticas que metabolizam o nitrogênio, o oxigênio e o cloro também produzem uma quantidade considerável de radicais livres que são um tipo de espécie reativa de oxigênio (EROs) (ALVES et al., 2010; CARVALHO-NETA; ABREU-SILVA, 2010). Sendo assim, a produção de EROs nos peixes é constante através da respiração celular e de reações metabólicas básicas para a sua sobrevivência (BARBOSA et al., 2010).

Apesar da produção de espécies reativas no funcionamento básico do metabolismo dos seres vivos, apenas 3% do oxigênio molecular é responsável pela geração dessas EROs, sendo que essa porcentagem é eliminada por agentes antioxidantes do próprio organismo, ocasionando assim a proteção das células (FERREIRA; ABREU, 2007). Devido a essa produção constante de radicais livres nos processos metabólicos, o próprio organismo foi desenvolvendo mecanismos de defesa com antioxidantes. Uma das funções dos antioxidantes é reduzir e controlar os danos causados pelos radicais livres (BIANCHI; ANTUNES, 1999; SHAMI; MOREIRA, 2004). Manter o equilíbrio entre os radicais livres e os antioxidantes é essencial para que o animal fique em homeostase, sendo que quando existe um desequilíbrio entre oxidantes e células defesa acontece o estresse oxidativo, que é a produção em excesso de espécies reativas de oxigênio que podem causar danos irreversíveis em macromoléculas, desenvolvimento de doenças, podendo levar até a morte (MODESTO; MARTINEZ, 2010; DE MATTOS DIAS et al., 2013; LUSHCHAK; BAGNYUKOVA, 2006a).

O sistema de defesa antioxidante é dividido em enzimático, onde enzimas como Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione peroxidase (GPX), Glutathione redutase (GR) são produzidas no próprio metabolismo celular e possuem ação contra os radicais livres. Além disso, possuem os mecanismos antioxidantes não enzimáticos dietéticos que são fornecidos na dieta como a Vitamina C, A e E, selênio, zinco, entre outros. E os mecanismos antioxidantes não enzimáticos endógenos que também são produzidos pelo próprio organismo como as hemoglobinas e o ácido úrico (BARBOSA et al., 2010). Depois de serem produzidos o sistema de defesa antioxidante vai tentar estabilizar ou eliminar esses radicais livres, caso não consiga esses radicais livres podem reagir com proteínas gerando produtos de oxidação nas cadeias laterais de aminoácidos, como as proteínas carboniladas (SIES; BERNDT; JONES, 2017; BAR-OR et al., 2015). Essas alterações causadas nas proteínas podem ocasionar a perda das suas funções, redução das ações das enzimas, podendo gerar até a morte celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; MODESTO; MARTINEZ, 2010). Esses radicais livres também podem reagir com ácidos graxos poli-insaturados gerando produtos como o malondialdeído que é resultado da peroxidação lipídica (MENEZES et al., 2014), e pode causar danos nos tecidos, alterações na estrutura e na função celular, sendo que esses danos podem ter relação com alterações neurológicas e degenerativas, o que modifica a estrutura e função celular (ALVES et al., 2010; GROTTTO et al., 2008; JÚNIOR et al., 2001). As EROs podem apresentar maior função em organismos que são expostos a agentes estressores como agroquímicos, dieta, o próprio ambiente de cultivo e agentes xenobióticos (PISOSCHI; POP, 2015; DE MATTOS DIAS et al., 2013; MODESTO; MARTINEZ, 2010). A exposição crônica ao estresse oxidativo permite o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e sistêmicas (BARBOSA et al., 2010).

2.3 O estresse no metabolismo dos peixes

Durante um ciclo de produção é praticamente impossível que os animais não passem por algum momento estressante. O ambiente aquático é muito dinâmico e manejos diários como contenção, transporte, confinamento, parâmetros de qualidade de água não constantes, concentrações de oxigênio dissolvido e vários outros, são suficientes para causar o estresse nos animais e conseqüentemente prejudicar o desenvolvimento dos mesmos e até ocasionar morte (PICKERING, 1981; BARTON; IWAMA, 1991; WENDELAAR BONGA, 1997, HONTELA, 1997; BARNETT; PANKHURST, 1998; COSTA et al., 2004). O estresse é

ocasionado quando o equilíbrio dinâmico ou a homeostase do animal é afetada por um agente estressor que pode ser químico, como por exemplo, amônia, pH, poluente orgânicos ou inorgânicos ou estressores de natureza física como contenção, alta densidade, transporte (COSTA et al., 2004; URBINATI et al., 2004; JORGENSEM et al., 2002; CARVALHO; FERNANDES, 2006).

Como uma forma de responder a esses estressores os animais desenvolvem uma serie de alterações fisiológicas e bioquímicas que, podem ser utilizadas como uma forma de avaliar se o animal está sofrendo algum tipo de alteração na sua homeostase. Essas alterações podem ser classificadas em respostas primárias, onde o animal responde a esse estresse com ações neuroendócrinas liberando hormônios do estresse na corrente sanguínea como as catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) e os corticosteroides. Esses hormônios podem se elevar rapidamente e se manter alterados por algumas horas na resposta primária (MAZEAUD; MAZEAUD; DONALDSON, 1977; MAZEAUD; MAZEAUD, 1981; WEDEMEYER; MCLEAY, 1981; BARTON; IWAMA, 1991).

Já na resposta secundária acontecem alterações bioquímicas e fisiológicas desencadeadas pelas liberações dos hormônios do estresse. Dentre as essas reações pode citar alterações no sistema sanguíneo, metabólicos, glicemia, nas concentrações do plasma, inibição da síntese proteica, aumento do catabolismo de proteínas musculares, entre outros (EDDY, 1981; PICKERING; POTTINGER, 1995; MCDONALD; MILLIGAN, 1997; WENDELAAR BONGA, 1997; BARTON 2000; BENFEY; BIRON, 2000; WOJTASZEK et al., 2002; MILLIGAN, 2003; MARTINS DA ROCHA; CARVALHO; URBINATI, 2004). Na resposta terciária os animais apresentam alterações de comportamento, diminuição de crescimento e redução no desempenho, alterações nos processos reprodutivos e ficam mais vulneráveis as doenças (WEDEMEYER; MCLEAY, 1981).

2.4 Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) (CUVIER, 1818) pertence à classe Actinopterygii, ordem Characiformes e a família Characidae, sendo natural da região norte, mas específica da bacia do Rio Amazonas, e apesar de não apresentar bom desempenho produtivo em temperaturas abaixo de 20°C já estar sendo produzido praticamente todo território nacional (GOMES; SIMÕES; ARAUJO-LIMA, 2010; OLIVEIRA; MIRANDA; CORREA, 2012). É uma espécie que possui certa rusticidade e considerável resistência a

baixos níveis de oxigênio dissolvido na água (<1 mg/L) devido a sua capacidade de expansão dos lábio inferiores direcionando a água da superfície com maior índice de oxigênio dissolvido para as brânquias (ARAÚJO-LIMA; GOULDING, 1998; BALDISSEROTTO, 2009). Juntamente com outras espécies nativas, o tambaqui faz parte dos chamados peixes redondos e possui uma grande importância na piscicultura da América Latina, sendo responsável por 47,7% da produção de peixes de cultivo no Brasil no ano de 2014 e em 2016 totalizando uma produção de 142.135 toneladas mundiais das quais 96,4% foram produzidas no país (KUBTIZA, 2004; IBGE, 2014; WOYNÁROVICH; VAN ANROOY, 2019).

É uma espécie considerada onívora se alimentando em ambientes naturais tanto de sementes e frutos como de zooplânctons, crustáceos e pequenos animais, possuindo a capacidade de atingir até 100 cm de comprimento e chegando a pesar até 30 kg (PENNA et al., 2005; MACCORD et al., 2007; SOARES, 2007). Apresentam uma maior tolerância a níveis mais altos de carboidratos em suas dietas e a adição de produtos de origem vegetal, como por exemplo, os óleos, devido a base funcional de sua alimentação ser onívoras/herbívoras e a espécie estar adaptada a extrair suas necessidades nutricionais de alimentos variados de origem vegetal (OLIVEIRA. MIRANDA; CORREA, 2012; ARIDE et al., 2017). Sugerindo uma possibilidade de substituição de fontes dietéticas de origem animal pelas fontes de origem vegetal.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Experimento

O experimento foi conduzido seguindo as Diretrizes da Legislação Nacional de Cuidado Animal do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação do Brasil e aprovado pelo Comitê de Ética de Bem-Estar Animal da Universidade Federal de Lavras, protocolo número 036/2015.

3.1.2 Dietas experimentais e teste de alimentação

Três dietas foram formuladas com óleo de peixe (OP) e óleos vegetais (óleo de linhaça - OL e óleo de milho - OM) como fonte lipídica. Elas foram feitas para atender aos requisitos nutricionais do tambaqui com base em Oliveira et al (2013). As dietas foram confeccionadas no Laboratório de Aquicultura (LAQUA) da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG.

Os ingredientes foram moídos, pesados, misturados em um misturador automático de pás (Inbramaq®, São Paulo, Brasil), extrusados em uma extrusora de tela única (Inbramaq®, São Paulo, Brasil) em pellets de 4 mm e secos por 12 h por secagem em estufa à 50°C. O óleo foi incorporado à ração seca por pulverização manual. A composição do ingrediente e as análises aproximadas das dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Composição dos ingredientes e as análises aproximadas das dietas experimentais.

	Fonte de óleo		
	OP	OL	OM
<i>Ingredientes (% peso seco)</i>			
Farinha de soja ¹	37	37	37
Farinha de milho ²	22.2	22.2	22.2
Concentrado de proteína de soja ³	15	15	15
Farinha de Trigo ⁴	10	10	10
Óleo de peixe ⁵	7.0	-	-
Óleo de Linhaça ⁶	-	6.3	-
Óleo de Milho ⁶	-	-	7.0
Óleo de palma ⁶	-	0.7	-
Levedura ⁷	5	5	5
Fosfato dicálcico ⁸	1.5	1.5	1.5
Mistura de minerais e vitaminas ⁹	1	1	1
L-Lisina HCl ¹⁰	0.6	0.6	0.6
DL-Metionina ¹¹	0.4	0.4	0.4
L-treonina ¹⁰	0.2	0.2	0.2
BHT antioxidante	0.1	0.1	0.1
<i>Composição próxima (mg g-1)</i>			
Matéria seca	908.7	913.1	910.9
Proteína bruta	361.7	358.9	364.9
Lipídio bruto	79.2	80.7	80.4
Ash	57.0	55.8	58.6
Energia (MJ/kg)	20.9	20.3	20.7

¹ Proteína bruta 46%, lipídios brutos 3%, matéria seca 12,5% Cargill, SP, Brasil

² Proteína bruta 7,9%, lipídios brutos 3%, matéria seca 13,9% Bioquima, MG, Brasil

³ Proteína bruta 60%, lipídios brutos 1,8%, matéria seca 12,5% Cargill, SP, Brasil

⁴ Proteína bruta 14%, fibra bruta 11%, lipídios 3%, matéria seca 13,5% Bioquima, MG, Brasil

⁵ Óleo refinado Total Alimentos, MG, Brasil

⁶ Óleo refinado Mundo dos Óleos, DF, Brasil

⁷ De *Saccharomyces cerevisiae* Grupo Ullmann, MG, Brasil

⁸ Nutrimix, MS, Brasil

⁹ Mix Vita / Min Peixe onívoro Cargill, SP, Brasil. Composição (dieta mg kg-1): sulfato de ferro, 196; sulfato de cobre, 28; óxido de zinco, 280; óxido de manganês, 52; selenito de sódio, 1,2; sulfato de cobalto, 0,4; iodeto de potássio, 1,2; vitamina A, 19.950 (UI kg-1 dieta); vitamina D3, 7.980 (UI kg-1 dieta); vitamina E, 199; vitamina K3, 10; vitamina C, 700; tiamina, 50; riboflavina, 50; piridoxina, 50; ciano-cobalamina, 0,1; niacina, 200; pantotenato de cálcio, 100; ácido fólico, 10; biotina, 1,6; inositol, 100; etoiquina, 247.

¹⁰ Ajinomoto, SP, Brasil

¹¹ Evonik, SP, Brasil

Fonte: Do autor.

3.1.3 Condições animais e experimentais

Os tambaquis foram obtidos no Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (UNESP) e foram transferidos para as instalações experimentais do Laboratório de Piscicultura (UFLA), onde foram aclimatados por 15 dias às condições de criação antes do início do ensaio de alimentação. Os peixes foram distribuídos aleatoriamente em 18 grupos de 10 peixes cada (peso médio inicial de $42,8 \pm 0,9$ g) em tanques de fibra de vidro de 100 litros de capacidade, em um sistema de recirculação de água termorregulado, mantidos a uma temperatura constante e dotados com filtro de areia, biofiltros e um esterilizador ultravioleta. Os tanques foram aerados continuamente. O oxigênio dissolvido foi em média $3,7 \pm 0,6$. Os parâmetros de qualidade da água (amônia total $0,24 \pm 0,20$, pH $6,31 \pm 0,32$ e temperatura $28,0 \pm 0,41$ ° C) foram monitorados diariamente para apoiar as condições ideais e padrões de bem-estar adequados para tambaqui. As dietas experimentais foram distribuídas aleatoriamente em seis grupos, e os animais foram alimentados manualmente até a saciedade visual aparente, duas vezes ao dia, durante 49 dias.

3.1.4 Amostras e estresse pelo frio

No final das 7 semanas, os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas e posteriormente contados e pesados. Foram selecionados aleatoriamente dois peixes por tanque para amostrar os peixes da homeostase (H). Posteriormente, os peixes remanescentes foram mantidos nos mesmos tanques por uma semana para prosseguir com o estresse pelo frio. A temperatura foi reduzida a 28 ° C para 21 ° C em 40 minutos. Duas amostras experimentais foram realizadas 3 horas (3H) e 24 horas (24H) após o alcance da temperatura. Seis peixes foram coletados em três tanques às 3 horas e outros três tanques foram utilizados para as amostras de 24 horas. Em todas as coletas experimentais, as amostras de sangue foram obtidas da veia caudal com agulhas heparinizadas. Os peixes foram mortos por anestesia com uma overdose de 2-fenoxietanol (1: 500 v / v, Fluka; Sigma-Aldrich, Madrid, Espanha) e enxaguados em água destilada para remover o anestésico residual. Comprimento e peso foram medidos e o fator de condição (FC) foi calculado. Os peixes foram dissecados para obtenção do fígado, e o índice hepatossomático (IHS) também foi calculado. As amostras foram armazenadas a -80 ° C até a realização das análises.

