

CRISTIÉLE DA SILVA RIBEIRO

A influência térmica na dinâmica das membranas celulares: uma contribuição na conservação de *Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae), uma espécie de peixe ameaçada de extinção

“The thermal influence on the dynamics of cell membranes: a contribution to the conservation of *Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae), a threatened species of fish”

São Paulo

2012

CRISTIÉLE DA SILVA RIBEIRO

Versão corrigida conforme a Resolução CoPG:5890

Original encontra-se disponível no Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo

A influência térmica na dinâmica das membranas celulares: uma contribuição na conservação de *Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae), uma espécie de peixe ameaçada de extinção

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Doutor em Ciências, na Área de Fisiologia.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Guimarães Moreira

São Paulo

2012

Ficha Catalográfica

Ribeiro, Crístiele da Silva

A influência térmica na dinâmica das membranas celulares: uma contribuição na conservação de *Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae), uma espécie de peixe ameaçada de extinção/ Crístiele da Silva Ribeiro; Orientadora: Dra. Renata Guimarães Moreira - São Paulo, 2012.

194 pág.

Tese (doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Fisiologia.

1. *Steindachneridion parahybae*; 2. Temperatura; 3. Membranas biológicas 4. Fosfolipídeos
I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Fisiologia Geral.

Comissão Julgadora

Prof(a). Dr(a). Carlos Arturo Navas Iannini

Prof(a). Dr(a). Alison Colquhoun

Prof(a). Dr(a). Neuza Sumiko Takahashi

Prof(a). Dr(a). Ariovaldo P. Cruz Neto

Prof(a). Dr.(a). Renata Guimarães Moreira
Orientador(a)

Aos meus pais, Cristina e Hélio, por todo o incentivo e exemplo de integridade moral e aos meus queridos irmãos Carlos e Paulo, meus verdadeiros amigos, que me auxiliaram em todos os momentos.

“...Ao transferir bens materiais, o doador perde a sua posse. Há, porém, alguns atributos intrínsecos que não podem ser transferidos de um indivíduo para o outro, como a beleza e a coragem. O conhecimento, por outro lado, é algo tão importante que os deuses decidiram que o doador pode retê-lo mesmo que o tenham transmitido...”

Atribuído a Pitágoras de Samos, cerca de 2.500 anos atrás.

Agradecimentos

Ao final destes 4 anos só me resta agradecer a todas as pessoas que tornaram este trabalho possível, não foi fácil, mas com certeza saio desta fase com a certeza de ser uma pessoa melhor, afinal é este o objetivo!

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, que não me deixou esmorecer e foi meu porto seguro em todos os momentos desta caminhada.

À minha orientadora Dra. Renata Guimarães Moreira, pela oportunidade de parceria desde o treinamento técnico na UMC, (daqui alguns anos vou continuar me gabando por tê-la ajudado na construção de seu primeiro laboratório), na transferência para a USP e agora no meu doutorado. Para mim é realmente um privilégio ser parte da vida de uma maravilhosa profissional, ética e acima de tudo sensível o suficiente para lidar com a diferença entre os alunos, sendo, como ela mesma diz orientadora e psicóloga, não tenho palavras para agradecer todos estes anos de parceria, incentivo, conselhos e acima de tudo amizade!! Muito obrigada!!

Aos meus amigos/irmãos do LAMEROA, Andreone, Aline (pela ajuda nas análises dos ácidos graxos e histológicas), Amanda (por me ajudar a entender as misteriosas análises moleculares), Bianca, Bruno, Carol, Gabi, Gabriel (querido agregado!!), Jaboti, Jajá, Jú, Kadú, Lari, Paulo, Renato (pelo auxílio na histologia e redação dos relatórios), Tiago e Vanessa. Muito obrigada por tudo, desde a ajuda com os experimentos e coletas até os momentos de descontração, que não foram poucos!! Estendo este agradecimento ao técnico Vagner, que aguentou meus pedidos e chatices durante todos estes anos.

Aos moradores da melhor república de todos os tempos!! Aline, Roberta, Fabrício e Kadú (honorário!!), com vocês aprendi que família é quem se escolhe, todos os agradecimentos serão pouco para demonstrar o quanto vocês são importantes na minha vida!!

À minha família, que apesar de não entender direito esta vida de pós-graduanda, estão do meu lado o tempo todo.

Às amigas Eliza e Elice Carneiro pela grande amizade e paciência!!

À Companhia Energética do Estado de São Paulo (CESP), pela doação dos animais para este trabalho, aos funcionários que auxiliaram na logística de transporte

dos animais e ao biólogo responsável pela estação de piscicultura de Paraibuna- SP, Danilo Caneppele, pela ajuda e ensinamentos durante o período experimental.

Às Doutoradas Neuza e Yara do Instituto de pesca (Secretaria da Agricultura e Abastecimento) pela oportunidade de parceria e aprendizagem no trabalho com as trutas.

Ao professor Dr. Matthias Schreiner do Department of Food Sciences and Technology- Universität für Bodenkultur- Wien, pela oportunidade de estágio em seu laboratório, pelo auxílio nas análises posicionais dos fosfolipídeos, pelos ensinamentos e amizade no período de estágio.

Aos professores do Departamento de Fisiologia, pelas disciplinas, conversas e ajuda nos mais diferentes quesitos durante estes quatro anos, agradeço principalmente aos professores doutores José Guilherme S. C. M. Berlinck (ZéGui), Silvia Cristina R. de Souza (Silvinha), Lucile Maria Floeter-Winter, Gisele Akemi Oda, Fernando Ribeiro Gomes, José Eduardo Carvalho (Zezinho) e José Eduardo P. W. Bicudo. Em especial agradeço ao professor Dr. Carlos Arturo Navas Iannini pelo auxílio no delineamento experimental e inúmeras dicas durante este trabalho.

A todos os funcionários do Instituto de Biociências, que de forma bem humorada e competente tornaram os serviços burocráticos menos árduos, agradeço principalmente à Roseli, Gisele e Marcilene (do Departamento de Fisiologia) e ao Helder e Érika (da secretaria de pós-graduação).

Ao Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq (8 meses de bolsa de doutorado: 1425461), e à FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo auxílio financeiro ao desenvolvimento deste trabalho, Processos: 2008/53966-1 (bolsa de doutorado) e 2008/57687-0 (Auxílio-Projeto Temático).

A todos aqueles que contribuíram de alguma maneira para a realização desse trabalho. Mencionar cada favor prestado e agradecer-lhes a altura seria impossível!!!

Índice

Resumo Geral	pág.IX
General Abstract	pág.X
Capítulo 1. Introdução Geral	pág.01
Capítulo 2. Influência da temperatura nas membranas celulares de <i>Steindachneridion parahybae</i> (Siluriformes: Pimelodidae): ensaio agudo	pág.22
Capítulo 3. Influência da temperatura nas membranas celulares de <i>Steindachneridion parahybae</i> (Siluriformes: Pimelodidae): ensaio crônico	pág.94
Capítulo 4. Regulação da Na⁺/K⁺-ATPase, histomorfologia e composição fosfolipídica branquial em <i>Steindachneridion parahybae</i> (Siluriformes: Pimelodidae) aclimatados a diferentes temperaturas	pág.157
Capítulo 5. Discussão Geral	pág.189

Resumo Geral

A temperatura é o fator ambiental mais importante que afeta a atividade de animais ectotérmicos, como peixes. Ajustes compensatórios à temperatura ocorrem em diferentes cursos temporais, que variam de menos de um minuto a mais de um mês, e as membranas são os primeiros alvos afetados pelas mudanças de temperatura, com resposta imediata dos componentes lipídicos a este desafio. Este trabalho teve como objetivo estimar a capacidade alostática (na estrutura e funções de membrana) no contexto das variáveis climáticas relevantes e caracterizar o âmbito e os mecanismos de mudança, incluindo os mecanismos que concedem tolerância a mudanças de temperatura agudas e crônicas. Juvenis de *Steindachneridion parahybae* uma espécie de peixe nativa ameaçada de extinção, foram progressivamente resfriados de 30° C a 24, 17 e 12 ° C, nas quais foram mantidas por até 5 dias no tratamento agudo e por até 30 dias no tratamento crônico. Os tecidos hepático, encefálico e branquial foram amostrados, com análises subsequentes das principais frações fosfolipídicas (fosfatidilcolina (FC) e fosfatidiletanolamina (FE) e análises posicionais de cada fração), atividade da Na⁺/ K⁺-ATPase e histomorfologia branquial. Os animais mantidos na temperatura mais baixa mostraram uma elevada taxa de mortalidade, provavelmente devido à proximidade desta temperatura ao limite térmico inferior para esta espécie. A atividade da Na⁺/ K⁺-ATPase se mostrou aumentada nas temperaturas mais baixas, corroborando o aumento das lesões morfológicas branquiais e massa de fígado para estas temperaturas. Em geral o perfil de ácidos graxos de FC mantiveram-se mais estáveis do que o observado para FE. O teste agudo aparentemente afetou consideravelmente C20-22n3 (FC hepática e *sn*-1 ; FE encefálica e hepática), enquanto que no teste crônico, C20-22n6 foi o grupamento mais afetado (FC e FE hepático em *sn*-2 e *sn*-1). O ensaio agudo mostrou um padrão de manutenção da estrutura de membrana cerebral, com uma diminuição de C20-22n3 hepática e aumento destes ácidos graxos no encéfalo durante o tratamento. Em ambos os tecidos e frações analisados foi possível detectar evidências significativas de reestruturação da membrana, mostrando que o Surubim do Paraíba foi capaz de proporcionar ajustes compensatórios em respostas de aclimação.

General Abstract

Temperature is the most important environmental factor affecting the activity of ectothermic animals such as fish. Compensatory adjustments to temperature occur with time courses ranging from less than a minute to more than a month, and membranes are the first targets affected by change of temperature, and their lipid components respond immediately to this challenge. This project aimed to estimate the allostatic capacity (in membrane structure and function) in the context of relevant climate variables, and to characterize the scope and the defense mechanisms available, including those yielding tolerance to acute and chronic temperature shifts. *Steindachneridion paraguayae* juveniles, an endangered native fish species, were progressively cooled from 30°C to 24, 17 and 12°C, in which they were maintained for up to 5 days in the acute trial and for up to 30 days in the chronic trial. Brain, liver and branchial tissues were sampled, with subsequent analyses of the main phospholipids fractions (phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE), and the positional analyses of each fraction), Na⁺/K⁺-ATPase activity and histomorphology of gills. The animals maintained at lower temperature showed a high rate of mortality, probably because this temperature is near the lower thermal limit for this species. The activity of Na⁺ K⁺ATPase increased at lower temperatures, the same pattern observed for morphological injuries in gills and increased liver mass. Generally the fatty acid profiles of PC remained more stable than those in PE. The acute test apparently had affected considerably C20-22n3 (liver PC and *sn*-1 PC; PE in brain and liver), while for the chronic test, C20-22n6 was more affected (PC and PE liver on *sn*-2 and *sn*-1). The acute trial showed a pattern of maintenance of brain membrane structure, with a decrease of PE-associated C20-22n3 in the liver and an increase of these fatty acids in brain during the test. In both tissues and fractions analyzed it was possible to detect significant evidences of membrane restructuring, showing that the Surubim do Paraiba was able to provide compensatory adjustments in acclimation responses.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

OBJETIVOS

1. Introdução geral

A influência humana nos sistemas naturais tem aumentado continuamente, justificando a importância de investigar os aspectos antrópicos que causam estresse em animais em seus sistemas naturais (Wikelski e Cooke, 2006).

A fisiologia comparativa apresenta uma longa história de contribuições à biologia da conservação, e recentemente a fisiologia aplicada à conservação é considerada por alguns autores como uma disciplina emergente. A fisiologia da conservação é definida como o estudo das respostas fisiológicas dos organismos frente às alterações antrópicas no meio ambiente que possam causar ou contribuir para um declínio populacional. Este estudo inclui o organismo e suas dinâmicas tais como funções do metabolismo, relações térmicas, nutrição, respostas endócrinas às mudanças ambientais e alterações em padrões imunes (Wikelski e Cooke, 2006).

As pesquisas que utilizam as ferramentas da fisiologia são utilizadas como subsídios aos legisladores, tribunais e gestores de conservação como meio de compreender as respostas fisiológicas dos organismos ao ambiente alterado e as consequências das ações de conservação implementadas (Tracy *et al.*, 2006). Pensando nisso a escolha de espécies-chave que mostrem respostas rápidas e condizentes com a realidade mostra-se como item primordial para o desenvolvimento deste tipo de estudo. Na revisão de Cossins e Crawford publicada na revista Nature em abril de 2005 os autores apresentam os peixes como sendo o modelo ideal para estudos visando respostas ambientais, destacando diversos atributos deste grupo como o número de espécies, formas de vida, desenvolvimento e o contato direto destes animais com a água como características de um modelo ideal de aclimatação e resposta a uma gama de condições ambientais naturais e antropogênicas.

Além disso, no ambiente aquático, as ações antrópicas são muito evidentes, levando os organismos muitas vezes a ficarem expostos aos efeitos subletais que provocam consequências imprevisíveis, como alterações nas funções celulares, metabólicas e/ou bioquímicas, ou até mesmo na dinâmica ecológica das comunidades e distúrbios sobre o índice de integridade biótica (Araújo, 1998). Desta forma, fica claro, que a ameaça sobre a ictiofauna não se limita apenas à pesca extrativista, normalmente enfatizada em programas de conservação, mas adicionalmente por uma série de

interferências antrópicas que têm contribuído para a diminuição dos estoques de peixes no mundo, em especial, das espécies de água doce, sendo que dentre estas ações antrópicas se destacam a poluição, mudanças climáticas, o assoreamento e barramento dos rios, até a introdução de espécies exóticas (Maitland, 1995).

Para que as ações de manejo alcancem os objetivos de conservação e preservação de recursos pesqueiros, é necessária uma grande quantidade de informações, obtidas em escala espacial e temporal adequadas, de todos os componentes envolvidos no sistema. Assim, são necessárias informações dos organismos (taxonomia, ecologia, dinâmica populacional e história de vida) e do ambiente em que vivem (limnologia, qualidade e quantidade de água) (Agostinho *et al.*, 2007).

1.1. Influência da temperatura nos organismos

O clima da Terra está mudando rapidamente em um processo acelerado pela atividade humana e tal processo pode ter consequências drásticas para a distribuição da fauna. Tais consequências podem ser estudadas em diferentes níveis de organização, desde a redistribuição das áreas ocupadas pelos biomas representativos de uma região até os efeitos das mudanças de temperatura sobre as funções celulares (Helmut *et al.*, 2004).

A temperatura é a medida dos movimentos moleculares induzidos termicamente; em altas temperaturas as moléculas vibram mais rapidamente e o contrário também é verdadeiro. Esta variável abiótica tem efeito profundo em reações físicas, químicas e bioquímicas de todos os seres vivos, e para os animais a temperatura corpórea pode variar de -2 a +50°C em organismos ativos e em alguns casos os animais podem sobreviver em estados dormentes quando expostos a temperaturas ambientais mais altas ou baixas que estes padrões (Withers, 1992).

A faixa ótima de temperatura varia entre as espécies e a variação térmica pode causar alterações nas propriedades estruturais e fisiológicas dos organismos, notadamente afetando a velocidade das reações químicas facilitando-as ou impedindo-as (Hochachka e Somero, 2002). Por todos estes fatores a temperatura corpórea se mostra como a variável ecofisiológica mais importante no desempenho de ectotérmicos, afetando virtualmente todos os aspectos comportamentais e fisiológicos destes animais (Angilletta *et al.*, 2002).

Explorando os aspectos celulares, as mudanças na temperatura corporal agem sobre as ligações fracas intra e intermoleculares, o que modifica o ponto de equilíbrio de reações de interação entre proteínas (como ligações hormônios-sítios de ligação ou ligações do tipo enzima-substrato). Além disso, as variações na temperatura alteram a estrutura das membranas celulares podendo comprometer as atividades enzimáticas associadas aos processos de transporte. O conjunto de alterações das propriedades químicas e físicas das membranas resultam em última análise em mudanças na permeabilidade das mesmas (Hazel, 1984, Nelson e Cox, 2011).

É conhecido que mudanças ambientais têm grande influência em membranas biológicas, e parece claro que exista um sistema de percepção destas mudanças por proteínas embebidas na bicamada lipídica, transferindo os sinais do ambiente para o meio interno. Estas proteínas agem principalmente com a ativação de segundos mensageiros que, em última instância, regulam a expressão gênica, modulando a atividade de enzimas relacionadas à manutenção de componentes químicos estruturais e de atividade de proteínas associadas às membranas, agindo como respostas primárias nos processos de aclimatação (Los e Murata, 1993; a relação entre temperatura e expressão gênica foi explorado e está demonstrado na revisão de Ribeiro, 2010 - Anexo 1).

Muitos animais ectotérmicos respondem às alterações termais com adaptações de propriedades físicas em suas membranas como meio de preservar a integridade funcional e estrutural para o novo ambiente. Essa forma de adaptação é chamada de “adaptação homeoviscosa” e sua eficácia se estende para todas as células ajustando-as às alterações na temperatura, que podem variar dentre os diferentes tecidos (Buda *et al.*, 1994, Lemieux *et al.*, 2008). As mudanças na composição das membranas incluem: 1) o tipo e a quantidade de ácidos graxos insaturados; 2) a mistura de espécies moleculares compreendidas numa determinada classe de fosfolípido; 3) o tamanho, hidrofobicidade e carga das cabeças dos fosfolípidos; 4) o balanço entre a estabilidade bilateral e a desestabilização dos lípidos; 5) a proporção de plasmalôgenos e 6) a quantidade de colesterol inserido na membrana (Hazel *et al.*, 1989); em conjunto estas mudanças causam ‘desordem’ no interior das membranas, o que compensa a ordem imposta naturalmente pela diminuição da temperatura (Brooks *et al.*, 2002) (Figura 1).

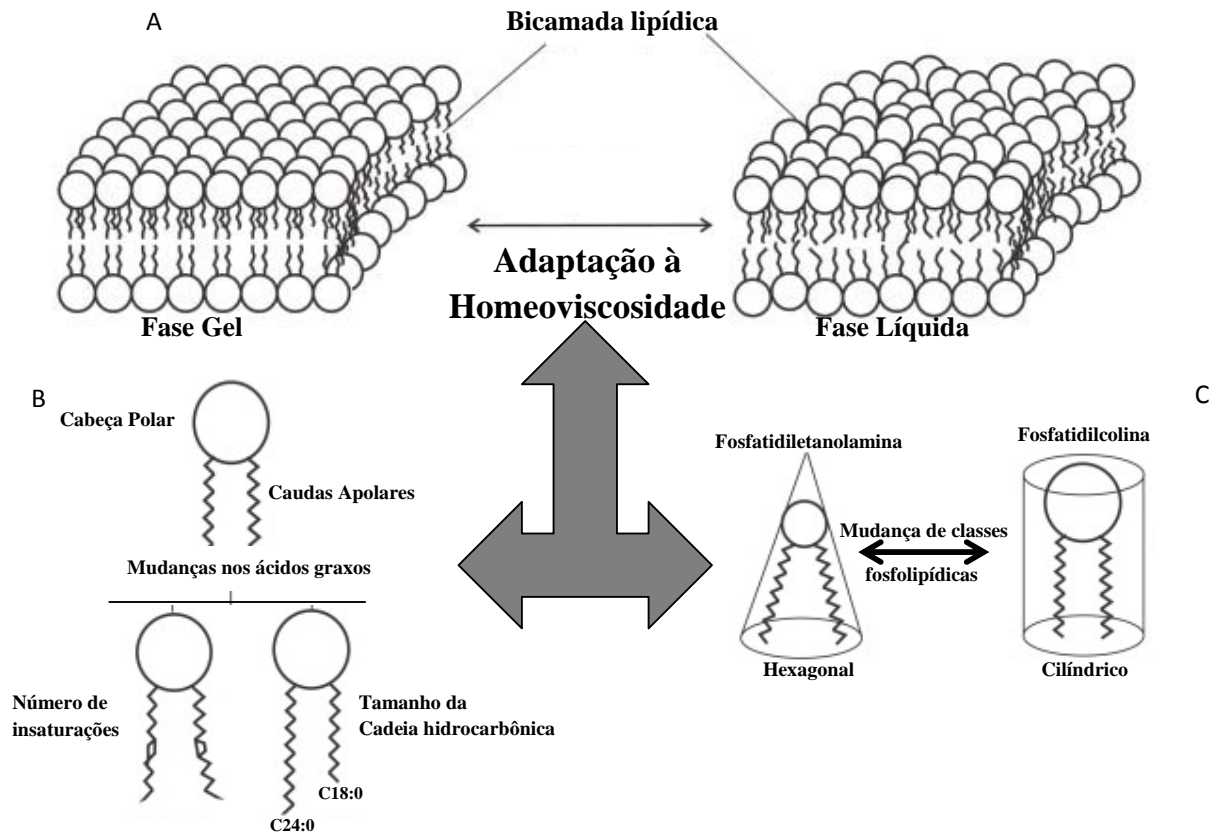


Fig. 1. Representação esquemática dos parâmetros envolvidos na adaptação à homeoviscosidade; A- Mudanças na temperatura, sem que ocorra mudanças na estrutura física da bicamada causam uma rigidificação e diminuição da fluidez, o que é revertido por mudanças exemplificadas em B e C; B- Alterações nos ácidos graxos das caudas apolares representam a resposta primária à alteração de temperatura, a inserção de moléculas de carbono e aumento no número de insaturações exemplificam estas mudanças primárias; C- Substituição de classes fosfolipídicas (exemplo na figura- fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina) alteram a geometria da bicamada fosfolipídica, aumentando ou diminuindo o grau de rotação dos ácidos graxos. Figura modificada de Mykytczuk *et al.*, (2007).

De fato as membranas celulares são os sistemas lipídicos mais estudados em diversos contextos biológicos, tais como, adaptações às mudanças de temperatura, desidratação, dieta e suas correlações com a taxa metabólica dos animais e com a atividade de diferentes enzimas (Hazel, 1989). Além disso, os ácidos graxos possuem grande importância como precursores de eicosanóides (prostaglandinas e leucotrienos) e sendo parte integrante das lipoproteínas (Bell *et al.*, 1986, Agaba *et al.*, 2005). As longas cadeias de ácidos graxos polinsaturados presentes nas membranas plasmáticas de todos os vertebrados são originadas no fígado e transportadas para os tecidos através da corrente sanguínea (Buda *et al.*, 1994). Estes compostos desempenham um papel significativo na bioquímica das membranas e têm um impacto direto sobre processos mediados por estas, tais como osmorregulação, assimilação de nutrientes e transporte (Ratnayake e Ackman, 1979, Linko *et al.*, 1985).

A aclimatação ou adaptação a baixas temperaturas é um processo complexo durante o qual os animais enfrentam muitas mudanças na composição das membranas. Essas mudanças podem acarretar em mudanças funcionais que se estendem a todos os níveis de organização biológica, tais como o nível de organismos (taxas de respiração, alimentação, crescimento e locomoção), de órgãos (modificações na massa ventricular, e desempenho no coração), de organelas (mudanças no conteúdo mitocondrial), ou moléculas (capacidade catalítica de enzimas e afinidade de substratos) (Lemieux *et al.*, 2008). Adaptações de estados físicos nas vesículas sinápticas, mitocôndrias e frações de mielina no cérebro de peixes têm sido estudadas e os resultados obtidos mostram que alterações na temperatura podem alterar a condução de estímulos sinápticos em espécies tais como a carpa (Harper *et al.*, 1990) e o *goldfish* (Friedlander *et al.*, 1976).

A atividade de muitas proteínas de membrana é modulada de acordo com as mudanças na composição dos ácidos graxos presentes nos fosfolipídeos, como exemplo, a proporção de ácidos graxos monoinsaturados tende a ser maior em organismos com baixas taxas metabólicas, com menor quantidade de proteína de membrana (Crockett e Hazel, 1997). Dentre as proteínas de membrana, sabe-se que os canais iônicos podem ter sua atividade modulada pelo perfil de ácidos graxos dos fosfolipídeos (Stuart *et al.*, 1998). Reduções em alguns canais correlatos com mudanças nos padrões de composição de fosfolipídeos mitocondriais sugerem uma relação entre os ácidos graxos específicos na permeabilidade de determinados prótons em membranas intactas (Stuart *et al.*, 1998).

Correlações entre a composição dos ácidos graxos de membrana e a atividade molecular da $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase, cuja principal função é manter os gradientes de $\text{Na}^+ \text{K}^+$ através da membrana plasmática das células (Voet *et al.*, 2000), foram investigados em mamíferos, aves, répteis e anfíbios (Else e Wu, 1999). Crockett e Hazel (1997) verificaram que a presença de fosfolípidos altamente insaturados na membrana basolateral de enterócitos e rins, aliada à quantidade de colesterol, tem relação direta com o aumento da ação da $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase em trutas aclimatadas a baixas temperaturas. Hazel (1995) evidenciou que existe uma relação direta entre a diminuição da temperatura ambiental e o aumento da concentração do ácido graxo DHA nos fosfolípidos da membrana plasmática em peixes, com concomitante aumento na atividade da $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase (Raynard e Cossins, 1991).

1.2. Área de estudo - Bacia do Rio Paraíba do Sul

Muitas bacias hidrográficas no Brasil devem ser consideradas como objeto de estudos de conservação de forma aplicada. Dentre elas, destaca-se aqui a bacia do Rio Paraíba do Sul (Figura 2), que está situada na região sudeste do Brasil, com uma área total de 55.400 km², incluindo áreas dos estados de São Paulo (13500 km²), Rio de Janeiro (21000 km²) e Minas Gerais (20900 km²), caracterizando-se por ocupar um bioma marcado pela Mata Atlântica (AGEVAP, 2006).

Esta região é caracterizada por uma forte ação antrópica, com a Mata Atlântica original restrita a parques e reservas florestais. O próprio rio Paraíba do Sul tem seu curso marcado por sucessivas represas, destinadas à provisão de água e eletricidade para as populações da bacia e também da Região Metropolitana do Rio de Janeiro. Entre as maiores represas podem ser citadas as de Paraibuna em São Paulo, formada pelas barragens de Paraibuna e Paraitinga, e a do Funil, no Rio de Janeiro. Em razão disso, o rio encontra-se hoje em estado crítico de preservação, com margens assoreadas e 40% da sua vazão desviada para o Rio Guandu (Hilsdorf e Petreire, 2002).

O desenvolvimento econômico da região localizada ao longo da bacia do rio Paraíba do Sul vem proporcionando a degradação da qualidade de suas águas e a redução de sua disponibilidade hídrica. Ao longo do rio Paraíba e de seus principais afluentes, cerca de 5200 indústrias se instalaram e cidades cresceram, lançando efluentes em suas águas, na maioria das vezes sem qualquer tipo de tratamento (Hilsdorf e Petreire, 2002).

A região Sudeste, região geográfica em que se insere a Bacia do Paraíba do Sul, é caracterizada por diversificação climática e por apresentar predominantemente clima tropical quente e úmido, com variações determinadas pelas diferenças de altitude e entradas de ventos marinhos. Estas diferenças são evidentes na bacia do rio Paraíba do Sul, que apresenta clima tropical com temperatura média anual que oscila entre 18° C e 24° C. As mais altas temperaturas ocorrem na região de Itaperuna, na bacia do rio Muriaé, com média das máximas situada em torno de 32°C e nas regiões com maiores altitudes a média das temperaturas mínimas chega a menos de 10°C (Marengo e Alves, 2005).



Fig. 2. Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul. Fonte: disponível em <http://www.agevap.org.br>

1.3. Surubim do Paraíba

O surubim do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) (Figura 4) é uma espécie de teleosteo endêmica da Bacia do Paraíba do Sul que, como já citado, compreende grande amplitude térmica (SP, MG e RJ) e encontra-se na lista de espécies ameaçadas de extinção juntamente com outras espécies tais como a piabanha (*Brycon insignis*), o caximbau-boi (*Pogonopoma parahybae*), uma espécie de crustáceo a lagosta-de-São-Fidélis (*Machrobachium carcinus*) (Brasil, 2004) e um réptil, o cágado-do- Paraíba (*Phrynops hogei*) (Rocha *et al.*, 2000).

O surubim do Paraíba é um peixe de couro (sem escamas) e de médio porte, que possui um corpo achatado com o dorso preenchido por pequenas e alongadas manchas e têm hábito alimentar carnívoro (piscívoro). Além disso, o surubim apresenta olhos pequenos e pouco eficientes, sendo a sua percepção do meio ambiente auxiliada principalmente pelos barbilhões, caracterizando-o como uma espécie com maior atividade noturna (Burgess, 1989, Lundberg e Littmann, 2003). Esta é uma espécie reofílica, isto é, migra rio acima para se reproduzir (Burgess, 1989). Tal comportamento combinado aos impactos sofridos na Bacia do Paraíba do Sul (principalmente as barragens) levou esta espécie à Lista Nacional das Espécies de Peixes Ameaçadas de Extinção – criticamente em perigo (Brasil, 2004, Honji *et al.*, 2009).

Nos dias 5 e 6 de novembro de 2009 foi realizada em Paraibuna/SP uma oficina entre os parceiros, representantes da esfera política, pesquisadores, representantes da esfera privada e gestores de ONGs, todos atuantes na Bacia do Rio Paraíba do Sul para a elaboração de um Plano de Ação Nacional (PAN) para a conservação de espécies ameaçadas de extinção da bacia, reunião que buscou dentre outros parâmetros a eleição das espécies escolhidas como representantes da fauna local. Nesta ocasião o Surubim do Paraíba foi escolhido como um dos representantes, por ser uma espécie endêmica e importante representante da diversidade de ambientes da bacia. Outro aspecto importante discutido na oficina foi a identificação das principais ameaças as quais estas espécies estão submetidas, sendo que além de outros aspectos importantes, como a intensa ação antrópica a falta de conhecimento da fauna local, a falta de informação acerca da biologia das espécies foi destacada como fator essencial a ser melhorado para o auxílio em programas de proteção a estas espécies (Polaz *et al.*, 2011).

Os estudos desta espécie no grupo de pesquisa em que se insere este projeto já vêm se estabelecendo, em colaborações com a CESP (Companhia Energética de São

Paulo- Figura 3), com trabalhos sendo realizados com ênfase nos aspectos reprodutivos (Honji, 2011, Caneppele *et al.*, 2009) e no crescimento (Tolussi, 2010) desta espécie, todos estes trabalhos incluídos no projeto temático do Programa de Mudanças Climáticas da FAPESP.



Fig. 3. Vista aérea da Estação de piscicultura da CESP (Companhia Energética de São Paulo-Paraibuna, SP). Fonte: Google Earth.

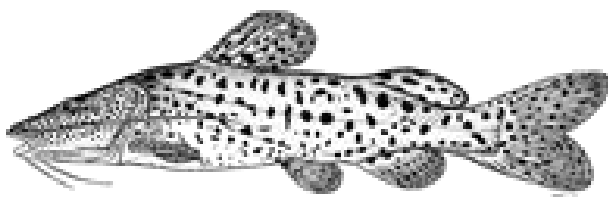


Fig. 4. Surubim do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*); A. Fonte: Honji *et al.*, (2009), B. Fonte: Arquivo CEPTA, disponível em: <http://www.icmbio.gov.br>

1.4. Fisiologia aplicada à conservação e a espécie eleita para o presente projeto

As informações apresentadas até o presente momento deixam claro o papel que a fisiologia comparativa pode desempenhar na área da conservação ambiental, evidenciando que o conhecimento de uma espécie frente às variáveis ambientais deve ser considerado como o ponto de partida para que se possa cultivar essa espécie em cativeiro.

O cultivo de peixes em cativeiro pode ter objetivos diversos, e atualmente é realizado principalmente com objetivo econômico ou de conservação de espécies ameaçadas devido às ações antrópicas (Baldisserotto, 2002). Neste contexto, pode-se definir que a fisiologia aplicada à conservação é importante para que sejam apresentados os elementos que definem a sensibilidade de uma espécie, e quais as possibilidades de ajuste às mudanças do entorno físico induzidas pela ação humana.

Segundo Bicudo e Bicudo, (2008) espécies endêmicas são em geral bastante adaptadas a espectros estreitos de variação das condições ambientais, de modo que qualquer variação neste componente pode ocasionar dano à existência deste organismo, e até mesmo sua extinção. Desta forma, contextualizando a situação de alta antropicidade da bacia do Rio Paraíba do Sul, que possui grande amplitude térmica e considerando a condição ameaçada do surubim do Paraíba, formulou-se a hipótese de que mudanças na temperatura em dois regimes, agudo e crônico, ocasionariam uma reestruturação significativa nas membranas celulares destes animais.

2. Objetivo geral

Considerando todos os pontos levantados acima a respeito da influência da temperatura sobre aspectos fisiológicos, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar a influência da temperatura na dinâmica das membranas de *S. parahybae*. Os resultados obtidos podem fornecer subsídios para a compreensão de pontos importantes e aplicáveis na área de conservação, além de conhecimentos básicos da fisiologia das membranas em espécies de clima tropical.

Objetivos específicos

Para atingir o objetivo geral foram traçados os seguintes objetivos específicos:

- 1- Determinar o perfil de ácidos graxos das duas principais classes fosfolipídicas (fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina) dos tecidos hepático, encefálico e branquial em *S. parahybae* expostos a regime de resfriamento agudo e crônico;
- 2- Nos tecido hepático e encefálico analisar a distribuição diferencial de ácidos graxos nas posições *sn-1* e *sn-2* nos fosfolipídeos;
- 3- Finalmente, frente às mesmas alterações térmicas, analisar o comportamento da $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase branquial, com a finalidade de testar, na espécie em questão, a influência da temperatura no funcionamento desta importante bomba presente nas membranas celulares.

3. Referências bibliográficas

- Agaba, M.K., Tocher, D.R., Zheng, X., Dickson, C.A., Dick, J.R., Teale, A. J. 2005. Cloning and functional characterisation of polyunsaturated fatty acid elongases of marine and freshwater teleost fish. . *Comp. Biochem. Physiol. (B)*. 142, 342-352.
- AGEVAP, 2006. Plano de recursos hídricos da bacia do Rio Paraíba do Sul. Relatório Contratual R7.201p.
- Agostinho, A.A., Gomes, L.C., Pelicice, F.M. 2007. Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil. Maringá: Eduem. 501p.
- Angilletta, M.J., Niewiarowski, P.H., Navas, C.A. 2002. The evolution of thermal physiology in ectotherms. *J. Therm. Biol.* 27, 249-268.
- Araújo, F.G. 1998. Adaptação do índice de integridade biótica usando a comunidade de peixes para o Rio Paraíba do Sul. *Rev. Brasil. Biol.* 58, 547-558.
- Baldisserotto, B., 2002. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 1º edição. Ed.UFSM: Rio Grande do Sul. 204p.
- Bell, M. V., Henderson, R. J., Sargent, J. R. 1986. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comp. Biochem. Physiol. (B)* 83, 711-719.
- Bicudo, C.E.M., Bicudo, D.C. 2008. Mudanças climáticas globais: efeitos sobre as águas continentais superficiais. *In: Buckeridge, M.S. Biologia & Mudanças climáticas no Brasil*. Ed. RiMa: São Carlos-SP.
- Brasil. 2004. Instrução Normativa N° 05 de 21 de maio de 2004. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Ministério do Meio Ambiente.
- Buda, C., Dey, I., Balogh, N., Horvath, L.I., Maderspach, K., Juhasz, M., Yeo, Y.K. and Farkas, T. 1994. Structural order of membranes and composition of phospholipids in fish brain cells during thermal acclimatization. *PNAS*. **91**, 8234–8238.
- Burgess, W.E. 1989. An atlas of freshwater and marine catfishes. A preliminary survey of the Siluriformes. T.F.H. Publications: New Jersey.784 P.
- Caneppele, D., Honji, R.M. Hilsdorf, A.W.S ., Moreira, R.G .2009 Induced spawning of the endangered Neotropical species *Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae). *Neotrop. Ichthyol.* 7, 759-762
- Cossins, A.R., Crawford, D.L. 2005. Opinion – Fish as models for environmental genomics. *Nature*. 6, 324 -333.