3.1.5 Composição de dietas e análise do perfil de ácidos graxos

A composição das dietas foi analisada de acordo com os métodos AOAC (AOAC 2005). Resumidamente, o lipídio bruto foi determinado pela extração com éter de petróleo em sistema Soxhlet. A proteína bruta (N6.25) foi determinada pelo método Kjeldahl após digestão ácida usando um Sistema Kjeldahl. A umidade foi determinada após secagem a 105 ° C por 24 h e as cinzas por incineração em mufla a 550 ° C por 24h. A energia das dietas por combustão direta em um calorímetro de bomba adiabática.

A extração lipídica e o perfil de ácidos graxos da dieta foram analisados de acordo com Araujo et al. (2016). Resumidamente, o lipídio total foi extraído usando uma modificação do método de Folch et al. (1957). O perfil de ácido graxo foi determinado usando um cromatógrafo de gás GC2010 (GC) (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com um detector de ionização de chama (FID) e uma coluna capilar de sílica fundida SP-2560 (100,0 m 9 0,25 mm, filme de 0,20 lm; Supelco, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Os picos de ácidos graxos foram integrados usando o software de cromatografia GC Solution (versão 4.02), e os picos foram identificados por comparação com padrões conhecidos (37 Component FAME Mix; Supelco, Sigma-Aldrich).

3.1.6 Análises de sangue

A glicemia foi analisada em glicosímetro digital (Accu-Check® Performa, Roche, Brasil). O plasma foi recuperado após centrifugação (1.000g, 10 min), utilizado para quantificar a proteína total por refratômetro e armazenado a -80 °C até a análise. A análise do cortisol foi realizada em kit comercial. O cortisol foi quantificado por imunoenensaio enzimático direto a 450 nm (Direct ELISA Kit, Diag. Biochem Inc., Canadá). As leituras foram realizadas em duplicata e conduzidas em um leitor de espectrofotômetro de placa de 96 poços (Multiskan GO, Thermo Scientific, EUA).

3.1.7 Atividade enzimática

As amostras de fígado foram homogeneizadas (diluição 1: 6) em tampão Tris-HCl 100mM gelado contendo 0, 1mM-EDTA e 0, 1% (v / v) Triton X-100, pH 7, 8. Todos os

procedimentos foram realizados em gelo. Os homogenatos foram centrifugados a 30.000g por 30min a 4°C e os sobrenadantes resultantes foram mantidos em alíquotas e armazenados a -80°C até a análise enzimática e peroxidação lipídica (LPO). Todos os ensaios enzimáticos foram realizados a 37°C. Mudanças na absorbância foram monitoradas para determinar a atividade enzimática usando um leitor de microplaca (Multiskan GO, Thermo Scientific, EUA). O substrato ideal e as concentrações de proteína para a medição da atividade máxima de cada enzima foram estabelecidos por ensaios preliminares. Os coeficientes de extinção molar usados para H₂O₂ e NADPH foram 0,039 e 6,22 cm / mM, respectivamente. As condições de ensaio específicas para cada enzima foram as seguintes:

A atividade da catalase (CAT; EC 1.11.1.6) foi determinada de acordo com Aebi (1984) medindo a diminuição da concentração de H₂O₂ a 240 nm. A mistura de reação continha tampão de fosfato de potássio 50 mM (pH 7) e H₂O₂ 10 mM recentemente adicionado.

A atividade da superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) foi determinada pelo ferricitocromo c a 550 nm, usando o método da xantina / xantina oxidase como fonte de radicais superóxido (MCCORD; FRIDOVICH, 1969). A mistura de reação consistia em tampão de fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), EDTA 0,1 mM, xantina 0,1 mM, citocromo C 0,012 mM e 0,025 IU mL⁻¹ xantina oxidase. A atividade foi relatada em unidades de SOD / mg de proteína. Aqui, uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir 50% de inibição da taxa de redução do ferricitocromo C.

A atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH; EC 1.1.1.49) foi avaliada como previamente descrito por Morales et al. (1990). A reação mede a redução de NADP + a 340 nm, usando uma mistura de reação contendo tampão imidazol-HCl 50 mM (pH 7,4), MgCl₂ 5 mM, NADP 2 mM e glicose-6-fosfato 1 mM.

A atividade da glutatona peroxidase (GPX; EC 1.11.1.9) foi testada como descrito por Flohé e Günzler (1984). A glutatona oxidada (GSSG) gerada por GPX foi reduzida pela glutatona redutase (GR), e a taxa de desaparecimento de NADPH foi monitorada em 340 nm. A mistura de reação consistia em tampão de fosfato de potássio 50 mM (pH 7,1), EDTA 1 mM, GSH 3,9 mM (glutatona reduzida), azida de sódio 3,9 mM, 1 IU mL⁻¹ glutatona redutase, NADPH 0,2 mM e H₂O₂ 0,05 mM.

A atividade da glutatona redutase (GR; EC 1.6.4.2) foi medida em 340 nm avaliando a oxidação de NADPH conforme descrito por Morales et al. (2004). A mistura reaccional consistia em tampão de fosfato de sódio 0,1 M (pH 7,5), EDTA 1 mM, NADPH 0,63 mM e GSSG 0,16 mM.

O conteúdo de proteína solúvel dos homogenatos de fígado foi determinado usando albumina de soro bovino (BSA) como padrão (BRADFORD, 1976). Exceto para SOD, cujas unidades de expressão foram descritas acima, as atividades G6PDH, GPX e GR foram expressas como miliunidades e a atividade CAT foi expressa como unidades por mg de proteína solúvel.

3.1.8 Ensaio de peroxidação lipídica

A concentração de malondialdeído (MDA) foi determinada como marcador de LPO seguindo a metodologia descrita por Buege e Aust (1978). Uma alíquota do sobrenadante do homogenato (100 µL) foi misturada com 500 µL de uma solução previamente preparada contendo 15% (p / v) de ácido tricloroacético (TCA), 0,375% (p / v) de ácido tiobarbitúrico (TBA), 80% (v / v) ácido clorídrico 0,25 N e 0,01% (p / v) de hidroxitolueno butilado (BHT). A mistura foi aquecida a 100 ° C durante 15 min. Em seguida, após ser resfriado à temperatura ambiente e centrifugado a 1500 g por 10 min, a absorbância foi medida a 535 nm no sobrenadante. A concentração foi expressa como nM MDA por grama de tecido, calculada a partir de uma curva de calibração.

3.1.9. Estatística

As análises estatísticas foram realizadas usando IBM SPSS Statistics for Windows, versão 23.0 (Armonk, NY, EUA). O efeito dos parâmetros ensaiados foi analisado por análise de variância (ANOVA) unilateral e bidirecional. Diferenças significativas entre as médias foram determinadas usando o teste HSD de Tukey. Um nível de probabilidade de 0,05 foi usado para rejeitar a hipótese nula. Para reprodução das figuras dos gráficos foi utilizado o programa StatSoft, inc. (2004).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As três dietas experimentais (Tabela 1) variaram apenas na composição de ácidos graxos. Fontes animais não foram utilizadas nas dietas. O OP foi à única fonte de n-3 HUFA (13,2%). As dietas à base de óleo vegetal continham quantidade semelhante de SAFA (~16,5%), possuindo razões LA / LNA de 3,1 para OL e 26,9 para OM (Tabela 2).

Tabela 2: Composição de ácidos graxos (mg g^{-1}) das dietas experimentais.

	Fonte de óleo		
	Óleo de peixe	Óleo de linhaça	Óleo de milho
14:0	35.1	1.6	0.4
16:0	212.0	126.4	127.0
16:1	46.5	1.9	2.3
17:0	5.5	0.6	0.6
18:0	48.8	38.3	23.8
18:1n-9	226.9	254.5	326.2
18:2n-6 LNA	166.5	420.4	483.1
18:3n-6	1.2	1.0	0.0
18:3n-3 ALA	16.0	133.5	17.9
20:0	3.4	3.1	4.4
20:1	7.5	2.2	2.1
20:4n-6 ARA	10.4	-	-
20:5n-3 EPA	50.6	-	-
22:0	2.5	3.2	1.9
22:6n-3 DHA	80.8	-	-
24:0	1.2	1.6	1.9
Σ SAFA	325.7	175.2	160.0
Σ MUFA	286.1	258.6	483.1
Σ PUFA	328.4	554.9	501.0
Σ n-6	169.0	421.4	483.1
Σ n-3	67.4	133.5	17.9
LNA/ALA	10.4	3.1	26.9

O óleo de palma foi adicionado ao conteúdo total de lipídios para ajustar os ácidos graxos saturados no tratamento com óleo de linhaça.

Σ SAFA: soma dos ácidos graxos saturados;

Σ MUFA: soma dos ácidos graxos monoinsaturados;

Σ PUFA: soma dos ácidos graxos poliinsaturados.

Fonte: Do autor.

Após o período de alimentação de 7 semanas, tambaqui não apresentou diferenças significativas entre as dietas no desempenho e nenhum sinal patológico foi observado durante o ensaio (Tabela 3). A mortalidade foi muito baixa e não foi afetada pela dieta. Observou-se um maior Índice Visceral nos animais alimentados com a dieta à base de Óleo de Linhaça (OL) com relação ao Óleo de Peixe (OP), não apresentando diferenças dos resultados desses dois óleos para o Óleo de Milho (OM).

Tabela 3: Desempenho de juvenis de tambaqui alimentados com fonte de óleo na dieta (n = 6).

	Fonte de óleo			SEM	Valor - P
	Óleo de Peixe	Óleo de Linhaça	Óleo de Milho		
Peso corporal inicial (g)	43.0	42.9	42.5	0.2	0.584
Peso corporal final (g)	144.7	141.7	135.5	4.7	0.725
PCM (g kg Peso corporal ⁻¹ Dia ⁻¹)	21.9	21.7	21.1	0.5	0.824
Consumo de ração (g de matéria seca de peixe)	108.1	106.2	102.3	3.9	0.833
Taxa de conversão alimentar ¹	1.1	1.1	1.1	0.0	0.764
Taxa de crescimento específica ²	2.5	2.4	2.3	0.1	0.829
Sobrevivência (%)	97	98	100	0.9	0.342
IVS ³	6.3b	6.9a	6.5ab	0.1	0.034

Os valores são médias de seis tanques.

SEM é combinado com o erro padrão da média. A média na mesma linha com letras sobrescritas diferentes é significativamente diferente (análise ANOVA; P <0,05).

PCM (Peso corporal médio): (peso corporal inicial + peso corporal final) / 2.

¹ CAA(conversão alimentar aparente): (consumo de ração seca / ganho de peso úmido).

² TCE: ((ln peso corporal final - ln peso corporal inicial) / tempo em dias) × 100.

³ Índice viscerossomático: (peso das vísceras / peso corporal) × 100.

Fonte: Do autor.

Os óleos utilizados neste trabalho não afetaram o crescimento, sinais patológicos e mortalidade, sugerindo que podem ser boas fontes de lipídeos nas dietas da espécie estudada. Resultados similares foram obtidos em outros estudos de peixes dulcícolas (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002; TOCHER, 2010; PAULINO et al., 2018). Uma possibilidade para o aumento do Índice Visceral nos animais alimentados com dietas OL é que esses animais tenham se desenvolvido mais devido ao seu maior fator de condição resultando em maior peso e tamanho, aparentemente não ocorreu deposição de gorduras nas vísceras devido a relação índice visceral e fator de condição. Estudos com salmão do Atlântico realizado com os óleos vegetais de capelim, palma e óleo de girassol apresentaram resultados positivos à substituição ao óleo de peixe, sugerindo que de forma balanceada é possível e vantajoso realizar a troca do óleo de peixe por óleos vegetais (TORTENSEN; LIE; FROYLAND, 2000; BELL et al., 2001; BELL et al., 2003). As substituições de 50% do óleo de peixe por óleo de linhaça também foram bem sucedidas em outras espécies não afetando o crescimento dos peixes, como no caso do Bacalhau Murray (*Maccullochella peelii peelii.*) (FRANCIS et al.,

2006), da Dourada (*Diplodus puntazzo*) (PIEDECAUSA et al., 2007) e da Tilapia (*Oreochromis niloticus*) (LI et al., 2016).

Efeitos dietéticos da fonte de óleo sobre os parâmetros plasmáticos e morfométricos são apresentados na Tabela 4. Nenhuma mortalidade foi observada nas horas pós o desafio (HPD). Não se verificou interação entre os fatores dieta e tempo nos resultados do cortisol, sendo assim, independente do tipo de dieta a resposta ao desafio ao longo do tempo responde de forma similar. Após 3 horas do desafio houve uma queda no cortisol retornando a valores próximos a homeostase após 24 horas do desafio para as três dietas. O menor valor de cortisol foi observado nos animais alimentados com OP. O cortisol apresentou maior resultado para os OVs já na homeostase com relação ao OP. Mas apesar de ter apresentando essa diferença nos resultados para os OVs, isso não parece estar interferindo no desempenho e crescimento dos animais, pois o maior FC está em animais alimentados com OVs. Alguns estudos verificaram que quando o animal não está em estágio crônico de estresse, o cortisol pode estimular a liberação do hormônio do crescimento (HC) que aumenta o consumo de alimento e pode melhorar a conversão alimentar (PICKERING, 1993). Foi verificado também que nem sempre que um animal apresenta alterações no cortisol significa que ele está sendo estimulado por algum fator estressante. Ele pode simplesmente ter sofrido alterações no ciclo circadiano ou ter passado por variações sazonais (WENDELAAR BONGA, 1997).

Na proteína plasmática foi observada interação dos fatores dieta e tempo, de modo que a dieta influenciou na resposta ao desafio. Após 3 horas do desafio a proteína plasmática aumentou para os animais alimentados com OP e para as outras dietas não foram observadas variações significativas em resposta ao tempo do desafio. A resposta da proteína plasmática ao desafio foi diferente entre animais alimentados com OL e OP, e não foi observada diferença significativa para animais alimentados com OM em relação às outras dietas. As EROs promovem mudanças estruturais nas proteínas fragmentando-as em prolinas, histidinas e argininas devido as suas relações com os metais de transição (GRIFFITHS et al., 1988; WOLFF; DEAN, 1986). A degradação proteolítica é resultado das alterações que as EROs podem causar com as mudanças estruturais das proteínas (MARX; CHEVION, 1986).

Tabela 4: Efeito do estresse pelo frio no cortisol plasmático, glicose e proteína, e parâmetros morfométricos como índice hepatossomático (IHS) e fator de condição (CF) de juvenis de tambaqui alimentados com fontes de óleo na dieta (n = 9).

	Homeostase				3 horas			S.E.M	24 horas			S.E.M
	Óleo de peixe	Óleo de Linhaça	Óleo de Milho	S.E.M	Óleo de peixe	Óleo de Linhaça	Óleo de Milho		Óleo de peixe	Óleo de Linhaça	Óleo de Milho	
Cortisol	6,1	7,4	10,1	0,4	3,8	5,1	5,8	0,3	5,0	7,7	8,3	0,4
Glicose	55,0	54,8	55,6	1,4	74,8	61,4	72,4	1,5	59,1	55,3	51,1	1,0
Protoplasma	5,2bA	5,1aA	5,1aA	0,0	5,6aA	4,9aB	5,3aA	0,1	4,8bA	4,8aA	5,1aA	0,0
IHS	2,2	2,3	2,1	0,0	2,4	2,2	2,4	0,0	2,2	2,1	2,2	0,0
CF	3,3	3,5	3,2	0,0	3,3	3,4	3,3	0,0	3,2	3,2	3,1	0,0

Two-way ANOVA				Horas			Dieta		
Variations sources	Dieta	Dieta*		Homeostase	3	24	Óleo de peixe	Óleo de Linhaça	Óleo de Milho
		Tempo	Tempo		horas	horas			
Cortisol	0,000	0,000	0,875	a	b	a	b	a	a
Glicose	0,062	0,000	0,079	b	a	b	a	b	ab
Protoplasma	0,004	0,000	0,003						
HSI	0,326	0,048	0,064	ab	a	b			
CF	0,003	0,004	0,408	a	a	b	ab	a	b

Os valores são médias de seis tanques.

SEM é o combinado com o erro padrão da média. As letras minúsculas apresentam diferenças entre os tempos e a dieta é fixa. As letras maiúsculas apresentam diferenças entre as dietas e tempo é fixo (análise ANOVA; P <0,05).

HSI: Índice hepatossomático.

FC: Fator de condição.

Fonte: Do autor.

Nesse trabalho, animais alimentados com a dieta OP apresentaram maiores resultados nas 3 h HPD, enquanto animais alimentados com OL apresentaram os menores resultados nesse mesmo período. Acredita-se que a ação de antioxidantes como os flavonoides presentes nos OV's tenha exercido ação na redução das EROs em animais alimentados com essa dieta. Estudos realizados em mamíferos indicam que os flavonoides além de apresentarem ação antioxidante também podem estimular o aumento das defesas antioxidantes ou pelo menos tentar neutralizar os sistemas que induzem a produção de EROs (CHANG et al., 1993; RICE-EVANS, 2001; MASELLA et al., 2005; MOSKAUG et al., 2005; VAUZOUR; VAFEIADOU; SPENCER, 2012; PROCHÁZKOVÁ; BOUŠOVÁ; WILHELMOVÁ, 2011; MEHTA; GOWDER, 2015).

No FC é verificado que a dieta não interferiu na resposta ao tempo do desafio, não havendo interação entre os fatores dieta e tempo. Se considerarmos somente o fator tempo, foi observado um menor valor de FC as 24 h após o desafio. Já em relação à dieta o FC dos animais com dieta de OP não diferiu das dietas de milho e linhaça, além disso, a alimentação com OL apresentou maior FC em relação ao FC para os animais alimentados com OM. Os animais alimentados com a dieta OL apresentaram uma maior condição corporal do que animais alimentados com a dieta OM devido à razão LNA/LA estar aparentemente mais equilibrada, resultando em uma dieta que fornece melhores condições a esses animais. Essa melhor condição corporal pode ter resultado em respostas diferentes e mais estáveis ao teste de frio das outras dietas. O desequilíbrio nas relações n-3 e n-6 PUFA dietéticos podem afetar as respostas inflamatórias, imunológicas, redução na eficiência alimentar, a desestabilização da homeostase do animal, necrose em nadadeiras e mandíbula, aumento no índice hepático e prejudicar o crescimento (LEAF; WEBER, 1988; SARGENT; TOCHER; BELL, 2002). Devido à alimentação do Tambaqui em seu estado natural ser composta de uma variedade grande de frutos, essa espécie parece estar adaptada a utilizar de forma eficiente diversas fontes de óleos na sua dieta, assim como outros peixes dulcícolas (BLANCHARD; MAKOMBU; KESTEMONT, 2008; KARAPANAGIOTIDIS et al., 2007; SENADHEERA et al., 2010; THANUTHONG et al., 2011; TIAN; LEI; JI, 2015; PAULINO et al., 2018).

Com relação à glicose não houve interação significativa entre os fatores dieta e tempo. A glicose se elevou 3 horas após o desafio para as três dietas voltando a cair com 24 horas do desafio. Provavelmente esses animais precisaram ativar a glicogenólise para disponibilizar glicose e consequentemente energia para responderem ao fator estressante. Com pouca energia armazenada no fígado e músculos, já utilizada, e passando por estresse o organismo iniciou um processo de glicogênese, voltando a produzir e armazenar glicogênio no fígado. A

primeira resposta do corpo ao estresse é preparar o organismo para reagir aquele fator estressante, lutando ou fugindo, sendo assim é disponibilizada glicose aos tecidos com a intenção de ter energia disponível para as próximas ações (HERRERA, 2017). São os hormônios do estresse que estimulam a glicogenólise, ocasionando a disponibilização da glicose do fígado para a corrente sanguínea resultando na hiperglicemia (NOLAN, 2000; CASTRO; FERNANDES, 2009). Na dieta OL a glicose tendeu a variar menos. Provavelmente a glicose se manteve mais constante devido ao fator de condição estar melhor e nesse caso os animais conseguiram ter reservas de glicogênio realizando glicogenólise para utilizar a glicose na obtenção de energia para responder ao fator estressante. Não realizar glicogênese nesse momento é importante para conseguir manter os níveis de glicose mais estáveis.

No IHS não foram encontradas interações significativas entre os fatores dieta e tempo. Também não foram observadas diferenças significativas nas respostas das diferentes dietas em relação ao IHS. O IHS só apresentou variação em relação à 3 horas e 24 horas após o desafio, sendo os valores de IHS foram maiores com 3 horas. Nesse estudo também foi verificado que o IHS foi alterado pelo frio, isso por que os animais já haviam utilizado o glicogênio nas respostas ao estresse. Sabendo-se que o IHS diz respeito à quantidade de energia presente no fígado (CYRINO; PORTZ; MARTINO, 2000) é esperado uma alteração nesse índice devido os animais já terem utilizado essa energia. Com a deposição de energia baixa no corpo já era esperado que ocorresse uma redução no FC e alterações no estado fisiológico desses animais, o que foi registrado nesse estudo após as 24 horas de exposição ao frio, nas 3 dietas fornecidas.

Os efeitos da fonte de óleo da dieta sobre os marcadores antioxidantes hepáticos são mostrados na Tabela 5. A enzima GPX não apresentou interação dos fatores dieta e tempo. Dessa forma animais alimentados com dietas diferentes apresentaram respostas similares ao desafio após 3 horas e 24 horas, também não foi encontrada diferença de GPX entre as dietas. GPX caiu após 3 horas do desafio e subiu após 24 horas, embora ainda tenha continuado abaixo da homeostase para as três dietas.

Tabela 5 . Efeito do estresse pelo frio sobre os níveis de atividades específicas de enzimas antioxidantes e peroxidação lipídica (LPO) de juvenis de tambaqui alimentados com fontes de óleo na dieta (n = 6).

	Homeostase			S.E.M	3 horas			S.E.M	24 horas			S.E.M
	Óleo de peixe	Óleo de Linhaça	Óleo de Milho		Óleo de peixe	Óleo de Linhaça	Óleo de Milho		Óleo de peixe	Óleo de Linhaça	Óleo de Milho	
CAT ¹	182,1aA	174,2aA	201,5aA	5,7	172,6aA	175,7aA	156,5bB	2,7	179,8aB	178,8aB	209,4aA	4,8
G6PDH ²	120,9aA	122,8bA	101,0bA	5,3	120,9aB	157,2aA	133,8aAB	5,4	106,1aA	98,7bA	63,4cB	5,3
GR ³	19,5aB	20,8aB	25,6aA	0,8	13,6bAB	14,1bA	11,5cB	0,4	15,0bB	11,8bB	21,0bA	1,0
SOD ⁴	295,4aA	242,5aB	263,0aAB	8,3	137,3bB	171,4bA	134,0bB	5,3	121,0bAB	110,9cB	146,0bA	5,6
GPX ⁵	6703,2	6571,5	5871,1	240,6	3554,6	3872,2	3072,5	158,0	4493,6	4658,1	5133,3	270,8
LPO ⁶	43,6aA	28,2aB	37,1aA	3,6	19,6cB	23,9bA	21,8bAB	1,0	27,9abB	26,0bB	38,7aA	3,2
Two-way ANOVA				Horas								
Fontes de variações	Dieta	Tempo	Dieta*Tempo	Homeostase	3 horas	24 horas						
CAT	0,077	0,001	0,001									
G6PDH	0,001	0,000	0,009									
GR	0,000	0,000	0,000									
SOD	0,424	0,000	0,000									
GPX	0,374	0,000	0,478	a	c	b						
LPO	0,001	0,000	0,000									

Os valores são médias de seis tanques.

SEM é o combinado com o erro padrão da média.

As letras minúsculas apresentam diferenças entre os tempos e a dieta é fixa. As letras maiúsculas apresentam diferenças entre as dietas e tempo é fixo (análise ANOVA; P <0,05).

¹ Catalase; ² Glicose-6-fosfato desidrogenase; ³ Glutaciona redutase; ⁴ Superóxido dismutase; ⁵ Glutaciona peroxidase; ⁶ Peroxidação lipídica.

Fonte: Do autor.

A glutathiona peroxidase (GPX) é encontrada abundantemente nas mitocôndrias, realizando a redução de peróxidos de hidrogênio em água e oxigênio molecular (ROVER JR. et al., 2001; SATTIN et al., 2015). A GPX utiliza como co-fator a Glutathiona (GSH) para realizar a degradação de peróxidos, gerando como produto dessa reação Glutathiona oxidada (GSSG) (HAYES, 1997; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000; HUBER; ALMEIDA; FATIMA, 2008; CASTRO et al., 2015). A GSSG é reestruturada a GSH pela Glutathiona redutase (GR), utilizando NADPH para realizar essa reação. A NADPH é fornecida pela ação da G6PD, permitindo reduzir uma molécula de GSSG em duas moléculas de GSH, fazendo com que o ciclo metabólico da glutathiona não pare (ROVER JR. et al., 2001; ESPINOSA-DIEZ et al., 2015; CASTRO et al., 2016). Diante desse ciclo da Glutathiona ela é utilizada como uma importante ferramenta para indicação do estresse oxidativo (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003).

O aumento da resposta da enzima GPX diante da variação térmica indica a formação de EROs e uma ação de desintoxicação do organismo (PFLUGMACHER, 2004; WU et al., 2015). Nesse estudo a GPX apresentou uma redução da sua ação nas primeiras horas após o desafio e a G6PD teve sua ação aumentada nas primeiras horas após o desafio. As ações dessas enzimas sugerem que ocorreu um aumento no fornecimento de glicose para a G6PD entrar em ação e gerar a NADPH para manter a normalidade do sistema enzimático através do ciclo da glutathiona (FANG; YANG; WU, 2002; LIEMBURG-APERS et al., 2015).

A Catalase apresentou interação significativa dos fatores dieta e tempo. Animais alimentados com OL e OP não apresentaram variação da CAT após 3 horas e nem após 24 horas do desafio. Já animais alimentados com OM tiveram queda da CAT após 3h do desafio retornando a valores similares ao da homeostase após 24 horas. A CAT atua na degradação do Peróxido de hidrogênio em (H_2O_2) gerando como produto final, o oxigênio e a água. Ela está presente nos tecidos e citoplasma, apresentando melhor a maior função quando as concentrações de H_2O_2 se encontram mais elevadas (HERMES-LIMA, 2004; DROGE, 2002). Como a CAT atua como enzima suporte da SOD, o Peróxido de hidrogênio é resultado da degradação que a SOD realiza. Os níveis de CAT para OP e OL se mantêm estáveis após a exposição ao frio, apresentando variação apenas para o OM após as 24 horas, sugerindo que essa dieta estimulou o aumento de espécies reativas de oxigênio exigindo maior ação tanto de SOD como de CAT.

Para a enzima SOD houve interação entre os fatores, de modo que a dieta afetou a resposta ao desafio. Na homeostase SOD foi maior para OP. SOD caiu após 3 horas para as três dietas ficando mais elevada pra OL, entretanto após 24 horas do desafio foi observado

que enquanto os animais alimentados com OP e OL reduziram ainda mais SOD, e OM subiu em relação às outras dietas. A enzima Superóxido Dismutase (SOD) tem ação no controle do radical livre superóxido (O_2^-). Como resultado da catalisação do superóxido, temos o Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) que possui menos reatividade e pode ser degradado pelas enzimas Catalase e Glutathiona peroxidase (HERMES-LIMA, 2004; DROGE, 2002; LIMÓN-PACHECO, GONSEBATT, 2009). O desempenho de SOD é comumente utilizado para expressar a estabilização da geração das espécies reativas de oxigênio diante da ação de um agente estressor (REGOLI et al., 2002; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Mudanças químicas, físicas e sazonais nos ambientes aquáticos são capazes de influenciar os processos oxidativos (PARIHAR et al., 1996; BASTOS et al., 2007). Sugere-se então que os resultados mais altos em homeostase podem ter sido estimulados por interferência ao ambiente aquático e que após ação da SOD os resultados foram decaindo após 3h e 24 horas, exceto para o OM que poderia estar influenciando o estresse oxidativo e apresentou um maior resultado que as outras dietas. Essas suposições podem ser corroboradas pelos resultados da CAT que apresentou aumento após 24 horas de exposição ao frio na dieta OM.