- Crockett, E.L., Hazel, J.R.. 1997. Cholesterol affects physical properties and (Na⁺,K⁺)-ATPase in basolateral membranes of renal and intestinal epithelia from thermally acclimated rainbow trout. *J. Comp. Physiol. (B)*. 167, 344-351.
- Else, P.L., Wu, B.J. 1999. What role for membranes in determining the higher sodium pump molecular activity of mammals compared to ectotherms? *J. Comp. Physiol. (B)*. 169, 296-302.
- Friedlander, M.J., Kotchabhakdi, N., Prosser, C.L. 1976. Effects of cold and heat on behavior and cerebellar function in goldfish. *J. Comp. Physiol. (A)*. 112, 19-45.
- Harper, A.A., Watt, P.W., Hancock, N. A. and Macdonald, A. G. 1990. Temperature acclimation effects on carp nerve: a comparison of nerve conduction, membrane fluidity and lipid composition. *J. Exp. Biol.* 154, 305-320.
- Hazel, J.R. 1984. Effects of temperature on the structure and metabolism of cell membranes in fish. *Am. J. Physiol.* 246, 460-470.
- Hazel, J.R. 1989. Cold adaptation in ectotherms: regulation of membrane function and cellular metabolism. *Adv. Comp. Environ. Physiol.* 4, 1-50.
- Hazel, J.R. 1995. Thermal adaptation in biological membranes: Is homeoviscous adaptation the explanation? *A. Rev. Physiol.* 57, 19-42.
- Helmuth, B., Kingsolver, J.G., Carrington, E. 2004. Biophysics, physiological ecology, and climate change: does mechanism matter? *Annu. Rev. Physiol.* 67, 177-201.
- Hilsdorf, A.W.S., Petrere, M.J. 2002. Conservação de peixes na Bacia do Rio Paraíba do Sul. *Ciência Hoje*. 30, 62-64.
- Hochachka P.W., Somero, G.N. 2002. *Biochemical Adaptation: mechanism and process in physiological evolution*. Oxford University Press: New York, 466p.
- Honji, R.M. , Caneppele, D. , Hilsdorf, A.W. , Moreira, R.G. 2009. Threatened fishes of the world: *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877). *Environ. Biol. Fish.* 85, 207-208.
- Honji, T.G. 2011. Controle do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas do surubimdo Paraíba, *Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae) em relação ao ciclo reprodutivo e à reprodução induzida em cativeiro. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo IB-USP. 328p.
- Polaz C. N. M., Bataus, Y. S. L., Desbiez, A., Reis, M. L. 2011. Plano de ação nacional para a conservação das espécies aquáticas ameaçadas de extinção da Bacia do Rio Paraíba do Sul. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 140p.

- Lemieux, H., Blier, P.U., 2008. Does membrane fatty acid composition modulate mitochondrial functions and their thermal sensitivities? *Comp. Biochem. Physiol. (A)* 149, 20-29.
- Linko, R.R., Kaitaranta, J.K., Vuorela, R., 1985. Comparison of the fatty acids in *Baltic herring* and available plankton feed. *Comp. Biochem. Physiol. (B)*. 82, 699–705.
- Los, D.A., Murata, N. 1993. The temperature-dependent expression of the desaturase gene *desA* in *Synechocystis*. *FEBS Lett.* 318, 57–60.
- Lundberg, J.G. & Littmann, M.W. 2003. Family Pimelodidae. 432-446. *In*: Reis, R. E., Kullander, S.O. & Ferraris, C.J. 2003. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. 729p.
- Maitland, P.S. 1995. The conservation of freshwater fish: past and present experience. *Biol. Conserv.* 72, 259-270.
- Marengo, J.A., Alves, L.M. 2005. Tendências hidrológicas da bacia do Rio Paraíba do Sul. sid.inpe.br/ePrint@180/2005/05.11.13.21 v1.
- Mykytczuk, N.C.S., Trevors, J.T., Leduc, L.G., Ferroni, G.D. 2007. Fluorescence polarization in studies of bacterial cytoplasmic membrane fluidity under environmental stress. *Progr. Biophys. Mol. Bio.* 95, 60-82.
- Nelson, D.L., Cox, M.M. 2011. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. 5ª Ed. Artmed: Porto Alegre. 1274p.
- Ratnayake, W.N., Ackman, R.G. 1979. Fatty alcohols in capelin, herring and mackerel oils and muscle lipids: II. A comparison of fatty acids from wax esters with those of triglycerides. *Lipids* 14, 804–810
- Raynard, R.S., Cossins, A.R. 1991. Homeoviscous adaptation and thermal compensation of sodium pump of trout erythrocytes. *Am. J. Physiol.* **260**, 916–922.
- Ribeiro, C.S. 2010. A influência térmica na regulação da expressão gênica e sua ação na dinâmica das membranas celulares. *Revista da Biologia.* 4, 6-9.
- Rocha, C.F.D., Vrcibradic, D., Araújo, A.F.B. 2000. Ecofisiologia de répteis de restingas brasileiras. *In* *Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras* (F.V. Esteves & L.D. Lacerda, eds.). NUPEN-UFRJ, Macaé. 117-149.
- Stuart, J.A., Gillis, T.E., Ballantyne, J.S. 1998. Compositional correlates of metabolic depression in the mitochondrial membranes of estivating snails. *Am. J. Physiol.* 275, 1977-1982.
- Tolussi, C.E. 2010. Influência da temperatura no crescimento e nas respostas fisiológicas de Surubim do Paraíba *Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae) criados

em cativeiro. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo IB-USP. 133p.

Tracy, R.C., Nussear, K.E., Esque, T.C., Dean-Bradley, K., DeFalco, L.A., Castle, K.T., Zimmerman, L.C., Espinoza, R.E., Barber, A.M. 2006. The importance of physiological ecology in conservation biology. *Integr. Comp. Biol.* 46,1191–1205.

Voet, D., Voet, J. G., Pratt, C. W. 2000. *Fundamentos de Bioquímica*. Ed. Artmed: Porto Alegre, p. 593-598.

Wikelski M., Cooke S.J. 2006. Conservation physiology. *Trends in Eco. Evol.* 21, 38-46.

Withers, P.C. 1992. *Comparative Animal Physiology*. Saunders College Publishing: New York. 950p.

Anexos capítulo 1

Revisão:

A INFLUÊNCIA TÉRMICA NA REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA E SUA AÇÃO NA DINÂMICA DAS MEMBRANAS CELULARES

Cristiele da Silva Ribeiro

Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, USP
 Recebido 19out09 / Aceito 14jan10 / Publicação inicial 15abr10
 cristiele@usp.br

Resumo. A influência humana nos sistemas naturais tem aumentado continuamente, justificando a importância de se investigar os aspectos antrópicos que causam estresse em animais em seus sistemas naturais. No ambiente aquático, as ações antrópicas são muito evidentes, levando os organismos muitas vezes a ficarem expostos a efeitos subletais que provocam consequências imprevisíveis. Variações na temperatura alteram a estrutura das membranas celulares podendo comprometer as atividades enzimáticas associadas às membranas e os processos de transporte. Nesse sentido este texto busca levantar hipóteses sobre o possível papel da temperatura em mudanças estruturais das membranas celulares.

Palavras-chave. Dessaturases, Elongases, Ácidos graxos, Regulação da expressão gênica.

THERMAL INFLUENCE ON GENE EXPRESSION REGULATION AND ITS ACTION IN THE DYNAMICS OF CELL MEMBRANES

Abstract. The human influence on natural systems has been steadily increased, justifying the importance to investigate the anthropic factors that cause stress in animals in their natural systems. In the aquatic environment the human actions are very evident, leading the organisms sometimes to be exposed to sub lethal effects that can cause unpredictable consequences. Variations in temperature affect the structure of cell membranes and can compromise the enzymatic activity associated with the membranes and the transport processes. In this sense, this essay postulates some hypothesis about the possible role of temperature on structural changes of cell membranes.

Keywords. Desaturases, Fatty acids, Gene expression.

Ação da temperatura nas membranas biológicas e seu papel na regulação da expressão gênica

A faixa ótima de temperatura varia entre as espécies e as oscilações térmicas podem causar alterações nas propriedades estruturais e fisiológicas dos organismos (Hochachka e Somero, 2002).

Variações na temperatura alteram a estrutura das membranas celulares podendo comprometer as atividades enzimáticas associadas às membranas e os processos de transporte. O conjunto de alterações das propriedades químicas e físicas das membranas resulta, em última análise, em mudanças na fluidez das mesmas (Hazel, 1984). A queda de temperatura pode comprometer sua flexibilidade, devido a alterações na configuração dos seus lipídeos e proteínas, podendo limitar a sua estabilização. O grau de fluidez de membranas biológicas pode ser estimado por muitos métodos físicos, tais como: fluorescência, ressonância e espectroscopia. A extensão de insaturações dos ácidos graxos contidos na estrutura da membrana é o fator majoritário na manutenção do grau de fluidez (Kates e col., 1993).

Organismos vivos, em particular ectotérmicos respondem à diminuição da temperatura por dessaturação de ácidos graxos nos lipídeos de suas membranas. Essa resposta de aclimação confere habilidade de manutenção da fluidez de membranas biológicas abaixo da temperatura crítica para o indivíduo. Esse fenômeno é conhecido como aclimação

homoviscosa ou, alternativamente, aclimação homeofásica (Buda e col., 1994; Lemieux e col., 2008). Os efeitos da temperatura no padrão de distribuição dos ácidos graxos e ação de enzimas que participam da manutenção da fluidez da membrana em diferentes organismos têm sido reportados por vários autores, sendo que a primeira observação foi feita em 1901 (Torrengo e Brenner, 1976).

Quando se analisa a exposição aguda de animais às baixas temperaturas é possível observar na maioria das vezes um aumento na porcentagem de ácidos graxos insaturados nas membranas celulares e redução na porcentagem de ácidos graxos saturados. Uma revisão da literatura mostra que, de forma geral, animais que vivem em temperaturas mais baixas apresentam uma maior porcentagem de ácidos graxos polinsaturados (PUFA) do que aqueles de clima tropical (Hazel e Willians, 1990). Essas variações alteram o ponto de fusão dos ácidos graxos esterificados nos fosfolipídios das membranas biológicas, alterando assim a fluidez das mesmas (Hazel, 1989).

A habilidade das células de modular características físicas de suas membranas é desempenhada pelas enzimas ácido graxo dessaturases, que operam em resposta a baixas temperaturas de forma a assegurar as propriedades físicas que atuam na manutenção do gradiente de íons e restauração de funções de enzimas associadas às membranas (Murata e Wada, 1995). Pensando nisso Murata e Los, (1997), em revisão sobre estrutura e expressão

de ácido graxo dessaturases, postularam 2 questões importantes que deveriam ser respondidas a respeito dos mecanismos moleculares da regulação da expressão de genes de dessaturases em resposta à mudança de temperatura:

1- Como um organismo "sente" a mudança de temperatura?

2- Como esse sinal é transmitido para regiões reguladoras de genes de enzimas dessaturases para induzir sua ativação em condições de baixas temperaturas?

Tentando responder essas questões, aqueles autores formularam o seguinte modelo: abaixo de determinadas temperaturas a fluidez das membranas decresce. Esse sinal é detectado por um sensor de baixa temperatura e transmitido para mecanismos reguladores que direta ou indiretamente interagem com regiões reguladoras de genes que codificam enzimas dessaturases, ativando-os e levando a uma maior expressão das enzimas. Como resultado, o nível de enzimas aumenta e os ácidos graxos passam por processos de insaturação. Finalmente, o acúmulo de ácidos graxos insaturados leva à recuperação da fluidez de membrana e à restauração da atividade de enzimas membrana-associadas. Nesse modelo, as membranas assumem um papel chave na percepção e transdução de sinais de temperatura para regiões regulatórias de genes dessas enzimas. Porém, naquele momento (1997), não se sabia como esses sinais eram reconhecidos pela maquinaria de expressão e tradução das enzimas.

Após muitos anos de pesquisa alguns pontos dessa sinalização começaram a ser elucidados e em 2000 os mesmos autores, Los e Murata, descreveram alguns sinalizadores principais, a saber:

- Proteínas quinase C em fungos;
- Mudanças na concentração de adenosina 3'5' monofosfato em humanos;
- Aumento da concentração de Ca^{2+} em peixes e anfíbios;
- E, atividade aumentada dos receptores de fosfolipase C em ratos (Los e Murata, 2000).

Estrutura, função e regulação da expressão gênica das enzimas dessaturases

Dessaturases de ácidos graxos são enzimas que convertem uma ligação simples (C-C) a uma dupla (C=C) entre dois átomos de carbono na cadeia de ácidos graxos, como por exemplo nas posições $\Delta 6$, $\Delta 9$ ou $\Delta 12$ (Cossins e col., 2002), alterando, em casos extremos a temperatura de transição das membranas plasmáticas de gel (sólido) para líquido cristalino, promovendo a fluidez (Russel, 1984) e comprovadamente estão presentes em todos os grupos de organismos (Los e Murata, 1998).

A reação desencadeada por essas enzimas requer oxigênio molecular e ocorre em condições aeróbicas (Los e Murata, 1998), sendo

uma reação de oxidação, que requer 2 elétrons em adição a uma molécula de oxigênio. Ferredoxina é o doador de elétrons na reação catalisada pela acil-ACP dessaturase em cianobactérias e por acil-lipídeos em plastídeos de plantas, em contraste, as acil-CoA de animais e fungos se utilizam de citocromo *b5* como doadores de elétrons (Los e Murata, 1998). As acil-coA de animais são expressas de forma mais efetiva no retículo endoplasmático do fígado dos animais e podem responder a centenas de estímulos endógenos e exógenos (Trueman e col., 2000).

A temperatura é considerada o principal elemento regulador do aumento de expressão de enzimas dessaturases, porém, essa regulação é dependente da extensão da mudança termal em contraste com a simples queda ou elevação da temperatura, por exemplo, quando células aclimatadas a 38°C são levadas a 30°C existe um aumento de transcritos da *desA* (dessaturase A), enquanto que em células aclimatadas a 36°C esse aumento começa a ser detectado somente a 28°C (Los e col., 1993). O trabalho de Podrabsky e Somero, (2004) ressaltou também a importância das flutuações diárias da temperatura na regulação da expressão gênica da enzima dessaturase, encontrando maior quantidade de RNA mensageiro da enzima em animais que passavam o dia na temperatura ambiental, sem controle (20 a 37°C aproximadamente) quando comparado a animais aclimatados a temperaturas constantes (20-30-37°C).

Todas essas observações feitas pelos autores abriram um grande leque de conhecimento sobre a expressão gênica nos diferentes modelos experimentais nas diferentes condições metodológicas empregadas, e começou-se a desenhar, como ocorreram para todos os fenômenos de regulação da expressão gênica descobertos, modelos de como o controle da temperatura age sobre regiões regulatórias e genes codificadores chegando-se à hipótese de que, durante a aclimação, e mais extremo, na adaptação frente a mudanças ambientais, 2 tipos de respostas de regulação são esperados:

- **Regulação qualitativa** - mudança no tipo de proteína expressa, como no caso de produção de isoformas que desempenhariam a mesma função, com algumas propriedades bioquímicas distintas;

- **Regulação quantitativa** - aumento da quantidade de transcritos de RNA mensageiro e consequentemente de proteínas produzidas (Schulte, 2004).

Para exemplificar esses dois tipos de regulação foi escolhida a enzima dessaturase mais estudada em relação à aclimação a baixas temperaturas, a estearoil-CoA $\Delta 9$ dessaturase, que age acrescentando uma insaturação entre os carbonos 9 e 10 da cadeia de ácidos graxos, modificando assim, propriedades físicas da membrana e como resultado final aumentando a

fluidez da mesma, sendo que essa enzima age em conjunto com acil-transferases específicas que posicionam esses ácidos graxos modificados nos fosfolípidos (Trueman e col., 2000, Pereira e col., 2003 e Polley e col., 2003).

Polley e col., (2003) demonstraram que carpas apresentam a expressão de 2 isoformas de esteroil-CoA $\Delta 9$ dessaturase (SCD), sendo que cada uma dessas isoformas responde a um tipo de estímulo específico, a SCD1 aparece como sendo responsiva a dietas enriquecidas com ácidos graxos saturados enquanto que a SCD2 apresenta aumento da expressão gênica em resposta a mudanças na temperatura ambiental. A diferença entre essas duas isoformas está relacionada a um processo de *splicing* alternativo em que a segunda isoforma perdeu cerca de 21 aminoácidos de sua cadeia.

Esse fenômeno de duplicação possivelmente ocorreu no genoma de teleostesos primitivos e foi evolutivamente conservado em alguns grupos, como é o caso dos Ciprinídeos e de algumas espécies de peixes antárticos, possivelmente tendo divergido em suas regiões regulatórias, cada qual respondendo a diferentes estímulos fisiológicos, porém não divergindo em suas sequências codificadoras (Evans e col., 2008). Esse mecanismo promoveria a esses grupos, num contexto ambiental adverso a adição de enzimas complementares que confeririam maior plasticidade fisiológica, e como consequência capacidade de tolerância a amplas condições ambientais (Polley e col., 2003).

Exemplificando-se agora a regulação quantitativa, novamente verificou-se que dois tipos de regulação da expressão gênica são esperados, o primeiro em que RNAs mensageiros latentes são ativados em processos pós-transcricionais quando o animal é defrontado com condições ambientais adversas, e num segundo momento, por sinalização da primeira resposta, novos transcritos são produzidos e existe um aumento da expressão gênica das enzimas dessaturases, esse fenômeno foi verificado em muitos trabalhos, como por exemplo, Trueman e col., (2000) testando a aclimação a frio de carpas encontrou alta expressão de RNA mensageiro (2 a 4 vezes maior que no grupo controle) somente no 2º dia de tratamento, enquanto que ação enzimática aumentada ocorreu em apenas algumas horas de aclimação.

Outro trabalho relatando a regulação da expressão gênica quantitativa mostrou também a capacidade de diferentes espécies de suportar grandes mudanças de temperatura ambiental. Hsieh e Kuo, (2005) testaram a aclimação a frio (25 \rightarrow 15°C) em "milkfish" e carpa-comum, encontrando altas concentrações de RNA mensageiro de SCD no primeiro grupo nos primeiros 4 dias de experimento, enquanto que as carpas mantinham quantidades sempre constantes de transcritos ao longo do tempo,

porém, no 8º dia os "milkfish" morreram por falência metabólica enquanto que as carpas sobreviveram até o final do experimento, mostrando assim a plasticidade fenotípica das carpas em modificar sua temperatura de conforto de forma mais eficiente quando comparado à outra espécie testada.

Em animais de clima temperado marinhos muitos estudos descrevem a expressão gênica e funcional da enzima SCD dessaturase para peixes em ambiente natural e em condições ambientais alteradas (Kraffe, e col., 2007; Buda, e col., 1994; Tocher, e col., 2006; Hazel, e Williams., 1990).

No entanto, para animais nativos de clima tropical poucos trabalhos foram realizados e somente a composição de ácidos graxos teciduais é normalmente avaliada (Andrade e col., 2006), sendo que o único trabalho encontrado a respeito da ação de enzimas dessaturases atuando no metabolismo lipídico de peixes de ambiente tropical nativos da América do sul data de 1976 (Torrengo e Brenner, 1976). Esta escassez de informações reforça a necessidade de trabalhos nesses ambientes, principalmente em ecossistemas com grande ação antrópica, e, mais especificamente tratando de aclimação a mudanças climáticas, sendo que um dos mais importantes e urgentes desafios da fisiologia atual é entender a natureza dos efeitos diferenciais dessas mudanças sobre diferentes espécies.

Os principais desafios enfrentados são: (1) entender como as mudanças ambientais interferem tanto da história de vida de um animal quanto nos níveis populacionais; (2) as vias limitantes as quais os organismos ajustam a sua fisiologia e diminuem o estresse gerado por modificações ambientais nocivas, induzidas ou aceleradas pela ação antrópica, predizendo o intervalo de respostas possíveis a tais mudanças, e finalmente, (3) revelar quais aspectos dos ciclos de vida dos indivíduos de uma população são mais afetados por mudanças ambientais.

Para a resolução de praticamente todos os desafios descritos acima o estudo da regulação da expressão gênica é uma ferramenta útil, principalmente quando se tenta entender qual variação na amplitude de temperatura é necessária para que a resposta de aclimação seja iniciada nas membranas celulares de diferentes organismos e, quais são os sinais reconhecidos e como eles são traduzidos nesse tipo de resposta.

Bibliografia

- Andrade, V. X. L., Moreira, R.G., Schreiner, M., Scorvo Filho, J. D., Romagosa, E. Influência da dieta no crescimento e na composição dos ácidos graxos de fêmeas de pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) criados em tanques-rede. In: Congresso Aquicultura (2006), 2006, Bento Gonçalves (RS). Anais do Congresso Aquicultura 2006. Bento Gonçalves (RS): Aquario / UFRG.
- Buda, C., Dey, I., Balogh, N., Horvath, L.J., Maderspach, K., Juhasz, M., Yeo, Y.K. and Farkas, T. (1994). Structural

- order of membranes and composition of phospholipids in fish brain cells during thermal acclimatization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91, 8234–8238.
- Cossins, A.R., Murray, P.A., Gracey, A.Y., Logue, J., Polley, S., Caddick, M., Brooks, S., Postle, T., Maclean, N. (2002). The role of desaturases in cold-induced lipid restructuring. *Bioch. Soc. Transac.* 30, 1062–1066.
- Evans, T., Tomaso, Quail, J., Rogers, A., Gracey, A. R., Cossins, and M. Berenbrink. (2008). Ancient and modern duplication events and the evolution of stearoyl-CoA desaturases in teleost fishes. *Physiol Genomics.* 35, 18–29.
- Hazel, J.R. (1984). Effects of temperature on the structure and metabolism of cell membranes in fish. *Am. J. Physiol.* 246, 460–470.
- Hazel, J.R. (1989). Cold adaptation in ectotherms: regulation of membrane function and cellular metabolism. *Adv. Comp. Environ. Physiol.* 4, 1–50.
- Hazel, J.R., Williams, E.E. (1990). The role of alterations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment. *Prog. Lipid Res.* 29, 167–227.
- Hochachika P. W., Somero, G. N. (2002). *Biochemical Adaptation: mechanism and process in physiological evolution.* Oxford University Press, New York, 466p.
- Hsieh, C., Kuo, M. (2005). Stearoyl-CoA desaturase expression and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) during cold acclimation. *Comp. Bioch. and Phys.* 141, 95–101.
- Kates, N., Moldoveanu, M., Stewart, L.C. (1993). On the revised structure of the major phospholipid of *Halobacterium salinarum*. *Biochim. Biophys. Acta.* 1169, 46–53.
- Kraffe, P., Guderley, H., Marty, Y. (2007). Changes in mitochondrial oxidative capacities during thermal acclimation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: roles of membrane proteins, phospholipids and their fatty acid compositions. *Journ. Experim. Biol.* 210, 149–165.
- Lemieux H, Bier, P.U, Tardif, J.C. (2008). Does membrane fatty acid composition modulate mitochondrial functions and their thermal sensitivities? *Comp Biochem Physiol.* 149, 20–29.
- Los, D.A., Murata, N. (1993). The temperature-dependent expression of the desaturase gene *desA* in *Synechocystis* PCC6803. *FEBS Lett.* 318, 57–60.
- Los, D.A., Murata, N. (1998). Structure and expression of fatty acid desaturases. *Bioch. Bioph. Acta.* 1394, 3–15
- Los, D.A., Murata, N. (2000). Regulation of enzymatic activity and gene expression by membrane fluidity. *Sci. STKE*, pe1. DOI:10.1126.115, 875–879.
- Murata, N., Wada, H. (1995). Acyl-lipid desaturases and their importance in the tolerance and acclimatization to cold of cyanobacteria. *Biochem. J.* 308, 1–8.
- Murata, N., Los, D.A., (1997). Membrane fluidity and temperature perception. *Plant Physiol.*
- Perreira, S.L., Leonard, A.E., Mukerji, P. (2003). Recent advances in the study of fatty acid desaturases from animals and lower eukaryotes. *Prostagl., Leukotr. and EFA.* 68, 97–106.
- Podrabsky, J.E., Somero, G.N. (2004). Changes in gene expression associated with acclimation to constant temperatures and fluctuating daily temperatures in an annual killifish *Austrotfundulus innaeus*. *J. Exper. Biol.* 207, 2237–2254.
- Polley, S.D., Tikku, P.E., Trueman, R.T., Caddick, M.X., Morozov I.Y., Cossins, A.R. (2003). Differential expression of cold- and diet-specific genes encoding two carp liver $\Delta 9$ -acyl-coA desaturase isoforms. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 284, R41–R50.
- Russel, N.J. (1984). Mechanisms for thermal adaptation in bacteria: blueprint for survival. *Trens Biochem. Sci.* 9, 108–112.
- Schulte, P.M. (2004). Changes in gene expression as biochemical adaptation to environmental change: a tribute to Peter Hochachika. *Comp. Bioch. Physiol.* 139, 519–529.
- Tocher, D. R., Dick, J. R., MacGlaughlin, P., Bell, J. G. (2006). Effect of diets enriched in $\Delta 6$ desaturated fatty acids (18:3n-6 and 18:4n-3) on growth, fatty acid composition and highly unsaturated fatty acid synthesis in two populations of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Comp. Bioch. Physiol.* 144, 245–253.
- Torrenço, M.P., de, and Brenner, R.R. (1976). Influence of environmental temperature on the fatty acid desaturation and elongation activity of fish (*Pimeleodus maculatus*) liver microsomes. *Biochim. Biophys. Acta.* 424, 36–44.
- Trueman, R.J., Tikku, P.E., Caddick, M.X. and Cossins, A.R. (2000). Thermal thresholds of lipid restructuring and delta(9)-desaturase expression in the liver of carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. of Exper. Biol.* 203, 641–650.

CAPÍTULO 2

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NAS MEMBRANAS
CELULARES DE *Steindachneridion parahybae*
(SILURIFORMES: PIMELODIDAE): ENSAIO AGUDO

Ribeiro, C.S., Schreiner, M. e Moreira, R.G.

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NAS MEMBRANAS CELULARES DE *Steindachneridion parahybae* (SILURIFORMES: PIMELODIDAE): ENSAIO AGUDO

Ribeiro, C.S.¹, Schreiner, M.² e Moreira, R.G.¹

¹ Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências- Departamento de Fisiologia, São Paulo, SP, Brasil.

² Universität für Bodenkultur Wien- Department of Food Sciences and Technology, Vienna, Austria

Resumo

Variações na temperatura alteram a estrutura das membranas celulares podendo comprometer as atividades enzimáticas associadas e os processos de transporte. Nesse contexto, o presente trabalho objetivou avaliar a influência da temperatura na dinâmica de membranas celulares hepáticas e encefálicas de uma espécie de peixe tropical ameaçada de extinção. Juvenis de Surubim do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) foram submetidos a um sistema de resfriamento progressivo de 30°C a 24, 17 e 12°C respectivamente, onde foram mantidos por no mínimo dois dias, com coleta de tecidos realizada diariamente. As principais frações fosfolipídicas (fosfatidilcolina (FC) e fosfatidiletanolamina (FE)) dos tecidos foram obtidas por separação em cromatografia de camada delgada, com posterior análise posicional das cadeias (*sn*-1 *sn*-2) de FC e FE por cromatografia gasosa. As principais classes de ácidos graxos: monoinsaturados (MUFA), saturados (SAT) e polinsaturados (PUFA) foram analisadas mostrando um predomínio de ácido palmítico (PA-C16:0), ácido oléico (C18:1), ácido linoléico (LA-C18:2n6), ácido araquidônico (AA-C20:4n6), ácido eicosapentaenóico (EPA-C20:5n3) e ácido docosaheptaenóico (DHA- C22:6n3) nas frações analisadas. Os resultados mostraram que para o tecido hepático houve um predomínio de mudanças nos ácidos graxos ômega 3 de cadeia longa (C20-22n3), enquanto o tecido encefálico mostrou uma grande flutuação dos ácidos graxos ômega 6, de cadeia curta (C18n6) e longa (C20-22n6). O tecido hepático mostrou, para FC e FE e a respectiva análise posicional de cada uma das classes, o curioso padrão de aumento de SAT para o grupo 12°C,

mostrando a incapacidade de reestruturação de membranas neste grupo experimental. Já quando houve incremento de PUFA nesta temperatura, o ácido graxo incorporado foi principalmente o C18:2n6, ácido graxo com limitada capacidade de manutenção de fluidez comparado com AA. No encéfalo observou-se uma grande flutuação de valores para FC, enquanto que em FE a priorização da função encefálica foi mantida pela diminuição de C20-22n3 no fígado e aumento no encéfalo no último dia de experimento para 30, 24 e 17°C. Nos dois tecidos e frações analisadas foi possível detectar mudanças significativas nos ácidos graxos em 24 horas de exposição dos animais a temperaturas mais baixas, mostrando que Surubim do Paraíba pode ser considerado um modelo capaz de apresentar respostas de aclimatação de maneira aguda.

Abstract

Temperature alteration affects the structure of fatty acids in cell membranes and can compromise associated enzymatic activity and molecule transport. In this context, this study aimed to evaluate the influence of temperature on the dynamics of brain and liver cell membranes of a tropical threatened species of fish. Surubim do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) juveniles were progressively cooled from 30 to 24°C, 17 and 12°C respectively, where they were kept for at least two days, with collection of tissues performed daily. The main phospholipid fractions (phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE)) of the tissues were obtained by separation on thin layer chromatography, with subsequent analysis of fatty acid patterns in the respective positions (*sn*-1 and *sn*-2) of PC and PE by gas chromatography. The distribution of major classes of fatty acids, monounsaturated fatty acids (MUFA), saturated (SAT) and polyunsaturated (PUFA) was monitored, showing a predominance of palmitic (PA-C16:0), oleic (C18:1), linoleic (LA-C18:2n6), arachidonic (AA-C20:4n6), eicosapentaenoic (EPA C20:5n3) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6n3) in the fractions analyzed. The results showed that in liver there was a predominance of changes in long chain omega 3 fatty acids (20-22 carbons), while in the brain there was a large fluctuation of omega 6 fatty acids, including LA, and long chain omega 3 (20-22 carbons). The liver showed in PC and PE and their positional analysis, the curious pattern of increased SAT in the extreme cooling group (12°C), demonstrating the inability of this restructuring membrane in this experimental group, and when there was an increase of PUFA in this temperature, the fatty acid incorporated was mainly

C18:2n6, a fatty acid with less influence on membrane fluidity compared to AA. In the brain there was a large fluctuation of the results in PC, while the prioritization of PE in brain function has been maintained for the decrease of C20-22n3 in the liver and increase in the brain at the last day of 30, 24 and 17°C. In both tissues and fractions analyzed it was possible to detect significant changes in the fatty acid patterns within 24 hours of exposition of the animals to lower temperatures, showing that the Surubim do Paraiba was able to respond by acute acclimation.

1. Introdução

Variações nos fatores abióticos (pH, salinidade, temperatura, pressão, dentre outros), ligados ou não às ações antropogênicas, podem gerar alterações em todos os níveis de organização biológica, tais como: organismo (taxas de respiração, alimentação, crescimento e locomoção), órgãos (modificações na massa e desempenho dos órgãos em relação à função), organelas (mudanças no conteúdo mitocondrial e da estrutura de membranas) e moléculas (capacidade catalítica de enzimas e afinidade de substratos) (Lemieux *et al.*, 2008).

Segundo Skalli, (2006) a diferença na composição dos tecidos pode ser resultado da especificidade e afinidade de ácidos graxos pelos mesmos, ou do próprio metabolismo do animal. De forma geral, os ácidos graxos têm papel diferenciado no metabolismo de peixes, fosfolípidos são importantes constituintes de membranas e funcionam como o principal precursor de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, enquanto triglicéridos servem como depósitos para ácidos graxos que são catabolisados no metabolismo energético celular (Henderson e Tocher, 1987).

Muitos animais ectotérmicos respondem a mudanças térmicas com adaptações de propriedades físicas em suas membranas como meio de preservar a integridade funcional e estrutural para o novo ambiente. Essa forma de adaptação é chamada de “adaptação à homeoviscosidade”, e sua eficácia se estende para todas as células, que se ajustam às alterações na temperatura, podendo variar dentre os diferentes tecidos (Buda *et al.*, 1994, Lemieux *et al.*, 2008). As mudanças na composição das membranas incluem 1) o tipo e a quantidade de ácidos graxos insaturados; 2) a mistura de espécies moleculares compreendidas numa determinada classe de fosfolípido; 3) o tamanho, hidrofobicidade e carga das cabeças polares dos fosfolípidos; 4) o balanço entre a estabilidade bilateral e a desestabilização dos lipídeos; 5) a proporção de plasmalôgenos e, 6) a quantidade de colesterol inserido na membrana (Hazel *et al.*, 1988).

Dey *et al.*, (1993) demonstraram que, em peixes, um efetivo controle na fluidez das membranas ocorre com a mudança da temperatura ambiental e que o posicionamento dos ácidos graxos nas posições *sn-1* e *sn-2* dos fosfolípidos leva à formação de estruturas com diferentes graus de condensação, juntamente com a reestruturação da composição da cabeça polar das classes dos fosfolípidos,

assegurando que os componentes presentes nas células tenham uma conformação ideal dentro das limitações de mudanças climáticas. Desta forma, a análise posicional dos ácidos graxos inseridos nos fosfolípídeos é um procedimento importante e muito utilizado em estudos de membrana, executado com preparações puras da enzima fosfolipase A2, que separa o ácido graxo da posição *sn*-2 do fosfolípídeo que pode ser, por sua vez, identificado em cromatografia a gás (Nutter e Privett, 1966, Schreiner *et al.*, 2006).

Nesse contexto, o presente trabalho objetivou verificar o papel da variação da temperatura, de forma aguda, sobre a dinâmica das membranas celulares nas duas principais classes fosfolípídicas, fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina, em dois tecidos (fígado e encéfalo) de jovens de *Steindachneridion parahybae*, uma espécie de peixe endêmica da bacia do Rio Paraíba do Sul, local que possui grande amplitude térmica, o que justifica a escolha desta espécie como objeto de estudo para o fator abiótico selecionado.

2. Material e Métodos

2.1. Transporte e aclimação dos animais

Cento e trinta exemplares de *S. parahybae* foram gentilmente cedidos pela CESP (Companhia Energética de São Paulo) (23°24'53,71''W), localizada na cidade de Paraibuna- São Paulo, e transportados até o biotério do Departamento de Fisiologia no Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, onde foi desenvolvido o ensaio experimental (Figura 1- A, B e C).

Os animais transportados ao biotério passaram inicialmente por um período de aclimação de 7 dias em caixas estoque de 100L com manutenção de temperatura a 25°C e tratamento preventivo diário com oxitetraciclina (5g/100L), sal (50g/100L) e permanganato de potássio (100µg/100L) (Figura 1-D).

2.2. Desenho experimental e aferição de dados de qualidade da água

Após a fase de aclimação os animais foram divididos de forma a não apresentarem diferenças estatisticamente significativas nos parâmetros biométricos (comprimento total médio de 14,58±0,30 cm e massa corpórea média de 29,85±2,08 g) em 12 aquários de 100L mantidos em câmara climatizada (Figura 2), com aeração e oxigenação controladas.

O regime de resfriamento agudo consistiu numa série de passos, em que os animais foram mantidos inicialmente a 30°C (n=126) e a cada dia uma parcela dos mesmos era resfriada a temperaturas menores (24°C no 2º dia experimental, 17°C no 3º dia experimental e 12°C no 4º dia de experimento) e mantidos nesta temperatura por pelo menos dois dias, com coleta de tecidos de 6 animais por grupo experimental realizada diariamente. A figura 3 ilustra os passos de resfriamento e manutenção dos animais nos tratamento agudo. Todas as mudanças de temperatura foram realizadas gradativamente, numa taxa de 1°C h⁻¹ (Trueman, 2000, Boyd, 1996) como modo de minimizar possíveis choques térmicos.

Durante todo o experimento os animais foram alimentados com ração comercial contendo 40% de proteína bruta e foram aferidos diariamente alguns parâmetros físico-químicos da água dos aquários, como: temperatura, oxigênio dissolvido, utilizando-se um oxímetro (modelo 55; YSI, Yellow Springs, OH) e concentração de amônia com utilização de kit comercial. No momento destas aferições foi verificada ainda a presença de peixes debilitados, doentes ou mortos. A sobrevivência foi calculada pela seguinte equação: %S=Nf x 100/Ni, onde: S= sobrevivência; Nf= número de animais ao final do experimento e Ni=número de peixes inicialmente estocados.

2.3. Coleta dos tecidos

No momento da coleta os exemplares de *S. parahybae* foram pesados e medidos (Figura 4-A e B), os animais foram dessensibilizados com o uso de gelo e posteriormente eutanasiados por secção da medula espinhal na altura do opérculo e, em seguida, foram retirados o fígado (Figura 4-C) e encéfalo (Figura 4-D), com pesagem do tecido hepático para posterior cálculo do índice hepatossomático (IHS)- [IHS = (massa do fígado/massa total) x 100]. Logo após a coleta os tecidos foram congelados a -80°C até a utilização.

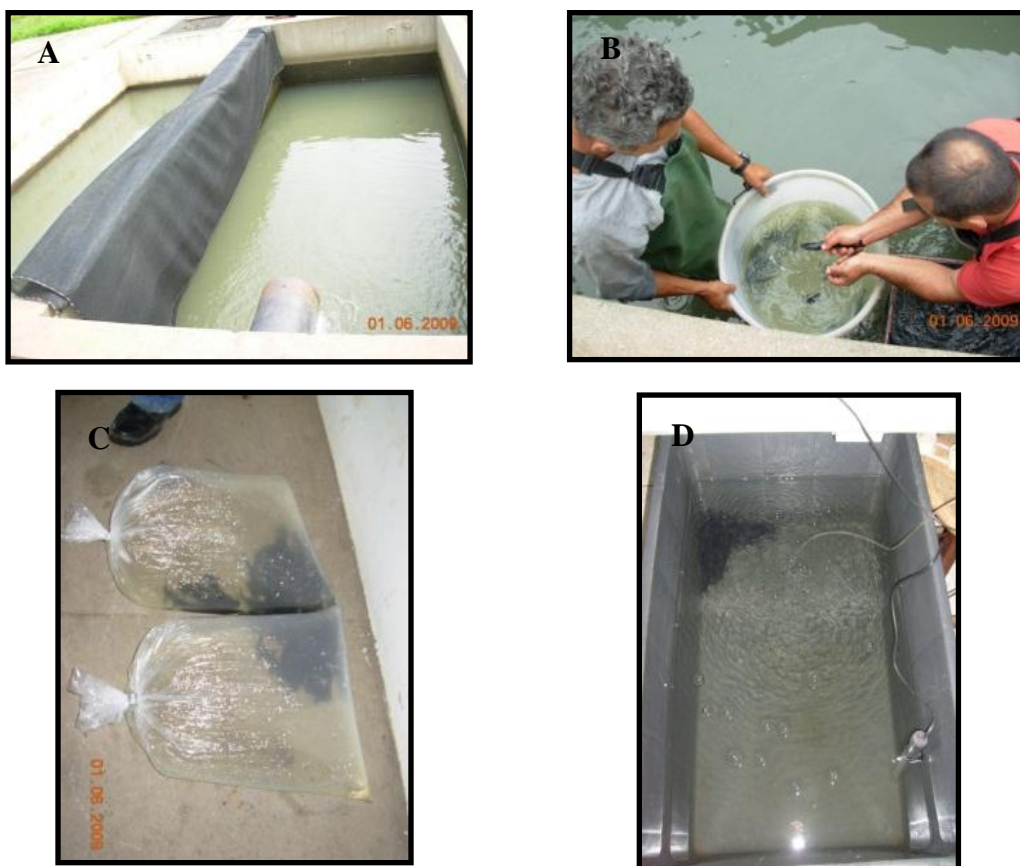


Fig. 1. A- Tanque de manutenção dos animais na piscicultura; B- Triagem dos animais; C- Acondicionamento dos animais para transporte ao biotério; D- Caixa de plástico com volume de 100L em que os animais foram mantidos no período de aclimação ao biotério até o início do experimento.



Fig.2. Aquários de manutenção de *Steindachneridion parahybae* em câmara climatizada no biotério do Instituto de Biociências durante o procedimento experimental.

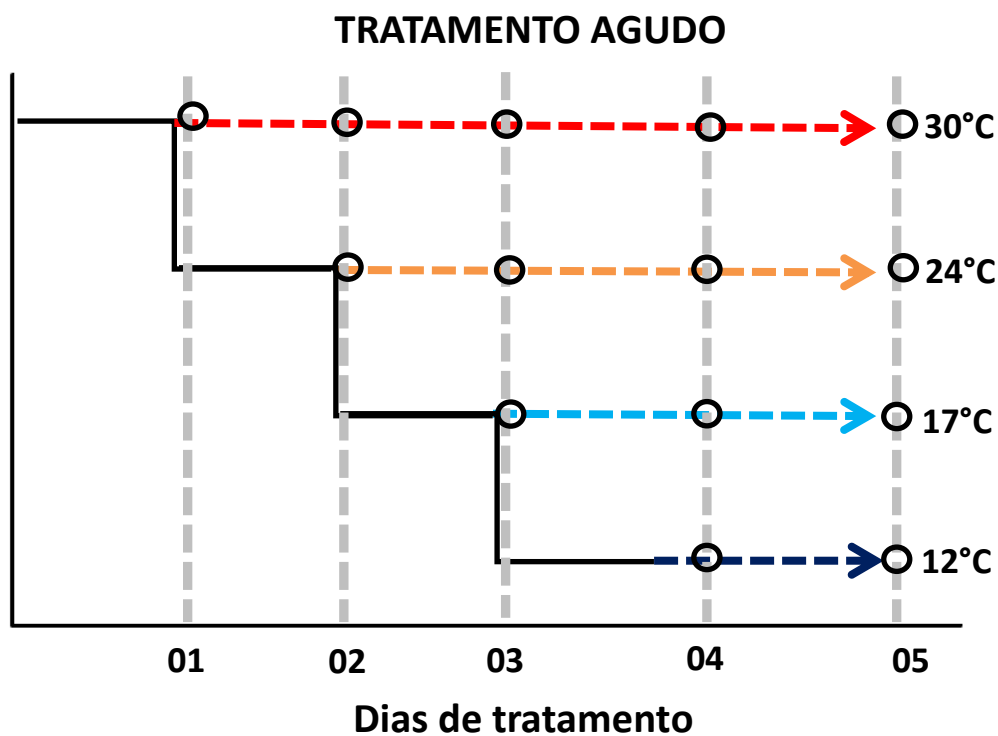


Fig. 3. Representação esquemática do regime de resfriamento agudo adotado no presente trabalho

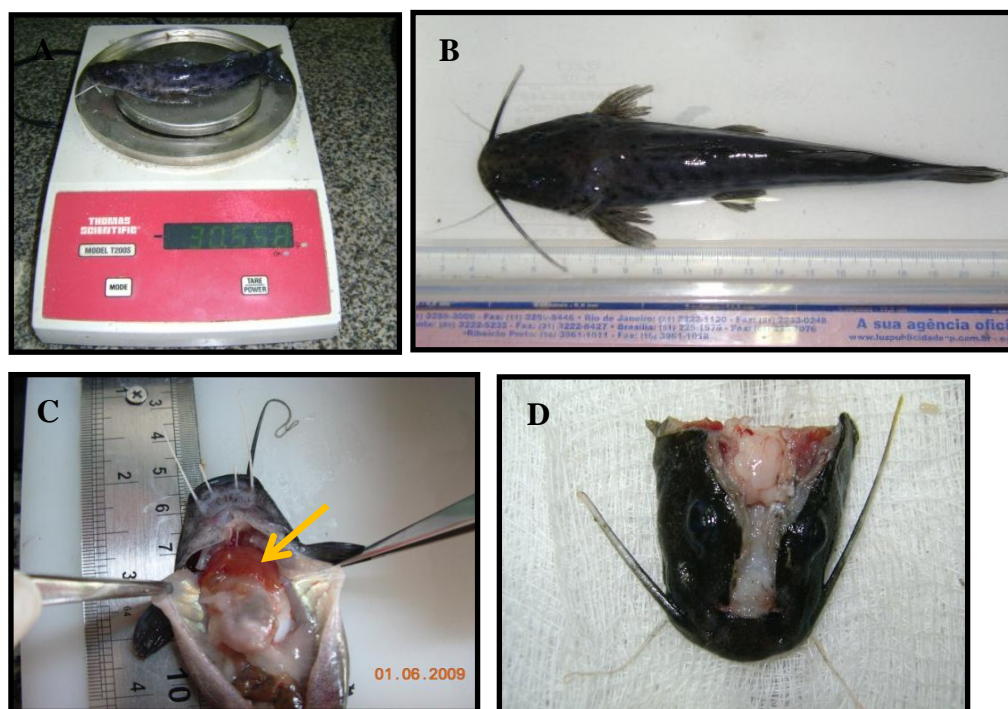


Fig. 4. A e B- Biometria dos animais (pesagem e medição); C e D- Retirada de tecidos de *Steindachneridion parahybae* para análises de ácidos graxos (C= fígado- apontado pela seta), (D= encéfalo).

2.2. Análise dos ácidos graxos

* Extração de lipídeos

Os lipídeos totais foram extraídos dos tecidos amostrados com uma solução de clorofórmio: metanol: água (2:1:0,5) segundo o método de Folch *et al.*, (1957) adaptado por Parrish, (1998) para amostras de organismos aquáticos. O extrato lipídico total foi evaporado sob atmosfera de nitrogênio para posteriores análises cromatográficas.

* Cromatografia de camada delgada (Separação de classes)

Para a separação de classes dos lipídeos polares utilizou-se placas de cromatografia de camada delgada (20 X 20 cm) impregnadas com sílica, que foram aquecidas em estufa a 100°C. O extrato lipídico extraído anteriormente foi aplicado à base das placas para a separação das diferentes classes de fosfolipídeos, possível mediante as diferentes polaridades das classes e tempo de corrida na seguinte mistura de solventes: clorofórmio, metanol e água na proporção de 65:35:4 (por volume) (Christie, 1989) (Figura 5- 1ª parte). As bandas das diferentes classes foram reveladas com diclorofluoresceína e identificadas sob luz ultravioleta (UV), as mesmas foram raspadas, eluídas com metanol e divididas em 2 sub-amostras; a primeira foi metilada (procedimento descrito posteriormente) e injetada em cromatógrafo a gás e a segunda passou pelo processo de separação posicional descrito a seguir.

* Separação posicional dos fosfolipídeos

Após a separação das classes dos fosfolipídeos (fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina) as bandas eluídas passaram por um processo de quebra enzimática da cadeia *sn*-2 com utilização da enzima fosfolipase A2 em tampão borato (Amate *et al.*, 1999, Schreiner *et al.*, 2006) (Figura 5- 2ª parte), formando um ácido graxo livre (*sn*-2) e um lisofosfolipídeo (*sn*-1). A amostra obtida da separação enzimática foi submetida novamente à cromatografia de camada delgada, com a seguinte mistura de solventes: clorofórmio, metanol e água na proporção de 75:25:2 (por volume) para visualização e posterior raspagem das cadeias, como descrito no item anterior.

***Metilação e Cromatografia gasosa**

A metilação das amostras fosfolipídicas totais e subsequentes cadeias foi realizada seguindo-se o método ácido proposto por Kitson *et al.*, (1996). A determinação do perfil dos ácidos graxos foi realizada por cromatografia gasosa, utilizando um cromatógrafo a gás acoplado a um ionizador de chama (FID) e a um auto-injetor (Varian GC 3900- Figura 1- 3ª parte) e a identificação dessas moléculas foi feita com base nos tempos de retenção, utilizando-se padrões compostos de metil ésteres (FAME) (SUPELCO, 37 *components*, Larodan Chemical Company - Mixture Me93 e Qualmix PUFA fish M - Menhaden Oil), com resultados expressos em % (Figura 5- 3ª parte).

Para a análise dos ácidos graxos foi utilizada uma programação no cromatógrafo com as seguintes características:

* Início da corrida a 170°C mantida por 1 minuto;

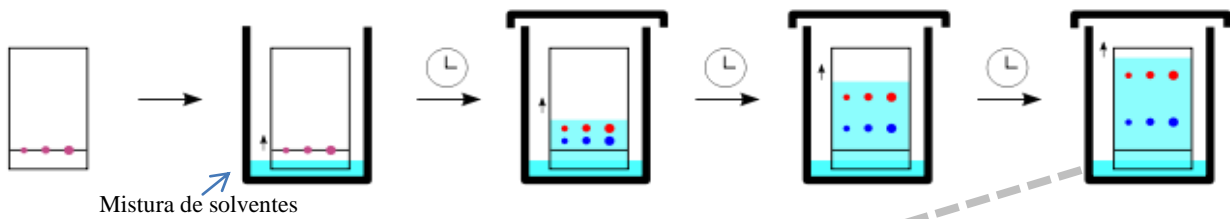
*Rampa de 2.5°C/minuto, até atingir a temperatura final de 220°C, que foi mantida por 5 minutos.

O injetor e o detector foram mantidos a 250°C, e foi utilizada uma coluna CP wax 52 CB, com espessura de 0,25 mm, diâmetro interno de 0,25 µm e 30 m de comprimento, tendo o hidrogênio como o gás de arraste.

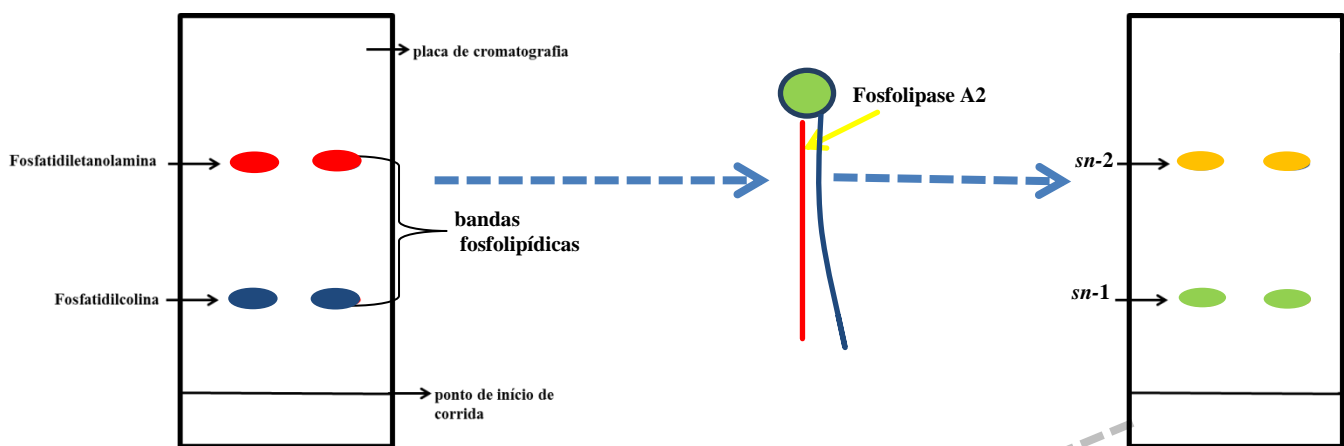
2.3. Análise estatística

Os valores de todos os parâmetros amostrados foram expressos em média \pm erro padrão da média (EPM). Os valores de cada variável (classe fosfolipídicas totais e cadeias) e grupo avaliado (temperatura x dia de tratamento) foram comparados usando o teste de análise de variância (ANOVA *Two Way*), utilizando o programa estatístico Sigma Stat for Windows (Version 3.10 Copyright[®]). O nível de significância adotado foi de 0,05.

1ª parte- Cromatografia de camada delgada- Separação das classes fosfolipídicas



2ª parte- Separação das cadeias fosfolipídicas- Ação da fosfolipase A2



METILAÇÃO

3ª parte- Cromatografia gasosa e obtenção de cromatograma

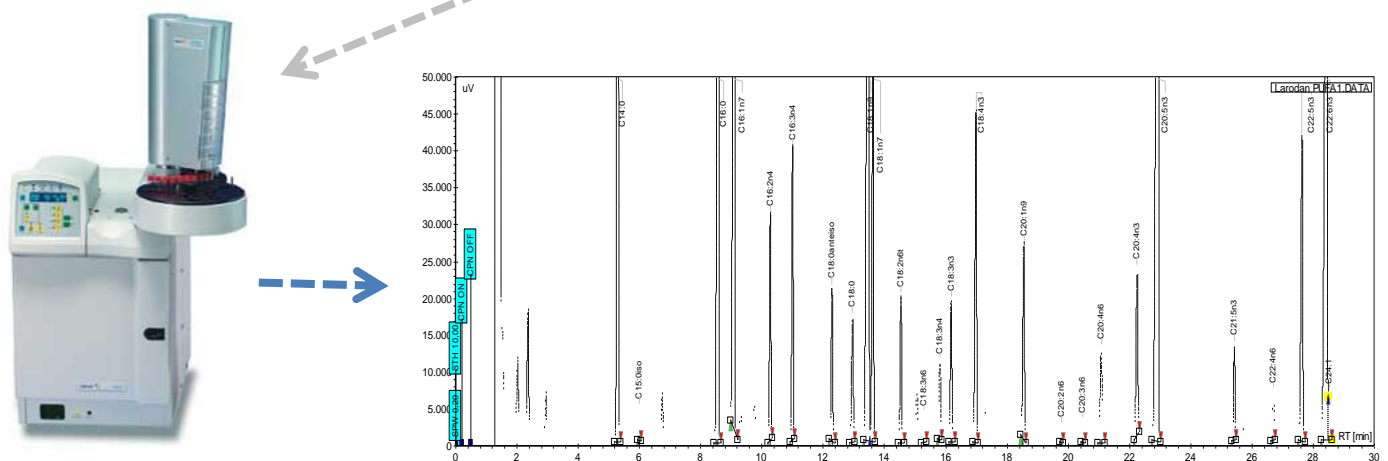


Fig. 5. Esquema representando metodologia descrita no item 2.4; 1ª parte- cromatografia de camada delgada; 2ª parte- ação enzimática e separação posicional das cadeias fosfolipídicas; 3ª parte- cromatografia gasosa

3. Resultados

1. Qualidade da água

Foi realizada uma análise completa da qualidade da água dos tanques em que os animais eram mantidos até o momento do transporte dos mesmos até o biotério, que detectou: alcalinidade total- 10 mg/L; matéria orgânica- 13,1%; dureza total- 7,5 mg/L; fosfato total- 0,58 mg/L; nitrogênio total- 0,5 mg/L.

Durante o experimento foram aferidos diariamente os valores de pH, oxigênio dissolvido e amônia total da água dos aquários e os resultados são apresentados na tabela 1. Durante o experimento foi possível verificar grande diferença nos valores de oxigênio dissolvido, que se manteve mais alto em temperaturas mais baixas apesar da tentativa de manutenção de parâmetros estáveis com o uso de aeradores. O valores de pH mantiveram-se entre 7,19 e 7,8, enquanto que os valores de amônia mostraram-se muito instáveis nos dias experimentais nos dois tratamentos, com maiores valores encontrados para os grupos mantidos nas temperaturas mais altas (30 e 24°C).

Tabela 1. Qualidade da água dos aquários durante o tratamento agudo, oxigênio dissolvido (mg/L), pH e amônia (mg/L) (M ± EPM)

Oxigênio dissolvido (mg/L)	Dia 01	Dia 02	Dia 03	Dia 04	Dia 05
30°C	5,26 ± 0,37	5,25 ± 0,28	5,68 ± 0,52	5,63 ± 0,41	5,45 ± 0,16
24°C	6,74 ± 0,66	6,26 ± 0,24	6,46 ± 0,96	6,51 ± 0,74	—
17°C	7,38 ± 0,30	6,26 ± 0,25	7,54 ± 0,45	—	—
12°C	8,77 ± 0,35	8,84 ± 0,06	—	—	—
pH	Dia 01	Dia 02	Dia 03	Dia 04	Dia 05
30°C	7,70 ± 0,09	7,62 ± 0,35	7,55 ± 0,28	7,51 ± 0,09	7,49 ± 0,07
24°C	7,88 ± 0,07	7,30 ± 0,04	7,45 ± 0,02	7,92 ± 0,08	—
17°C	7,81 ± 0,02	7,19 ± 0,03	7,33 ± 0,09	—	—
12°C	7,83 ± 0,03	7,34 ± 0,41	—	—	—
Amônia (mg/L)	Dia 01	Dia 02	Dia 03	Dia 04	Dia 05
30°C	0,075 ± 0,043	0,051 ± 0,231	0,063 ± 0,053	0,050 ± 0,043	0,200 ± 0,00
24°C	0,167 ± 0,058	0,300 ± 0,087	0,300 ± 0,087	0,100 ± 0,000	—
17°C	0,083 ± 0,029	0,117 ± 0,076	0,067 ± 0,029	—	—
12°C	0,025 ± 0,00	0,025 ± 0,00	—	—	—

2. Dados biométricos e Índice hepatossomático

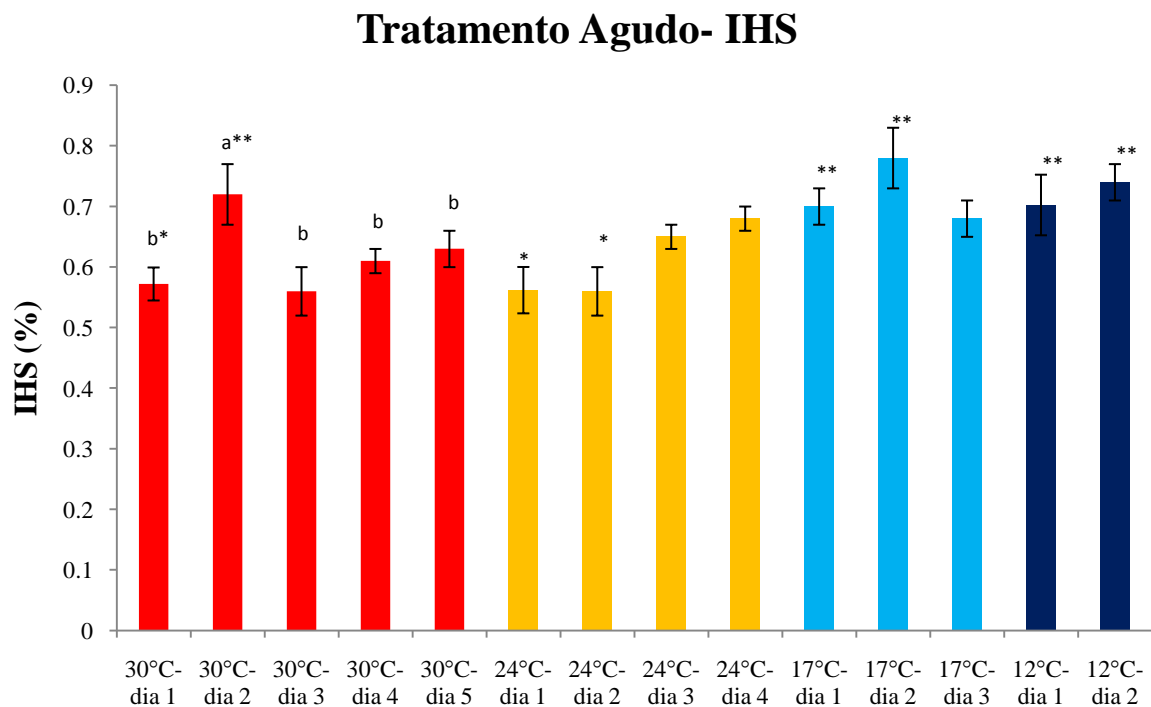
Foram realizadas biometrias diárias durante o experimento no momento da coleta de tecidos dos animais, e os resultados são apresentados na tabela 2. A análise estatística da massa corpórea e comprimento total revelaram a inexistência de diferença significativa entre as 3 replicatas de cada grupo experimental e também entre os grupos experimentais nos parâmetros analisados. A taxa de sobrevivência foi de 100% para todos os grupos.

Porém quando analisados os dados do índice hepatossomático, que expressa a porcentagem que o tecido hepático representa em relação à massa corpórea do animal, foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais e dentro dos próprios grupos nos diferentes dias de tratamento. A análise dos dados mostrou para os animais do grupo mantido a 30°C houve um aumento dos valores no 2º dia de experimento, que foi maior estatisticamente quando comparado com os dias 1 ($p=0,002$), 3 ($p=0,009$), 4 ($p=0,002$) e 5 ($p=0,01$). Na comparação entre as temperaturas testadas é possível salientar um aumento dos valores com a diminuição da temperatura experimental, sendo este aumento corroborado pela diferença estatística significativa com os menores valores para os grupos 30 e 24°C na comparação com 17 e 12°C no 1º dia de experimento (Figura 6) ($p<0,05$ para todas as comparações). No 2º dia de experimento foi possível observar os menores valores apresentados no grupo mantido a 24°C na comparação com 30, 17 e 12°C ($p<0,05$ para todas as comparações) (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros biométricos e índice hepatossomático de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo - (IHS)* (M ± EPM)

	30°C Dia 01	30°C Dia 02	30°C Dia 03	30°C Dia 04	30°C Dia 05	24°C Dia 01	24°C Dia 02	24°C Dia 03	24°C Dia 04	17°C Dia 01	17°C Dia 02	17°C Dia 03	12°C Dia 01	12°C Dia 02
Massa Total (g)	29,85±2,08	27,99±1,63	28,18±1,98	30,20±2,30	28,45±1,98	32,75±1,91	32,75±1,44	30,96±1,36	27,68±1,57	27,42±1,98	26,50±1,61	29,00±2,02	30,13±0,93	28,73±2,02
CT (cm)	14,58±0,30	14,17±0,33	15,58±0,39	14,75±0,43	14,75±0,43	15,42±0,39	15,58±0,25	15,47±0,23	15,00±0,20	16,67±0,36	15,00±0,32	16,25±0,47	15,42±0,16	15,00±0,42
IHS (%)	0,57±0,03 ^{b*}	0,72±0,05 ^{a**}	0,56±0,04 ^b	0,61±0,02 ^b	0,63±0,03 ^b	0,54±0,02 [*]	0,55±0,04 [*]	0,65±0,02	0,68±0,02	0,70±0,03 ^{**}	0,78±0,05 ^{**}	0,67±0,03	0,70±0,05 ^{**}	0,74 ±0,03 ^{**}

(IHS) – [IHS = (massa do fígado/massa total)×100] ^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento e ^{} símbolos representam diferenças entre os tratamentos no mesmo dia

**Fig. 6.** Índice hepatossomático (IHS) de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

3. Ácidos graxos

A análise do perfil de ácidos graxos (do inglês, *fatty acids*, FA) das classes de ácidos graxos polares (fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina) e das cadeias *sn-1* e *sn-2* de cada uma das classes dos tecidos permitiu avaliar a porcentagem e, conseqüentemente, os principais grupamentos, como os ácidos graxos saturados (SAT), monoinsaturados (MUFA- *monounsaturated fatty acid*), polinsaturados (PUFA *polyunsaturated fatty acid*) e, como subdivisão desta classe, os PUFAs da séries ômega 3 (n_3) e ômega 6 (n_6), e ainda, dentro de cada grupamento de PUFA, a detecção de ácidos graxos com cadeias curtas C18 e cadeias longas C20-C22, como mostram as tabelas 3 a 11 e anexos 1 a 8.

- Tecido Hepático

Fração Fosfatidilcolina

Na análise da somatória dos ácidos graxos saturados foi possível verificar uma tendência de aumento dos valores nas temperaturas intermediárias até o último dia de tratamento, com diferenças estatísticas significativas detectadas para o grupo 24°C quando comparado o 4° dia experimental com os primeiros 3 dias ($p < 0,05$) e para o grupo 17°C entre o 1° e 3° dias ($p = 0,02$) (Figura 7). Na comparação entre temperaturas foi possível constatar que o grupo 12°C apresentou no primeiro dia experimental a maior porcentagem de ácidos graxos saturados encontrada, com diferenças significativas em relação ao grupo 17 e 24°C ($p < 0,05$). A alta porcentagem de ácidos graxos saturados no 4° dia experimental do grupo mantido a 24°C apresentou diferença em relação ao grupo mantido a 30°C ($p = 0,04$), estes resultados do grupo 24°C em relação aos demais e na comparação entre os dias experimentais parecem ser resultado da estabilidade nos três primeiros dias de experimento aumento brusco de ácido palmítico (C16:0) no último dia experimental. (Tabela 3 e Anexo 1).

Para os ácidos graxos polinsaturados neste tecido foi possível observar para os grupos mantidos nas temperaturas intermediárias uma queda na porcentagem no último dia experimental para, com diferença estatística significativa nas seguintes comparações: entre o 4° dia experimental e os demais dias de experimento para 24°C

($p < 0,05$), com correspondência direta para n3 e n6 (Figura 8) e entre o 1° e 3° dia de experimento para 17°C ($p = 0,02$), com correspondência direta com ômega 3 de cadeia longa (C20-22 n3 (Figura 9)). Na comparação entre as temperaturas no mesmo dia experimental observam-se os maiores valores amostrados para o grupo 24°C no 1° dia de experimento em relação aos grupos 30°C ($p = 0,04$) e 12°C ($p = 0,02$), com o grupamento n3 corroborando com as diferenças encontradas para o grupo 12°C, no 3° dia também nota-se os maiores valores para 24°C na comparação com 17°C ($p = 0,02$), enquanto que no 4° dia de experimento, corroborando a queda significativa para 24°C os maiores valores foram amostrados para 30°C ($p < 0,05$).