Foi observada interação dos fatores de modo que a dieta interferiu na resposta ao desafio. O maior GR na homeostase foi observado para OM. As três dietas apresentaram queda de GR após 3 horas do desafio, e após 24 horas animais alimentados com OM tiveram elevação do GR, enquanto OL e OP não apresentaram diferença significativa de 3 horas e em 24 horas ainda estavam menores do que a homeostase para os animais alimentados com as três dietas. GR apresentou uma redução nos seus resultados as 3 horas para as três dietas, assim como GPX, pois também faz parte do ciclo da Glutathiona. Os resultados mais extremos foram verificados na dieta OM. Devido os peixes serem animais ectotermicos, temperaturas abaixo da faixa ideal de cada espécie pode gerar vários impactos negativos na fisiologia, reduzindo o metabolismo e gerando impacto significativo no sistema imunológico (HE et al., 2017; NOBREGA et al., 2020; ABRAM; DIXON; KATZENBACK, 2017). O fato dos animais alimentados com dieta OM terem apresentado uma maior variação, pode ser devido a deita ter possibilitado uma pior resposta ao estresse por causa do menor equilíbrio na relação n-3/n-6, o que não aconteceu com as dietas OP e OL.

G6PDH apresentou interação dos fatores, de modo que a dieta interferiu no tipo de resposta ao desafio. Animais alimentados com milho apresentaram G6PDH mais elevada após 3 horas do desafio e queda abaixo da homeostase após 24 horas. O OL também teve G6PDH elevada após 3 horas e voltou a valores similares a homeostase com 24 horas. Já os animais alimentados com OP não apresentaram variação após 3 horas e 24 horas do desafio. A maior

G6PDH foi registrada por OL no tempo de 3 horas e a menor foi observada em animais alimentados com OM no tempo 24 horas. A G6PDH possui uma ação essencial como moduladora de enzimas antioxidantes. É ela que reduz NADP^+ para NADPH que é necessário para o normal funcionamento de enzimas como GR e CAT (SCOTT et al., 1991; PANDOLFI et al., 1995; MORALES et al., 2004; PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2012). Estudos relacionados à aclimação em peixes constataram um aumento na atividade dessa enzima e isso foi relacionado ao aumento da demanda de NADPH nas reações biossintéticas (CAMPBELL; DAVIES, 1978; HOCHACHKA; HAYES, 1962; SEDDON; PROSSER, 1997; STONE; SIDELL, 1981). O aumento na degradação de NADP^+ para NADPH é visto como uma resposta positiva a aclimação ao frio visto que essa reação fornece NADPH como um cofator para a Glutathione Redutase (GR), mantendo essa enzima em níveis mais baixos protegendo-a contra o estresse oxidativo (KAMMER; ORCZEWSKA; O'BRIEN, 2011). Nossos resultados corroboram com essa constatação, pois é verificada uma maior atividade de G6PDH às 3 horas HPD, sendo que a atividade de todas as enzimas, GPX, CAT, SOD, LPO E GR diminuem seus resultados nesse mesmo período, sugerindo que G6PDH estava produzindo NADPH para tentar atender a necessidade dessas enzimas sem que elas manifestassem um estresse oxidativo. É verificado no gráfico também que a atividade de G6PDH na dieta OM após 24 horas HPD se reduz abaixo da homeostase, sendo que nesse mesmo momento as atividades de todas as enzimas sobem para a dieta OM.

A enzima LPO apresentou variação da resposta ao desafio em função do tipo de dieta, demonstrada pela interação significativa dos fatores dieta e tempo. Foi observada uma menor LPO para OL na homeostase, reduzindo no desafio após 3 horas e não apresentou variação significativa entre 3 horas e 24 horas. Já OP e OM caíram em resposta ao desafio após 3h e voltaram a subir após 24 horas sendo que neste caso o OM retornou a próximo da homeostase e o OP embora tenha elevado não aproximou dos valores antes do desafio. Na LPO as EROs atacam os ácidos graxos polinsaturados (PUFA) dos fosfolipídios presentes nas membranas celulares, fragmentando-os, permitindo o acesso dos produtos dessa reação dentro da célula. Como resultado da desintegração dos fosfolipídios da membrana celular, ocorre a liberação de ácidos graxos não saturados que iram oxidar os lipídios insaturados e formar resíduos de malondialdeído (MDA). A ruptura da membrana plasmática, a diminuição ou perda de permeabilidade e alterações na fluidez da membrana são resultados da LPO, sendo que os produtos dessa reação podem causar inibição da ação de algumas enzimas e causar dano ao DNA e proteínas (HERMES-LIMA, 2004).

Animais alimentados com a dieta OP apresentaram maior resultado em Homeostase, sendo que os animais alimentados com OL apresentaram maior estabilidade à resposta enzimática nas 3 horas e 24 horas do estresse pelo frio. Já o maior resultado enzimático foi apresentado nos animais alimentados pela dieta OM após 24 horas do desafio. É possível que a melhor resposta ao estresse representado pela dieta OL esteja ligada a composição dos ingredientes vegetais da dieta que possuem maior potencial antioxidante, como compostos fenólicos ou flavonoides (SITJÀ-BOBADILLA; PEÑA-LLOPIS; GÓMEZ-REQUENI et al., 2005). Esse efeito antioxidante pode ter ação na eliminação desses radicais livres como as EROs ou podem ter ação na ativação de enzimas antioxidantes (NAGATA et al., 1999; PROCHÁZKOVÁ; BOUŠOVÁ; WILHELMOVÁ, 2011).

Já a resposta apresentada na dieta contendo OM pode não conter esses antioxidantes em sua composição e foi mais reativo ao estresse oxidativo provocado pelo estresse pelo frio. Outros trabalhos confirmam aumento na LPO devido ao estresse ocasionado pelo frio (NA et al., 2010; PARK et al., 2011). Em peixes dourados (*Carassius auratus*) também foi constatado aumento na LPO por causa do estresse oxidativo induzido pelo estresse térmico (LUSHCHAK; BAGNYUKOVA, 2006 a, b). Sendo que também foi confirmado aumento na quantidade de MDA em peixe-espinho (*Terapon jarbua*) após estresse térmico (CHIEN; HWANG, 2001).

5. CONCLUSÃO

Embora o menor resultado do Cortisol tenha sido para a dieta Óleo de Peixe, foi verificado que as dietas não apresentaram diferenças significativas com reação ao desafio proposto para esse marcador. Sugerindo que o nível de estresse oxidativo causado foi baixo.

Já para o estado oxidativo foi verificada interação nos resultados entre as dietas e o desafio pelo frio. Entre as dietas com óleos vegetais a dieta com Óleo de Linhaça apresentou melhores resultados ou resultados mais estáveis devido ao melhor equilíbrio na relação n-3/n-6, cientes que o ômega 3 possui uma maior ação anti-inflamatória o que colaborou com os resultados. Já a dieta contendo Óleo de Milho foi à dieta que apresentou mais impacto negativo nas análises realizadas. Acredita-se também que esse resultado se deve pelo equilíbrio na relação n-3/n-6 e pela maior proporção de Ômega 6 que possui ação pró-inflamatória.

Diante dos resultados desse trabalho a substituição do Óleo de Peixe pelo Óleo de Linhaça com relação ao estresse oxidativo ocasionado pelo desafio do frio apresentou um bom desempenho. Esses mesmo resultados não foram confirmados com o Óleo de Milho.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. 1984. Catalase in vitro. **Methods Enzymol.** 105, 121–126.
- ABRAM, Q. H.; DIXON, B.; KATZENBACK, B. A. 2017. Impacts of low temperature on the teleost immune system. **Biology**, v. 6, n. 4, p. 1–15.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. 2010. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210.
- AN, K. W.; KIM, N. N.; SHIN, H. S.; KIL, G.-S.; CHOI, C. Y. 2010. Profiles of antioxidant gene expression and physiological changes by thermal and hypoosmotic stresses in black porgy (*Acanthopagrus schlegeli*). **Comp. Biochem. Physiol. A.** 156, 262–268.
- ARAÚJO, F. G.; COSTA, D. V.; MACHADO, M. R. F.; PAULINO, R. R.; OKAMURA, D.; ROSA, P. V. 2016. Dietary oils influence ovary and carcass composition and embryonic development of zebrafish. **Aquacult Nutr.** n/a-n/a.
- ARAÚJO-LIMA, C.; GOULDING, M. 1998. Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. Tefé, AM: **Sociedade Civil de Mamirauá, Brasília: CNPq.** 186p.
- ARIDE, P. H. R., OLIVEIRA, A. M., BATISTA, R. B., FERREIRA, M. S., PANTOJA-LIMA, J., LADISLAU, D. S., ... & OLIVEIRA, A. T. 2017. Changes on physiological parameters of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed with diets supplemented with Amazonian fruit Camu camu (*Myrciaria dubia*). **Brazilian Journal of Biology**, 78, 360-367.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 2005. **Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International**, 16th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- BAGNYUKOVA, T.V.; LUSHCHAK, O.V.; STOREY, K.B.; LUSHCHAK, V.I. 2007. Estresse oxidativo e respostas de defesa antioxidante por tecidos de peixinho dourado à mudança aguda de temperatura de 3 a 23°C . **J. Therm Biol** , 32: 227 – 234.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. d. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R. & BRESSAN, J. 2010. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, 23, 629-643.

BALDISSEROTTO B. 2009. Respiração e circulação. In: BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 2ª ed. Santa Maria: Editora UFSM. p.53 -75.

BAR-OR, D.; BAR-OR, R.; RAEL, L. T.; BRODY, E. N. 2015. Oxidative stress in severe acute illness. **Redox Biol.** 4:340–345.

BARNETT, C. W.; PANKHURST, N. W. 1998. The effects of common laboratory and husbandry practices on the stress response of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* (Günther, 1862). **Aquaculture**, 162: 313-329.

BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Ann. Rev. Fish Dis.**, 1, 3-26.

BARTON, B. A. 2000. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. **North American Journal of Aquaculture**, 62(1), 12-18.

BASTOS, V. C.; SALLES, J. B.; VALENTE, R. H.; LEÓN, I. R.; PERALES, J.; DANTAS, R. F.; ... & BASTOS, J. C. 2007. Glutathione peroxidase citosólica de fígado de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), um peixe do Pantanal tolerante à hipóxia. **Biochimie**, 89 (11), 1332-1342.

BLANCHARD, G.; MAKOMBU, J.G.; KESTEMONT, P. 2008 Influence of different dietary 18: 3n-3/18: 2n-6 ratio on growth performance, fatty acid composition and hepatic ultrastructure in Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. **Aquaculture**, v. 284, n. 1, p. 144-150.

BELL, J. G.; MCGHEE, F.; CAMPBELL, P. J.; SARGENT, J. R. 2003. Rapessed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil “wash out”. **Aquaculture**, 218, 515-528.

BELL, J. G.; MCEVOY, J.; TOCHER, D. R.; MCGHEE, F.; CAMPBELL, P. J.; SARGENT, J. R. 2001. Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, 131, 1535-1543.

BELL, J. G.; MCGHEE, F.; DICK, J. R.; TOCHER, D. R. 2005. Dioxin and dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) in Scottish farmed salmon (*Salmo salar*): effects of replacement of dietary marine fish oil with vegetable oils. **Aquaculture**, 243(1-4), 305-314.

BENDIKSEN, E. A.; JOBLING, M. 2003. Effects of temperature and feed composition on essential fatty acid (n-3 and n-6) retention in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. **Fish Physiol. Biochem.** 29, 133-140. BRESSAN, M.C. Tecnologia de pós-colheita. 2000. 95 f. Monografia (Especialização) - Curso de Piscicultura, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

BENFEY, T. J.; BIRON, M. 2000. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). **Aquaculture**, 184, 167–176.

- BERGER, M. M. 2005. Can oxidative damage be treated nutritionally. **Clinical nutrition**, v. 24, n. 2, p. 172-183.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. 1999. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista Nutrição**, 12, 123-30.
- BONGA, S. E. W., 1997. The stress response in fish. **Physiological Reviews**. 77, 591-625.
- BUEGE, J.A.; AUST, S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol**. 52, 302–310.
- BRADFORD, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. 72, 248-254.
- CARVALHO, C. S.; FERNANDES, M. N. 2006. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. **Aquaculture**, 251(1), 109-117.
- CARVALHO-NETA, R. N. F.; ABREU-SILVA, A. L. 2010. *Sciades herzbergii* oxidative stress biomarkers: An in situ study of an estuarine ecosystem (São Marcos' Bay, Maranhão, Brazil). **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 58, n. SPEC. ISSUE, p. 11–17.
- CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. 2013. "A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives". **Food and Chemical Toxicology**, 51, 15.
- CASTRO, F. J.; FERNANDES, M. N. 2009. 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.
- CASTRO, C.; DIÓGENES, A. F.; COUTINHO, F.; PANSEARAT, S.; CORRAZE, G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; PERES H.; OLIVA-TELES, A. 2016. Estado oxidativo do fígado e do intestino de douradas alimentadas com óleo vegetal e dietas ricas em hidratos de carbono. **Aquaculture** , 464 , 665-672.
- CASTRO, C.; PEREZ-JIMENEZ, A.; GUERREIRO, I.; PERES, H.; CASTRO-CUNHA, M.; OLIVA-TELES, A. 2012. Effects of temperature and dietary protein level on hepatic oxidative status of Senegalese sole juveniles (*Solea senegalensis*). **Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology**. 163, 372-378.
- CASTRO, C.; PERÉZ-JIMÉNEZ, A.; COUTINHO, F.; DÍAZ-ROSALES, P.; DOS REIS SERRA, C. A.; PANSEARAT, S.; PERES, H.; OLIVA-TELES, A. 2015. Dietary carbohydrate and lipid sources affect differently the oxidative status of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Br. J. Nutr.* 114, 1584–1593.
- CALDER, P. C. 2003. Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: potential application in surgical and trauma patients. **Brazilian journal of medical and biological research** =

Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica ... [et al.], 36(4), 433–446.