Fosfatidilcolina Hepática

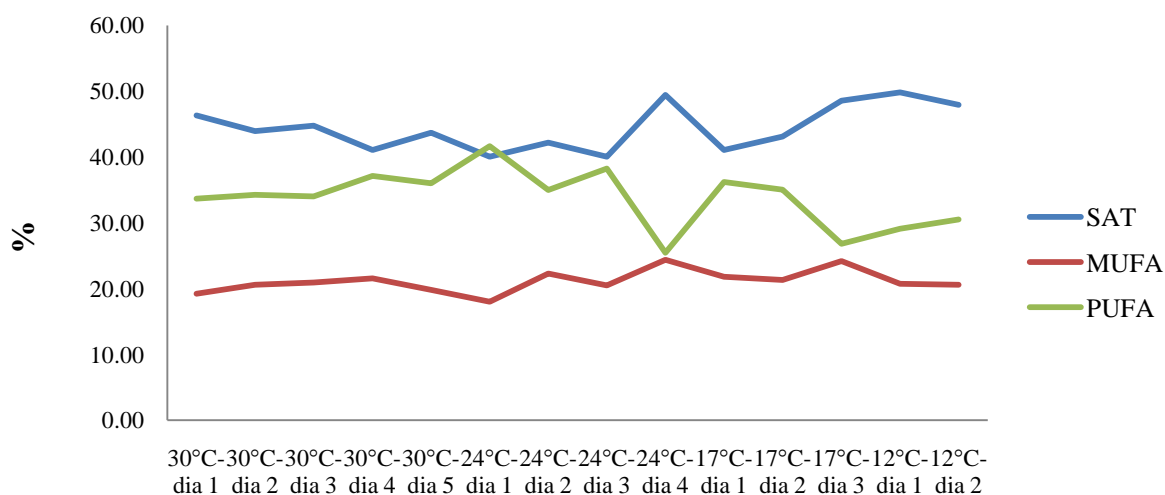


Fig. 7. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

Fosfatidilcolina Hepática (PUFA n3 e n6)

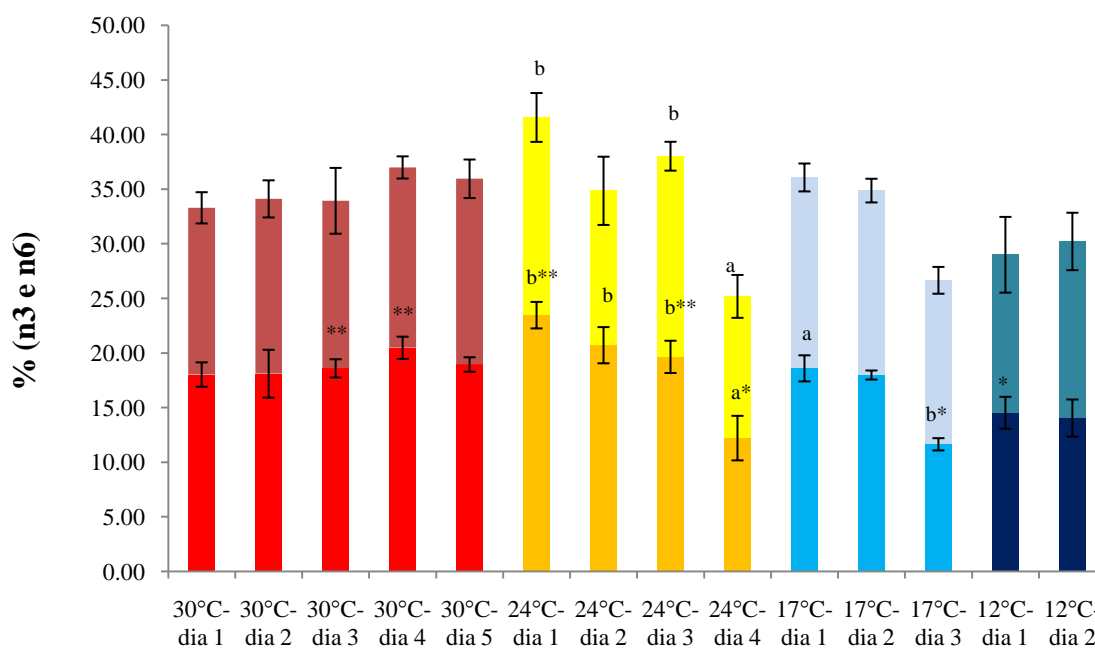


Fig. 8. Ácidos graxos ômega 3 (barras inferiores) e ômega 6 (barras superiores) na fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

Fosfatidilcolina Hepática (C20-22 n3)

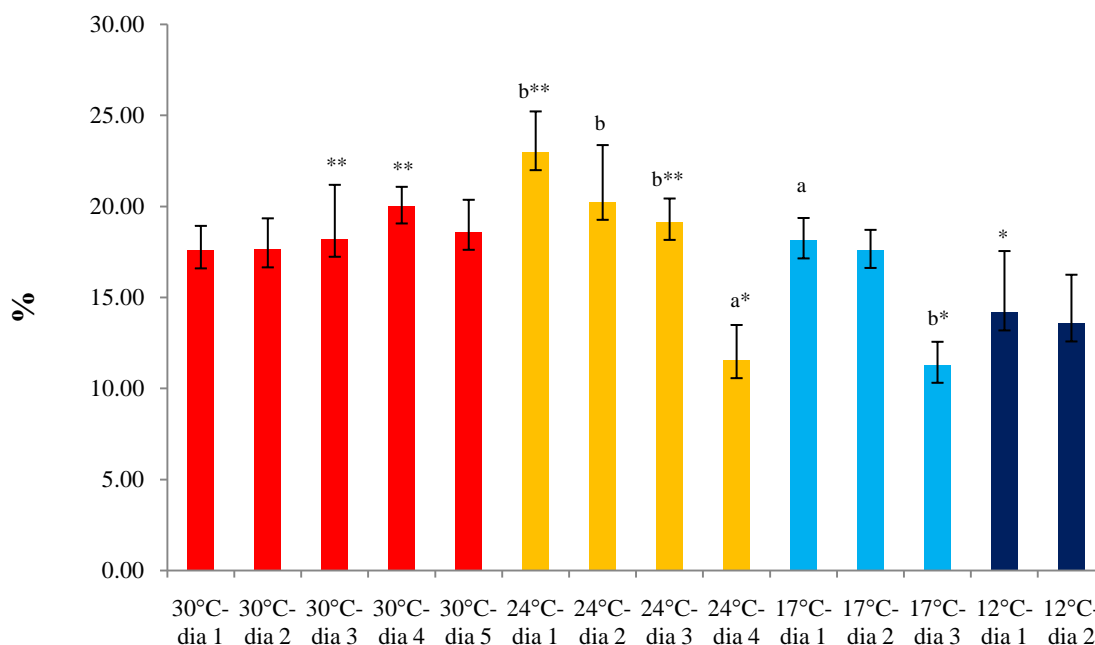


Fig. 9. Somatória dos ácidos graxos da classe ômega 3 com 20 ou 22 carbonos da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

Tabela 3. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidilcolina do tecido hepático de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M ± EPM)

Ácidos Graxos	30°C Dia 01	30°C Dia 02	30°C Dia 03	30°C Dia 04	30°C Dia 05	24°C Dia 01	24°C Dia 02	24°C Dia 03	24°C Dia 04	17°C Dia 01	17°C Dia 02	17°C Dia 03	12°C Dia 01	12°C Dia 02
SAT	46,35±1,30	43,92±1,58	44,78±2,34	41,08±0,71 [†]	43,72±1,39	40,04±2,33 ^{b*}	42,18±1,67 ^b	40,04±1,60 ^{b**}	49,43±4,07 ^{a**}	41,05±2,89 ^{a*}	43,14±0,95	48,56±1,73 ^{b*}	49,84±3,22 ^{a**}	47,96±5,46
MUFA	19,25±0,70	20,61±1,85	20,94±1,49	21,55±0,90	19,84±1,12	18,03±1,09	22,32±2,20	20,52±1,63	24,40±2,77	21,83±1,05	21,34±1,27	24,22±2,69	20,72±1,63	20,61±4,12
PUFA	33,68±0,85 [*]	34,27±2,81	34,03±3,83	37,11±1,54 ^{**}	36,02±2,30	41,68±2,93 ^{b**}	35,01±2,17 ^b	38,28±2,34 ^{b**}	25,48±3,38 ^{a*}	36,22±2,30 ^a	35,03±1,26	26,83±1,01 ^{b*}	29,12±4,89 [*]	30,53±4,20
PUFA n3	18,04±1,43	18,11±1,70	18,60±3,01 ^{**}	20,49±1,02 ^{**}	18,95±1,76	23,47±2,24 ^{b**}	20,72±3,12 ^b	19,66±1,32 ^{b**}	12,22±1,96 ^{a*}	18,60±1,28 ^a	17,99±1,08	11,65±1,23 ^{b*}	14,53±3,47 [*]	14,05±2,63
PUFA n6	15,27±1,11	16,01±2,19	15,34±0,83	16,51±1,02	17,01±0,66	18,10±1,21 ^b	14,14±1,66	18,37±1,48 ^b	12,98±2,04 ^a	17,48±1,20	16,89±0,42	15,01±0,56	14,47±1,46	16,17±1,70
C18n3	0,45±0,12	0,47±0,08	0,38±0,07	0,43±0,06	0,35±0,04	0,49±0,04	0,47±0,03	0,50±0,08	0,66±0,19	0,47±0,10	0,38±0,04	0,35±0,10	0,36±0,11	0,48±0,06
C20-22n3	17,59±1,33	17,64±1,69	18,22±2,95 ^{**}	20,05±1,01 ^{**}	18,61±1,75	22,98±2,23 ^{b**}	20,25±3,11 ^b	19,15±1,27 ^{b**}	11,56±1,92 ^{a*}	18,13±1,22 ^a	17,61±1,09	11,30±1,25 ^{b*}	14,18±3,36 [*]	13,57±2,67
C18n6	6,89±0,44	6,09±0,22	6,01±0,21	6,85±0,45	5,99±0,32	6,59±0,66	6,81±0,76	7,37±0,47	6,12±1,34	6,86±0,76	6,64±0,36	8,27±0,75	5,68±0,43	6,75±1,76
C20-22n6	6,97±0,99	8,52±2,24	7,76±0,64	7,88±0,53	9,42±0,38	9,71±0,94 ^b	5,57±0,65 ^a	9,21±1,07 ^{b**}	5,66±1,15	8,83±1,19 ^b	8,56±0,44 ^b	4,90±0,56 ^{a*}	7,30±1,10	7,98±2,19

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; ^{*}símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

Análise Posicional

•(sn-1)

Na comparação dos ácidos graxos saturados foi possível verificar uma tendência de aumento dos valores com o passar dos dias para os grupos mantidos nas temperaturas extremas, para 30°C se evidencia os maiores valores para o 5° dia de experimento, chegando a representar 60% dos valores encontrados, com diferenças em relação ao 1° (p=0,02) e 2° dias (p=0,001); com o menor valor encontrado no 1° dia de experimento, em relação ao 2°, 3°, 4° e 5° dias experimentais (p<0,05) (Tabela 4). Para o grupo mantido a 12°C existe um aumento brusco dos valores de SAT do 1° para o 2° dia de experimento (p<0,001). Na comparação entre os grupos testados no mesmo dia experimental é possível ressaltar os maiores valores encontrados no grupo 17°C em relação aos demais (p<0,05), grupo este que manteve os maiores valores de SAT durante o experimento (Figura 10). Para o 2° dia de experimento encontrou-se diferença estatística significativa entre os grupos 12 e 30°C, com maiores valores encontrados para o grupo 12°C (p=0,02). Para MUFA parece haver uma compensação dos resultados observados para SAT, com menores valores encontrados para o 5° dia experimental em 30°C em relação ao 1° e 2° dias de experimento. O 1° dia experimental no grupo 30°C apresentou a maior porcentagem de SAT, com diferença estatística significativa em relação ao grupo mantido a 24°C (p=0,02), mesmo padrão observado no 2° dia de experimento, com diferença significativa na comparação entre 30 e 12°C (p=0,02) (Tabela 4 e Figura 10).

Apesar de os ácidos graxos monoinsaturados compensarem as diferenças encontradas para SAT, os PUFA parecem estar diretamente relacionados com as mesmas diferenças. Foi possível verificar um padrão de diminuição de PUFA para os grupos 30, 24 e 12°C, com diferenças significativas em todos os grupos entre o 1 e 2° dias de experimento (p<0,05 para todas as comparações), o grupo 17°C por sua vez, se manteve estável, o que proporcionou diferença estatística em relação aos outros grupos experimentais, com menores valores encontrados no 1° dia de tratamento, sendo a classe ômega 3 responsável pelas diferenças, o 2° dia experimental mostrou os maiores valores de PUFA para o grupo 30°C na comparação com 12°C (p=0,02). Para os demais dias experimentais vale ressaltar diferenças estatísticas entre o 1° dia experimental de 30°C e os demais dias, com depleção progressiva dos valores. Nos animais do grupo mantido a 24°C foi possível verificar um padrão interessante de queda dos valores de PUFA no 2° dia experimental e volta aos valores iniciais no 4° dia de experimento,

sendo esta queda provocada por PUFA, n3, principalmente os ácidos graxos com 20 e 22 carbonos (Figura 11). Para o grupo mantido a 17°C pode-se verificar uma maior constância dos valores no decorrer do experimento, porém houve um aumento expressivo dos PUFA n6 de cadeia longa no 3º dia de experimento, com diferença encontrada na comparação com o 2º dia ($p=0,02$).

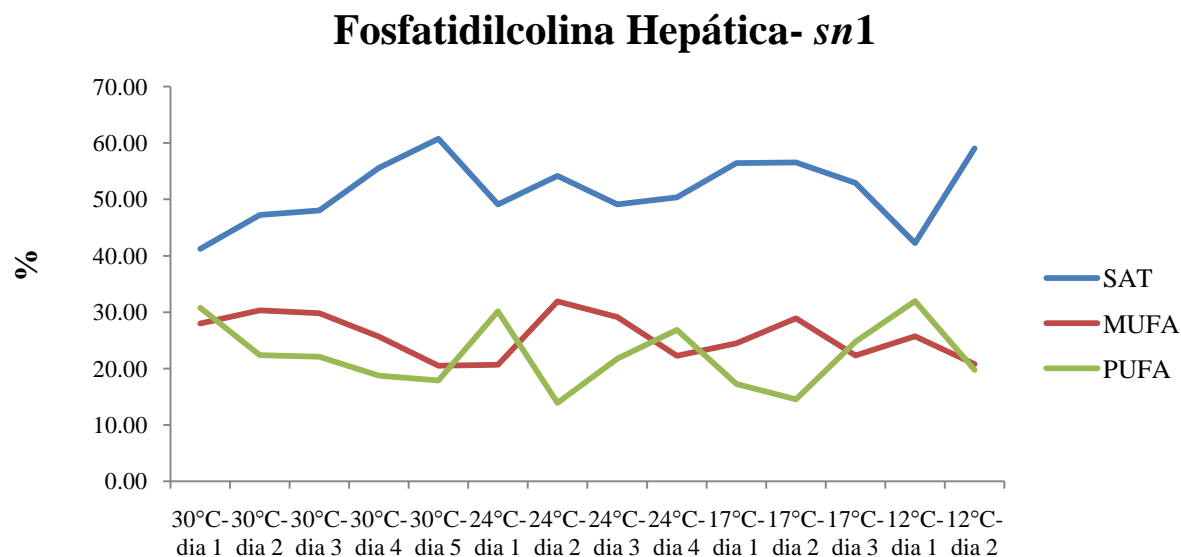


Fig. 10. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn-1* da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

Fosfatidilcolina Hepática- *sn*1 (C20-22 n3)

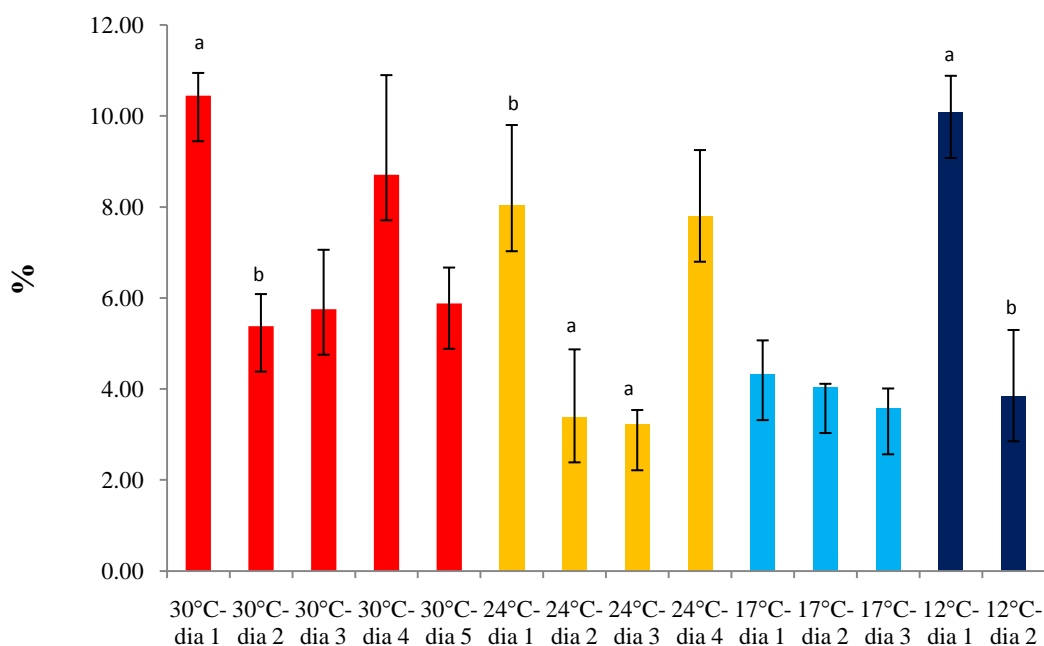


Fig. 11. Somatória dos ácidos graxos da classe ômega 3 com 20 ou 22 carbonos da posição *sn*-1 da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

• (*sn*-2)

Para SAT os valores se mantiveram estáveis com aumento significativo somente para os grupos 24 e 12°C; para 24°C com diferença significativa entre o 2 e 4º dia de experimento ($p < 0,05$) e para 12°C entre o 1º e 2º dia de experimento ($p = 0,001$), sendo que neste caso os valores de SAT curiosamente atingiram 50% do valor total, sendo este resultado compensado pela diminuição de MUFA para o grupo 12°C (Figura 12). Para PUFA, apesar de não existir diferença significativa parece haver a tendência de aumento dos valores para o grupo mantido a 30°C, com resultados concomitantes com o aumento progressivo de PUFA da classe ômega 6. Para o grupo mantido na menor temperatura nota-se um aumento significativo dos valores de PUFA n3, com ligação direta com os valores de PUFA de cadeia longa, enquanto que para o grupo 17°C houve uma brusca diminuição dos valores de PUFA n3 no 3º. dia experimental, em comparação com os dias 1 e 2, o que parece ter sido prontamente compensado pela substituição destes por C20-22n6 (Figura 13 e Tabela 5).

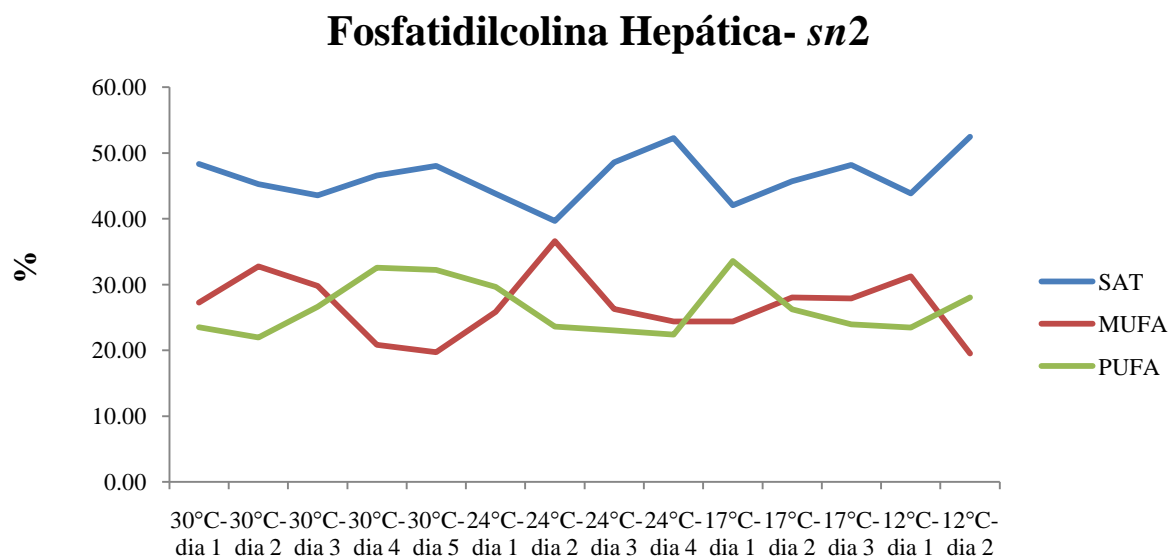


Fig. 12. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn-2* da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

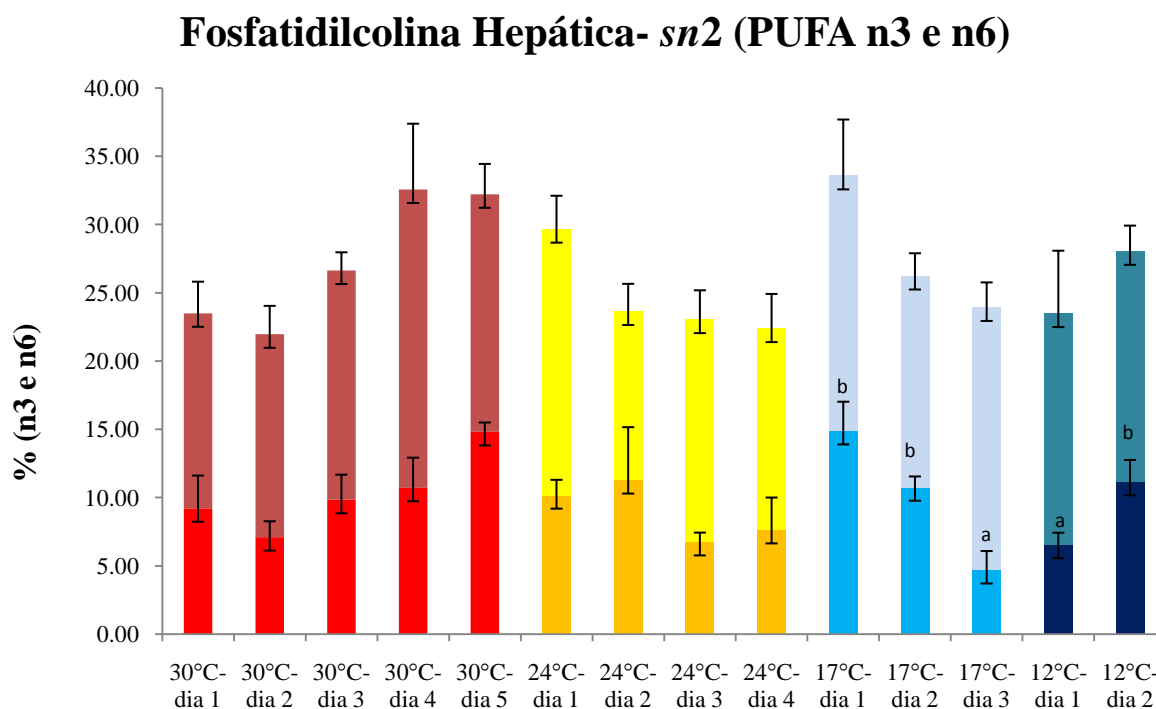


Fig. 13. Ácidos graxos ômega 3 (barras inferiores) e ômega 6 (barras superiores) da posição *sn-2* da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

Tabela 4. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*sn-1*) e 2 (*sn-2*) da fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M ± EPM)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 2		30°C- dia 3		30°C- dia 4		30°C- dia 5		
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	
SAT	41,20±0,67 ^{a*}	48,33±1,96	47,27±0,70 ^{b*}	45,26±3,31	48,03±2,53 ^{bc}	43,58±3,15	55,59±5,61 ^{bc}	46,58±6,69	60,77±0,07 ^c	48,06±1,08	
MUFA	28,01±2,58 ^{b**}	27,23±2,08	30,36±3,60 ^{b**}	32,78±4,12	29,84±2,31	29,79±0,28	25,69±10,30	20,85±1,68	20,54±1,86 ^a	19,73±3,97	
PUFA	30,79±2,80 ^{a**}	23,50±4,34	22,38±3,61 ^b	21,96±1,05	22,13±1,90 ^b	26,63±3,14	18,73±4,68 ^b	32,57±6,96	17,89±1,32 ^b	32,22±2,89	
PUFA n3	13,78±1,64 ^b	9,22±2,38	5,38±0,71 ^b	7,11±1,14	7,45±2,76 ^b	9,84±1,84	8,70±2,19	10,72±2,20	5,88±0,79	14,81±0,68	
PUFA n6	16,37±4,17	14,28±2,30	17,00±3,62	14,85±2,07	14,68±1,47	16,80±1,32	10,02±2,49	21,85±4,81	12,01±0,54	17,41±2,21	
C18n3	3,34±1,39	2,09±0,94	nd	nd	1,69±1,47	nd	nd	nd	nd	nd	
C20-22n3	10,44±0,50 ^a	7,13±2,14	5,38±0,71 ^b	7,11±1,14	5,75±1,31	9,84±1,84	8,70±2,19	10,72±2,20	5,88±0,79	14,81±0,68	
C18n6	6,03±1,44	6,69±1,08	7,25±0,55	8,67±0,91	7,22±0,74	8,42±0,17	9,53±2,78	9,37±1,38	6,42±0,91	9,58±1,62	
C20-22n6	10,34±3,44	7,59±1,22	9,74±4,16	6,18±1,49	7,46±1,82	8,38±1,48	0,49±0,28	12,48±3,49	5,60±0,37	7,82±0,59	
24°C-dia 1		24°C-dia 2		24°C-dia 3		24°C-dia 4					
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>			
SAT	49,12±2,41 [*]	43,79±3,16	54,19±7,03	39,65±1,15 ^b	49,11±4,41	48,58±4,23	50,39±2,88	52,26±1,28 ^a			
MUFA	20,71±1,81 ^{b**}	25,86±2,17	31,90±6,46	36,62±5,79	29,14±5,75	26,29±3,98	22,28±2,68	22,38±3,16			
PUFA	30,17±3,47 ^{b**}	29,66±1,42	13,91±0,58 ^a	23,63±5,83	21,75±1,70	23,04±1,46	26,88±0,79 ^b	22,38±4,46			
PUFA n3	11,20±1,26 ^b	10,18±1,11	3,38±1,48 ^a	11,29±3,86	3,21±0,32 ^a	6,75±0,67	7,79±1,45	7,63±2,36			
PUFA n6	18,98±4,54	19,48±2,44	10,52±1,37	12,35±2,02	18,54±2,02	16,28±2,14	18,75±1,32	14,75±2,53			
C18n3	3,17±2,75	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd			
C20-22n3	8,03±1,77 ^b	10,18±1,11	3,38±1,48 ^a	11,29±3,86	3,21±0,32 ^a	6,75±0,67	7,79±1,45	7,63±2,36			
C18n6	10,23±1,59	10,19±0,27	6,23±0,50 ^a	6,70±0,12	9,94±1,20	11,91±2,76	6,30±1,10	10,47±2,34			
C20-22n6	8,75±3,15	9,30±2,18	4,29±1,87	5,65±1,96	8,59±2,93	4,37±0,63	12,45±1,16	4,28±1,02			
17°C-dia 1		17°C-dia 2		17°C-dia 3		12°C-dia 1		12°C-dia 2			
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	
SAT	56,44±1,29 ^{**}	42,05±5,25	56,57±5,92	45,71±4,94	52,91±5,81	48,19±2,66	42,27±1,41 ^{a*}	43,85±4,22 ^a	59,06±4,42 ^{b**}	52,46±3,00 ^b	
MUFA	24,51±0,66	24,38±3,29	28,90±4,90	28,06±7,38	22,30±1,43	27,88±3,11	25,76±2,18	31,27±0,44 ^a	20,81±4,10 [*]	19,50±3,43 ^b	
PUFA	17,27±0,34 [*]	33,56±2,52	14,53±1,02	26,23±2,43	24,79±4,38	23,93±0,45	31,97±0,77 ^{b**}	23,48±5,47	19,79±0,64 ^a	28,04±3,45	
PUFA n3	4,31±0,75 [*]	14,88±2,13 ^b	4,03±0,08	10,76±0,78 ^b	3,56±0,45	4,70±1,37 ^a	12,94±2,46 ^{a**}	6,54±0,87 ^a	3,85±1,45 ^b	11,16±1,59 ^b	
PUFA n6	12,60±0,88	18,68±4,12	10,50±0,94	15,47±1,66	21,23±4,82	19,23±1,82	19,03±3,23	16,94±4,59	15,95±1,20	16,88±1,87	
C18n3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2,86±1,65	1,31±0,76	nd	nd	
C20-22n3	4,31±0,75	14,88±2,13 ^b	4,03±0,08	10,76±0,78	3,56±0,45	4,70±1,37 ^a	10,07±0,81 ^a	5,23±1,63 ^a	3,85±1,45 ^b	11,16±1,59 ^b	
C18n6	7,57±0,69	13,34±3,32	7,62±0,35	6,55±0,05	10,19±1,00	9,57±1,41	9,33±0,86	7,46±1,89	6,38±0,32	10,93±2,83	
C20-22n6	5,04±0,21	5,35±0,87 ^a	2,88±0,58 ^b	8,92±1,60	11,03±3,82 ^a	9,66±0,41 ^b	9,70±2,37	9,47±2,70	9,56±1,23	5,95±2,57	

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

Fração Fosfatidiletanolamina

Em todas as análises realizadas para esta fração fosfolipídica foram encontradas as maiores variações individuais e valores altos de erro padrão, o que não permitiu que a maioria dos valores passasse pelo teste de normalidade, impedindo assim que diferenças fossem detectadas pelos testes estatísticos. Para os ácidos graxos saturados foi possível observar flutuações dos valores entre os dias e entre os grupos experimentais (Figura 14), com diferenças verificadas no grupo mantido a 17°C entre os dias 1 e 2 ($p=0,01$), que apresentou uma redução brusca das porcentagens no 2º dia experimental, diferenças resultantes dos ácidos graxos C18:0 e C20:0 (Tabela 5 e anexo 3). Para o grupamento dos ácidos graxos monoinsaturados foi verificada uma tendência de aumento das porcentagens em todos os grupos ao final do experimento, o que provocou uma diferença significativa no 2º dia experimental do grupo 12°C, com os maiores valores dentre os demais grupos analisados ($p<0,001$), sendo que as diferenças encontradas estavam sempre ligadas ao ácido graxo C18:1 (Tabela 5 e Figura 14).

Para os ácidos graxos polinsaturados foi possível detectar um padrão curioso de aumento de valores no penúltimo dia experimental e posterior queda das porcentagens no último dia para os animais mantidos a 30, 24 e 17°C, sendo este padrão facilmente observado no gráfico de flutuação das porcentagens (Figura 14), e sempre acompanhado pelo aumento dos ácidos graxos monoinsaturados no último dia experimental. Com o exposto anteriormente encontrou-se diferenças estatísticas significativas nos valores de PUFA entre os dias 4 e 5 para 30°C ($p<0,05$), entre os dias 3 e 4 para 24°C ($p<0,05$) e para os dias 1 e 2 com o 3º dia experimental para o grupo 17°C, com maiores valores observados no segundo dia ($p<0,05$). Estes resultados foram consequência direta das flutuações dos ácidos graxos n3 de cadeia longa, principalmente o ácido docosaenoico (C22:6n3) (Figura 15). Para os ácidos graxos polinsaturados ômega 6 foi possível verificar os menores valores para o 1º dia experimental do grupo mantido a 17°C, com diferença estatística significativa em comparação com os animais mantidos em temperaturas mais altas (30 e 24°C, $p<0,001$ para ambos), corroborando com um aumento dos valores no 2º dia experimental para este grupo (Tabela 5 e Anexo 3).

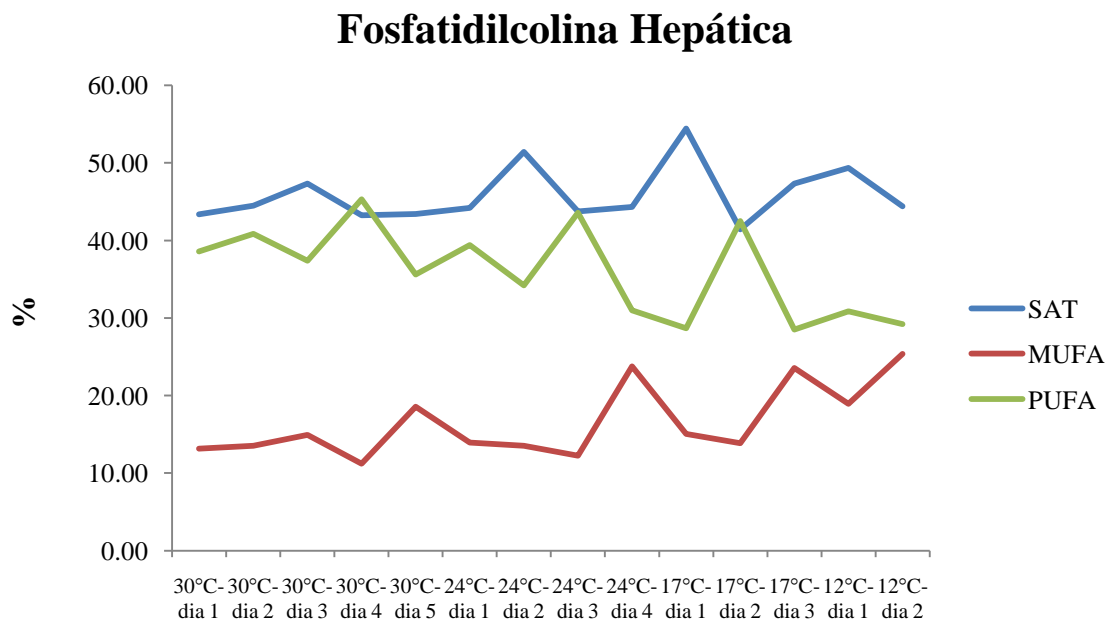


Fig. 14. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

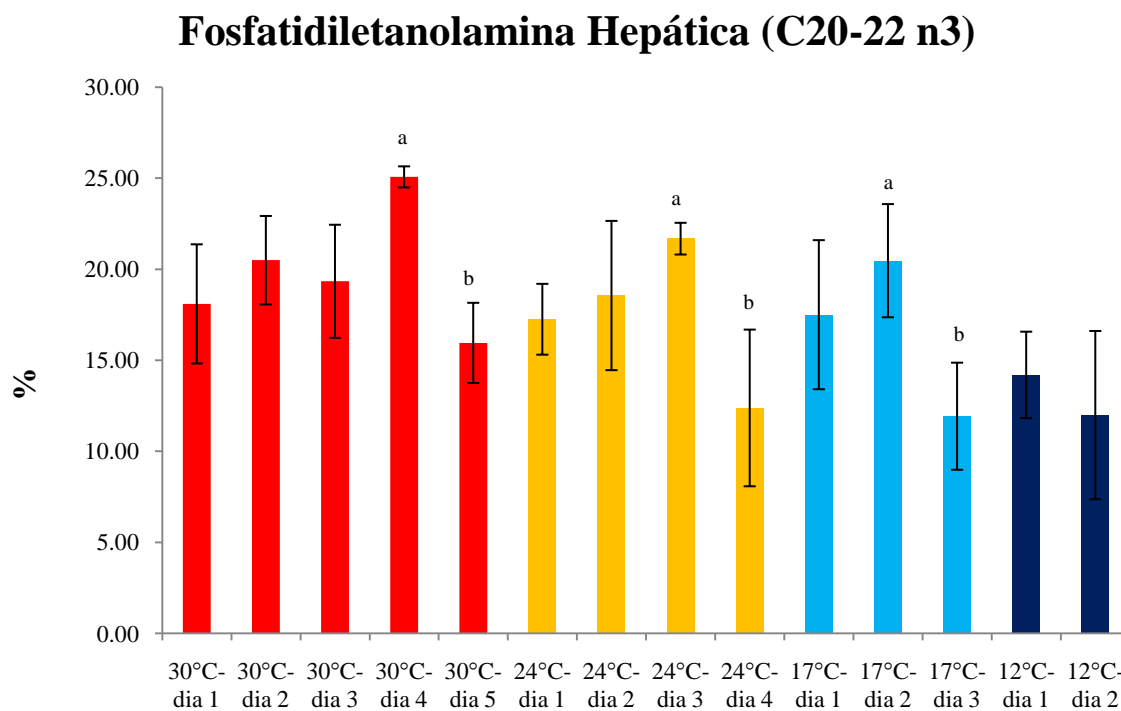


Fig. 15. Somatória dos ácidos graxos da classe ômega 3 com 20 ou 22 carbonos da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

Tabela 5. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidiletanolamina do tecido hepático de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M ± EPM)

Ácidos Graxos	30°C Dia 01	30°C Dia 02	30°C Dia 03	30°C Dia 04	30°C Dia 05	24°C Dia 01	24°C Dia 02	24°C Dia 03	24°C Dia 04	17°C Dia 01	17°C Dia 02	17°C Dia 03	12°C Dia 01	12°C Dia 02
SAT	43,37±9,14	44,47±3,23	47,32±3,17	43,23±0,61	43,41±6,83	44,19±3,22	51,40±5,43	43,75±1,77	44,33±6,23	54,41±4,97 ^a	41,43±3,59 ^b	47,33±8,81	49,35±5,65	44,39±5,28
MUFA	13,17±1,75	13,52±0,39 [*]	14,92±1,81	11,22±0,72	18,56±2,92	13,94±1,59	13,52±2,17 [*]	12,23±0,26	23,76±7,24	15,07±2,90	13,84±0,72 [*]	23,55±4,95	18,95±3,42	25,39±7,19 ^{**}
PUFA	38,59±8,72	40,84±3,56	37,39±4,81	45,33±0,53 ^a	35,61±3,79 ^b	39,39±3,86	34,19±5,47	43,59±1,94 ^a	30,97±5,95 ^b	28,66 ±3,67 ^b	42,49±3,61 ^a	28,50±4,01 ^b	30,85±3,87	29,19±6,56
PUFA n3	18,52±3,31	21,10±2,48	19,70±3,19	25,67±0,56 ^a	16,61±2,19 ^b	18,87±2,37	19,01±4,14	22,58±0,77	12,89±4,36	17,87±4,15	21,38±2,81	12,56±2,98	14,79±2,45	12,39±4,54
PUFA n6	19,46±5,32 ^{**}	19,44±1,48	17,48±2,13	19,62±0,10	18,62±1,69	19,81±2,06 ^{**}	14,83±1,50	20,76±1,99	17,99±2,02	10,55±1,32 ^{a*}	20,77±0,85 ^b	15,47±2,95	15,83±1,96	16,49±2,35
C18n3	0,42±0,08	0,60±0,09	0,36±0,09	0,60±0,02	0,66±0,24	1,62±1,01	0,46±0,06	0,90±0,12	0,51±0,16	0,36±0,09	0,91±0,31	0,63±0,14	0,60±0,14	0,41±0,13
C20-22n3	18,10±3,27	20,50±2,43	19,34±3,11	25,07±0,58 ^a	15,95±2,20 ^b	17,25±1,95	18,56±4,10	21,68±0,87 ^a	12,38±4,30 ^b	17,50±4,09	20,47±3,11 ^a	11,93±2,94 ^b	14,20±2,37	11,99±4,62
C18n6	8,79±2,51	7,41±1,05	6,59±0,97	7,55±0,33	8,35±1,43	5,62±1,14	5,96±0,49	9,23±0,76	8,24±1,73	4,32±0,71	7,22±0,69	9,10±2,48	7,89±1,44	7,47±1,83
C20-22n6	9,23±2,93	10,20±0,33	9,07±1,44	9,88±0,39	9,06±0,53	12,98±2,92	7,43±0,79	9,34±1,06	8,51±2,29	5,72±0,93	11,08±0,40	5,66±1,55	6,86±0,76	8,02±2,12

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

Análise Posicional

•(sn--1)

Os ácidos graxos saturados apresentaram uma tendência de diminuição dos valores com o passar dos dias de experimentos para os grupos 24°C (diferença estatística entre o 1° e 4° dia de experimento $p < 0,05$) e 17°C (diferença estatística entre o 2° e 3° dia de experimento $p < 0,05$), para o grupo mantido a 30°C ocorre uma diminuição dos valores no 2° dia de experimento (diferença estatística entre o 1° e 2° dia $p = 0,02$) e um restabelecimento dos valores no 4° dia experimental (diferença detectada na comparação entre o 2° e 4° dias $p < 0,05$), para o grupo mantido a 12°C o oposto foi observado, com valores aumentados no 2° dia experimental em relação ao 1° dia ($p = 0,001$) (Tabela 6). Na comparação entre os grupos experimentais notou-se diferença entre os animais mantidos nas maiores temperaturas testadas no 4° dia experimental, com maiores valores encontrados para o grupo 30°C ($p = 0,001$), enquanto que na comparação entre os grupos 17 e 30° verificou-se valor estatisticamente aumentado para o grupo 17°C no 2° dia de experimento ($p < 0,05$).

Na análise dos ácidos graxos monoinsaturados foi possível verificar um aumento de valores, fato que parece ter sido compensado pela diminuição dos valores de SAT (Figura 16 e Tabela 6), no grupo 24°C no 3° dia, sendo esta alta porcentagem mantida no 4° dia de experimento, ambos os dias apresentaram diferença estatística na comparação com o 2° dia experimental. O mesmo aumento das porcentagens foi observado para o grupo 17°C no 3° dia de experimento, com diferença estatística na comparação com o 1° ($p = 0,02$) e 2° dias ($p < 0,05$). Na comparação entre as temperaturas testadas é possível verificar os maiores valores para o grupo 12°C no 1° dia experimental em na comparação com as outras temperaturas testadas ($p < 0,05$) e no 2° dia de experimento os menores valores encontrados foram observados no grupo 24° com diferença estatística em relação aos grupos 17°C ($p = 0,03$) e 12°C ($p = 0,02$).

Para PUFA não foram evidenciadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, porém pode-se observar uma tendência de queda dos valores no 3° dia experimental para o grupo 24°C. A classe ômega 3 por sua vez mostrou uma brusca diminuição dos valores entre os dias 2 e 4 para o grupo 30°C, enquanto que para a classe n6 apresentou uma queda significativa dos valores no grupo 17°C, com diminuição nos valores entre o 1° e 3° dia de experimento ($p = 0,02$).

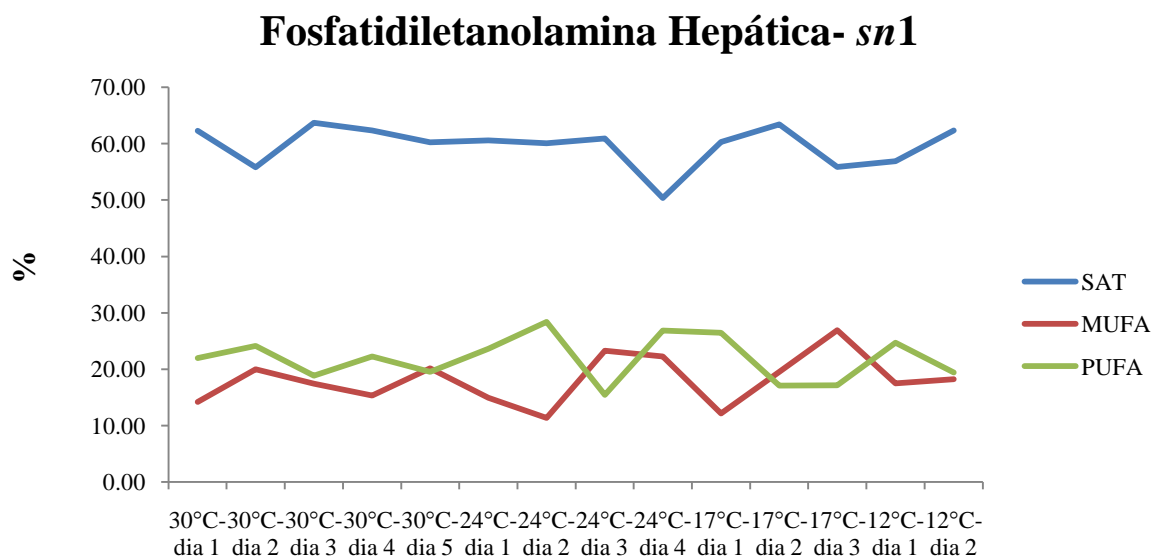


Fig. 16. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn-1* da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

- (*sn-2*)

Para SAT foi possível observar para os grupos mantidos em temperaturas mais altas uma tendência de queda dos valores com o passar dos dias experimentais, culminando com diferença estatística significativa para o 5º dia experimental do grupo 30°C em relação aos 3 primeiros dias ($p < 0,05$) e também diferenças entre o 1º e 4º dia experimental para o grupo 24°C. Para 12°C o comportamento oposto foi observado, com aumento de valores do 1º em relação ao 2º dia de experimento ($p = 0,02$). Na comparação entre os diferentes tratamentos é possível evidenciar para o 1º dia valores estaticamente maiores no grupo 30°C em comparação com as temperaturas mais baixas ($p < 0,05$), o que mostra a tendência de diminuição deste grupamento com a diminuição da temperatura, mesmo comportamento observado na comparação do 2º dia experimental entre o grupo 30 e 17°C ($p < 0,001$).

Os ácidos graxos monoinsaturados mostraram relação inversa ao observado para SAT (Figura 17 e Tabela 6), ressaltando um aumento dos valores para o grupo 30°C entre o 1º e 5º dia de experimento ($p < 0,05$) e em 24°C aumento dos valores no 4º dia de experimento em relação aos demais, sem diferença estatística significativa. Para 12°C,

diferente do descrito para os grupos mantidos nas maiores temperaturas houve uma diminuição de valores entre o 1º e 2º dia de experimento ($p=0,04$).

Para PUFA a única diferença observada foi a diminuição dos valores de PUFA n3, ligados intimamente com os ácidos graxos de cadeia longa entre o 2º e 4º dias experimentais no grupo mantido a 24°C (Tabela 6 e Anexo 4).

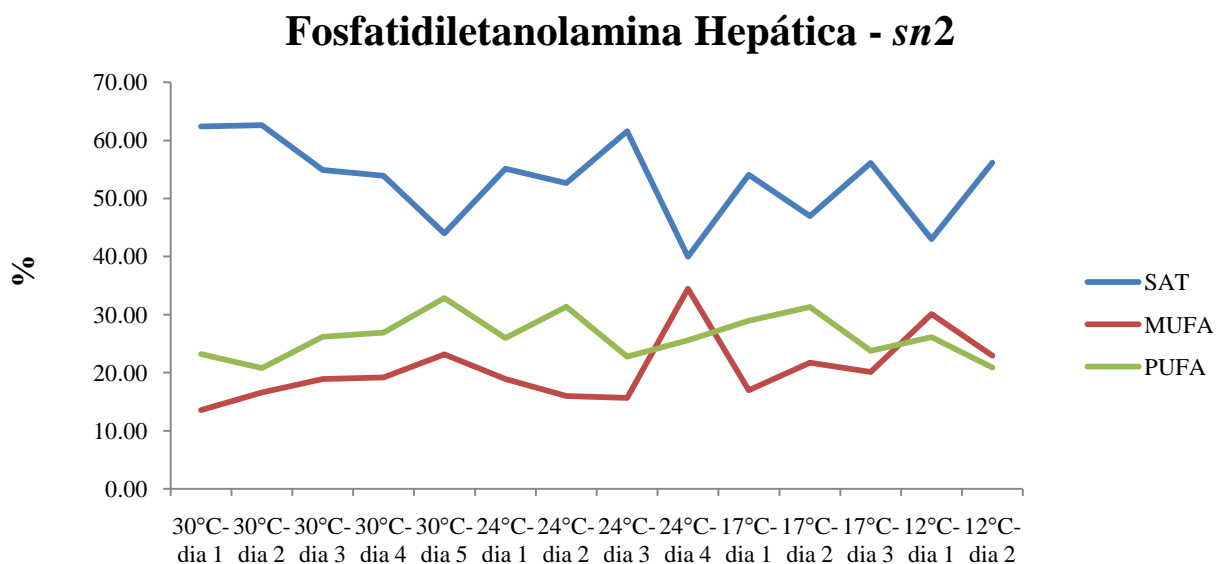


Fig. 17. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn-2* da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

Tabela 6. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*sn-1*) e 2 (*sn-2*) da fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M ± EPM)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 2		30°C- dia 3		30°C- dia 4		30°C- dia 5	
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	62,28±3,14 ^a	62,40±3,58 ^{b*}	55,83±3,06 ^{ab}	62,60±3,13 ^{b**}	63,70±5,48	54,88±2,29 ^b	62,37±3,33 ^{**}	53,93±2,48	60,26±3,56	43,96±4,05 ^a
MUFA	14,24±4,92 [*]	13,59±4,85 ^a	19,98±3,87	16,60±5,16	17,46±3,86	18,93±2,44	15,34±1,31	19,16±0,95	20,20±6,53	23,16±1,43 ^b
PUFA	21,97±1,26	23,23±3,59	24,12±4,12	20,80±2,91	18,85±2,22	26,19±3,44	22,29±3,93	26,91±1,85	19,54±3,76	32,87±4,58
PUFA n3	3,80±1,65	7,75±1,78	8,10±2,50 ^a	7,73±2,79	5,39±1,93	11,72±2,43	3,61±0,93 ^b	9,82±1,62	5,43±2,79	16,42±2,64
PUFA n6	18,17±2,43	15,47±2,25	16,02±2,59	13,07±1,20	13,46±0,57	14,47±2,55	18,69±3,03	17,09±1,04	14,11±2,90	16,45±2,19
C20-22n3	3,80±1,65	7,75±1,78	8,10±2,50	7,73±2,79	5,39±1,93	11,72±2,43	3,61±0,93	9,82±1,62	5,43±2,79	16,42±2,64
C18n6	9,82±1,66	6,73±1,57	8,71±2,45	8,47±1,58	6,75±1,05	8,35±1,61	11,10±1,17	7,67±0,44	9,12±1,53	6,26±1,61
C20-22n6	8,35±1,06	8,74±2,34	7,32±0,73	4,60±1,98	6,71±1,10	6,12±2,67	7,59±2,19	9,42±1,22	4,99±1,93	10,19±1,53
	24°C-dia 1		24°C-dia 2		24°C-dia 3		24°C-dia 4			
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>		
SAT	60,57±0,96 ^a	55,12±4,29 [*]	60,07±2,28	52,65±2,84	60,92±8,26	61,57±0,44 ^b	50,39±2,88 ^{a*}	39,98±11,35 ^a		
MUFA	14,97±3,37 [*]	18,89±3,78	11,36±1,53 ^{a*}	15,97±3,16	23,27±4,05 ^b	15,64±2,48	22,28±2,68 ^b	34,44±10,75		
PUFA	23,61±2,70	25,99±0,71	28,42±3,91	31,38±2,62	15,44±4,48	22,79±2,74	26,88±0,79	25,57±2,14		
PUFA n3	6,66±1,43	10,07±2,01	7,68±0,83	13,64±2,10 ^a	4,87±0,48	7,14±1,72	7,79±1,45	5,55±1,32 ^b		
PUFA n6	16,95±3,38	15,92±2,34	20,74±3,10	17,74±1,00	10,57±4,93	15,64±2,78	18,75±1,32	20,02±3,38		
C20-22n3	6,66±1,43	10,07±2,01	7,68±0,83	13,64±2,10 ^a	4,87±0,48	7,14±1,72	7,79±1,45	5,55±1,32 ^b		
C18n6	12,01±3,08	8,70±0,76	12,05±1,75	8,51±0,10	5,37±1,67	7,30±0,34	6,30±1,10	11,58±2,11		
C20-22n6	4,94±1,14	7,22±2,77	8,70±2,19	9,23±0,91	5,19±3,27	8,34±2,46	12,45±1,16	8,44±1,38		
	17°C-dia 1		17°C-dia 2		17°C-dia 3		12°C-dia 1		12°C-dia 2	
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	60,31±1,56	54,09±0,79 [*]	63,39±6,58 ^{a**}	46,96±5,58 [*]	55,89±2,33 ^b	56,11±1,99	56,87±1,66 ^a	42,99±5,06 [*]	62,33±2,39 ^b	56,16±4,92 ^b
MUFA	12,14±4,66 ^{a*}	16,97±3,09	19,52±3,36 ^{a**}	21,74±4,84	26,93±1,88 ^b	20,14±2,31	17,50±4,36 ^{**}	30,08±2,44 ^a	18,26±3,86 ^{**}	22,94±0,11 ^b
PUFA	26,47±4,31	28,94±2,32	17,09±5,25	31,30±5,93	17,19±0,85	23,75±1,40	24,71±6,15	26,11±3,48	19,41±1,47	20,90±4,80
PUFA n3	8,53±2,51	9,13±2,90	5,00±0,84	13,33±4,30	6,73±0,57	8,02±1,48	4,86±0,92	6,99±1,86	5,09±0,75	7,96±3,28
PUFA n6	17,94±1,80 ^a	19,81±1,96	12,09±4,90	17,97±1,66	10,46±0,88 ^b	15,73±1,54	19,85±5,91	19,12±2,48	14,32±2,23	12,94±1,52
C20-22n3	8,53±2,51	9,13±2,90	5,00±0,84	13,33±4,30	6,73±0,57	8,02±1,48	4,86±0,92	6,99±1,86	5,09±0,75	7,96±3,28
C18n6	10,24±0,86 ^b	8,28±0,97	4,05±1,41 ^a	7,61±0,52	7,86±0,24	9,04±1,10	6,68±1,29	9,18±1,68	7,48±1,59	8,14±0,08
C20-22n6	7,69±1,99	11,54±2,65	8,04±3,71	10,36±2,00	2,59±0,99	6,69±0,44	13,18±4,73	9,94±1,90	6,84±0,63	4,80±1,44

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

- Tecido Encefálico

Fração Fosfatidilcolina

Para o grupo mantido a 30°C foi possível observar um aumento dos valores dos ácidos graxos saturados no 2º dia de experimento e volta aos valores iniciais ao final do período apresentando diferença estatística entre o 2º e 5º dias experimentais ($p=0,03$), enquanto que na comparação dos grupos em um mesmo dia de tratamento se observou os maiores valores de SAT no grupo mantido a 12°C em relação ao grupo mantido a 24°C ($p=0,02$) no 1º dia e entre os grupos 24 e 30°C no 2º dia de experimento, com valores maiores para os animais mantidos na maior temperatura testada. Para MUFA se verificou queda pontual dos valores em 30, 24 e 17°C no 2º dia experimental para as temperaturas intermediárias e no 3º dia para o grupo 30°C ($p<0,05$ para todas as comparações), fato que não foi corroborado pelo grupo 12°C, que ao contrário, teve seus valores aumentados no 2º dia experimental ($p=0,02$), sendo este comportamento responsável por diferenças estatísticas significativas em comparação com os grupos mantidos a 24 e 17°C no mesmo dia experimental ($p=0,001$) (Figura 18).

Para os ácidos graxos polinsaturados nota-se que o grupo mantido a 30°C apresentou um aumento em cerca de 10% de sua porcentagem entre os dias 2 e 3 de manutenção ($p=0,02$), valores que se mantiveram altos até o último dia de tratamento, sendo que, como observado no gráfico de flutuação dos valores (Figura 18), este aumento de porcentagens foi proporcionalmente inverso à diminuição dos valores de MUFA. Como já detectado entre os dias experimentais para o grupo 30°C, o 2º dia de manutenção dos animais nesta temperatura também apresentou menores valores quando comparado com os grupos 24º ($p=0,09$) e 17°C ($p=0,013$), sendo também maiores em comparação com o grupo 12°C ($p=0,010$ para 24°C e $p=0,03$ para 17°C). Estas diferenças foram todas corroboradas pelos ácidos graxos polinsaturados na série n3, principalmente representados pelo C22:5n3 (Tabela 7 e Anexo 5).

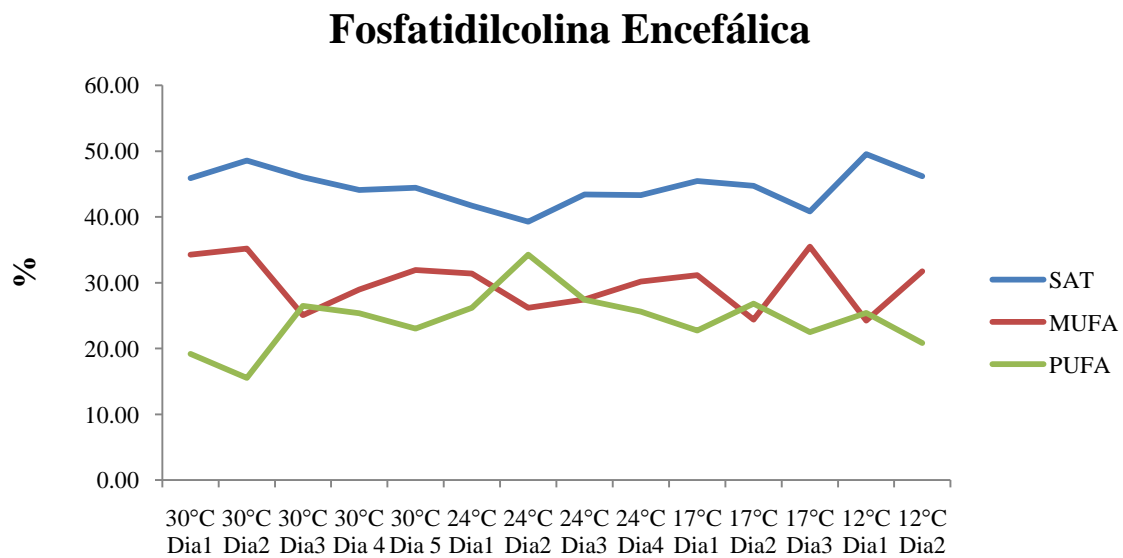


Fig. 18. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

Tabela 7. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M ± EPM)

Ácidos Graxos	30°C Dia 01	30°C Dia 02	30°C Dia 03	30°C Dia 04	30°C Dia 05	24°C Dia 01	24°C Dia 02	24°C Dia 03	24°C Dia 04	17°C Dia 01	17°C Dia 02	17°C Dia 03	12°C Dia 01	12°C Dia 02
SAT	45,89±0,74	48,56±1,87 ^{**a}	46,04±1,00	44,09±3,74	44,42±1,30 ^b	41,70±3,88 [*]	39,28±3,85 [*]	43,41±2,61	43,34±1,09	45,45±1,10	44,70±1,56	40,83±3,95	49,53±3,89 ^{**}	46,19±2,31
MUFA	34,25±0,63	35,20±0,68 ^a	25,07±4,54 ^{b*}	28,96±4,08	31,92±0,77	31,41±3,48 ^a	26,19±4,67 ^{b*}	27,44±4,55 [*]	30,19±0,67	31,14±1,41 ^a	24,40±3,26 ^{b*}	35,48±5,37 ^{**}	24,26±4,12 ^a	31,72±0,94 ^{b**}
PUFA	19,20±0,79	15,52±1,84 ^{a*}	26,47±3,32 ^b	25,37±4,70	23,02±2,07	26,19±6,88	34,27±7,88 ^{**}	27,41±0,62	25,61±0,85	22,73±0,36	26,84±0,99 ^{**}	22,51±2,04	25,41±0,78	20,83±2,32 [*]
PUFA n3	10,99±0,90	8,51±1,43 ^{a*}	11,92±0,66 ^b	13,06±3,95	12,84±1,13	15,38±5,42	23,75±7,26 ^{**}	15,61±1,51	15,79±0,32	14,16±0,54	12,79±1,47 [*]	12,55±2,02	14,51±1,27	12,03±1,59 [*]
PUFA n6	8,11±0,10	6,88±0,46	13,77±3,24	11,46±2,39	9,88±1,15	10,64±1,50	9,39±1,51	11,40±1,84	9,66±0,63	8,36±0,20	12,83±1,65	9,61±0,82	10,41±1,53	8,56±0,78
C18n3	0,14±0,03	0,23±0,12	0,90±0,36	0,35±0,06	0,18±0,02	0,33±0,10	0,37±0,17	0,32±0,16	0,12±0,01	0,17±0,03	0,60±0,21	0,29±0,15	0,41±0,17	0,18±0,03
C20-22n3	10,85±0,93	8,28±1,47 ^{a*}	11,02±0,88 ^b	12,71±3,92	12,67±1,14	15,05±5,37	23,39±7,14 ^{**}	15,29±1,66	15,67±0,32	13,99±0,52	12,19±1,65 [*]	12,25±2,16	14,10±1,43	11,85±1,59 [*]
C18n6	2,04±0,12	1,73±0,25	4,00±0,96	3,37±0,95	2,10±0,14	2,15±0,29	3,05±1,27	3,35±1,30	2,12±0,11	1,98±0,09	4,27±1,08	3,15±1,05	2,31±0,76	2,35±0,18
C20-22n6	6,07±0,13	5,14±0,40	9,77±2,31	8,09±1,99	7,78±1,19	8,48±1,64	6,34±0,47	8,05±0,55	7,54±0,56	6,38±0,21	8,56±0,76	6,46±0,83	8,10±0,86	6,21±0,73

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

Análise Posicional

- (*sn-1*)

Analisando-se a posição *sn-1* dos ácidos graxos da fração fosfatidilcolina do grupo mantido a 30°C nota-se um aumento das porcentagens de ácidos graxos saturados, culminando nas maiores porcentagens encontradas no 5° dia de experimento, porcentagens estas que representam mais de 80% em relação aos demais ácidos graxos, com diferenças estatisticamente significativas em relação a todos os outros dias de manutenção ($p < 0,001$) (Tabela 8). Este aumento acentuado está ligado diretamente às altas porcentagens de C16:0 e C18:0. Para o grupamento dos ácidos graxos monoinsaturados foi possível detectar que, como consequência do aumento progressivo dos ácidos graxos saturados detalhado anteriormente, os MUFA diminuíram consideravelmente suas porcentagens culminando nos menores valores observados para o 5° dia experimental no grupo mantido a 30 °C, com valores estatisticamente diferentes em relação a todos os dias analisados ($p < 0,05$), concomitantemente os 2 primeiros dias experimentais apresentaram os maiores valores verificados, com diferenças estatisticamente significativas em relação aos dias 3 e 4 ($p = 0,02$ e $p = 0,001$). Os ácidos graxos poliinsaturados por sua vez tiveram comportamento similar ao observado para os MUFA no grupo de animais mantido nas maiores temperaturas ambientais, diminuição das porcentagens quando ocorreu o aumento dos ácidos graxos saturados, apresentando seus menores valores para o 2 e 5° dias experimentais com diferenças estatisticamente significativas em relação aos outros dias ($p < 0,001$) (Tabela 8 e Figura 19).

Na análise do grupo de animais mantidos a 24°C para os ácidos graxos saturados foi possível detectar altos valores iniciais, um padrão de diminuição das porcentagens no 2 e 3° dias experimentais e um restabelecimento dos valores no 4° dia , com diferenças estatísticas obtidas nos dias 1 e 4 em relação aos dias 2 e 3 ($p < 0,05$) (Tabela 8). Como consequência destes altos valores para o 1° e 4° dias experimentais as mesmas diferenças encontradas para os ácidos graxos saturados se apresentaram de forma diretamente inversa para MUFA, com maiores valores encontrados nos dias 2 e 3 a 24°C ($p < 0,05$). Para os PUFA foi possível verificar altos valores no 3° dia de experimento, sendo estes valores correspondentes principalmente à série ômega 6 de cadeia curta (C18:2n6 e C18:3n6) (Tabela 8).

Para o grupo mantido a 17°C notou-se na análise dos ácidos graxos saturados um aumento progressivo dos valores com o passar dos dias, culminando em porcentagens

estatisticamente maiores para os dias 2 e 3 em relação ao 1º dia experimental ($p=0,009$ e $p=0,003$ respectivamente). Estas diferenças foram detectadas de forma inversamente proporcional para os ácidos graxos monoinsaturados, com os menores valores sendo apresentados no último dia experimental. Para PUFA os valores mantiveram-se como nas outras temperaturas testadas, porém houve no 2º dia experimental uma queda brusca do ácido graxo C18:2n6 (de 16,8% para 3,64%), valores que mantiveram-se extremamente baixos no 3º dia de experimento, culminando em diminuição de 91% dos valores com o decorrer do experimento, com diferenças estatísticas detectadas em relação ao primeiro e último dia experimentais ($p<0,001$) (Tabela 8 e Figura 19).

Para os animais mantidos a 12°C por sua vez os valores dos ácidos graxos saturados mantiveram-se estáveis. As principais mudanças, com vistas à reestruturação das membranas, foram detectadas com um aumento de ácidos graxos polinsaturados, representado pelo aumento de todos os ácidos graxos n6 em relação o 1º dia de experimento ($p=0,009$), e queda de ácidos graxos monoinsaturados. Porém, neste grupo, ocorreu também uma grande variação de valores entre os animais, o que impediu a eficácia dos testes estatísticos empregados.

Considerando-se a análise do mesmo dia experimental em diferentes temperaturas, SAT mostrou o grupo 24°C como detentor das maiores porcentagens no 1º dia experimental na comparação com 17°C ($p=0,03$) e 30°C ($p=0,02$), enquanto que no 2º dia de experimento os grupos 30 e 17°C apresentaram as maiores porcentagens na comparação com 24°C ($p<0,05$), mesma diferença detectada na comparação entre 17 e 24°C no 3º dia de experimento, com maiores valores para o 1º grupo ($p=0,02$).

MUFA por sua vez mostra que o grupo mantido a 24°C diferente do padrão de diminuição das porcentagens com o passar dos dias de experimento houve um aumento das porcentagens no 2º e 3º dias, com a posterior queda dos valores no 4º dia de manutenção, o que resultou em valores estatisticamente maiores para este período em relação aos animais mantidos a 30 e 17°C, e para o 2º dia em relação ao grupo 12°C ($p<0,001$). Como é possível notar no Anexo 6 todos as diferenças encontradas para os MUFAs neste tratamento são corroboradas pela diminuição de C18:0 e incorporação de C18:1 na posição correspondente do fosfolípido.

Na análise de PUFA nota-se que novamente o grupo 24°C diverge dos demais grupos analisados, com baixos valores no 1º dia experimental em relação aos grupos 30 e 17°C ($p=0,008$ e $p=0,03$, respectivamente).

Fosfatidilcolina Encefálica - *sn1*

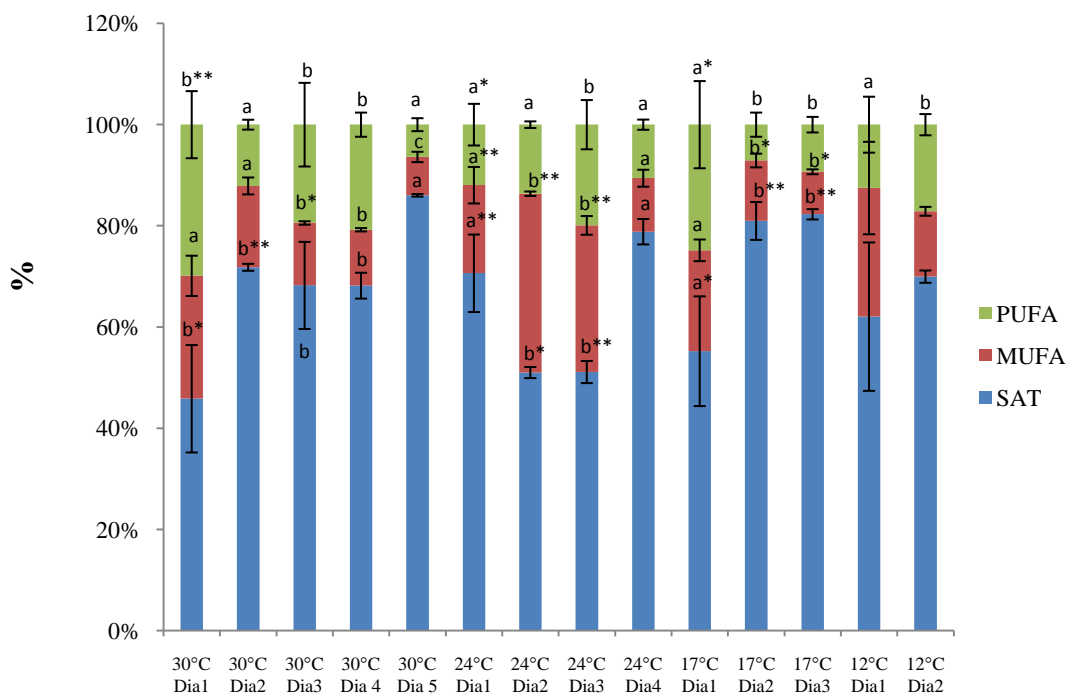


Fig. 19. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn-1* da fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

- (*sn-2*)

Para o grupo mantido a 30°C foi possível observar uma diminuição progressiva dos ácidos graxos saturados com decorrente aumento dos ácidos graxos monoinsaturados no mesmo período, com diferença estatística significativa nos dois últimos dias de experimento em relação aos demais ($p < 0,05$), enquanto que as porcentagens de ácidos graxos polinsaturados mantiveram-se altas durante todo o período experimental, porém houve uma queda das porcentagens no 4º dia experimental em relação aos demais ($p < 0,001$), valores que foram restabelecidos no último dia de coleta (Tabela 8 e Anexo 6).

O grupo 24°C apresentou valores relativamente estáveis para os três principais grupamentos de ácidos graxos (SAT, MUFA e PUFA- Figura 20) durante os três primeiros dias de experimento, porém no 4º dia houve queda dos valores de ácidos graxos saturados e consequente aumento dos ácidos graxos polinsaturados,

principalmente representado pelo C18:2n6, sendo que este dia em especial apresentou diferenças estatística com os menores valores de saturados e maiores valores de polinsaturados em comparação com o restante do período ($p < 0,05$).

Analisando-se o grupo mantido a 17°C foi possível detectar também uma diminuição dos ácidos graxos saturados, porém com decorrente aumento dos MUFA, e não em PUFA, com o decorrer do experimento, e novamente o ácido oléico (C18:1), em detrimento à diminuição de C18:0, foi o responsável pelo aumento nas porcentagens de MUFA.

No grupo mantido na menor temperatura testada houve do 1° para o 2° dia de experimento uma diminuição brusca dos ácidos graxos monoinsaturados compensado pelo aumento de PUFA, representado principalmente pelo C18:2n6, com diferença estatística significativa para os dois grupamentos entre os dias analisados ($p = 0,008$ para MUFA e $p < 0,001$ para PUFA, Tabela 8).

Apesar de não existir diferença estatística entre os grupos experimentais é possível detectar uma tendência de diminuição de valores de SAT com o decorrer do experimento para todos os grupos testados, porém o modo de compensação desta diminuição é característico de cada temperatura testada, como exemplo a comparação do grupamento MUFA entre os grupos 30°C e os mantidos em menores temperaturas mostram que até o 3° dia de experimento os valores mantiveram-se altos para estes ($p < 0,001$), quando houve um aumento e manutenção de maiores porcentagens para o grupo 30°C. Curiosamente para os ácidos graxos polinsaturados o oposto é verdadeiro, as porcentagens se mantêm altas no grupo mantido a 30°C até o 3° dia com diferenças estatística em comparação com os animais mantidos em temperaturas intermediárias ($p < 0,001$) e em comparação com o grupo 12°C no 1° dia de manutenção (Figura 20).