CAMPBELL, C. M.; DAVIES, P. S. 1978. Temperature acclimation in the teleost, *Blennius pholis*: changes in enzyme activity and cell structure. **Comp. Biochem. Physiol.** 61B, 165-167.

CHANG, W. S.; LEE, Y. J.; LU, F. J.; CHIANG, H. C. 1993. Inhibitory effects of flavonoids on xanthine oxidase. **Anticancer Res.** 13, 2165–2170.

CHIEN, L. T.; HWANG, D. F. 2001. Effects of thermal stress and vitamin C on lipid peroxidation and fatty acid composition in the liver of thornfish *Terapon jarbua*. **Comparative Biochemistry and Physiology B Biochemistry and Molecular Biology.** 128, 91-97.

CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L.; MARTINO, R. C. 2000. Retenção de proteína e energia em juvenis de "black bass" *Micropterus salmoides*. **Scientia Agricola**, 57, 609-616.

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

DE SILVA, S. S.; GUNASEKERA, R. M.; AUSTIN, C. M.; ALLINSON, G. 1998. Habitat related variations in fatty acids of catadromous *Galaxias maculatus*. **Aquatic Living Resources**, 11(6), 379-385.

DE MATTOS DIAS, C. A. G.; FAGUNDES, D. S.; JUNIOR, A. G.; de SILANES, M. D. M. L.; SÁ-OLIVEIRA, J. C. 2013. Luz, Melatonina E Estresse Oxidativo Na Piscicultura. **Biota Amazônia** (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota), 3(3), 169-176.

DOSANJH, B. S.; HIGGS, D. A.; HIGGS, D. A.; McKenzie, D. J.; RANDALL, D. J.; EALES, J. G.; ROWSHANDELI, N.; ROWSHANDELI, M.; DIÁCONO, G. 1998. Influence of dietary blends of menhaden oil and canola oil on growth, muscle lipid composition, and thyroidal status of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in sea water. **Fish Physiol. Biochem.** 19, 123-134.

DROGE, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological reviews**, v. 82, n. 1, p. 47-95.

EDDY, F. B. 1981. Effects of stress on osmotic and ionic regulation in fish In: Pickering A.D. (Ed), **Stress and fish**. Academic Press, pp. 77-102.

ESPINOSA-DIEZ, C.; MIGUEL, V.; MENNERICH, D.; KIETZMANN, T.; SÁNCHEZ-PÉREZ, P.; CADENAS, S.; LAMAS, S. 2015. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. **Redox biology**, 6, 183-197.

FARKAS, T. 1970. The dynamics of fatty acids in the aquatic food chain, phytoplankton, zooplankton, fish. **Annual Biology**, Tihany, 37, 165-176.

- FANG, Y. Z.; YANG, S.; WU, G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition** 18, 872–879.
- FERRAZ, R. B.; KABEYA, N.; LOPES-MARQUES, M.; MACHADO, A. M.; RIBEIRO, R. A.; SALARO, A. L.; OZÓRIO, R.; CASTRO, L. F. C.; MONROIG, Ó. 2019. A complete enzymatic capacity for long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis is present in the Amazonian teleost tambaqui, *Colossoma macropomum*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**. 227, 90-97.
- FERREIRA, I. C. F. R. ABREU, R. 2007. Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. **Bioanálise**, 1, 32-39.
- FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of biological chemistry**, 226.
- FRANCIS, D. S.; TURCHINI, G. M.; JONES, P. L.; DE SILVA, S. S. 2006. Effects of dietary oil source on growth and fillet fatty acid composition of Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. **Aquaculture**, 253, 547–556.
- GARCIA, L. O.; COPATTI, C. E.; WACHHOLZ, F.; PEREIRA FILHO, W.; BALDISSEROTTO, B. 2008. Freshwater temperature in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil, and its implication for fish culture. **Neotropical Ichthyology**. 6 (2), 275-281.
- GANGA, R.; TORT, L.; ACERETE, L.; MONTERO, D.; IZQUIERDO, M. S. 2006. Modulação da liberação de cortisol induzida por ACTH por ácidos graxos poliinsaturados em células interrenais da dourada dourada, *Sparus aurata*. **Journal of Endocrinology**. 190, 39-45.
- GANGA, R.; MONTERO, D.; BELL, J. G.; ATALAH, E.; GANUZA, E.; VEGA-ORELLANA, O.; TORT, L.; ACERETE, L.; AFONSO, J. M.; BENITEZ-SANATANA, T.; VAQUERO, A. F.; IZQUIERDO, M. 2011. Stress response in sea bream (*Sparus aurata*) held under crowded conditions and fed diets containing linseed and/or soybean oil. **Aquaculture**. 311, 215-223.
- GLENCROSS, B. D., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. **Rev. Aquac.** 1, 71–124.
- GRIFFITHS, H. R.; UNSWORTH, J.; BLAKE, D. R.; LUNEC, J. 1988. Free radicals in chemistry, pathology and medicine. **London: Richelieu**. pp. 439-454.
- GRIM, J. M.; MILES, D. R.; CROCKETT, E. L. 2010. Temperature acclimation alters oxidative capacities and composition of membrane lipids without influencing activities of enzymatic antioxidants or susceptibility to lipid peroxidation in fish muscle. **J. Exp. Biol.** 213, 445-452.
- GOMES, L. C., BULLA, C. K., AGOSTINHO, A. A., VASCONCELOS, L. P.; MIRANDA, L. E. 2012. Fish assemblage dynamics in a Neotropical floodplain relative to aquatic macrophytes and the homogenizing effect of a flood pulse. **Hydrobiologia**, 685(1), 97-107.

- GOMES, L. C.; SIMÕES L. N.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. 2010. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In Baldisserotto, B. & L. C. Gomes (eds), **Espécies Nativas Para Piscicultura no Brasil**, 2nd ed. Santa Maria, UFSM.
- GROTTO, D.; VALENTINI, J.; BOEIRA, S.; PANIZ, C.; SANTA MARIA, L.; VICENTINI, J.; MORO, A.; CHARÃO, M.; GARCIA, S. C.; CARDOSO, S. G. 2008. Avaliação da estabilidade do marcador plasmático do estresse oxidativo - Malondialdeído. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 275–279.
- HARDY, R. W.; SCOTT, T. M.; HARRELL, L. W. 1987. Substituição de óleo de arenque por óleo de menhaden, óleo de soja ou sebo nas dietas de Salmão Atlântico criado em tanques-rede marinhos. **Aquicultura**. 65, 267-277.
- HALLIWELL, B. 2007. Biochemistry of oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, v. 35, n. 5, p. 1147–1150.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. 2000. Free radicals in biology and medicine. 3 ed. **Clarendon**, Oxford, 936 p.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. 2007. Free Radicals in Biology and Medicine. 4 th. **Oxford University Press**, London, p. 896.
- HAYES, T. B. 1997. Steroid-mimicking environmental contaminants: their potential role in amphibian declines. In: BOHME, W.; BISCHOFF, W.; ZIEGLER, T. (eds). **The National Institute of Environmental Health Sciences**, p. 1-54.
- HE, Y. F.; WANG, L. M.; ZHU, W. B.; DONG, Z. J.; LIU, N. 2017. Effects of salinity on cold tolerance of Malaysian red tilapia. **Aquaculture International**, 25(2), 777-792.
- HEISE, K.; PUNTARULO, S.; NIKINMAA, M.; LUCASSEN, M.; PORTNER, H. O.; ABELE, D. 2006. Oxidative stress and HIF-1 DNA binding during stressful cold exposure and recovery in the North Sea eelpout (*Zoarces viviparus*). **Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology**. 143, 494-503.
- HEISE, K.; ESTEVEZ, M. S.; PUNTARULO, S.; GALLEANO, M.; NIKINMAA, M.; PORTNER, H. O.; ABELE, D. 2007. Effects of seasonal and latitudinal cold on oxidative stress parameters and activation of hypoxia inducible factor (HIF-1) in zoarcid fish. **J. Comp. Physiol. B**. 177, 765-777.
- HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. **Prog Lipid Res**. 26, 281-347.
- HERMES-LIMA, M. 2004. Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals. In: Kenneth B. Storey (Ed). **Functional Metabolism: Regulation and Adaptation**. Wiley-Liss, NY: **John Wiley & Sons**, Inc. 319-368 pp.
- HERMES-LIMA, M. 2004. Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals. IN: STOREY K. **Functional metabolism: Regulation and Adaptation**. 1º ed. John Wiley & Sons. cap. 12 p. 616.
- HERRERA, M.; HERVES, M. A.; GIRÁLDEZ, I.; SKAR, K.; MOGREN, H.; MORTENSEN, A.; PUVANENDRAN, V. 2017. Effects of amino acid supplementations on

metabolic and physiological parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua*) under stress. **Fish Physiol. Biochem.** 43, 591–602.

HOCHACHKA, P. W.; HAYES, F. R. 1962. The effect of temperature acclimation on pathways of glucose metabolism in the trout. **Can. J. Zool.** 40, 261-270.

HONTELA, A. 1997. Endocrine and physiological responses of fish to xenobiotics: role of glucocorticosteroid hormones. **Rev. Toxicol.**, 1: 1-46.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FATIMA, A. 2008. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quim Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170-1179.

IBARZ, A.; BLASCO, J.; GALLARDO, M. A.; FERNÁNDEZ-BORRÁS, J. 2010. Energy reserves and metabolic status affect the acclimation of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) to cold. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology.** 155, 319-326.

IBGE, **IBGE Produção Pecuária Municipal**, 2014.

JORGENSEM, E. H.; VIJAYAN, M. M.; ALURU, N.; MAULE, A. G. 2002. Fasting modifies Aroclor 1254 impact on plasma cortisol, glucose, and lactate responses to a handling disturbance in Arctic charr. **Comp. Biochem. Physiol.**, 132C, 235-245.

JÚNIOR, L. R.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T. 2001. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathione associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 112–119.

KAMMER, A. R.; ORCZEWSKA, J. I.; O'BRIEN, K. M. 2011. Oxidative stress is transient and tissue specific during cold acclimation of threespine stickleback. **J. Exp. Biol.** 214, 1248–1256.

KARAPANAGIOTIDIS, I. T.; BELL, M. V.; LITTLE, D. C.; YAKUPITIYAGE, A. 2007. Replacement of dietary fish oils by alpha-linolenic acid-rich oils lowers omega 3 content in tilapia flesh. **Lipids**, 42(6), 547-559.

KOVEN, W.; VAN ANHOLT, R.; LUTZKY, S.; BEN-ATIA, I.; GAMSIZ, K.; WEISS, R.; TANDLER, R. 2001. The importance of arachidonic acid, as a modulator of stress resistance through the hypothalamus–pituitary–interrenal axis, in different aged gilthead sea bream larvae. In: Hendry, C.I., Van Stappen, G., Wille, M., Sorgeloos, P. (Eds.), **Larvi 01—Fish and Shellfish Larviculture Symposium European Aquaculture Society, Special Publication 30.** Oostende, Belgium, pp. 292–293.

KOVEN, W.; BARR, Y.; LUTZKY, S.; BEN-ATIA, I.; WEISS, R.; HAREL, M.; BEHRENS, P.; TANDLER, A. 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n–6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. **Aquaculture.** 193, 107-122.

KUBTIZA, F. 2004. Coletânea de informações aplicadas ao cultivo do tambaqui, do pacu e de outros peixes redondos. **Panorama da Aquicultura**, 14:27-39.

LEAF, A.; WEBER, P.C. 1988. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. **New England Journal of Medicine**, v. 318, n. 9, p. 549-557.

LIMÓN-PACHECO, J.; GONSEBATT, M. E. 2009. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 674, n. 1, p. 137-147.

LI, F. J.; LIN, X.; LIN, S. M.; CHEN, W. Y.; GUAN, Y. 2016. Efeitos da substituição de óleo de peixe na dieta com óleo de linhaça no crescimento, gordura muscular ácido e metabolismo da tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Aquacult Nutr.** 22, 499-508.

LIEMBURG-APERS, D.C.; WILLEMS, P. H. G. M.; KOOPMAN, W. J. H.; GREFTE, S. 2015. Interactions between mitochondrial reactive oxygen species and cellular glucose metabolism. **Arch. Toxicol.** 89, 1209–1226.

LOVSHIN, L. L. 1980. Situación del cultivo de *Colossoma* sp. en Sud América. **Revista Latinoamericana de Acuicultura**, 5: 27-32

LUSHCHAK, V. I.; BAGNYUKOVA, T.V. 2006a. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues: 1. Indices of oxidative stress. **Comp. Biochem. Physiol. C** 143, 30–35.

LUSHCHAK, V. I.; BAGNYUKOVA, T. V. 2006b. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues: 2. Antioxidant and associated enzymes. **Comp. Biochem. Physiol. C** 143, 36–41.

MAGDER, S. 2006. "Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life?" **Critical Care**, 10, 208.

MALEK, R. L.; SAJADI, H.; ABRAHAM, J.; GRUNDY, M. A.; GERHARD, G. S. 2004. The effects of temperature reduction on gene expression and oxidative stress in skeletal muscle from adult zebrafish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**. 138, 363-373.

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

MARX G.; CHEVION M., 1986. Site-specific modification of albumin by free radicals. Reaction with copper and ascorbate. **Biochem. J.** 236, 397- 400.

MASELLA, R.; DI BENEDETTO, R.; VARÌ, R.; FILESI, C.; GIOVANNINI, C. 2005. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. **J. Nutr. Biochem.** 16, 577–586.

MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F. 1981. Adrenergic responses to stress in fish. In: PICKERING, A. D. **Stress in fish**. London: Academic Press, p. 49-75.

MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E. M. 1977. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. **Trans. Am. Fish. Soc.**, 106, 201-212.

MENEZES, C. C.; RUIZ-JARABO, I.; MARTOS-SITCHA, J. A.; LEITEMPERGER, J.; BALDISSEROTTO, B.; MANCERA, J. M.; ROSEMBERG, D. B.; LORO, V. L. 2014. Diet with diphenyl diselenide mitigates quinclorac toxicity in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **PLoS ONE**, v. 9, n. 12, p. 1–16.