Fosfatidilcolina Encefálica- *sn*2

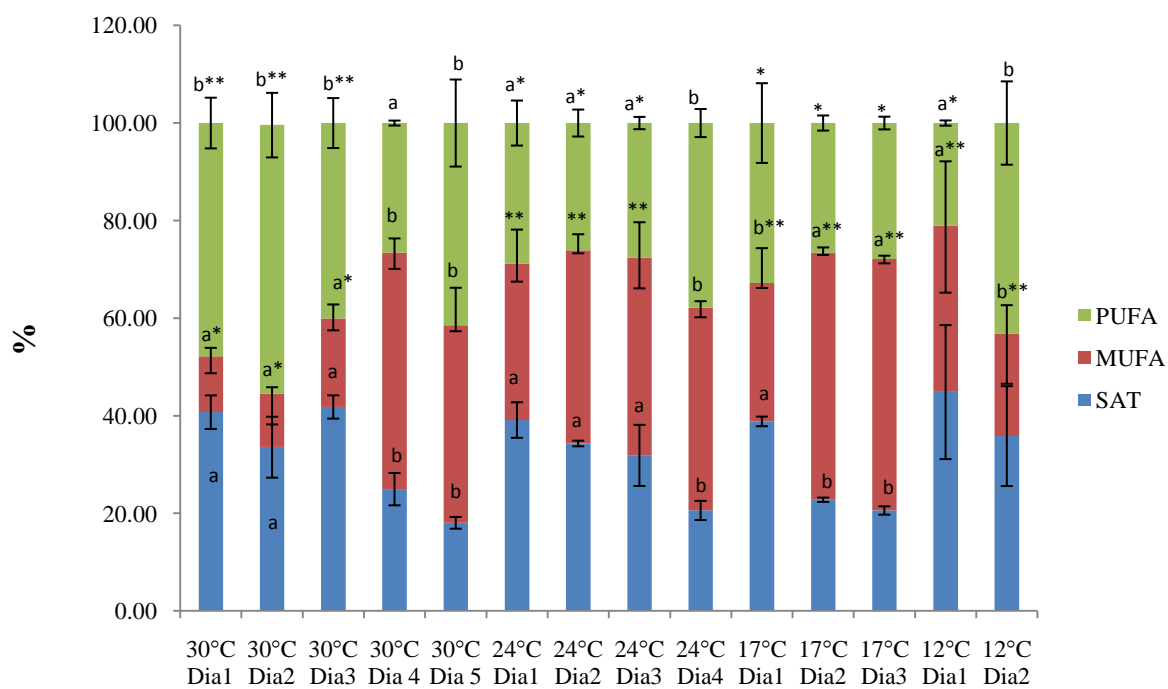


Fig. 20. Somatória dos ácidos graxos das classes SAT, MUFA e PUFA da posição *sn*-2 da fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

Tabela 8. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*sn-1*) e 2 (*sn-2*) da fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M ± EPM)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 2		30°C- dia 3		30°C- dia 4		30°C- dia 5	
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	45,85±10,6 ^{bs}	40,75±3,45 ^a	71,82±0,69 ^{b**}	33,58±6,24 ^a	68,24±8,60 ^b	41,82±2,38 ^a	68,79±2,58 ^b	24,98±3,31 ^b	86,04±0,25 ^a	18,09±1,20 ^b
MUFA	24,29±3,98 ^a	11,43±1,76 ^{a*}	16,08±1,67 ^{a*}	10,90±1,38 ^{a*}	12,34±0,34 ^{b*}	18,09±2,92 ^{a*}	11,14±0,33 ^b	48,45±2,94 ^b	7,59±1,03 ^c	40,45±7,72 ^b
PUFA	29,87±6,63 ^{b**}	47,82±5,20 ^{b**}	12,10±0,98 ^a	55,09±6,61 ^{b**}	19,42±8,27 ^b	40,09±5,12 ^{b**}	20,94±2,41 ^b	26,57±0,51 ^a	6,38±1,28 ^a	41,47±8,92 ^b
PUFA n3	10,71±1,36	13,75±1,34	4,30±0,82	17,28±1,99	4,52±2,44	12,46±2,95	3,98±2,30	13,44±0,98	1,35±0,16	23,59±4,66
PUFA n6	19,15±5,27	25,56±3,92	7,80±0,16	27,25±5,47	14,90±5,82	21,01±2,79	13,68±0,98	10,04±0,58	5,03±1,44	16,99±4,07
C20-22n3	10,71±1,36	13,75±1,34	4,30±0,82	17,28±1,99	4,52±2,44	12,46±2,95	3,98±2,30	13,44±0,98	1,35±0,16	23,59±4,66
C18n6	17,85±4,51	9,91±1,60	7,80±0,16	16,88±5,08	14,13±5,55	14,56±0,90	5,66±1,23	3,71±0,25	1,86±0,09	7,96±2,64
C20-22n6	1,30±0,75	15,65±2,84	nd	10,37±2,35	0,77±0,27	6,45±1,90	6,62±1,40	6,33±0,50	1,65±0,47	9,04±1,44
	24°C-dia 1		24°C-dia 2		24°C-dia 3		24°C-dia 4			
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	70,63±7,65 ^{a**}	39,14±3,65 ^a	51,03±1,09 ^{b*}	34,34±0,58 ^a	50,40±2,15 ^{b*}	31,89±6,27 ^a	78,86±2,51 ^a	20,61±1,96 ^b		
MUFA	17,39±3,61 ^{a**}	32,00±7,02 ^{**}	35,33±0,44 ^{b**}	39,54±3,34 ^{**}	28,56±1,82 ^{b**}	40,50±7,28 ^{**}	10,57±1,68 ^a	41,54±1,34		
PUFA	11,95±4,11 ^{a*}	28,85±4,61 ^{a*}	13,64±0,65 ^a	26,12±2,76 ^{a*}	19,61±4,76 ^b	27,61±1,26 ^{a*}	10,58±2,23 ^a	37,84±2,88 ^b		
PUFA n3	2,10±0,75	10,29±2,19	2,70±0,13	8,93±0,01	2,16±0,38	12,96±1,31	4,24±0,89	13,16±1,13		
PUFA n6	7,67±2,98 ^a	14,58±3,42 ^b	10,94±0,53 ^a	8,61±1,28 ^b	17,45±4,41 ^b	10,05±0,63 ^b	6,33±1,02 ^a	22,44±3,76 ^a		
C20-22n3	2,10±0,75	10,29±2,19	2,70±0,13	8,93±0,01	2,16±0,38	12,96±1,31	4,24±1,17	13,16±1,13		
C18n6	5,75±2,59	9,40±3,47	9,00±1,65	4,59±0,53	15,76±4,61	4,56±0,70	3,11±0,41	17,04±2,12		
C20-22n6	1,55±0,28	5,18±0,09	1,94±1,12	4,02±1,81	1,54±0,11	5,49±0,50	3,00±0,32	5,40±1,71		
	17°C-dia 1		17°C-dia 2		17°C-dia 3		12°C-dia 1		12°C-dia 2	
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	54,92±10,78 ^{a*}	38,86±0,98 ^a	80,98±3,74 ^{b**}	22,80±0,45 ^b	82,16±1,02 ^{b**}	20,61±0,86 ^b	62,07±14,66	44,87±13,73	69,98±1,22	35,85±10,23
MUFA	19,82±2,13 ^a	28,32±7,19 ^{b**}	11,94±1,35 ^{b*}	50,61±1,10 ^{a**}	8,39±0,48 ^{b*}	51,50±0,71 ^{a**}	25,41±9,13	34,10±13,19 ^{a**}	12,90±0,88 [*]	20,96±5,87 ^{b**}
PUFA	24,68±8,56 ^{a*}	32,82±8,17 ^a	7,08±2,39 ^b	26,59±1,55 ^a	9,29±1,54 ^b	27,90±1,30 ^a	12,52±5,53 ^a	21,03±0,53 ^{a*}	17,11±2,10 ^b	43,19±8,53 ^b
PUFA n3	2,96±0,47	12,01±0,63	0,54±0,31	16,79±1,51	3,03±0,97	13,70±1,21	5,76±2,70	10,28±1,16	4,81±2,34	19,97±7,11
PUFA n6	21,72±9,03 ^a	14,17±5,72	4,04±1,26 ^b	8,90±0,04	6,26±1,22 ^b	11,72±0,27	6,76±2,83 ^a	9,31±0,01	12,31±0,25 ^b	19,93±2,85
C20-22n3	2,96±0,47	12,01±0,63	0,54±0,31	16,79±1,51	3,03±0,97	13,70±1,21	5,76±2,70	10,28±1,16	4,81±2,34	19,97±7,11
C18n6	20,19±8,15 ^a	5,41±1,20	3,64±1,29 ^b	3,47±0,15	1,80±0,22 ^b	5,70±0,30	2,65±1,26 ^a	3,85±0,06	8,45±0,04 ^b	11,86±3,40
C20-22n6	1,53±0,88	8,76±4,52	0,40±0,04	5,43±0,19	4,06±0,84	6,02±0,09	4,11±1,56	5,46±0,07	3,85±0,21	8,07±0,64

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

Fração Fosfatidiletanolamina

A análise de SAT mostrou um mesmo padrão em 30, 24 e 17°C, um aumento de valores durante o período experimental e queda dos mesmos no último dia de tratamento, com diferenças detectadas para 30°C entre o 4º dia experimental em comparação com o 2º e 5º dias ($p<0,05$), para 24°C na comparação entre o 3º dia de experimento e os dias 1 e 4 ($p=0,02$ para 1º dia e $p=0,01$ para o 4º dia) e para 17°C na comparação entre o 2º e 3º dias ($p<0,001$). Na comparação entre as temperaturas no mesmo dia experimental observaram-se os maiores valores amostrados no 2º dia experimental para o grupo 17°C na comparação com 30°C ($p<0,05$).

Para PUFA houve uma tendência representativa para os três grupos experimentais mantidos nas maiores temperaturas, um aumento das porcentagens no penúltimo dia experimental e uma posterior diminuição no último dia, sendo estes resultados diretamente relacionados com um aumento dos PUFA da classe ômega 3 de 20 e 22 carbonos no último dia experimental ($p<0,05$ para todas as comparações) (Tabela 9 e Figura 22), estes resultados demonstram a íntima relação, no caso desta classe entre as flutuações de PUFA e SAT, (Figura 21), em que a diminuição brusca da primeira representa um aumento dos valores do segundo grupamento (Tabela 9 e Anexo 7).

Fosfatidiletanolamina Encefálica

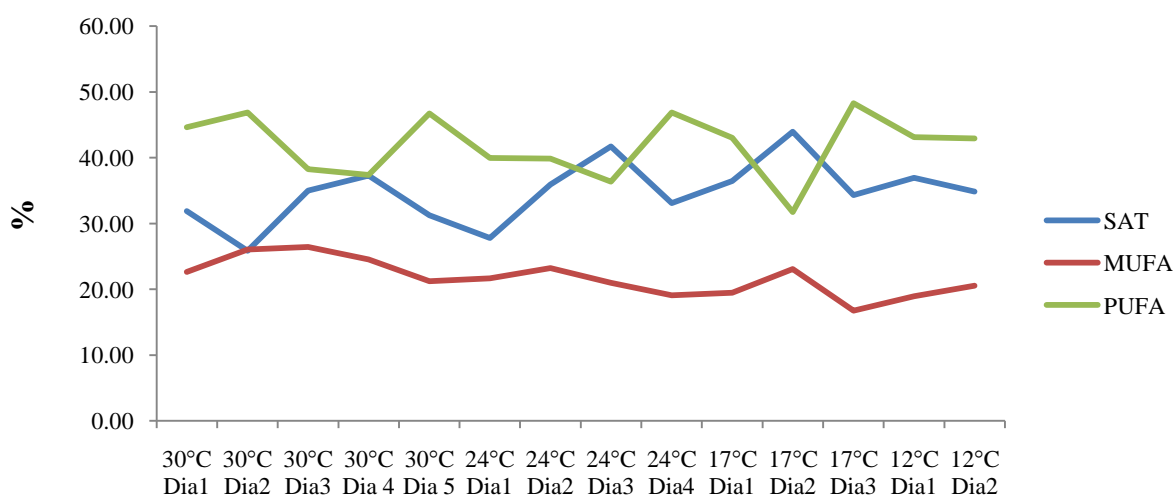


Fig. 21. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da fração fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

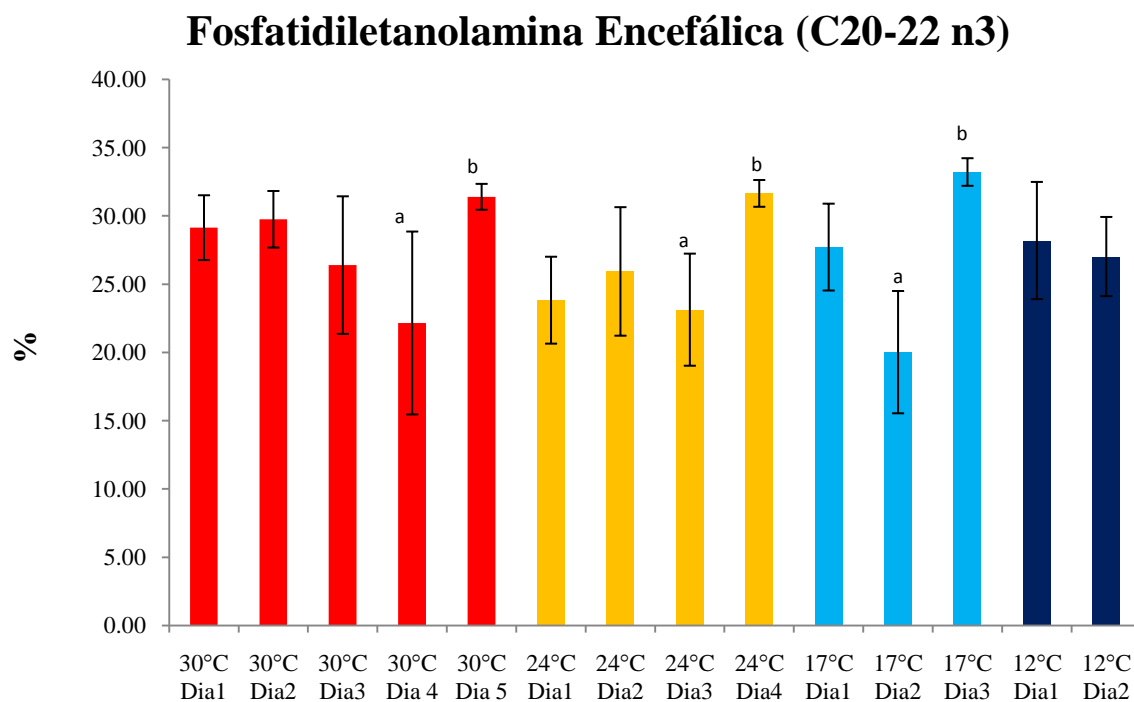


Fig. 22. Somatória dos ácidos graxos da classe ômega 3 com 20 ou 22 carbonos da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

Tabela 9. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo ($M \pm EPM$)

Ácidos Graxos	30°C Dia 01	30°C Dia 02	30°C Dia 03	30°C Dia 04	30°C Dia 05	24°C Dia 01	24°C Dia 02	24°C Dia 03	24°C Dia 04	17°C Dia 01	17°C Dia 02	17°C Dia 03	12°C Dia 01	12°C Dia 02
SAT	31,88±0,57	25,86±3,03 ^{a*}	35,01±3,78	37,30±5,92 ^b	31,26±0,90 ^a	27,79±5,37 ^a	35,92±4,13	41,71±5,25 ^b	33,11±1,02 ^a	36,47±3,58	43,94±3,86 ^{b**}	34,34±2,26 ^a	36,94±3,33	34,87±2,33
MUFA	22,64±1,67	26,02±3,74	26,42±2,81	24,52±2,74	21,24±0,63	21,68±4,06	23,24±2,62	20,98±2,98	19,09±1,24	19,46±0,98	23,08±4,52	16,74±2,44	18,94±5,53	20,57±2,16
PUFA	44,63±1,99	46,89±2,74	38,24±6,46	37,37±8,77 ^a	46,72±0,47 ^b	39,98±4,64	39,84±6,63	36,37±4,65 ^a	46,85±1,03 ^b	43,03±3,59	31,75±6,37 ^a	48,30±0,57 ^b	43,13±4,41	42,93±3,66
PUFA n3	29,83±2,20	30,75±2,25	26,66±5,10	22,61±6,80 ^a	31,80±0,92 ^b	24,38±3,22	26,50±4,38	23,60±4,13 ^a	32,26±0,95 ^b	28,68±2,94	20,36±4,55 ^a	33,68±0,98 ^b	29,04±4,00	27,72±2,77
PUFA n6	14,20±0,53	15,67±0,76	10,98±1,80	14,26±2,29	14,57±0,58	14,95±2,12	12,88±1,79	11,91±0,82	14,02±0,40	13,56±0,80	11,09±1,80	13,99±0,60	13,65±0,64	14,51±1,19
C18n3	0,70±0,24	1,00±0,37	0,27±0,07	0,46±0,15	0,41±0,11	0,55±0,15	0,57±0,15	0,47±0,15	0,61±0,06	0,97±0,29	0,34±0,08	0,47±0,13	0,84±0,31	0,70±0,15
C20-22n3	29,13±2,37	29,75±2,07	26,39±5,04	22,15±6,70 ^a	31,39±0,95 ^b	23,82±3,18	25,93±4,71	23,13±4,11 ^a	31,64±0,98 ^b	27,71±3,18	20,02±4,48 ^a	33,21±1,01 ^b	28,19±4,29	27,02±2,90
C18n6	1,84±0,20	1,92±0,29	1,71±0,17	2,86±1,20	1,74±0,12	1,68±0,18	1,86±0,12	2,60±0,85	1,81±0,11	2,26±0,29	1,95±0,36	1,67±0,29	2,25±0,95	2,03±0,18
C20-22n6	12,36±0,40	13,75±0,87	9,28±1,92	11,41±1,42	12,82±0,56	13,27±2,05	11,02±1,85	9,31±1,36	12,21±0,44	11,31±1,01	9,14±1,99	12,32±0,51	11,40±1,42	12,47±1,09

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

Análise Posicional

- (*sn-1*)

Na análise dos ácidos graxos saturados foi possível verificar a diminuição dos valores em 30°C, com diferença estatística significativa entre o 2 e 5º dia de experimento ($p=0,01$), o mesmo sendo observado para o grupo mantido a 17°C, que apresentou os menores valores no 3º dia de experimento em relação aos demais dias ($p<0,05$). Já nos animais mantidos a 24°C houve uma diminuição dos valores entre o 1º e 2º dia de experimento e a recuperação dos valores iniciais no 4º dia experimental ($p=0,02$). Na comparação entre os grupos experimentais no 2º dia observou-se os maiores valores para o grupo mantido a 30°C na comparação com 24 e 12°C ($p<0,05$) (Tabela 10 e Anexo 8).

Para PUFA, diferente do encontrado para SAT houve um aumento dos valores para os grupos mantidos nas maiores temperaturas, com diferenças significativas entre os dias 2 e 5 para o grupo mantido a 30°C ($p<0,05$) e entre os dias 1 e 2 ($p=0,03$) e 1 e 3 ($p<0,05$) para o grupo mantido a 24°C (Figura 24). Os baixos valores para este grupamento no 1º dia do grupo 24°C culminaram em diferenças estatisticamente significativas na comparação deste dia experimental com os grupos mantidos a 17°C ($p<0,05$) e 12°C ($p=0,04$). O mesmo pode ser observado na comparação do 2º dia experimental entre o grupo mantido na maior temperatura e os grupos 24 e 12 °C (Tabela 10).

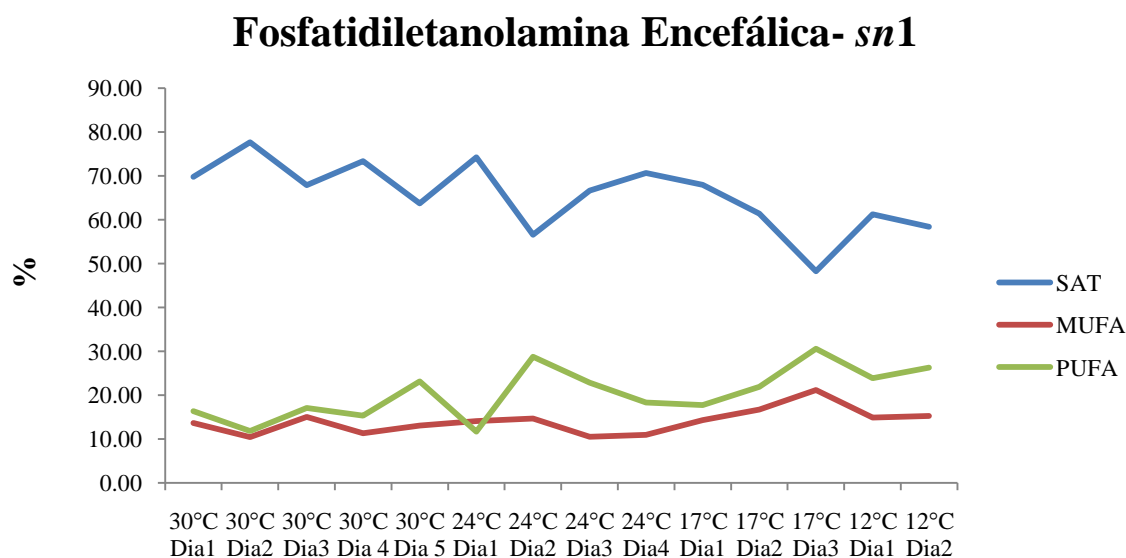


Fig. 24. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn-1* da fração fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

- (sn-2)

As análises para esta posição mostraram valores de erro padrão extremamente altos, evidenciando a alta variabilidade, o que impediu muitas vezes a detecção de diferenças estatísticas.

Para SAT nota-se para o grupo dos animais mantidos a 30°C a maior porcentagem amostrada no 5° dia de experimento, com diferença estatística significativa em comparação com o 1° e 3° dias de experimento ($p < 0,05$ para as duas comparações), o grupo mantido a 24°C por sua vez mostrou uma brusca diminuição dos valores no 4° dia experimental, evidenciando diferença estatística na comparação com os três dias antecedente ($p < 0,001$). Na comparação entre os tratamentos pode-se verificar diferenças significativas no 4° dia experimental entre os grupos 30 e 24°C ($p < 0,001$), com valores extremamente menores o segundo grupo.

Os ácidos graxos monoinsaturados mostraram uma brusca depleção de valores no 5° dia experimental em comparação com o 3° dia no grupo mantido a 30°C ($p = 0,02$), enquanto que para o grupo mantido a 24°C parece ter havido uma diminuição dos valores durante o experimento, com queda no 2° e 3° dia e aumento dos valores no último dia de tratamento ($p < 0,05$), comportamento contrário ao ocorrido para 17°C, que teve seus valores aumentados no 2° dia e novamente diminuídos ao final do experimento ($p < 0,05$). Estas flutuações diferenciais entre os grupos culminaram em muitas diferenças entre os tratamentos nos diferentes dias experimentais, para o dia 1 observa-se os menores valores para o grupo 30°C na comparação com os três outros tratamentos ($p < 0,001$). No 2° dia é possível observar os maiores valores no grupo mantido a 17°C na comparação com 30°C ($p = 0,02$) e 24°C ($p = 0,001$), enquanto que no 4° dia de experimento nota-se os maiores valores no grupo 24°C em relação a 30°C ($p = 0,02$) (Figura 25).

Na análise dos ácidos graxos polinsaturados para os animais mantidos a 24°C verificou-se, assim como para SAT e MUFA uma mudança brusca nos padrões dos dias anteriores no 4° dia experimental, que neste caso teve seus valores dobrados entre o 3° e 4° dia de experimento ($p < 0,005$, que neste caso apresentou as duas classes, ômega 3 e 6 como responsáveis por esta mudança brusca). No grupo mantido nas menores temperaturas foi possível verificar um aumento significativos de PUFA entre o 1° e 2° dia de experimentos, sendo a classe n6, mais especificamente o ácido graxo C18:2n6 o responsável por este aumento ($p < 0,001$ para PUFA, n6 e C18n6). Novamente muitas diferenças foram apontadas

na comparação entre os grupos experimentais, valendo ser ressaltado as diferenças significativas entre o 4º dia experimental de 24 e 30°C para PUFA_{n6} ($p < 0,001$) (Tabela 10 e Anexo 8).

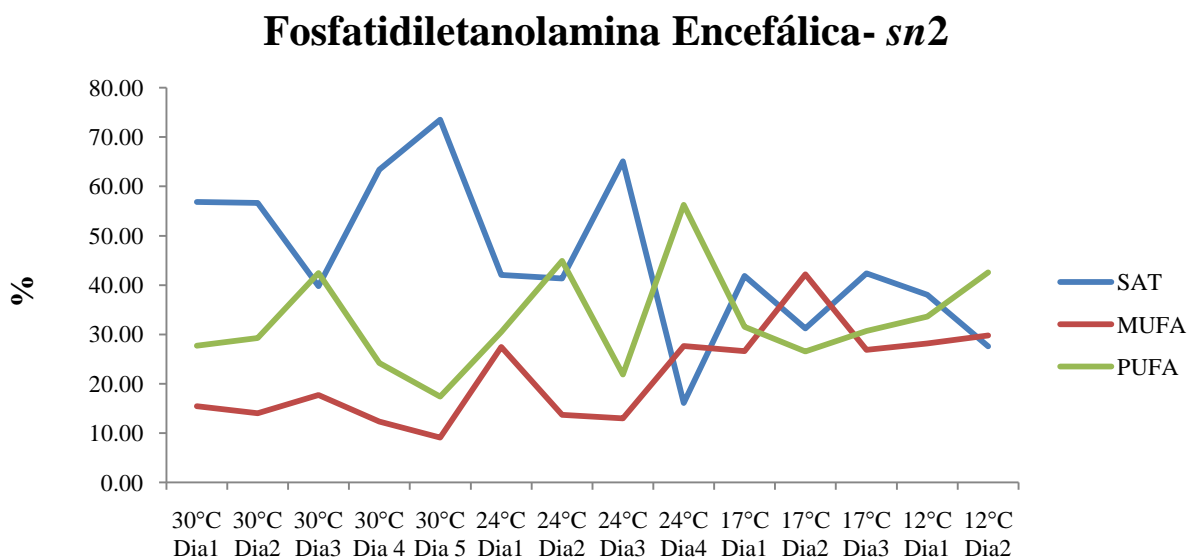


Fig. 25. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn-2* da fração fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo

Tabela 10. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*sn-1*) e 2 (*sn-2*) da fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo ($M \pm EPM$)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 2		30°C- dia 3		30°C- dia 4		30°C- dia 5	
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	69,76±5,73	56,84±7,62 ^b	77,67±0,88 ^{ab*}	56,66±10,64	67,87±5,31	39,81±10,05 ^b	73,35±3,17	63,40±10,62	63,75±1,18 ^b	73,51±4,20 ^{ab**}
MUFA	13,69±2,21	15,45±1,95 [*]	10,47±0,14	14,04±2,38 [*]	15,04±1,37	17,73±1,65 ^b	11,30±1,01	12,37±1,57 [*]	13,11±0,97	9,11±0,17 ^a
PUFA	16,40±3,74	27,71±5,71	11,86±0,75 ^{ab*}	29,31±8,54	17,10±4,79	42,46±9,23	15,35±2,26	24,22±9,05	23,14±1,59 ^b	17,38±4,33
PUFA n3	6,47±1,06	15,50±4,89	5,26±0,08	16,18±5,57	8,26±2,65	15,41±3,54	6,20±0,49	13,97±6,89	6,53±0,77	7,45±3,20
PUFA n6	7,63±1,57	10,44±2,08	4,90±0,57	9,01±1,73	6,66±1,52	15,35±2,88	8,82±1,89	8,47±1,96 [*]	13,19±2,64	7,34±0,99
C20-22n3	6,47±1,06	15,50±4,89	5,26±0,08	16,18±5,57	8,26±2,65	15,41±3,54	6,20±0,49	13,97±6,89	6,53±0,77	7,45±3,20
C18n6	3,93±1,26	6,33±1,62	3,43±0,28	5,54±1,72	4,74±1,33	8,44±2,54	6,18±2,10	2,59±0,54	6,91±0,95	3,81±0,37
C20-22n6	3,70±0,90	4,11±0,52	1,47±0,29	3,47±0,12	1,92±0,19	6,91±1,05	2,64±0,88	5,88±2,50	6,29±2,02	3,53±0,76
	24°C-dia 1		24°C-dia 2		24°C-dia 3		24°C-dia 4			
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>		
SAT	74,21±0,67 ^a	42,04±1,65 ^b	56,57±1,95 ^{ab*}	41,37±2,87 ^b	66,65±3,48	65,10±8,87 ^b	70,65±3,18 ^a	16,09±3,92 [*]		
MUFA	14,12±1,17	27,46±0,45 ^{**}	14,67±0,10	13,74±2,30 ^{**}	10,49±1,03	13,01±1,66 ^a	11,00±0,56	27,65±2,41 ^{ab**}		
PUFA	11,67±1,49 ^{ab*}	30,49±2,09	28,76±1,95 ^{ab**}	44,89±5,17	22,86±3,62 ^b	21,89±7,40 ^a	18,35±3,52	56,25±2,19 ^b		
PUFA n3	4,17±1,21	12,86±1,88	11,11±1,84	9,49±0,71	10,31±1,81	10,72±5,47 ^a	7,40±1,03	32,36±12,04 ^b		
PUFA n6	6,35±1,11	15,64±3,10	16,72±0,49	25,02±7,54	11,40±1,88	9,18±2,30 ^a	9,84±2,60	22,77±10,87 ^{ab**}		
C20-22n3	4,17±1,21	12,86±1,88	11,11±1,84	9,49±0,71	10,31±1,81	10,72±5,47	7,40±1,03	32,36±12,04		
C18n6	4,50±0,76	11,11±3,52	12,24±0,96	18,39±8,96	7,51±1,33	3,53±0,84	6,01±1,54	15,43±11,07		
C20-22n6	1,85±0,41	4,53±0,42	4,48±0,47	6,62±1,42	3,90±1,00	5,65±2,18	3,83±1,14	7,34±0,61		
	17°C-dia 1		17°C-dia 2		17°C-dia 3		12°C-dia 1		12°C-dia 2	
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	67,94±0,80 ^a	41,84±6,47	61,40±2,66 ^a	31,23±2,95	48,22±13,87 ^b	42,41±11,46	61,23±3,47	38,04±10,05	58,41±7,87 [*]	27,60±2,83
MUFA	14,29±0,78	26,60±5,45 ^{ab**}	16,72±0,95	42,19±4,13 ^{ab**}	21,18±6,37	26,88±11,40 ^a	14,89±2,00	28,17±6,72 ^{**}	15,28±1,18	29,82±8,36
PUFA	17,78±0,03 [*]	31,57±2,64	21,89±2,55	26,58±1,19	30,60±8,11	30,71±4,37	23,88±1,54 ^{**}	33,62±3,23	26,30±6,71 ^{**}	42,57±5,92
PUFA n3	6,17±0,24	14,45±0,86	8,98±0,46	12,04±0,70	7,45±2,16	7,16±2,86	9,29±0,52	20,62±5,29	9,54±2,83	19,27±10,60
PUFA n6	8,97±0,68	12,93±0,82	10,52±0,88	11,61±0,16	21,94±7,24	13,85±2,46	12,88±1,47	11,36±1,60 ^a	14,19±3,45	20,18±4,58 ^b
C20-22n3	6,17±0,24	14,45±0,86	8,98±0,46	12,04±0,70	7,45±2,16	7,16±2,86	9,29±0,52	20,62±5,29	9,54±2,83	19,27±10,60
C18n6	5,06±0,32	5,23±0,54	6,55±0,25	8,89±0,38	14,00±5,54	7,47±2,03	8,21±1,94	5,10±0,36 ^a	9,05±3,10	13,87±4,23 ^b
C20-22n6	3,91±0,36	7,70±1,32	3,97±1,13	2,72±0,22	7,94±2,27	6,38±3,36	4,67±1,06	6,26±1,32	5,14±0,72	6,30±1,36

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

4. Discussão

A análise posicional dos ácidos graxos dos fosfolípidos FC e FE em um período agudo de exposição de *S. parahybae* em diferentes temperaturas evidenciou um processo rápido de remodelação das membranas hepáticas e encefálicas que variou de acordo com a temperatura testada.

A inexistência de diferenças nos parâmetros biométricos aferidos nos dois tratamentos já era esperado pelo curto período experimental, que consistiu em apenas 5 dias. Porém quando analisados os dados do índice hepatossomático (IHS), foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais e dentro dos próprios grupos nos diferentes dias.

A comparação dos dados mostrou que os animais mantidos nas menores temperaturas apresentaram valores de IHS mais altos quando comparados com os animais mantidos a 30 e 24°C, fato que pode ser explicado pela “memória prévia” dos animais deste grupo experimental, que passaram por todas as temperaturas testadas e, conseqüentemente, reagiram a estas mudanças com um aumento de massa de seu tecido hepático. Johnston e Eales, (1995) obtiveram maiores valores de IHS em carpas mantidas a 4°C na comparação com animais mantidos a 13 e 18°C, evidenciando maior deposição de substratos energéticos neste grupo experimental.

Trabalhos realizados com outras espécies de Siluriformes mostram que estas espécies apresentam uma maior concentração de lipídeo por unidade de massa no fígado em relação ao músculo, o que indica o fígado como o órgão secundário de deposição de lipídeos neste grupo (o órgão primário em vertebrados é o tecido adiposo) (Martino *et al.*, 2002 e Sheridan, 1994).

No caso deste trabalho, algumas explicações podem elucidar os maiores valores de IHS nos grupos mantidos nas menores temperaturas, dentre elas a necessidade de não utilizar estes substratos energéticos para manutenção de funções vitais e a incapacidade metabólica de utilizá-los nestes extremos. Outra explicação para o fenômeno de crescimento do fígado, e conseqüente aumento dos valores de IHS decorre do fato de que, assim como o tecido cardíaco, o fígado e outros tecidos apresentam uma tendência natural à hipertrofia quando há queda de temperatura (Baldisserotto, 2002).

A remodelação de lipídeos das membranas celulares em resposta a mudanças na temperatura pode ser considerada como principal resposta alostérica de ectotermos em

nível celular, e é descrita como a principal compensação em processos de aclimação (Carey e Hazel, 1989). Os efeitos da temperatura no padrão de distribuição dos ácidos graxos e ação de enzimas que participam da manutenção da fluidez da membrana em diferentes organismos têm sido reportados por vários autores, sendo que a primeira pesquisa envolvendo peixes de clima tropical foi realizada na década de 70 em trabalho realizado com animais do gênero *Pimelodus* (Torrengo e Brenner, 1976).

Em *S. parahybae*, o perfil de FA encontrado em ambos os grupos foi composto predominantemente por altos valores de ácido palmítico (C16:0), ácido oléico (C18:1), ácido linoléico (C18:2n6), ácido araquidônico (AA-C20:4n6) e ácido docosahexanóico (DHA- C22:6n3), corroborando os resultados obtidos por Logue *et al.*, (2000). Apesar de existirem ácidos graxos predominantes, as mudanças observadas durante o tratamento realizado foram extremamente complexas. Isto pode ser explicado pela alta complexidade dos fosfolipídeos em si, que apresentam grandes variações nos tamanhos de cadeia, quantidades e posições das duplas ligações e distribuição dos ácidos graxos nas cadeias laterais (Stubbbs e Smith, 1984, Trueman *et al.*, 2000).

As taxas de resposta da composição de ácidos graxos na membrana lipídica observadas em muitos trabalhos sugerem que exista um período de aclimação variando de uma semana (ambientes mais quentes) a várias semanas (ambientes mais frios), o que é requerido para mudanças físicas na membrana plasmática.

Porém já foram descritos trabalhos que demonstram que estas mudanças podem ocorrer em períodos muito curtos, como é o caso do trabalho de Carey e Hazel, (1989), que observaram mudanças na composição de ácidos graxos e até nas classes de fosfolipídeos (trocas de fosfatidilcolina por fosfatidiletanolamina, por exemplo) diárias em 2 espécies *Agosia chrysogaster* e *Nothropis lutrensis* que sobrevivem em locais com mudanças bruscas de temperatura durante o dia, o que foi corroborado para este trabalho nos dois tecidos e frações analisadas em que foi possível observar mudanças significativas nos ácidos graxos analisados em 24 horas de exposição dos animais a temperaturas mais baixas, mostrando que o Surubim do Paraíba pode ser considerado um modelo capaz de apresentar respostas de aclimação de maneira aguda.

Corroborando com o foi discutido acima alguns exemplos de magnitude de mudança e tempo de ocorrência das mesmas podem ser levantados na análise dos resultados obtidos:

- 1- O padrão de aumento de SAT e direta diminuição de PUFA (n3 de cadeia longa) em todos os grupos evidenciada na posição *sn*-1 na fração fosfatidilcolina hepática que ocorreu para todas as temperaturas experimentais entre o 1° e 2° dias de tratamento;
- 2- A diminuição dos valores de MUFA no 2° dia experimental para 24 e 17°C, o mesmo sendo observado para o 3° dia de experimento no grupo 30°C, quedas que foram prontamente compensadas pelo aumento de PUFA n3 de cadeia longa na fração fosfatidilcolina encefálica.
- 3- A diminuição de PUFA, principalmente ômega 3 de cadeia longa no último dia de experimento para todas as análises realizadas na fração fosfatidiletanolamina hepática e, concomitante a este resultado;
- 4- O aumento significativa dos PUFA (principalmente ômega 3 de cadeia longa) no último dia de experimento para os grupos 30, 24 e 17°C na fração fosfatidiletanolamina encefálica.

Os dois últimos tópicos se mostram como extremamente interessantes no escopo do tratamento agudo empregado neste trabalho, e levantam o questionamento a respeito de como os tecidos “fazem uma previsão” sobre qual é o penúltimo e último de experimento, e como esta fração fosfolipídica responde exatamente da mesma maneira em dois tecidos tão diferentes. Bouchard e Guderley, (2003) estudando curso temporal de aclimação a baixas temperaturas em carpas mostraram que após 16-48 horas ocorrem mudanças nos ácidos graxos saturados e monoinsaturados, e as mudanças em ácidos graxos polinsaturados só se iniciam após 10 dias de aclimação, mostrando portanto que existe um curso temporal complexo no processo de alteração lipídica na aclimação.

Quando se analisa a exposição aguda às baixas temperaturas é possível observar na maioria das vezes um aumento na porcentagem de ácidos graxos insaturados nas membranas celulares e redução na porcentagem de ácidos graxos saturados. Este fenômeno é conhecido como aclimação homeoviscosa (Buda *et al.*, 1994; Lemieux *et al.*, 2008). Na análise realizada nas posições *sn*-1 e *sn*-2 da fração fosfatidilcolina hepática dos animais mantidos a 12°C foi possível observar a clássica resposta de aclimação homeoviscosa entre os PUFA ômega 3 de cadeia longa: a inversão diretamente proporcional de valores entre o 1° e 2° dia de experimento, como se observa na tabela 3 em que no 1° dia a posição *sn*-1 apresenta 10% desta classe e no 2° dia ocorre uma brusca diminuição com valores atingindo 3,8% e para a posição *sn*-2

ocorre uma compensação direta deste resultado com aumento de 5,2% para 11,1% do 1° para o 2° dia.

Porém, para a posição *sn-2* da fração fosfatidiletanolamina do mesmo tecido, o padrão anteriormente descrito não foi corroborado, sendo possível verificar curiosamente uma tendência de aumento das porcentagens de SAT do 1° para o 2° dia de experimento, o que pode ser explicado pelo consenso da literatura de que, de forma geral, animais que vivem em temperaturas mais baixas apresentam uma maior porcentagem de ácidos graxos polinsaturados (PUFA) do que aqueles de clima tropical (Hazel e Willians, 1990). Estas variações podem ser responsáveis pela alteração do ponto de fusão dos ácidos graxos esterificados nos fosfolipídeos das membranas biológicas, alterando assim a fluidez das mesmas (Hazel, 1989, Somero, 2003).