MEHTA, S. K.; GOWDER, S. J. T. 2015. Members of antioxidant machinery and their functions. In: Gowder, S.J.T. (Ed.), *Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress*. **InTech**, Rijeka, Croatia, pp. 59–85.

MILLIGAN, C. L. 2003. A regulatory role for cortisol in muscle glycogen metabolism in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. **J. Exp. Biology**, 206, 3167-3173.

MODESTO, K. A.; MARTINEZ, C. B. R. 2010. Roundup® causes oxidative stress in liver and inhibits acetylcholinesterase in muscle and brain of the fish *Prochilodus lineatus*. **Chemosphere**, v. 78, n. 3, p. 294–299.

MONTERO, D.; TORT, L.; IZQUIERDO, M. S.; ROBAINA, L.; VERGARA, J. M. 1998. Depletion of serum alternative complement pathway activity in gilthead seabream caused by alpha -tocopherol and n-3 HUFA dietary deficiencies. **Fish Physiology & Biochemistry**. 18, 399-407.

MONTERO, D.; KALINOWSKI, T.; OBACH, A.; ROBAINA, L.; TORT, L.; CABALLERO, M. J.; IZQUIERDO, M. S. 2003. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. **Aquaculture**. 225.

MORALES, A. E.; GARCÍA REJÓN, L.; DE LA HIGUERA, M. 1990. Influence of handling and/or anaesthesia on stress response in rainbow trout. Effects on liver primary metabolism. **Comp. Biochem. Physiol. A**. 95, 87–93.

MORALES, A. E.; PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; HIDALGO, M. C.; ABELLÁN, E.; CARDENETE, G. 2004. Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. **Comp. Biochem. Physiol. C** 139, 153–161.

MOREIRA, A. B.; VISENTAINER, J. V.; de SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. 2001. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian Brycon freshwater fishes. **Journal of food composition and analysis**, 14(6), 565-574.

MOSKAUG, J. O.; CARLSEN, H.; MYHRSTAD, M. C.; BLOMHOFF, R. 2005. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am. J. Clin. Nutr.* 81, 277S–283S.

McCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. 1969. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte. **J. Biol. Chem.** 244, 6049–6055.

McDONALD, G.; MILLIGAN, L. 1997. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: Iwama, G. W., Pickering, A. D., Sumpter, J. P., Schreck, C. B. (Eds). **Fish Stress and Health in Aquaculture**. Cambridge: University Press, pp. 119-144.

NA, K. W.; KIM, N. N.; SHIN, H. S.; KIL, G. S.; CHOI, C. Y. 2010. Profiles of antioxidant gene expression and physiological changes by thermal and hypoosmotic stresses in black porgy (*Acanthopagrus schlegeli*). **Comp Biochem Physiol A**. 156:262_268.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 2011. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. National academies press.

NAGATA, H.; TAKEKOSHI, S.; TAKAGI, T.; HONMA, T.; WATANABE, K. 1999. Antioxidative action of flavonoids, quercetin and catechin, mediated by the activation of glutathione peroxidase. **The Tokai journal of experimental and clinical medicine**, 24(1), 1-11.

NG, W.-K.; WANG, Y. 2011. Inclusion of crude palm oil in the broodstock diets of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, resulted in enhanced reproductive performance compared to broodfish fed diets with added fish oil or linseed oil. **Aquaculture**, 314, p.122-131.

NOBREGA, R. O.; BANZE, J. F.; BATISTA, R. O.; FRACALOSSO, D. M. 2020. Improving winter production of Nile tilapia: What can be done?. **Aquaculture Reports**, 18, 100453.

NOLAN, D. T. 2000. Skin response of fish to stressors. Tese (Doutorado) –Universidade Católica de Nijmegen, Holanda.

OLIVEIRA, A. M.; SILVA, M. N. P.; ALMEIDA-VAL V. M. F.; VAL, A. L. 2012. Caracterização da atividade de piscicultura nas mesoregiões do estado do Amazonas, Amazônia brasileira. **Revista Colombiana Ciência Animal**. 4, 154–162.

OLIVEIRA, A. C. B.; MIRANDA, E. C.; CORREA, R. 2012. Exigências Nutricionais e Alimentação do Tambaqui. In: Débora Machado Fracalossi, José Eurico Possebon Cyrino. (Eds.). Nutriaqua, Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. Florianópolis: **Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**, v. 1, p. 231-240.

OLSEN, Y. 1998. Lipids and essential fatty acids in aquatic foods webs: what can freshwater ecologists learn from mariculture. In: ARTS, M. T., WAINMAN, B. C **Lipids in freshwater ecosystems**, cap. 8, p.161-202.

PAULINO, R. R.; PEREIRA, R. T.; FONTES, T. V.; OLIVA-TELES, A.; PERES, H.; CARNEIRO, D. J.; ROSA, P. V. 2018. Optimal dietary linoleic acid to linolenic acid ratio improved fatty acid profile of the juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture**. 488, 9-16.

PANDOLFI, P.; SONATÍ, F.; RIVI, R.; MASON, P.; GROSVELD, F.; LUZZATTO, J. 1995. Targeted disruption of the housekeeping gene encoding glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD): G6PD is dispensable for pentose synthesis but essential for defense against oxidative stress. **EMBO J**. 14, 5209–5215.

PARIHAR, M. S.; DUBEY, A. K.; JAVERI, T.; PRAKASH, P. 1996. Changes in Lipid Peroxidation, Superoxide Dismutase Activity, Ascorbic Acid and Phospholipid Content in

Liver of Freshwater Catfish *Heteropneustes Fossilis* Exposed to Elevated Temperature. *J. Therm. Biol.* 21, 323-330.

PARK, M. S.; SHIN, H. S.; CHOI, C. Y.; KIM, N. N.; PARK, D.-W.; KIL, G.-S.; LEE, J. 2011. Effect of hypoosmotic and thermal stress on gene expression and the activity of antioxidant enzymes in the cinnamon clownfish, *Amphiprion melanopus*. *Anim. Cells Syst.* 15, 219–225.

PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; PERES, H.; RUBIO, V. C.; OLIVA-TELES, A. 2012. O efeito da metionina dietética e do chá branco no estado oxidativo da dourada (*Sparus aurata*). *British Journal of Nutrition* , 108 (7), 1202-1209.

PÉRON, G.; MITTAINÉ, J. François; LE GALLIC, B. 2010. Where do fishmeal and fish oil products come from? An analysis of the conversion ratios in the global fishmeal industry. *Marine policy*, 34, 815-820.

PICKERING, A. D. 1981. Stress and fish. **London: Academic Press.**

PICKERING, A. D. 1993. Growth and stress in fish production. *Aquaculture*, v.111, p.51-63.

PICKERING, A. D.; POTTINGER, T. G. 1995. Biochemical effects of stress. In: HOCHACHKA, P. W.; MOMMSEN, T. P. (Ed.). **Environmental and ecological biochemistry**. Amsterdam: Elsevier, p. 349-379.

PIEDECAUSA, M. A.; MAZON, M. J.; GARCIA, B. G.; HERNANDEZ, M. D. 2007. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture*, 263, 211–219.

PISOSCHI A. M, POP, A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur. J. Med. Chem.* 97:55–74.

PFLUGMACHER, S. 2004. Promotion of oxidative stress in the aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* during biotransformation of the cyanobacterial toxin microcystin-LR. *Aquatic toxicology*, v. 70, n. 3, p. 169-178.

PROCHÁZKOVÁ, D.; BOUŠOVÁ, I.; WILHELMOVÁ, N. 2011. Review: antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia* 82, 513–523.

RICE-EVANS, C. 2001. Flavonoid antioxidants. *Curr. Med. Chem.* 8, 797–807.

RILEY, J. C.; BEHRMAN, H. R. 1991. Radicais de oxigênio e espécies reativas de oxigênio na reprodução. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine** , 198 (3), 781-791.

REGOLI, F.; PELLEGRINI, D.; WINSTON, G. W.; GORBI, S.; GIULIANI, S.; VIRNO-LAMBERTI, C.; BOMPADRE, S. 2002. Aplicação de biomarcadores para avaliar o impacto biológico de materiais dragados no Mediterrâneo: a relação entre respostas antioxidantes e suscetibilidade ao estresse oxidativo no salmonete (*Mullus barbatus*). **Boletim de Poluição Marinha** , 44 (9), 912-922.

- ROVER JR, L.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T. 2001. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Quim. Nova**, 24(1), 112-119.
- SARGENT, J. R.; TOCHER, D. R.; BELL, J. G. 2002. The lipids. in: *Halver, J.E., Hardy, R.W.* (Eds.), **Fish nutrition**, 3rd Edition. Academic Press, pp. 181-257.
- SATTIN, G.; BAKIU, R.; TOLOMEO, A. M.; CARRARO, A.; COPPOLA, D.; FERRO, D.; SANTOVITO, G. 2015. Characterization and expression of a new cytoplasmic glutathione peroxidase 1 gene in the Antarctic fish *Trematomus bernacchii*. **Hydrobiologia**, 761(1), 363-372.
- SIES, H.; BERNDT C.; JONES D. P. 2017. Oxidative Stress. *Annu. Rev. Biochem.* 86:715–748.
- SEDDON, W. L.; PROSSER, C. L. 1997. Seasonal variations in the temperature acclimation response of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Physiol. Zool.** 70, 33-44.
- SENADHEERA, S. P. S. D.; TURCHINI, G. M.; THANUTHONG, T.; FRANCIS, D. S. 2010. Effects of dietary α -linolenic acid (18:3n-3)/linoleic acid (18:2n-6) ratio on growth performance, fillet fatty acid profile and finishing efficiency in Murray cod. **Aquaculture**. 309, 222-230.
- SITJÀ-BOBADILLA, A.; PEÑA-LLOPIS, S.; GÓMEZ-REQUENI, P.; MÉDALE, F., KAUSHIK, S.; PÉREZ-SÁNCHEZ, J. 2005. Effect of fish meal replacement by plant protein sources on nonspecific defence mechanisms and oxidative stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture** 249, 387–400.
- SCOTT, M.; ZUO, L.; LUBIN, B. H.; CHIU, D. T. Y. 1991. NADPH, not glutathione, status modulates oxidant sensitivity in normal and glucose-6-phosphate dehydrogenasedeficient erythrocytes. **Blood** 77, 2059–2064.
- SHARMA, R. K.; AGARWAL, A. 1996. Papel das espécies reativas de oxigênio na infertilidade masculina. **Urology** , 48 (6), 835-850.
- SHAMI, N. J. I. E. 2004. MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, 17, 227-236.
- SHIN, H. S.; YOO, J. H.; MIN, T. S.; LEE, J.; CHOI, C. Y. 2010. Effect of Quercetin on the Activity and mRNA Expression of Antioxidant Enzymes and Physiological Responses in Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) Exposed to Cadmium. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 23, 742-749.
- SHEEHAN, D.; MEADE, G.; FOLEY, V. M.; DOWD, C. A. 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. **Biochemical journal**, 360(1), 1-16.
- SPRAGUE, M.; DICK, J.R.; TOCHER, D.R. 2016. Impact of sustainable feeds on omega-3 long-chain fatty acid levels in farmed Atlantic salmon, 2006 – 2015. **Nat. Publ. Gr.** 1–9.

STATSOFT, INC. 2004. STATISTICA (data analysis software system), version 7.
www.ststsoft.com.

STEFFENS, W. 1997. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. **Aquaculture**, Amsterdam, 151, 97–119.

STONE, B. B.; SIDELL, B. D. 1981. Metabolic responses of striped bass (*Morone saxatilis*) to temperature acclimation. I. Alterations in carbon sources for hepatic energy metabolism. **J. Exp. Zool.** 218, 371-379.

TAGO, A.; YAMAMOTO, Y.; TESHIMA, S.-i.; KANAZAWA, A. 1999. Effects of 1,2-di-20:5–phosphatidylcholine (PC) and 1,2-di-22:6–PC on growth and stress tolerance of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae. **Aquaculture**. 179, 231-239.

TIAN, J.-J.; LEI, C.-X.; JI, H. 2015. Influence of dietary linoleic acid (18:2n-6) and α -linolenic acid (18:3n-3) ratio on fatty acid composition of different tissues in freshwater fish Songpu mirror carp, *Cyprinus Carpio*. **Aquac Res**, n/a-n/a.

TOCHER, D. R. 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. **Aquac Res**. 41, 717-732.

TOCHER, D. R.; GLENCROSS, B. D. 2015. Lipídios e ácidos graxos. **Nutrientes dietéticos, aditivos e saúde dos peixes**, p. 47-94.

TORTENSEN, B. E.; LIE, O.; FROYLAND, L. 2000. Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar*)—effects of capelin oil, palm oil and oleic-enriched sunflower oil as dietary lipid sources. **Lipids**, v.35, p.653–664.

THANUTHONG, T.; FRANCIS, D. S.; SENADHEERA, S. D.; JONES, P. L.; TURCHINI, G. M. 2011. Fish oil replacement in rainbow trout diets and total dietary PUFA content: I) Effects on feed efficiency, fat deposition and the efficiency of a finishing strategy. **Aquaculture**. 320, 82-90.

URBINATI, E. C.; ABREU, J. S.; CAMARGO, A. C. S.; LANDINES, M. A. 2004. Loading and transport stress in juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*) at various densities. **Aquaculture**, 229, 389-400.

VAN ANHOLT, R. D.; KOVEN, W. M.; LUTZKY, S.; BONGA, S. E. W. 2004. Dietary supplementation with arachidonic acid alters the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. **Aquaculture**. 238, 369-383.

VAN ANHOLT, R. D.; SPANINGS, E. A. T.; KOVEN, W. M.; NIXON, O.; BONGA, S. E. W. 2004. Arachidonic acid reduces the stress response of gilthead seabream *Sparus aurata* L. **Journal of Experimental Biology**. 207, 3419-3430.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental toxicology and pharmacology**, 13(2), 57-149.

VAUZOUR, D.; VAFEIADOU, K.; SPENCER, J. P. E. 2012. Polyphenols. In: Salter, A., Wiseman, H., Tucker, G. (Eds.), *Phytonutrients*. Wiley-Blackwell, **Blackwell Publishing Ltd**, Chichester, UK, pp. 110–145.