Na análise realizada no tecido encefálico foi possível verificar um padrão similar ao apresentado no tecido hepático, a substituição de MUFA por PUFA para os animais submetidos a 12°C, porém neste caso houve a priorização dos ácidos graxos polinsaturados n6 de cadeia curta, principalmente C18:2n6 do 1° para o 2° dia experimental, mostrando que apesar da falta de PUFA de cadeia longa neste tecido houve uma maior incorporação de PUFA para este grupo, sendo este padrão observado para a análise da fração fosfatidiletanolamina na posição *sn-2* e nas posições *sn-1* e *sn-2* da fração fosfatidilcolina.

A análise posicional dos ácidos graxos nos fosfolipídeos pode mostrar de que forma a fluidez da membrana é modificada como forma de resposta a algum agente estressor, já que os fosfolipídeos de membrana, como a fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina contêm 2 posições ocupadas por ácidos graxos, sendo que a posição 1 (*sn-1*) é na maior parte das vezes preenchida por um ácido graxo saturado ou monoinsaturado, enquanto que a posição 2 (*sn-2*) pode ser ocupada tanto por um PUFA como por um ácido graxo monoinsaturado (geralmente o ácido oléico- C18:1n9) (Schreiner, 2003). Neste trabalho, diferente do esperado houve um predomínio de ácidos graxos saturados na fração fosfatidilcolina do tecido hepático, principalmente representada pelos ácidos graxos C16:0 e C18:0, tanto na fração total quanto nas duas posições analisadas, atingindo em alguns casos valores próximos a 60%, com MUFA e PUFA, mais especificamente a classe ômega 3 de cadeia longa, se alternando como compensadores das flutuações de SAT.

A fração fosfatidiletanolamina hepática por sua vez, assim como o observado para fosfatidilcolina deteve altas porcentagens de ácidos graxos saturados na fração total

e posições analisadas, mas, diferente do que seria esperado as posições *sn*-1 e *sn*-2 apresentaram valores superiores ao apresentado na fração total analisada, evidenciando que outras frações, como a cardiolipina e inositol podem ser detentoras dos ácidos graxos PUFA e MUFA em detrimento da etanolamina e colina. Porém para todas as temperaturas houve uma tendência de diminuição deste grupamento (SAT) com o passar do experimento, sendo compensado na maior parte do período pelo aumento de MUFA, principalmente C18:1, em detrimento de C18:0, o que ressalta o papel da enzima esteroil-CoA Δ 9 dessaturase, que age acrescentando uma insaturação entre os carbonos 9 e 10 da cadeia de ácidos graxos saturados, convertendo-os a ácidos graxos monoinsaturados, sendo esta a enzima chave de mudanças nas propriedades físicas da membrana e como resultado final aumentando a fluidez da mesma (Trueman *et al.*, 2000, Pereira *et al.*, 2003, Polley *et al.*, 2003).

Na fração fosfatidilcolina encefálica houve a prevalência dos ácidos graxos SAT em comparação com MUFA e PUFA tanto para o total quanto para a posição *sn*-1, para *sn*- 2, e, diferente do observado para o fígado existe uma tendência de manutenção de altos valores de MUFA, o que pode evidenciar a composição desta fração como sendo prevalentemente composta por SAT na posição *sn*-1 e MUFA na posição *sn*-2. Segundo Farkas *et al.*, (2000) a presença de MUFA na posição *sn*- 2 dos fosfolípidos com a diminuição da temperatura é apresentado no tecido encefálico de vários invertebrados e peixes, porém é pouco encontrado em mamíferos, sendo este comportamento explicado pela rápida reestruturação das membranas em animais ectotérmicos, sendo este comportamento atípico do ponto de vista de aclimação homeoviscosa clássica ser explicado pelo baixo custo metabólico que esta reestruturação apresenta na comparação com a substituição por PUFA (Kraffe *et al.*, 2006).

De uma forma geral, foi possível observar que houve uma ação integrada entre os tecidos de forma a manter e priorizar a manutenção da fluidez no tecido encefálico, o exemplo clássico deste comportamento é a diminuição de PUFA na fração fosfatidiletanolamina hepática em 24 e 17°C no penúltimo dia de experimento e aumento no ultimo dia experimental no tecido encefálico. Além disso, nos dois tecidos e frações analisadas foi possível detectar mudanças significativas nos ácidos graxos em 24 horas de exposição dos animais em temperaturas mais baixas, mostrando que o Surubim do Paraíba pode ser considerado um modelo capaz de apresentar respostas de aclimação de maneira aguda.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem à CESP e ao Biólogo responsável pela Unidade de Hidrobiologia e Aquicultura, Paraibuna- SP, Danilo Caneppele e seus funcionários pelo auxílio na manutenção e transporte dos animais. E ao Dr. Matthias Schreiner e todos os integrantes do *Department of Food Sciences and Technology* pelo auxílio nas análises posicionais dos fosfolipídeos. Esta pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Processo- 2008/53966-1 (bolsa de doutorado) e 2008/57687-0 (Auxílio-Projeto Temático).

6. Referências Bibliográficas

- Amate, L., Ramírez, M., Gil, A. 1999. Positional analysis of Triglycerides and Phospholipids rich in Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids. *Lipids*. 8, 865-871.
- Baldisserotto, B. 2002. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 1º edição Ed. UFSM: Rio Grande do Sul. 211p.
- Bouchard, P., Guderley, H. 2003. Time course of the response of mitochondria from oxidative muscle during thermal acclimation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *J. Exp. Biol.* 206, 3455-3465.
- Boyd, C.E. 1996. Water quality in ponds for aquaculture. Shrimp Mart (Thai) Co Ltd. Hatay: Songkhla Thailand. 451p.
- Buda, C., Dey, I., Balogh, N., Horvath, L.I., Maderspach, K., Juhasz, M., Yeo, Y.K., Farkas, T. 1994. Structural order of membranes and composition of phospholipids in fish brain cells during thermal acclimatization. *PNAS*. 91, 8234–8238.
- Carey, C., Hazel, J.R. 1989. Diurnal variation in membrane lipid composition of sonoran desert teleosts. *J. Exp. Biol.* 147, 375-391.
- Christie, W.W. 1989. Gas Chromatography and Lipids: a Practical Guide. The Oily Press: Ayr. 307 p.
- Dey, I., Buda, C., Wiik, T., Halver, J.E., Farkas, T. 1993. Molecular and structural composition of phospholipid membranes in livers of marine and freshwater fish in relation to temperature. *PNAS*. 7498-7502.
- Farkas, T., Kitajka, K., Fodor, E., Csengeri, L., Lahdes, E., Yeo, Y.K., Kraszna, Z. e Halver, J.E. 2000. Docosahexaenoic acid-containing phospholipids molecular species in brain of vertebrates. *PNAS*. 67, 19-42.

- Folch, J, Less, M., Stanley, G.H. 1957 A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497-503.
- Hazel, J.R., Landrey, S.R. 1988. Time course of thermal adaptation in plasma membrane of trout kidney. II. Molecular species composition. *Am. J. Physiol.* 225, R628-R634.
- Hazel, J.R. 1989. Cold adaptation in ectotherms: regulation of membrane function and cellular metabolism. *Adv. Comp. Environ. Physiol.* 4, 1–50.
- Hazel, J.R., Williams, E.E., 1990. The role of alterations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment. *Prog. Lipid. Res.* 29, 167–227.
- Henderson, R.J., Tocher, D.R. 1987. The lipid composition and Biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid. Res.* 26, 281-347.
- Johnston, C.E., Eales, J.G. 1995. Effects of acclimation and assay temperature on outer- and inner-ring thyroxine and 3,5,3'- triiodo-L-thyronine deiodination by liver microsomes of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Exp. Zool.* 272, 719-735.
- Kitson, G, Larsen, B.S., Mcewen, C.N. 1996. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide*, Academic Press: New York.352p.
- Kraffe, E., Marty, Y., Guderley, H. 2006. Changes in mitochondrial oxidative capacities during thermal acclimation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: roles of membrane proteins, phospholipids and their fatty acid compositions. *J. Exp. Biol.* 210, 149-165.
- Lemieux H. , Blier P.U, Tardif, J.C. 2008. Does membrane fatty acid composition modulate mitochondrial functions and their thermal sensitivities? *Comp. Biochem Physiol.* 149, 20-29.
- Logue, J.A., Bries, A.L., Fodor, E., Cossins, A.R. 2000. Lipid compositional correlates of temperature-adaptative interspecific differences in membrane physical structure. *J. Exp. Biol.* 203, 2105-2115.
- Martino, R., Cyrino, J.E.P., Portz, L., Trugo, L.C. 2002. Performance and fatty acid composition of surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) fed diets with animal and plant lipids. *Aquaculture.* 209, 233-246.
- Nutter, L. J., Privett, O.S. 1966. Phospholipase A properties of several snake venom preparations. *Lipids.* 1, 258-262.
- Parrish, CC. 1998. Dissolved and particulate marine classes: A review. *Mar. Chem.* 23, 17-40.

- Pereira, S.L., Leonard, A.E., Mukerji, P. 2003. Recent advances in the study of fatty acid desaturases from animals and lower eukaryotes. *Prostagl., Leukotr. and EFA.* 68, 97-106.
- Polley, S.D., Tiku, P.E., Trueman, R.T., Caddick, M.X., Morozov I.Y., Cossins, A.R. 2003. Differential expression of cold- and diet-specific genes encoding two carp liver $\Delta 9$ -acyl-coA desaturase isoforms. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 284, R41-R50.
- Schreiner, M. 2003. The incorporation and position of omega-3 fatty acids into egg yolk lipid and sensory attributes of egg yolk from laying hens fed seal Blubber oil. Phd Thesis. Boku Universität, Vienna, 173 p.
- Schreiner, M., Moreira, R.G., Hulan, H.W. 2006. Positional distribution of fatty acids in egg yolk lipids. *J. Food Lipids.* 35-56.
- Sheridan, M.A. 1994. Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, 107: 495-508.
- Skalli, A., Robin, J.H. 2006. Requirement of n-3 long chain polyunsaturated fatty acids for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles: growth and fatty acids composition. *Aquaculture.* 240, 399-415.
- Somero, G.N. 2003. Protein adaptations to temperature and pressure: complementary roles of adaptive changes in amino acid sequences and internal milieu. *Comp. Biochem. Physiol. (B)* 136, 577-591.
- Sttubbs, C.D., Smith, A.D. 1984. The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to fluidity and function. *Biochim. Biophys. Acta.* 779, 89-137.
- Torrenço, M.P., Brenner, R.R. 1976. Influence of environmental temperature on the fatty acid desaturation and elongation activity of fish (*Pimelodus maculatus*) liver microsomes. *Biochim. Biophys. Acta.* 424, 36-44.
- Trueman, R.J., Tiku, P.E., Caddick, M.X., Cossins, A.R. 2000. Thermal thresholds of lipid restructuring and delta (9)-desaturase expression in the liver of carp (*Cyprinus carpio* L.) *J. Exp. Biol.* 203, 641-650.

Anexos capítulo 2

Anexo 1. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C Dia 01	30°C Dia 02	30°C Dia 03	30°C Dia 04	30°C Dia 05	24°C Dia 01	24°C Dia 02	24°C Dia 03	24°C Dia 04	17°C Dia 01	17°C Dia 02	17°C Dia 03	12°C Dia 01	12°C Dia 02
C14:0	1,72 ± 0,33	1,71 ± 0,10	1,80 ± 0,22	1,67 ± 0,11	1,67 ± 0,18	1,56 ± 0,25	1,87 ± 0,14	1,77 ± 0,13	2,49 ± 0,45	1,95 ± 0,18	1,99 ± 0,10	2,25 ± 0,15	2,13 ± 0,20	1,54 ± 0,63
C16:0	23,48 ± 1,73	24,46 ± 1,58	24,24 ± 2,04	24,55 ± 1,81	23,79 ± 1,93	21,90 ± 1,82	25,46 ± 2,14	22,56 ± 1,80	28,02 ± 3,23	24,36 ± 2,20	24,92 ± 1,22	24,52 ± 1,67	25,98 ± 2,86	19,96 ± 1,12
C17:0	1,22 ± 0,28	1,38 ± 0,17	1,09 ± 0,22	0,98 ± 0,13	1,14 ± 0,05	0,90 ± 0,15	0,88 ± 0,17	0,95 ± 0,11	1,08 ± 0,24	0,91 ± 0,09	1,34 ± 0,18	1,89 ± 0,38	1,75 ± 0,40	1,27 ± 0,40
C18:0	16,01 ± 1,01	12,79 ± 1,70	15,11 ± 0,87	11,58 ± 1,22	14,69 ± 1,56	13,32 ± 1,10	11,34 ± 1,48	11,66 ± 1,19	12,96 ± 1,50	11,64 ± 1,32	12,30 ± 1,19	15,53 ± 1,54	16,95 ± 0,97	21,79 ± 6,03
C21:0	1,21 ± 0,46	0,58 ± 0,13	0,54 ± 0,12	0,40 ± 0,09	0,46 ± 0,09	0,45 ± 0,08	0,82 ± 0,38	0,46 ± 0,12	0,75 ± 0,27	0,41 ± 0,10	0,55 ± 0,10	0,99 ± 0,19	0,67 ± 0,20	0,65 ± 0,12
C23:0	0,87 ± 0,24	0,62 ± 0,16	0,34 ± 0,14	0,61 ± 0,05	0,56 ± 0,12	0,62 ± 0,07	0,49 ± 0,05	0,55 ± 0,04	0,61 ± 0,17	0,45 ± 0,08	0,47 ± 0,05	0,54 ± 0,07	0,46 ± 0,08	0,52 ± 0,06
C16:1	2,81 ± 0,39	2,71 ± 0,32	3,11 ± 0,24	3,21 ± 0,09	2,83 ± 0,26	2,92 ± 0,30	3,51 ± 0,22	3,26 ± 0,30	4,13 ± 0,49	3,82 ± 0,29	3,52 ± 0,15	3,73 ± 0,40	3,19 ± 0,36	2,73 ± 1,06
C18:1c	11,24 ± 0,57	12,70 ± 0,99	12,37 ± 1,12	13,29 ± 0,82	12,16 ± 0,73	10,86 ± 0,69	14,08 ± 1,95	12,57 ± 1,08	14,41 ± 2,83	12,93 ± 0,58	13,33 ± 1,08	14,85 ± 2,31	12,76 ± 0,97	12,55 ± 3,20
C18:1n11	2,28 ± 0,22	2,49 ± 0,13	3,06 ± 0,12	2,93 ± 0,16	2,62 ± 0,17	2,43 ± 0,19	2,65 ± 0,28	2,59 ± 0,20	3,36 ± 0,51	3,02 ± 0,19	2,50 ± 0,12	2,50 ± 0,32	2,25 ± 0,30	2,35 ± 0,47
C20:1n9	0,68 ± 0,04	0,52 ± 0,06	0,52 ± 0,03	0,43 ± 0,05	0,41 ± 0,07	0,44 ± 0,03	0,69 ± 0,24	0,45 ± 0,05	0,53 ± 0,06	0,60 ± 0,09	0,46 ± 0,05	0,82 ± 0,15	0,77 ± 0,10	0,78 ± 0,18
C24:1	1,11 ± 0,58	1,06 ± 0,48	0,72 ± 0,16	0,64 ± 0,07	0,78 ± 0,13	0,67 ± 0,02	0,52 ± 0,11	0,57 ± 0,10	0,41 ± 0,09	0,55 ± 0,06	0,50 ± 0,08	1,04 ± 0,33	0,80 ± 0,15	0,68 ± 0,29
C18:2n6c	6,24 ± 0,39	5,44 ± 0,14	5,57 ± 0,18	6,34 ± 0,45	5,47 ± 0,33	6,04 ± 0,61	6,14 ± 0,67	6,65 ± 0,38	5,62 ± 1,32	6,29 ± 0,80	5,84 ± 0,38	7,56 ± 0,78	5,11 ± 0,42	5,94 ± 1,81
C18:3n6	0,65 ± 0,17	0,65 ± 0,11	0,44 ± 0,04	0,51 ± 0,01	0,52 ± 0,13	0,56 ± 0,08	0,67 ± 0,15	0,72 ± 0,26	0,50 ± 0,03	0,56 ± 0,10	0,80 ± 0,09	0,71 ± 0,17	0,57 ± 0,09	0,81 ± 0,15
C18:3n3	0,45 ± 0,12	0,47 ± 0,08	0,38 ± 0,07	0,43 ± 0,06	0,35 ± 0,04	0,49 ± 0,04	0,47 ± 0,03	0,50 ± 0,08	0,66 ± 0,19	0,47 ± 0,10	0,38 ± 0,04	0,35 ± 0,10	0,36 ± 0,11	0,48 ± 0,06
C20:2n6	0,78 ± 0,18	0,73 ± 0,08	0,99 ± 0,11	1,05 ± 0,08	1,11 ± 0,12	1,12 ± 0,09	0,86 ± 0,22	0,96 ± 0,09	0,99 ± 0,15	1,05 ± 0,09	0,95 ± 0,07	0,70 ± 0,07	0,71 ± 0,12	0,72 ± 0,07
C20:3n6	1,41 ± 0,14	1,39 ± 0,05	1,57 ± 0,17	1,78 ± 0,14	1,60 ± 0,11	1,80 ± 0,07	1,76 ± 0,49	1,79 ± 0,13	1,20 ± 0,29	1,79 ± 0,24	1,69 ± 0,06	1,84 ± 0,25	1,49 ± 0,03	1,44 ± 0,28
C20:4n6	2,07 ± 0,29	2,92 ± 0,15	4,96 ± 0,66	4,19 ± 0,76	5,03 ± 0,83	6,46 ± 1,01	1,80 ± 0,49	4,52 ± 0,59	2,46 ± 0,94	4,24 ± 0,72	4,47 ± 1,02	1,78 ± 0,15	4,63 ± 0,89	3,67 ± 1,31
C20:3n3	0,77 ± 0,23	0,43 ± 0,13	0,30 ± 0,05	0,24 ± 0,09	0,30 ± 0,07	0,33 ± 0,06	2,34 ± 1,38	0,31 ± 0,07	0,22 ± 0,08	0,35 ± 0,08	0,34 ± 0,08	0,34 ± 0,15	0,20 ± 0,07	0,29 ± 0,15
C20:5n3	2,34 ± 0,29	3,39 ± 0,88	2,34 ± 0,24	2,37 ± 0,14	2,47 ± 0,16	3,20 ± 0,47	2,72 ± 0,46	3,34 ± 0,53	1,50 ± 0,35	3,10 ± 0,74	2,71 ± 0,15	1,73 ± 0,12	2,30 ± 0,47	2,72 ± 0,66
C22:2n6	0,75 ± 0,57	1,88 ± 1,25	0,32 ± 0,22	0,53 ± 0,22	0,87 ± 0,47	0,23 ± 0,09	0,88 ± 0,22	1,16 ± 0,39	0,53 ± 0,20	1,24 ± 0,91	0,88 ± 0,41	0,67 ± 0,37	0,36 ± 0,16	1,24 ± 0,33
C22:4n6	2,08 ± 0,41	1,48 ± 0,19	1,34 ± 0,14	1,70 ± 0,08	1,76 ± 0,18	1,74 ± 0,14	1,49 ± 0,11	1,60 ± 0,19	1,06 ± 0,22	1,41 ± 0,05	1,56 ± 0,10	1,39 ± 0,25	1,23 ± 0,19	1,50 ± 0,25
C22:5n6	1,29 ± 0,60	1,52 ± 0,96	0,16 ± 0,08	0,41 ± 0,12	0,66 ± 0,32	0,16 ± 0,07	0,54 ± 0,15	0,96 ± 0,24	0,61 ± 0,26	0,89 ± 0,77	0,70 ± 0,32	0,35 ± 0,17	0,38 ± 0,11	0,86 ± 0,30
C22:5n3	2,08 ± 0,09	1,93 ± 0,26	2,09 ± 0,27	2,58 ± 0,06	2,51 ± 0,31	2,86 ± 0,43	2,06 ± 0,07	2,52 ± 0,21	1,53 ± 0,36	2,14 ± 0,14	2,59 ± 0,47	1,81 ± 0,15	2,16 ± 0,61	1,83 ± 0,32
C22:6n3	12,13 ± 1,46	11,73 ± 1,74	13,29 ± 2,37	14,72 ± 1,02	13,21 ± 1,40	16,49 ± 1,58	12,89 ± 1,43	12,90 ± 1,05	7,69 ± 1,47	12,41 ± 1,00	11,83 ± 0,86	7,28 ± 1,07	9,38 ± 2,31	8,67 ± 2,06

Anexo 2. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*Sn-1*) e 2 (*Sn-2*) da fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M± EPM)

Ácidos graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 2		30°C- dia 3		30°C- dia 4		30°C- dia 5	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	3,03±0,62	3,00±0,10	3,76±1,31	4,89±1,49	3,60±1,16	2,95±0,27	2,60±0,50	2,90±1,34	3,14±1,73	2,66±0,22
C16:0	16,16±1,82	20,94±1,40	19,22±1,12	20,82±2,21	15,86±2,22	19,24±0,25	24,26±1,35	21,59±2,83	21,81±4,26	22,46±1,54
C18:0	17,11±1,36	14,27±1,40	15,96±0,67	13,54±0,73	14,35±2,63	12,40±1,20	19,12±3,18	13,10±2,04	19,55±0,60	14,18±0,48
C20:0	4,92±1,17	7,58±0,72	6,80±1,60	5,27±0,67	7,79±1,07	5,86±0,99	6,06±0,73	4,85±0,95	9,18±1,32	6,88±0,61
C21:0	nd	0,87±0,28	nd	nd	0,86±0,22	2,37±0,66	2,21±0,61	1,85±0,40	5,67±0,78	2,82±0,05
C22:1	2,40±0,25	2,10±0,91	4,16±0,28	1,12±0,75	4,07±0,99	1,74±0,37	0,31±0,16	2,02±0,24	1,42±0,24	nd
C16:1	6,82±1,63	6,84±0,13	2,19±0,89	6,58±2,71	6,92±1,52	5,45±0,45	9,21±4,60	3,26±0,84	4,28±0,16	6,45±2,33
C18:1n9	17,59±4,19	16,93±2,61	23,61±5,14	22,15±6,80	19,89±0,93	21,94±0,28	12,87±4,13	13,08±1,99	13,98±2,04	11,19±0,81
C20:1n11	5,28±0,98	3,46±0,55	4,55±1,19	4,05±2,07	2,59±1,45	2,40±0,47	6,33±0,36	4,52±0,87	2,28±0,03	2,08±0,83
C18:2n6t	3,66±0,89	3,72±0,25	5,99±0,46	4,86±0,45	3,85±0,35	5,53±0,33	3,18±0,41	5,66±1,08	3,44±0,17	4,65±1,63
C18:3n6	3,56±1,22	4,46±0,15	1,26±0,10	3,80±0,69	3,36±0,40	2,89±0,45	6,35±2,37	3,71±0,31	2,98±0,74	4,93±3,25
C20:3n3	6,12±1,25	1,48±0,25	3,16±1,21	2,22±0,73	3,90±1,66	0,82±0,41	1,20±0,23	2,95±1,13	3,24±1,26	3,52±0,36
C20:5n3	2,81±1,15	3,13±1,08	2,22±0,60	1,80±0,42	3,24±1,10	1,57±0,34	4,55±1,76	1,90±0,20	2,64±0,47	1,54±0,16
C22:5n3	1,51±0,67	1,40±0,28	nd	2,36±0,69	nd	0,63±0,31	nd	1,39±0,35	nd	0,90±0,08
C22:6n3	2,65±0,40	2,55±0,71	nd	2,31±1,13	0,78±0,28	7,02±2,22	2,23±0,62	4,80±2,22	nd	9,16±0,42
C20:2n6	2,36±0,38	3,42±1,01	2,05±1,21	1,55±0,65	1,16±0,35	1,47±0,47	0,99±0,23	5,06±1,93	3,14±0,39	2,75±0,68
C20:4n6	6,66±0,50	2,03±0,53	4,15±1,57	1,74±0,19	3,58±1,52	3,08±0,30	nd	2,69±1,49	nd	2,81±0,46
C22:2n6	5,70±0,28	0,70±0,03	4,11±1,85	1,09±0,27	3,55±2,01	2,09±0,80	nd	2,12±1,05	1,95±0,28	0,80±0,24
C22:4n6	nd	1,13±0,09	2,41±0,39	1,83±0,95	nd	0,93±0,20	nd	1,97±0,89	1,14±0,37	1,03±0,04
C22:5n6	2,60±0,09	1,95±0,44	nd	0,50±0,22	2,22±0,37	nd	nd	0,47±0,28	1,82±0,47	0,78±0,01

-Continuação da tabela

Ácidos graxos	24°C-dia 1		24°C-dia 2		24°C-dia 3		24°C-dia 4	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	2,82±0,02	3,67±0,23	4,76±1,17	3,88±0,03	4,50±0,65	5,76±0,68	4,34±1,21	3,34±0,21
C16:0	21,44±1,04	19,73±1,45	23,10±5,05	20,02±1,32	15,00±0,76	22,66±3,08	22,06±2,30	26,88±1,96
C18:0	19,43±1,56	13,45±0,60	15,93±1,59	11,17±0,42	17,89±2,15	14,36±0,04	14,96±1,11	15,25±1,64
C20:0	2,77±0,77	4,10±0,46	5,19±1,71	3,38±0,81	5,24±1,48	5,70±0,37	3,90±1,04	4,34±0,79
C21:0	1,32±0,38	2,39±0,63	4,00±2,02	0,58±0,10	4,46±0,81	0,20±0,04	2,81±0,89	1,76±0,82
C22:1	1,48±0,56	1,33±0,25	0,39±0,05	1,88±0,08	nd	nd	3,14±0,33	1,04±0,60
C16:1	2,27±1,52	6,19±0,84	4,11±0,69	4,49±1,01	4,30±1,13	2,78±0,47	3,87±0,42	5,41±2,24
C18:1n9	12,18±0,31	17,28±1,50	23,35±7,93	30,02±5,51	21,74±5,72	15,29±0,47	14,10±1,96	15,14±1,27
C20:1n11	6,27±2,29	2,39±1,04	3,83±2,12	2,10±1,30	3,10±0,58	8,22±3,04	3,13±0,50	3,84±0,63
C18:2n6t	7,44±0,31	6,70±0,41	3,51±0,90	4,84±1,10	6,04±0,72	6,03±0,36	4,43±1,44	5,77±1,50
C18:3n6	4,18±0,60	3,49±0,45	2,73±1,18	1,87±1,07	3,90±1,62	5,88±3,12	2,81±1,05	4,70±1,88
C20:3n3	3,25±0,23	1,33±0,36	2,12±0,93	3,19±0,10	2,52±0,24	1,45±0,19	2,67±0,20	1,49±0,19
C20:5n3	3,19±1,81	3,53±0,65	1,83±0,24	2,25±0,76	1,90±0,79	1,71±0,35	2,90±1,31	2,34±1,09
C22:5n3	nd	0,33±0,20	nd	3,22±0,36	nd	0,71±0,01	0,31±0,02	0,85±0,41
C22:6n3	nd	5,10±0,23	nd	5,84±3,16	nd	2,88±0,12	9,05±2,36	3,13±1,43
C20:2n6	3,81±0,18	2,27±0,98	2,61±1,11	1,06±0,34	3,99±1,38	1,68±0,08	3,51±2,07	1,58±0,34
C20:4n6	2,28±0,26	3,27±1,31	0,50±0,06	2,83±1,52	nd	2,11±0,01	3,97±0,98	0,78±0,56
C22:2n6	2,80±0,45	2,55±1,72	1,01±0,76	2,74±0,08	0,63±0,23	nd	4,44±1,48	1,07±0,32
C22:4n6	3,10±0,90	0,28±0,01	0,64±0,04	0,78±0,29	5,66±1,69	1,16±0,28	4,74±1,96	0,54±0,37
C22:5n6	nd	2,39±1,07	0,21±0,07	nd	0,62±0,32	1,68±0,37	2,59±0,76	1,27±0,38

-Continuação da tabela

Ácidos graxos	17°C-dia 1		17°C-dia 2		17°C-dia 3		12°C-dia 1		12°C-dia 2	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	3,31±1,15	3,78±0,90	3,92±0,81	4,34±0,31	4,28±0,91	2,89±0,71	2,46±0,18	3,42±0,16	4,10±1,18	1,67±1,14
C16:0	22,20±0,86	17,05±2,42	25,91±5,06	20,59±1,88	19,26±2,59	18,83±0,12	15,84±1,93	18,52±1,23	21,78±1,54	22,83±1,67
C18:0	17,96±0,61	10,86±1,45	16,85±0,34	13,63±1,90	17,79±2,51	17,60±0,18	14,98±0,5	14,85±1,40	21,37±2,20	20,89±1,53
C20:0	6,12±0,56	4,66±0,77	7,07±1,17	6,02±0,67	6,76±0,63	4,39±0,89	6,57±2,98	4,54±0,87	5,79±0,91	5,26±1,89
C21:0	3,27±2,32	4,04±0,01	0,79±0,08	1,13±0,19	1,90±0,18	2,05±0,07	nd	0,98±0,36	4,37±0,29	1,46±0,96
C22:1	3,71±0,28	3,68±0,38	4,16±0,89	nd	1,19±0,69	1,32±0,47	2,33±0,03	4,06±0,27	1,12±0,77	0,83±0,25
C16:1	5,31±0,98	6,70±1,72	2,62±1,43	2,02±0,09	0,89±0,04	4,37±0,29	4,57±0,68	6,08±0,31	4,22±1,92	3,49±1,42
C18:1n9	17,19±1,73	9,66±1,92	23,70±6,59	24,29±7,69	14,25±1,56	20,87±3,39	16,06±1,84	21,70±0,68	14,80±1,12	10,99±1,02
C20:1n11	2,01±0,76	6,31±3,69	2,58±0,26	1,75±0,67	7,16±3,03	2,64±0,57	5,01±0,95	3,49±0,56	1,79±1,30	5,02±1,41
C18:2n6t	5,19±0,45	8,99±2,26	4,21±1,53	4,42±0,58	4,25±0,21	3,41±0,06	5,02±1,42	5,31±0,65	3,33±1,17	5,53±0,78
C18:3n6	3,57±0,66	4,34±1,76	3,41±1,18	2,13±0,64	5,94±0,79	6,16±1,36	4,31±0,57	4,31±0,27	3,05±0,94	5,40±3,28
C20:3n3	1,30±0,08	6,31±1,95	2,07±0,11	2,87±0,26	2,22±0,22	1,29±0,07	5,41±1,43	0,82±0,21	3,85±0,27	3,48±1,80
C20:5n3	2,40±1,20	3,80±0,81	1,89±0,23	2,58±0,07	1,22±0,60	4,53±0,25	3,62±1,22	1,92±0,25	2,46±0,37	4,08±0,76
C22:5n3	3,16±0,28	0,90±0,04	nd	0,82±0,08	0,23±0,07	0,63±0,21	nd	nd	nd	0,43±0,05
C22:6n3	nd	5,74±1,99	nd	4,90±0,81	nd	0,83±0,18	2,08±0,25	2,90±1,14	nd	3,41±1,00
C20:2n6	1,49±0,20	0,08±0,01	0,97±0,01	3,16±0,94	3,52±1,09	5,14±0,50	3,57±0,39	2,79±0,69	4,39±1,74	2,98±0,94
C20:4n6	nd	4,60±1,19	1,70±0,69	2,07±0,80	nd	2,22±0,83	4,01±0,91	0,96±0,09	2,18±0,51	1,21±0,68
C22:2n6	1,48±0,59	nd	0,22±0,17	2,75±0,08	4,11±0,99	0,31±0,11	3,44±0,57	4,98±0,27	0,54±0,05	2,36±0,38
C22:4n6	3,16±0,25	nd	nd	0,94±0,14	nd	2,33±0,07	4,38±1,98	nd	nd	2,95±0,56
C22:5n6	1,35±0,28	1,08±0,89	0,21±0,08	nd	3,40±1,74	1,66±0,89	nd	3,24±0,38	2,48±0,25	nd

Anexo 3. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M ± EPM)