WENDELAAR BONGA, S. E. 1997. The Stress Response in Fish. **Physiological Reviews**, v. 77, p. 591-625.

WEDEMEYER, G. A.; MCLEAY, D. J. 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: PICKERING, A. D. (Ed.). **Stress and Fish**. London: Academic Press, p. 247-275.

WELKER, T. L.; CONGLETON, J. L. 2003. Relationship between dietary lipid source, oxidative stress, and the physiological response to stress in sub-yearling chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Fish Physiol. Biochem.* 29, 225-235.

WOJTASZEK, J., DZIEWULSKA-SZWAJKOWSKA, D., LOZINSKA-GABSKA, M., ADAMOWICZ, A., DZUGAJ, A. 2002. Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio* L.): cortisol effect on the carp blood. **Gen. Comp. Endocrinol.**, 125, 176-183.

WOLFF, S. P.; DEAN, S. T. 1986. Fragmentation of protein by free radical and its effect on their susceptibility to enzymic hydrolysis. **Biochem. J.** 234, 399-403.

WOYNÁROVICH, A.; VAN ANROOY, R. 2019. Guia de campo para a cultura do tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1816). **Documento técnico de pesca e aquicultura da FAO**, (624), I-121.

WU, S. M.; LIU, J. H.; SHU, L. H.; CHEN, C. H. 2015. Anti-oxidative responses of zebrafish (*Danio rerio*) gill, liver and brain tissues upon acute cold shock. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, 187, 202-21

ANEXOS

ANEXO A – Gráficos do efeito do estresse pelo frio no cortisol plasmático, glicose, proteína total e parâmetros morfométricos como índice hepatossomático (IHS) e fator de condição (CF) de juvenis de tambaqui alimentados com fontes de óleo na dieta (n = 9).

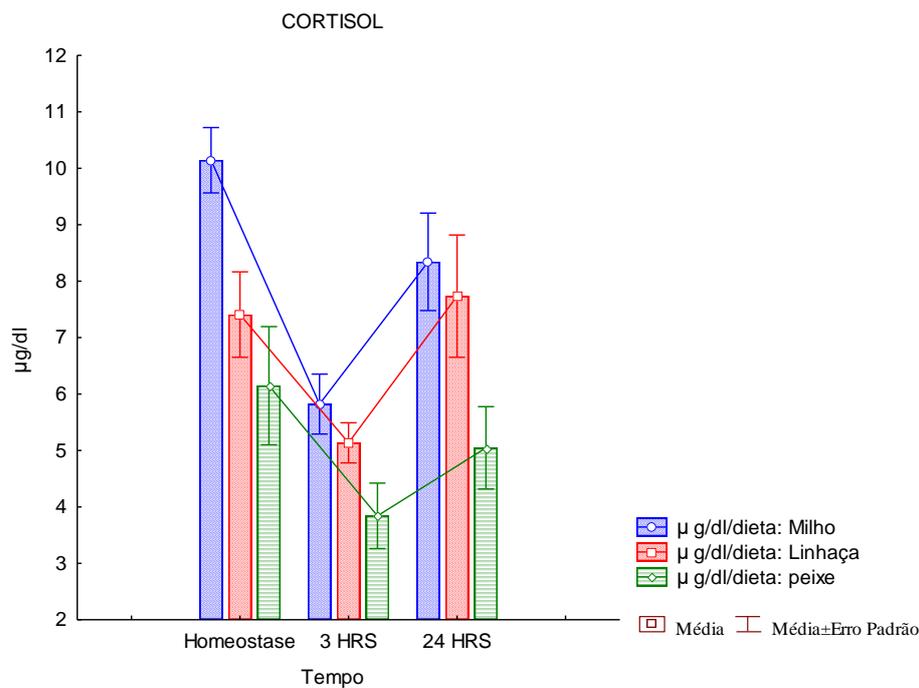


Figura 1: Variação do cortisol para cada uma das dietas (Milho, Linhaça e Peixe) em homeostase, após 3 e 24 horas do desafio. (figura no meio da caixa=média; traços horizontais: abaixo = média - Desvio Padrão, superior = média+ Desvio Padrão; limites horizontais das caixas: inferior = média – erro padrão, superior = média + erro padrão; Figuras fora das caixas = outliers.

Fonte: Do autor.

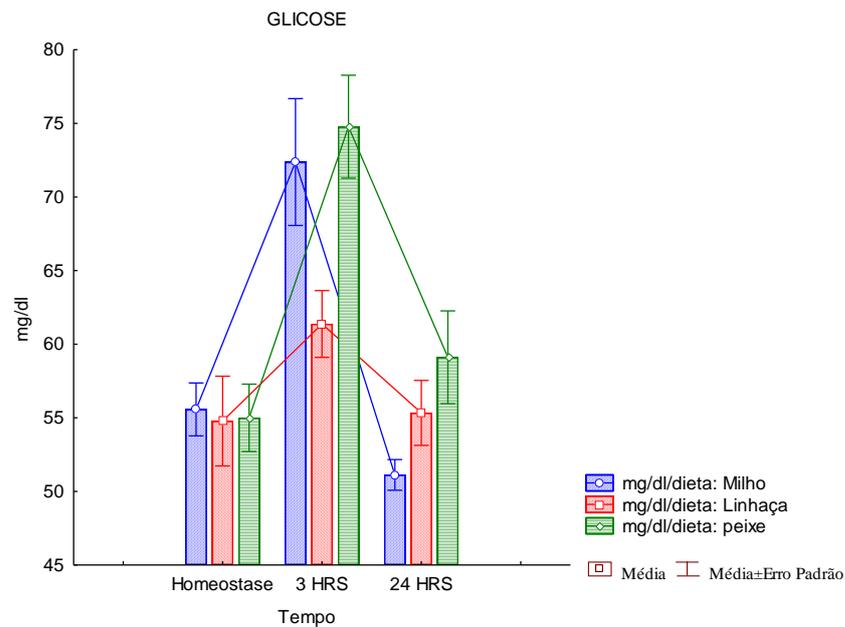


Figura 2: Variação da glicose para cada uma das dietas (Milho, Linhaça e Peixe) em homeostase, após 3 e 24 horas do desafio. (figura no meio da caixa=média; traços horizontais: abaixo = média - Desvio Padrão, superior = média+ Desvio Padrão; limites horizontais das caixas: inferior = média - erro padrão, superior = média + erro padrão; Figuras fora das caixas = outliers.

Fonte: Do autor.

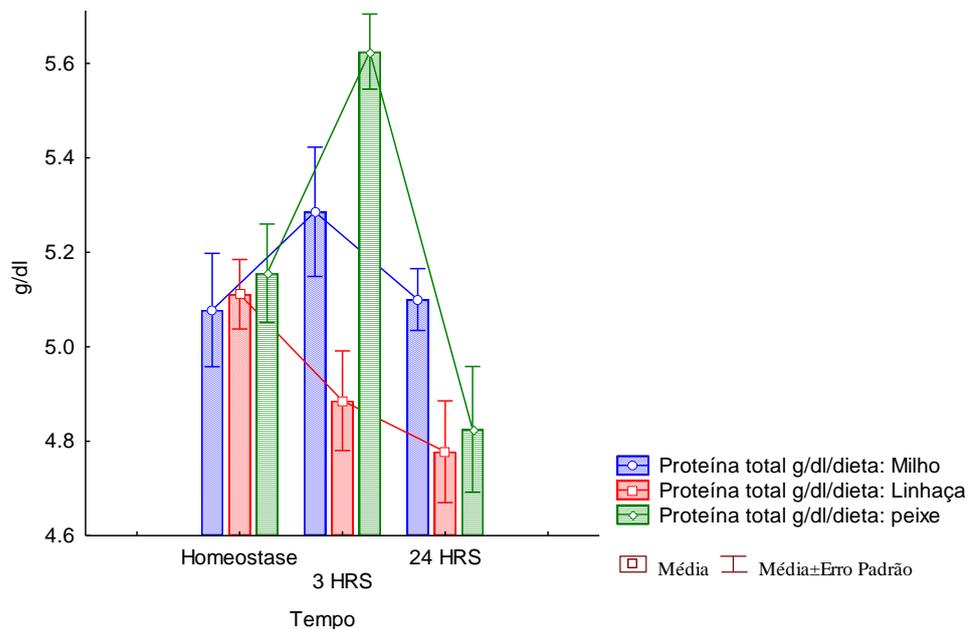


Figura 3: Variação da proteína total para cada uma das dietas (Milho, Linhaça e Peixe) em homeostase, após 3 e 24 horas do desafio. (figura no meio da caixa=média; traços horizontais: abaixo = média - Desvio Padrão, superior = média+ Desvio Padrão; limites horizontais das caixas: inferior = média - erro padrão, superior = média + erro padrão; Figuras fora das caixas = outliers.

Fonte: Do autor.

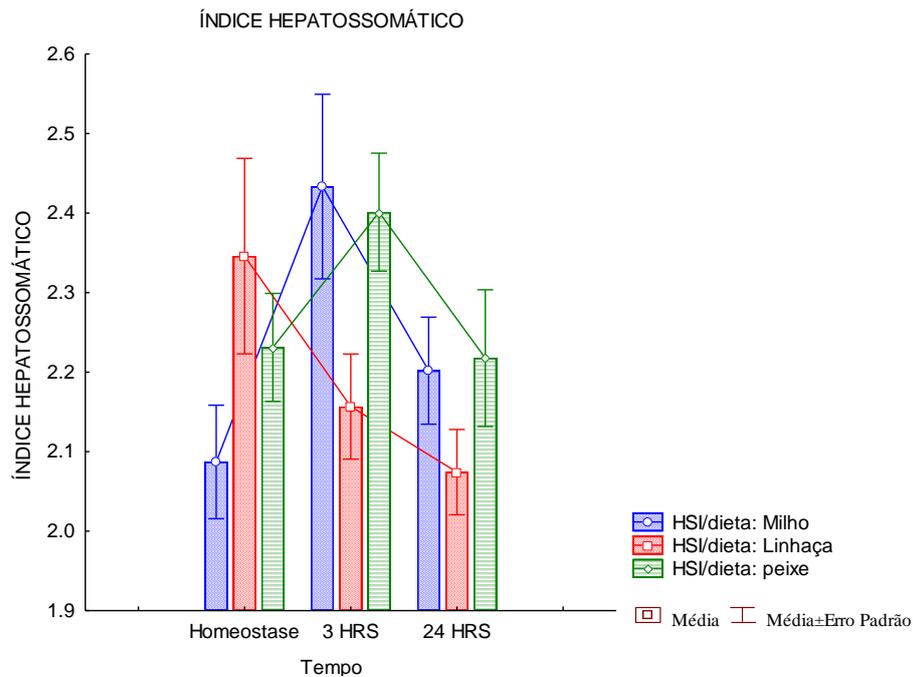


Figura 4: Variação do Índice Hepatosomático para cada uma das dietas (Milho, Linhaça e Peixe) em homeostase, após 3 e 24 horas do desafio. (figura no meio da caixa=média; traços horizontais: abaixo = média - Desvio Padrão, superior = média+ Desvio Padrão; limites horizontais das caixas: inferior = média – erro padrão, superior = média + erro padrão; Figuras fora das caixas = outliers.

Fonte: Do autor.

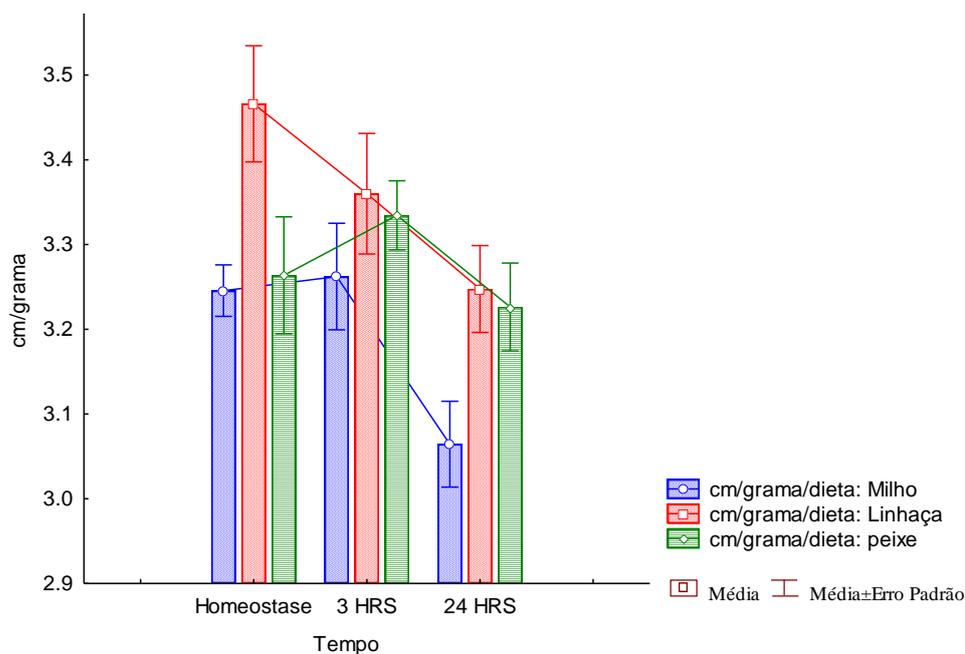


Figura 5: Variação do Fator de condição para cada uma das dietas (Milho, Linhaça e Peixe) em homeostase e após 3 e 24 horas do desafio. (figura no meio da caixa=média; traços horizontais: abaixo = média - Desvio Padrão, superior = média+ Desvio Padrão; limites horizontais das caixas: inferior = média – erro padrão, superior = média + erro padrão; Figuras fora das caixas = outliers.

Fonte: Do autor.

ANEXO B – Efeito do estresse pelo frio sobre os níveis de atividades específicas de enzimas antioxidantes e peroxidação lipídica (LPO) de juvenis de tambaqui alimentados com fontes de óleo na dieta (n = 6).

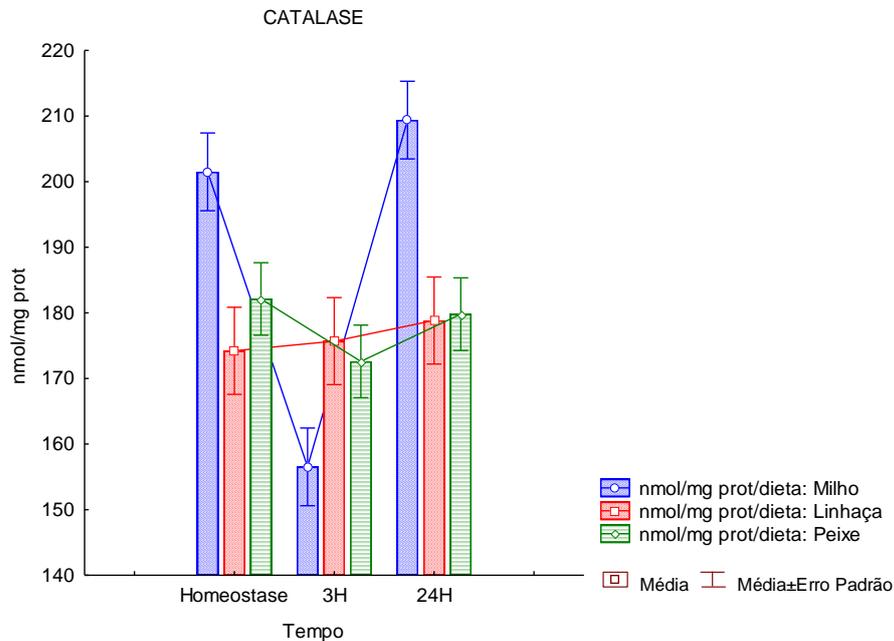


Figura 6: Variação da Enzima CAT para cada uma das dietas (Milho, Linhaça e Peixe) em homeostase e após 3 e 24 horas do desafio. (figura no meio da caixa=média; traços horizontais: abaixo = média - Desvio Padrão, superior = média+ Desvio Padrão; limites horizontais das caixas: inferior = média - erro padrão, superior = média + erro padrão; Figuras fora das caixas = outliers. Fonte: Do autor.

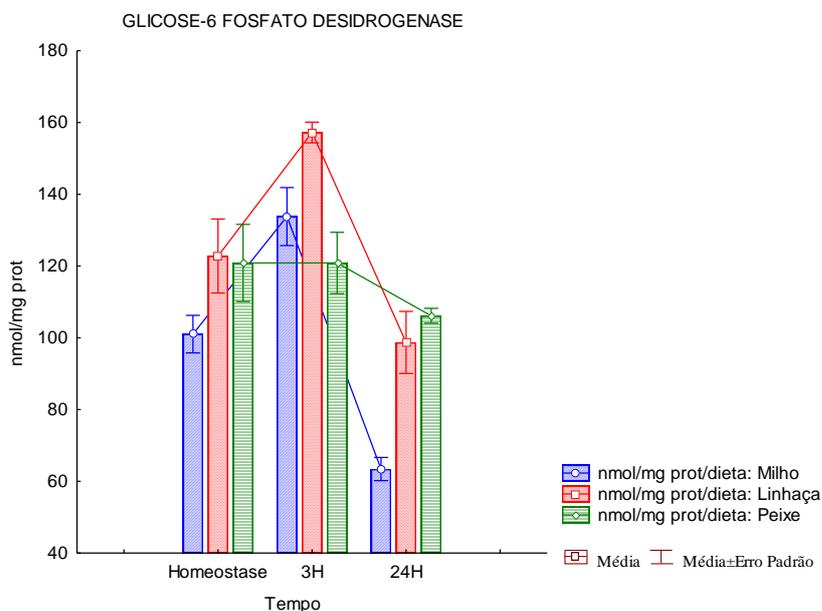


Figura 7: Variação da Enzima G6PDH para cada uma das dietas (Milho, Linhaça e Peixe) em homeostase e após 3 e 24 horas do desafio. (figura no meio da caixa=média; traços horizontais: abaixo = média - Desvio Padrão, superior = média+ Desvio Padrão; limites horizontais das caixas: inferior = média - erro padrão, superior = média + erro padrão; Figuras fora das caixas = outliers. Fonte: Do autor.

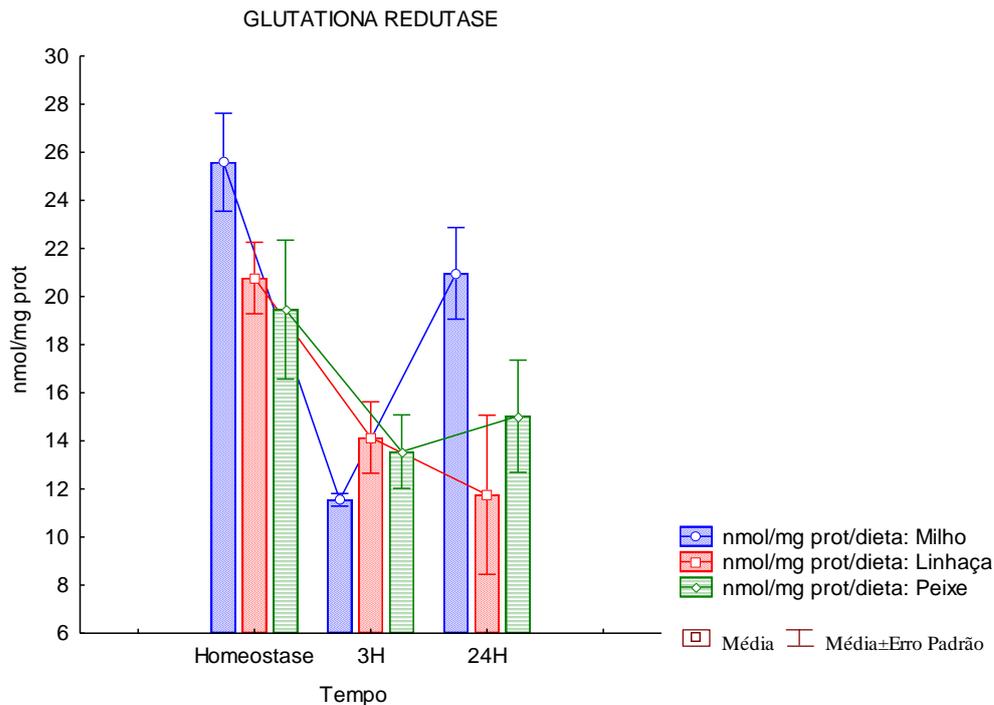


Figura 8: Variação da Enzima GR para cada uma das dietas (Milho, Linhaça e Peixe) em homeostase e após 3 e 24 horas do desafio. (figura no meio da caixa=média; traços horizontais: abaixo = média - Desvio Padrão, superior = média+ Desvio Padrão; limites horizontais das caixas: inferior = média – erro padrão, superior = média + erro padrão; Figuras fora das caixas = outliers.

Fonte: Do autor.

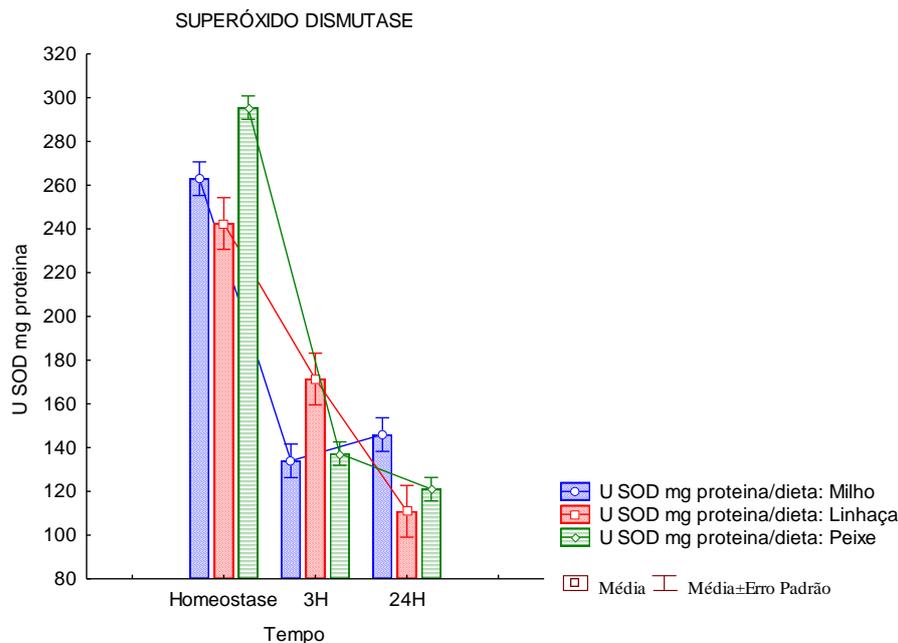


Figura 9: Variação da Enzima SOD para cada uma das dietas (Milho, Linhaça e Peixe) em homeostase e após 3 e 24 horas do desafio. (figura no meio da caixa=média; traços horizontais: abaixo = média - Desvio Padrão, superior = média+ Desvio Padrão; limites horizontais das caixas: inferior = média – erro padrão, superior = média + erro padrão; Figuras fora das caixas = outliers.

Fonte: Do autor.

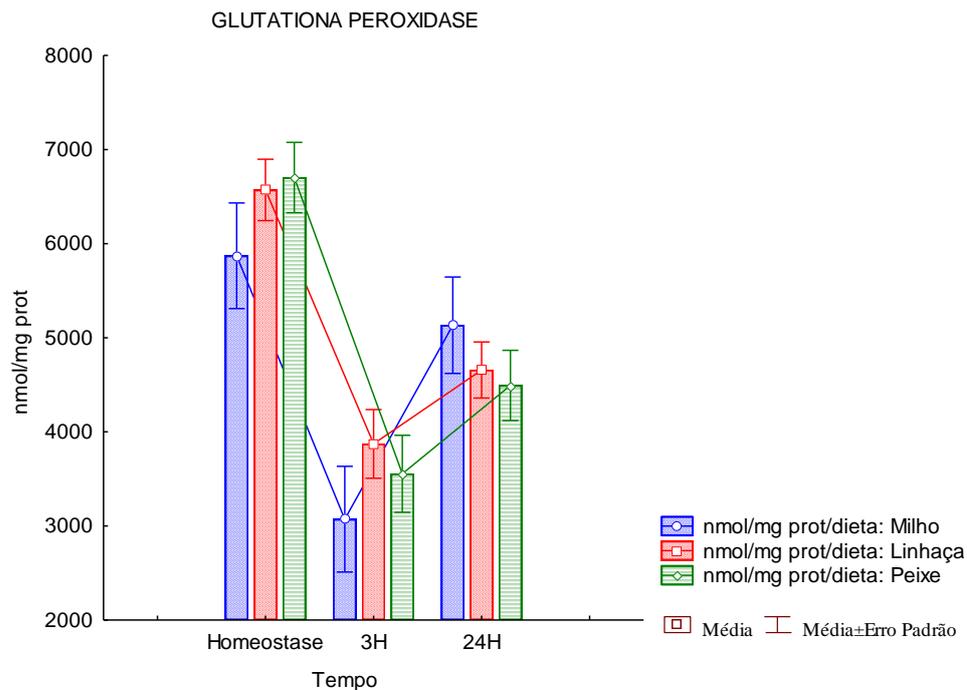


Figura 10: Variação da Enzima GPX para cada uma das dietas (Milho, Linhaça e Peixe) em homeostase e após 3 e 24 horas do desafio. (figura no meio da caixa=média; traços horizontais: abaixo = média - Desvio Padrão, superior = média+ Desvio Padrão; limites horizontais das caixas: inferior = média – erro padrão, superior = média + erro padrão; Figuras fora das caixas = outliers.

Fonte: Do autor.

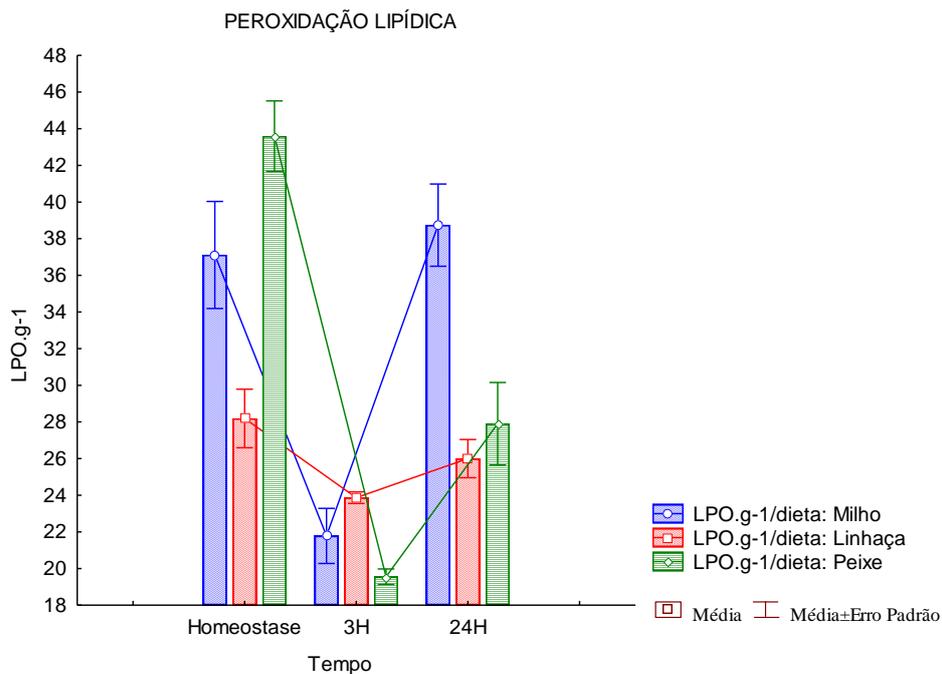


Figura 11: Variação da Enzima LPO para cada uma das dietas (Milho, Linhaça e Peixe) em homeostase e após 3 e 24 horas do desafio. (figura no meio da caixa=média; traços horizontais: abaixo = média - Desvio Padrão, superior = média+ Desvio Padrão; limites horizontais das caixas: inferior = média – erro padrão, superior = média + erro padrão; Figuras fora das caixas = outliers.

Fonte: Do autor.