Ácidos Graxos	30°C Dia 01	30°C Dia 02	30°C Dia 03	30°C Dia 04	30°C Dia 05	24°C Dia 01	24°C Dia 02	24°C Dia 03	24°C Dia 04	17°C Dia 01	17°C Dia 02	17°C Dia 03	12°C Dia 01	12°C Dia 02
C14:0	0,71±0,08	1,02±0,31	1,56±0,52	1,07±0,13	1,00±0,07	1,34±0,24	1,53±0,19	1,35±0,16	1,33±0,48	0,45±0,18	1,12±0,16	1,48±0,73	1,16±0,18	1,52±0,38
C16:0	14,30±3,32	14,27±1,20	19,21±4,47	13,62±0,34	15,40±2,60	16,05±2,24	17,84±1,31	15,23±1,30	18,10±2,27	16,34±3,56	14,07±1,31	19,58±1,57	18,20±1,73	23,27±5,63
C17:0	1,13±0,15	1,76±0,33	1,19±0,29	1,33±0,20	1,33±0,30	1,38±0,33	1,77±0,15	1,92±0,34	1,33±0,32	0,54±0,13	1,36±0,43	1,65±0,40	1,19±0,40	1,27±0,35
C18:0ant.	0,67±0,19	0,79±0,12	0,48±0,11	0,60±0,10	0,37±0,14	0,49±0,13	0,73±0,45	0,39±0,19	0,26±0,07	2,48±1,56	0,55±0,06	0,25±0,08	0,66±0,16	0,21±0,14
C18:0	22,38±3,68	23,07±2,22	21,92±2,17	24,04±0,75	21,98±4,45	18,94±2,13	24,26±3,65	21,43±0,68	21,09±5,58	28,81±3,25	20,99±1,73	21,69±7,37	24,55±4,02	15,47±3,06
C20:0	1,11±0,54	0,70±0,08	0,57±0,14	0,68±0,20	0,96±0,18	1,39±0,49	0,79±0,04	0,74±0,19	0,43±0,14	0,88±0,30	0,44±0,11	0,59±0,31	0,81±0,21	0,70±0,13
C21:0	0,98±0,23	1,20±0,35	0,82±0,19	0,78±0,00	0,59±0,09	1,01±0,28	2,07±1,21	0,90±0,24	0,74±0,21	1,90±0,84	1,22±0,23	1,05±0,40	0,95±0,30	0,65±0,21
C23:0	1,41±1,31	0,95±0,37	0,56±0,13	0,43±0,03	0,53±0,06	1,60±0,82	0,37±0,12	0,35±0,15	0,54±0,01	1,86±0,68	0,48±0,09	0,47±0,05	1,17±0,47	0,56±0,18
C16:1	1,49±0,11	1,36±0,29	2,01±0,33	1,18±0,16	2,08±0,23	1,59±0,33	1,73±0,64	1,70±0,07	2,99±0,87	2,90±1,93	1,37±0,36	3,71±1,13	2,30±0,61	3,49±1,01
C18:1c	6,03±0,86	6,80±0,41	7,64±1,30	5,55±0,30	11,65±2,45	7,39±1,44	7,65±1,51	6,00±0,18	16,09±6,51	7,10±1,04	6,78±0,79	14,69±4,14	11,12±2,67	16,44±6,32
C18:1n11	2,45±0,19	2,96±0,37	2,81±0,17	2,74±0,20	2,58±0,20	2,33±0,21	2,37±0,10	2,72±0,15	3,20±0,24	2,54±0,31	2,94±0,19	2,98±0,21	3,15±0,22	2,49±0,29
C18:2n6c	5,77±1,63	6,40±1,24	5,14±0,88	6,42±0,39	7,12±1,58	3,81±0,79	4,85±0,72	8,00±0,63	7,44±1,92	3,07±0,64	5,93±0,80	7,95±2,53	6,88±1,57	6,64±1,92
C18:3n6	3,02±1,87	1,01±0,21	1,46±0,55	1,13±0,07	1,23±0,18	1,81±0,90	1,12±0,24	1,23±0,18	0,81±0,27	1,26±0,23	1,30±0,15	1,15±0,09	1,02±0,15	0,83±0,22
C20:2n6	0,70±0,18	1,23±0,10	0,90±0,18	1,27±0,09	0,90±0,25	1,86±1,26	1,19±0,26	1,32±0,26	1,11±0,25	0,29±0,08	1,09±0,15	0,65±0,11	0,76±0,23	0,90±0,09
C20:3n6	1,44±0,29	1,84±0,57	1,82±0,47	2,19±0,10	1,21±0,32	1,21±0,27	1,43±0,28	2,19±0,36	1,24±0,40	0,50±0,07	2,47±0,54	0,70±0,27	1,07±0,30	1,00±0,37
C20:4n6	2,49±0,60	4,07±0,60	3,94±0,62	5,70±0,27	2,92±0,37	3,17±0,72	3,92±1,49	4,44±0,71	4,37±2,24	1,83±0,60	4,64±0,72	3,11±1,65	3,43±0,42	2,67±0,91
C20:3n3	0,85±0,06	1,14±0,53	0,54±0,13	0,52±0,02	0,32±0,09	2,00±1,64	0,39±0,21	0,52±0,09	0,32±0,08	1,82±1,20	0,75±0,10	2,55±2,14	0,45±0,05	0,41±0,17
C20:4n3	1,44±1,27	0,32±0,15	0,12±0,07	0,23±0,07	0,18±0,08	4,09±0,88	1,39±1,05	0,22±0,07	0,15±0,08	2,84±1,08	0,11±0,03	0,34±0,04	3,43±0,63	0,41±0,22
C20:5n3	5,10±3,38	3,39±0,48	3,46±0,73	3,58±0,28	4,07±1,12	0,19±0,05	2,71±1,20	3,40±0,47	2,98±0,86	0,83±0,66	5,00±0,50	2,23±0,27	0,11±0,04	2,83±1,03
C22:4n6	1,55±0,42	2,18±0,45	1,75±0,31	2,42±0,10	1,45±0,36	1,51±0,32	1,50±0,41	2,54±0,40	1,02±0,32	0,91±0,26	2,08±0,27	0,88±0,16	1,15±0,13	1,52±0,71
C22:5n6	0,73±0,09	0,92±0,59	1,07±0,86	0,11±0,07	1,14±0,55	3,42±1,16	0,59±0,54	0,50±0,14	0,88±0,63	2,28±0,54	1,33±0,68	0,35±0,14	1,26±0,42	1,19±0,64
C22:5n3	1,55±0,43	1,61±0,30	1,97±0,47	3,28±0,28	2,18±0,71	1,73±0,45	1,90±0,40	2,69±0,36	1,62±0,76	0,62±0,21	1,96±0,41	1,05±0,16	1,65±0,39	1,24±0,35
C22:6n3	9,15±3,23	14,04±2,56	13,25±2,70	17,46±0,82	9,21±2,14	9,25±1,90	12,17±3,48	14,85±0,82	7,31±3,09	11,40±3,84	12,65±2,77	5,76±0,84	8,57±1,58	7,09±3,16

Anexo 4. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*Sn-1*) e 2 (*Sn-2*) da fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M ± EPM)

Ácidos graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 2		30°C- dia 3		30°C- dia 4		30°C- dia 5	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	3,33±1,71	4,11±0,72	2,94±0,91	3,77±1,22	4,60±1,34	2,74±0,19	3,57±1,73	3,26±1,05	3,10±1,36	2,67±1,48
C16:0	21,01±0,12	23,94±2,19	20,52±1,95	19,48±2,00	20,80±1,59	19,02±1,23	24,44±1,05	21,25±0,45	19,59±1,85	15,18±1,46
C18:0	22,44±1,05	20,49±1,06	20,28±2,04	19,57±0,31	28,83±7,39	21,29±0,78	19,90±0,86	20,86±1,10	23,77±2,19	16,20±1,78
C20:0	8,50±0,67	5,76±0,42	3,35±1,10	7,91±1,14	3,54±2,22	5,80±0,49	3,19±1,44	5,45±1,95	4,91±0,50	6,37±0,58
C21:0	2,80±0,85	4,02±1,22	4,25±1,43	3,35±0,32	3,56±1,47	2,65±0,43	3,08±0,38	1,23±0,33	2,09±1,11	2,45±0,88
C22:1	1,71±0,31	2,35±0,97	2,37±1,24	3,39±1,37	1,04±0,14	1,20±0,31	4,36±1,14	2,17±0,85	5,74±2,40	0,85±0,18
C16:1	4,05±2,69	4,07±2,54	3,82±2,01	4,41±1,63	4,85±1,93	4,35±0,98	2,61±0,75	6,48±2,34	4,29±0,81	4,27±1,31
C18:1n9	8,64±4,43	6,03±3,53	9,61±5,14	5,14±1,28	9,14±2,13	11,34±2,47	9,93±0,72	9,76±0,80	13,43±6,19	14,94±0,58
C20:1n11	1,54±0,63	3,50±1,46	6,55±2,20	7,05±2,6,3	3,47±1,20	3,24±1,48	2,80±1,25	2,92±1,61	2,48±0,62	3,96±0,18
C18:2n6t	6,28±1,07	2,09±1,20	3,02±0,87	4,53±1,27	4,03±0,66	4,37±0,30	6,41±2,36	5,16±0,94	7,08±1,38	4,50±1,38
C18:3n6	3,54±0,89	4,64±0,45	5,68±1,81	3,94±1,24	2,71±0,84	3,98±1,74	4,69±1,20	2,51±1,35	2,04±0,74	1,77±0,27
C20:3n3	1,62±0,66	2,92±0,73	3,77±0,99	1,67±0,83	1,08±0,26	2,59±0,30	0,41±0,11	4,24±1,10	0,98±0,40	3,15±0,86
C20:5n3	2,17±1,43	3,42±1,50	2,92±0,32	6,06±1,98	2,54±1,09	1,15±0,56	1,78±0,57	2,31±0,93	1,97±0,92	5,17±0,73
C22:5n3	nd	0,16±0,01	2,86±1,17	nd	0,98±0,46	1,65±0,11	nd	2,49±0,27	nd	3,53±1,11
C22:6n3	nd	2,05±0,75	nd	nd	2,43±0,31	6,87±2,18	1,42±0,64	7,31±2,69	7,93±2,85	13,73±5,63
C20:2n6	3,47±1,29	3,97±1,84	1,42±0,26	1,66±0,71	3,27±0,46	3,32±2,10	2,83±1,51	1,66±0,14	1,34±0,02	2,53±1,43
C20:4n6	1,89±0,54	1,80±0,76	5,78±0,96	0,47±0,31	0,57±0,08	2,27±1,01	1,84±0,50	3,62±0,19	1,24±0,69	3,56±1,88
C22:2n6	1,98±0,04	2,17±1,40	5,96±1,58	3,00±0,23	2,52±0,19	nd	1,95±0,60	2,52±1,20	4,77±2,06	2,27±0,49
C22:4n6	2,11±0,53	nd	1,31±0,62	2,10±0,35	2,61±1,12	1,48±0,74	5,68±0,28	1,93±0,59	1,05±0,04	4,70±0,58
C22:5n6	0,61±0,25	1,53±0,96	3,34±1,64	0,72±0,19	1,07±0,38	1,95±0,25	1,92±0,08	1,60±,27	0,76±0,25	3,31±0,28

-Continuação da tabela

Ácidos graxos	24°C-dia 1		24°C-dia 2		24°C-dia 3		24°C-dia 4	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	5,09±0,64	4,95±0,69	1,23±1,03	3,23±0,25	4,81±0,92	2,28±0,74	4,34±1,21	0,81±0,26
C16:0	23,06±1,14	18,67±0,23	21,78±0,97	21,70±0,87	21,37±1,96	23,29±0,72	22,06±2,30	15,25±3,22
C18:0	23,51±1,66	18,34±0,91	25,23±1,33	20,17±1,85	24,25±3,88	26,59±1,51	14,96±1,11	16,39±5,53
C20:0	4,77±0,67	6,34±1,28	7,14±1,35	5,96±1,61	3,63±1,93	5,62±2,00	3,90±1,04	5,60±1,76
C21:0	2,92±1,12	4,06±1,77	5,01±0,82	1,11±0,17	4,59±2,81	1,23±0,90	2,81±0,89	1,22±0,78
C22:1	1,91±0,44	1,90±1,35	1,34±0,07	0,31±0,02	0,88±0,39	2,58±1,62	3,14±0,33	0,85±0,07
C16:1	1,75±0,39	4,05±0,94	3,35±1,18	5,05±0,51	4,16±1,90	2,15±0,91	3,87±0,42	5,08±1,73
C18:1n9	8,87±3,56	10,06±3,38	5,37±0,81	8,21±1,31	15,46±3,05	11,16±3,57	14,10±1,96	27,54±9,76
C20:1n11	4,20±0,48	4,78±0,63	2,64±0,93	2,70±1,57	3,27±1,02	2,33±1,10	3,13±0,50	1,82±1,18
C18:2n6t	4,75±0,41	3,58±0,51	6,46±1,33	4,53±0,21	3,17±0,79	3,44±0,78	4,43±1,44	10,44±2,09
C18:3n6	7,26±2,96	5,12±0,93	5,59±0,85	3,98±0,30	2,20±1,08	3,86±1,08	2,81±1,05	1,13±0,35
C20:3n3	1,74±0,25	3,26±0,99	3,31±0,23	3,83±0,98	1,82±0,82	1,82±0,57	2,67±0,20	1,00±0,55
C20:5n3	4,48±1,10	3,59±1,67	1,18±0,53	1,72±0,49	2,59±0,66	3,38±0,59	2,90±1,31	1,85±0,85
C22:5n3	1,47±0,21	4,52±1,69	2,11±0,42	1,07±0,04	0,49±0,05	0,83±0,26	0,31±0,07	0,96±0,07
C22:6n3	4,21±1,36	1,72±0,50	4,83±1,22	7,37±1,94	0,44±0,10	4,15±0,89	9,05±3,66	2,72±0,18
C20:2n6	1,15±0,32	3,00±1,22	4,09±0,61	2,65±0,47	2,97±0,89	1,38±0,78	3,51±2,07	2,24±0,92
C20:4n6	4,45±2,56	1,25±0,23	0,67±0,07	2,98±1,74	2,57±0,38	2,43±1,16	3,97±1,23	2,89±0,87
C22:2n6	5,04±2,85	3,05±2,04	2,39±1,35	2,71±0,33	nd	1,10±0,21	4,44±1,48	1,13±0,42
C22:4n6	0,36±0,03	2,57±0,58	3,48±1,14	0,86±0,39	4,02±2,58	5,70±1,79	4,74±1,96	0,67±0,43,
C22:5n6	1,34±0,34	3,12±1,57	2,75±0,20	3,68±1,55	1,73±0,52	nd	2,59±0,58	3,26±0,89

-Continuação da tabela

Ácidos graxos	17°C-dia 1		17°C-dia 2		17°C-dia 3		12°C-dia 1		12°C-dia 2	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	2,75±1,04	2,77±1,59	2,22±0,24	2,55±1,42	1,99±0,71	2,20±0,89	1,40±0,42	2,37±0,14	2,63±0,70	2,67±0,13
C16:0	21,62±1,54	20,19±0,66	20,32±2,79	15,52±1,52	21,56±,98	21,12±1,12	16,63±2,12	15,89±1,81	24,50±2,05	25,64±2,60
C18:0	20,51±1,32	19,36±1,20	27,09±2,22	18,26±2,74	18,86±0,21	21,81±1,99	22,24±2,32	16,30±2,48	24,44±1,12	21,94±3,01
C20:0	6,85±0,85	7,42±0,74	4,68±1,50	4,71±1,15	5,50±0,53	6,58±1,18	7,34±0,83	6,47±0,36	5,03±0,84	3,44±1,34
C21:0	6,36±0,88	3,91±0,61	7,52±2,09	3,18±0,21	4,36±1,53	2,04±0,44	5,19±1,63	1,75±0,24	2,93±0,85	1,55±0,42
C22:1	3,33±0,08	1,11±0,25	0,89±0,13	3,60±1,26	2,53±1,09	0,92±0,05	3,78±0,36	0,65±0,07	2,44±0,11	0,70±0,23
C16:1	2,44±0,99	1,05±0,42	1,99±0,12	4,28±1,90	2,33±0,89	3,98±0,69	1,65±0,43	3,56±1,11	2,55±0,68	5,01±0,37
C18:1n9	6,73±4,51	14,69±3,03	16,46±3,11	12,61±3,57	21,61±2,07	14,27±2,47	14,20±4,11	22,43±2,38	12,66±4,61	13,28±1,19
C20:1n11	2,97±1,26	1,23±0,14	1,07±0,23	4,84±2,49	2,98±1,52	1,89±0,73	1,65±0,69	4,09±0,88	3,05±0,07	4,65±0,93
C18:2n6t	6,54±0,08	5,38±0,54	2,60±0,84	4,72±0,77	4,65±0,69	5,33±0,91	3,54±1,29	8,00±2,06	4,65±0,08	5,21±0,24
C18:3n6	3,70±0,80	2,90±1,36	1,46±0,59	2,89±0,47	3,22±0,87	3,71±1,23	3,13±0,39	1,19±0,40	2,83±1,51	2,93±0,32
C20:3n3	3,16±0,38	4,00±2,09	2,18±0,48	0,88±0,23	1,40±0,74	2,04±0,47	1,17±0,3,5	0,73±0,45	1,44±0,57	1,43±0,26
C20:5n3	4,78±2,06	2,19±1,53	2,59±1,05	4,99±1,17	2,73±0,22	4,37±1,05	3,87±1,06	3,60±1,64	2,32±0,96	1,94±0,07
C22:5n3	nd	nd	1,28±0,15	1,66±0,23	1,36±0,01	nd	nd	0,34±0,08	nd	1,06±0,02
C22:6n3	nd	2,94±0,67	0,73±0,07	6,35±3,32	2,54±0,06	1,61±0,61	1,67±0,33	3,82±1,01	nd	4,50±2,48
C20:2n6	2,24±1,30	4,58±0,52	6,00±0,53	4,14±1,39	1,38±0,25	4,11±0,10	6,34±2,34	3,34±0,89	3,44±0,02	1,84±0,49
C20:4n6	nd	3,70±0,64	2,84±1,22	2,87±2,06	1,33±0,79	1,01±0,10	nd	3,23±0,24	0,75±0,21	1,22±0,05
C22:2n6	2,25±0,90	2,77±0,05	nd	2,32±1,07	0,99±0,33	0,68±0,31	6,64±3,01	1,58±0,20	1,36±0,63	3,18±1,02
C22:4n6	2,05±0,20	3,45±0,89	3,48±0,87	0,92±0,08	0,71±0,35	0,29±0,08	3,21±2,47	2,52±0,32	1,63±0,07	0,30±0,08
C22:5n6	5,50±1,28	0,81±0,08	2,89±1,05	nd	nd	1,54±0,46	1,34±0,43	1,82±0,05	0,95±0,23	nd

Anexo 5. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M ± EPM)

Ácidos Graxos	30°C Dia 01	30°C Dia 02	30°C Dia 03	30°C Dia 04	30°C Dia 05	24°C Dia 01	24°C Dia 02	24°C Dia 03	24°C Dia 04	17°C Dia 01	17°C Dia 02	17°C Dia 03	12°C Dia 01	12°C Dia 02
C14:0	1,08±0,7	1,20±0,12	1,80±0,39	1,55±0,42	0,94±0,04	0,88±0,17	1,14±0,17	1,04±0,26	0,96±0,05	1,06±0,12	2,01±0,50	0,98±0,02	1,28±0,33	1,02±±0,10
C16:0	23,00±1,00	25,76±1,06	20,16±1,75	18,59±3,09	22,61±0,91	19,53±3,22	18,54±2,57	18,97±0,74	21,13±0,67	23,11±0,57	19,30±1,43	19,86±1,83	20,74±0,73	21,88±1,14
C18:0ant.	0,87±0,11	0,64±0,11	1,04±0,31	0,65±0,20	0,81±0,12	0,86±0,17	0,55±0,20	1,76±0,91	0,60±0,07	0,51±0,12	0,86±0,26	0,62±0,14	3,20±2,75	0,87±0,10
C18:0	18,31±1,04	17,23±1,26	16,70±0,60	18,68±1,35	17,22±0,61	17,25±1,00	15,40±1,88	17,22±1,34	17,94±0,77	17,89±0,50	17,32±0,70	17,04±2,20	20,22±1,06	16,53±0,59
C24:0	0,75±0,10	1,61±0,92	0,52±0,13	0,51±0,12	0,65±0,03	0,74±0,07	0,71±0,09	0,77±0,25	0,50±0,08	0,63±0,16	0,35±0,08	0,45±0,11	0,66±0,13	2,58±2,06
C16:1	1,90±0,10	2,19±0,15	1,96±0,15	1,80±0,22	1,83±0,09	1,69±0,29	1,66±0,17	1,85±0,20	1,85±0,09	1,91±0,06	2,08±0,43	2,09±0,31	1,90±0,10	1,93±0,06
C18:1c	27,43±0,66	28,54±0,67	18,43±4,42	22,37±3,78	25,66±0,61	24,53±2,98	19,98±4,41	20,68±4,04	24,37±0,48	25,50±1,05	17,34±3,71	29,18±4,52	18,00±4,34	25,97±0,87
C18:1n11	1,17±0,04	1,28±0,09	0,99±0,12	1,38±0,35	1,11±0,03	1,28±0,11	0,98±0,20	1,07±0,17	1,08±0,06	1,04±0,08	0,97±0,20	1,50±0,49	1,18±0,09	1,16±0,06
C20:1n11	0,33±0,13	0,15±0,03	0,56±0,24	0,50±0,09	0,18±0,05	0,30±0,08	0,32±0,11	0,31±0,10	0,30±0,13	0,08±0,03	1,71±0,74	0,19±0,07	0,38±0,17	0,12±0,06
C24:1	2,42±0,20	2,16±0,48	1,79±0,57	1,41±0,38	2,23±0,13	2,60±0,44	1,99±0,30	2,62±0,87	1,83±0,20	1,85±0,38	1,22±0,39	1,45±0,35	1,64±0,30	2,20±0,20
C18:2n6c	1,82±0,09	1,45±0,26	2,70±0,42	2,63±0,68	1,85±0,11	1,85±0,21	1,99±0,49	2,71±0,81	1,80±0,08	1,77±0,03	3,21±0,61	2,79±1,04	1,79±0,47	2,00±0,12
C20:3n6	1,57±0,05	1,31±0,11	1,04±0,43	1,60±0,37	1,60±0,11	1,77±0,26	1,13±0,37	1,68±0,29	1,52±0,10	1,56±0,11	1,09±0,33	1,27±0,17	1,51±0,12	1,43±0,24
C20:4n6	2,11±0,13	1,77±0,20	1,06±0,48	2,47±0,79	2,54±0,19	3,12±1,07	1,88±0,45	2,53±0,47	2,73±0,11	2,53±0,08	2,06±0,49	2,30±0,22	2,42±0,41	2,06±0,40
C20:5n3	0,46±0,18	0,50±0,16	2,15±0,94	1,12±0,52	0,42±0,08	0,70±0,32	9,03±5,94	0,98±0,66	0,65±0,16	0,42±0,11	2,23±0,99	0,79±0,34	0,70±0,34	0,56±0,12
C22:4n6	1,40±0,10	1,01±0,25	1,30±0,12	1,22±0,37	2,58±0,95	1,89±0,44	1,43±0,27	1,31±0,39	1,90±0,32	1,40±0,11	1,87±0,37	1,34±0,26	1,81±0,41	1,58±0,23
C22:5n6	0,22±0,12	0,33±0,10	2,12±0,98	1,33±0,93	0,13±0,03	0,64±0,29	1,02±0,60	1,13±1,07	0,34±0,14	0,24±0,11	2,50±1,09	0,51±0,26	1,14±0,92	0,34±0,13
C22:5n3	0,49±0,05	0,48±0,07	1,91±0,71	1,24±0,37	0,58±0,04	0,57±0,19	5,06±2,80	1,17±0,35	0,68±0,04	0,62±0,10	1,57±0,64	0,62±0,05	0,87±0,17	0,76±0,11
C22:6n3	9,77±1,04	7,20±1,44	6,22±2,15	10,16±4,35	11,60±1,18	13,68±5,20	8,65±2,31	12,84±2,90	14,24±0,20	12,84±0,47	7,77±2,82	10,72±2,08	12,06±2,29	10,38±1,68

Anexo 6. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*Sn-1*) e 2 (*Sn-2*) da fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachmeridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M ± EPM)

Ácidos graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 2		30°C- dia 3		30°C- dia 4		30°C- dia 5	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	nd	nd	4,48±2,36				0,66±0,22		1,29±0,25	
C16:0	19,03±4,66	15,67±3,07	37,61±1,87	15,25±3,18	35,06±3,84	13,96±1,12	32,57±1,52	16,52±1,11	46,72±0,60	10,28±2,80
C17:0	9,03±2,45	3,94±1,32	0,05±0,08	2,93±1,09	7,97±2,39	10,00±0,78	4,93±0,41	3,00±0,82	2,15±0,65	3,32±0,75
C18:0	19,72±4,08	16,49±3,42	30,04±1,21	14,83±2,61	26,02±2,35	16,14±0,87	25,99±0,75	4,54±0,99	33,94±0,68	4,24±0,72
C20:0	1,88±0,23	11,27±1,96	nd	0,76±0,15	1,18±0,25	2,28±1,61	2,10±0,23	0,92±0,52	0,37±0,58	0,25±0,14
C22:0	1,32±0,33	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,80±0,23	nd
C23:0	nd	nd	2,39±1,02	nd	2,30±0,23	nd	nd	nd	nd	nd
C24:0	3,85±1,02	nd	1,43±1,23	nd	1,03±0,48	nd	4,06±1,68	nd	1,91±0,55	nd
C16:1	7,88±0,62	6,54±2,36	2,17±0,79	1,45±0,43	1,94±0,48	3,18±1,31	1,05±0,28	3,57±0,40	0,93±0,18	2,80±0,53
C18:1	8,47±0,05	5,03±1,39	7,89±1,40	6,38±1,50	7,40±1,13	11,93±2,59	6,17±1,24	43,21±3,56	5,11±0,18	37,27±7,04
C20:1	2,96±0,98	5,47±0,59	1,93±0,23	1,78±0,50	1,24±0,23	1,48±0,32	4,28±1,22	1,48±0,98	0,32±0,11	0,31±0,11
C22:1n9	4,62±1,98	nd	3,07±1,11	nd	1,31±0,23	nd	nd	nd	0,02±0,01	nd
C24:1	5,33±2,47	1,32±0,22	3,96±0,22	1,72±0,48	1,11±0,46	1,99±0,34	1,78±0,45	0,19±0,11	1,38±0,67	0,07±0,03
C16:2n4	nd	6,63±0,75	nd	6,00±0,35	nd	3,93±0,11	3,28±1,09	1,32±0,32	nd	0,34±0,11
C18:2n6c	13,36±5,17	9,91±2,80	3,06±1,23	21,21±3,26	11,66±6,26	14,56±2,10	1,34±0,29	3,71±1,43	0,81±0,13	7,96±2,64
C18:3n6	4,48±0,66	4,72±1,61	4,75±0,15	4,56±0,23	2,47±0,71	3,58±0,58	4,32±1,51	1,77±0,57	1,06±0,22	0,54±0,07
C20:4n6	nd	6,74±0,48	nd	1,90±0,45	nd	2,19±0,87	2,65±0,48	3,90±0,91	0,04±0,08	6,56±1,26
C20:3n3	2,27±0,58	1,46±0,45	2,87±0,58	2,47±0,29	2,72±0,58	1,76±0,70	0,89±0,58	0,57±0,26	nd	0,49±0,07
C20:5n3	nd	11,37±2,36	nd	10,06±2,80	nd	8,95±0,69	3,02±0,96	0,82±0,26	nd	1,62±0,46
C22:2n6	nd	7,34±1,03	nd	0,58±0,50	nd	2,39±0,59	2,79±0,45	1,58±0,40	3,03±1,36	1,56±0,13
C22:4n6	nd	nd	nd		nd	nd	2,27±1,00	nd	1,35±0,64	nd
C22:5n6	2,61±0,33	9,04±0,17	nd	8,03±2,70	0,77±0,27	1,87±0,60	nd	0,85±0,41	nd	0,93±0,31
C22:5n3	4,87±0,79	4,68±0,85	nd	1,12±0,43	2,41±0,35	0,77±0,22	nd	0,41±0,16	0,12±0,08	0,30±0,11
C22:6n3	6,20±1,24	5,36±1,45	5,73±2,35	3,63±1,42	1,36±0,62	3,66±0,52	0,98±0,36	11,64±1,61	1,29±0,13	21,19±4,16

- Continuação da tabela

Ácidos graxos	24°C-dia 1		24°C-dia 2		24°C-dia 3		24°C-dia 4	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	1,63±0,15	nd	1,10±0,82	nd	1,67±0,25	2,29±0,20	nd	nd
C16:0	36,17±7,99	18,60±0,77	42,44±1,30	18,39±1,09	38,67±4,30	17,44±2,38	40,70±1,71	12,36±0,55
C17:0	5,77±2,56	4,95±2,30	5,93±0,14	4,30±2,45	4,17±0,70	5,80±1,93	5,86±1,43	4,39±2,28
C18:0	23,33±3,50	12,82±3,21	1,19±0,09	9,26±1,09	3,38±1,67	7,66±2,31	27,92±0,47	3,09±0,25
C20:0	2,13±1,26	2,77±1,11	nd	2,39±0,86	1,80±0,31	1,00±0,42	0,73±0,28	0,77±0,27
C22:0	0,44±0,22	nd	nd	nd	0,22±0,08	nd	1,42±1,02	nd
C24:0	1,15±0,22	nd	0,92±0,06	nd	0,92±0,12	nd	0,88±0,21	nd
C16:1	2,87±1,34	4,13±1,20	2,60±0,82	4,27±0,63	0,73±0,25	4,28±0,06	0,68±0,43	2,77±0,22
C18:1	10,84±2,79	26,01±6,85	28,34±0,23	30,51±3,49	26,41±2,00	35,28±7,43	7,49±0,52	37,80±1,19
C20:1	1,55±0,25	1,51±0,32	1,76±0,18	1,35±0,22	0,47±0,23	0,59±0,42	2,79±0,36	0,77±0,12
C22:1n9	2,38±1,23	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C24:1	3,33±0,28	0,46±0,19	2,63±0,03	3,41±0,56	0,95±0,08	0,36±0,08	2,04±0,49	0,20±0,10
C16:2n4	4,37±0,57	2,39±1,05		5,49±1,86	nd	2,07±0,96	nd	1,89±1,05
C18:2n6c	2,62±1,30	9,40±4,27	8,07±1,90	4,59±1,45	9,41±1,25	4,56±1,79	1,33±0,60	17,04±2,40
C18:3n6	3,13±1,31	2,12±0,63	0,93±0,26	3,09±0,39	6,35±3,35	2,53±1,35	1,78±0,72	0,35±0,09
C20:4n6	0,41±0,05	1,86±0,62	2,25±1,02	0,99±0,11	1,09±0,15	2,97±0,53	1,36±0,29	3,81±1,22
C20:3n3	nd	1,95±0,24	0,23±0,08	0,44±0,22	nd	0,74±0,28	1,45±0,44	0,57±0,18
C20:4n3	nd	nd	1,08±0,12	nd	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	3,07±1,92	nd	1,14±0,19	nd	2,07±0,75	nd	4,44±1,07
C22:2n6	1,46±1,56	2,37±0,70	nd	1,24±0,67	0,30±0,10	1,17±0,31	0,30±0,08	0,97±0,16
C22:4n6	0,48±0,16	nd	nd	nd	0,40±0,08	nd	0,18±0,12	nd
C22:5n6	0,11±0,02	0,95±0,28	nd	3,59±0,12	nd	1,35±0,37	0,66±0,35	0,62±0,42
C22:5n3	nd	1,15±0,35	nd	1,40±0,18	nd	0,32±0,11	2,29±0,96	0,14±0,05
C22:6n3	2,80±0,33	5,38±1,67	2,05±0,25	5,96±0,59	2,16±0,38	9,82±2,22	2,20±0,26	8,01±0,26

-Continuação da tabela

Ácidos graxos	17°C-dia 1		17°C-dia 2		17°C-dia 3		12°C-dia 1		12°C-dia 2	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	2,73±0,77	nd	1,51±0,54	nd	1,95±0,22	nd	2,82±0,21	nd	1,12±0,21	nd
C16:0	20,25±0,76	15,96±2,06	39,87±5,65	15,65±0,66	40,54±2,50	15,25±0,28	34,03±9,02	27,17±7,26	25,61±3,44	13,91±3,66
C17:0	13,99±5,10	7,41±0,27	7,71±2,78	2,22±0,52	6,25±2,04	1,43±0,77	2,99±0,05	1,62±0,54	8,69±0,62	6,55±0,63
C18:0	12,83±7,11	13,74±0,76	26,99±2,20	4,76±0,24	29,37±0,77	3,06±0,33	19,47±6,54	15,69±7,02	30,28±4,62	13,76±5,91
C20:0	1,78±0,22	1,75±0,05	2,75±1,28	0,17±0,06	1,67±0,52	0,87±0,24	0,52±0,11	0,38±0,01	1,44±0,22	1,62±0,80
C23:0	nd	nd	nd	nd	1,25±0,45	nd	nd	nd	2,62±1,21	nd
C24:0	1,92±0,25	nd	1,91±0,73	nd	1,15±0,07	nd	1,03±0,22	nd	0,94±0,06	nd
C16:1	1,86±0,99	4,33±0,85	1,61±0,12	4,17±0,10	0,80±0,07	3,54±0,21	3,35±1,12	3,08±0,85	3,23±1,12	2,28±0,74
C18:1	12,17±1,59	21,21±5,66	4,96±0,30	45,34±1,20	5,77±0,22	46,81±0,75	19,51±8,10	30,29±12,49	8,95±0,09	13,59±7,41
C20:1	1,75±0,15	0,92±0,15	1,81±0,53	0,92±0,11	nd	0,74±0,21	1,03±0,08	0,45±0,14	nd	4,25±2,20
C22:1n9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,50±0,21	nd	nd	nd
C24:1	4,03±1,67	1,86±0,53	3,56±1,00	0,18±0,08	1,82±0,59	0,41±0,11	1,27±0,32	0,28±0,02	0,72±0,33	0,85±0,37
C16:2n4	nd	2,58±1,40	5,00±0,89	0,43±0,01	nd	1,66±0,48	nd	0,62±0,22	nd	1,60±0,52
C18:2n6c	16,80±8,73	5,41±1,38	2,47±0,89	3,47±0,37	1,52±0,26	5,70±0,31	1,88±0,55	3,85±0,89	1,66±0,11	11,86±3,43
C18:3n6	3,39±0,58	4,06±0,42	1,18±0,41	0,47±0,08	0,28±0,09	0,82±0,17	2,23±1,02	0,82±0,42	2,19±0,31	1,69±0,64
C20:4n6	nd	4,84±2,74	0,26±0,04	3,43±0,50	0,85±0,30	3,61±0,30	1,92±1,00	3,75±0,16	2,19±0,19	1,96±0,47
C20:3n3	nd	1,11±0,27	nd	0,08±0,01	0,86±0,23	0,56±0,13	nd	0,47±0,20	1,93±0,07	4,67±0,57
C20:5n3	nd	4,56±1,73	nd	1,78±0,87	nd	1,21±0,22	nd	2,69±0,61	nd	3,48±2,07
C22:0	3,28±1,22	nd	0,14±0,01	nd	0,44±0,11	nd	0,73±0,34	nd	nd	nd
C22:2n6	nd	3,50±1,72	nd	1,47±0,08	1,61±0,19	1,47±0,32	nd	0,63±0,24	nd	3,31±1,32
C22:4n6	nd	nd	0,06±0,02	nd	1,26±0,27	nd	0,06±0,01	nd	1,70±0,86	nd
C22:5n6	nd	0,42±0,05	nd	0,53±0,24	1,53±0,56	0,95±0,09	nd	1,09±0,33	0,98±0,12	2,80±0,75
C22:5n3	3,29±2,33	0,58±0,14	0,07±0,03	0,81±0,34	0,53±0,14	0,60±0,18	0,64±0,33	0,81±0,14	3,52±1,65	1,91±0,31
C22:6n3	2,67±0,64	5,75±0,70	1,01±0,22	14,13±0,29	2,20±0,57	11,33±1,16	5,11±2,37	6,31±2,11	0,33±0,14	9,91±3,42

Anexo 7. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachmeridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M ± EPM)

Ácidos Graxos	30°C Dia 01	30°C Dia 02	30°C Dia 03	30°C Dia 04	30°C Dia 05	24°C Dia 01	24°C Dia 02	24°C Dia 03	24°C Dia 04	17°C Dia 01	17°C Dia 02	17°C Dia 03	12°C Dia 01	12°C Dia 02
C14:0	0,89±0,11	0,62±0,13	0,75±0,13	0,65±0,12	0,57±0,15	0,66±0,13	0,65±0,14	1,33±0,65	0,61±0,14	0,58±0,22	0,76±0,17	0,63±0,10	0,53±0,06	0,63±0,06
C16:0	9,41±0,35	8,47±0,90	14,0±2,90	13,7±3,04	9,15±0,31	10,1±3,53	13,3±3,40	15,7±2,74	9,51±0,45	10,1±1,01	17,5±3,80	9,13±0,38	11,0±1,75	9,83±0,70
C17:0	0,75±0,22	0,42±0,21	0,43±0,12	0,60±0,14	0,59±0,21	0,55±0,15	0,67±0,20	1,50±0,86	0,69±0,15	0,92±0,33	0,52±0,15	0,58±0,19	0,54±0,13	1,09±0,12
C18:0ant.	1,78±0,82	0,73±0,24	0,76±0,20	0,33±0,03	1,10±0,19	0,60±0,15	0,71±0,26	0,73±0,24	1,25±0,10	1,29±0,45	3,99±3,26	4,80±3,28	5,21±4,00	1,41±0,13
C18:0	15,4±0,57	13,0±2,77	16,7±0,93	16,7±0,53	17,8±0,53	13,2±2,72	18,6±0,63	18,2±1,03	18,7±0,45	21,2±1,99	19,0±1,30	17,7±1,20	17,3±0,83	19,7±1,75
C24:0	0,68±0,10	0,74±0,16	0,65±0,15	3,53±3,21	0,21±0,03	0,63±0,10	0,35±0,03	0,48±0,10	0,28±0,06	0,33±0,05	0,33±0,07	0,27±0,07	0,31±0,07	0,24±0,04
C16:1	1,02±0,11	1,02±0,11	1,42±0,21	1,39±0,20	1,04±0,11	1,12±0,26	1,07±0,23	1,12±0,11	0,86±0,10	0,98±0,11	1,46±0,17	0,73±0,13	1,25±0,28	0,92±0,08
C18:1c	15,2±1,49	16,4±1,74	19,9±2,70	18,8±3,01	15,6±0,75	15,0±3,73	18,3±2,47	15,6±2,86	14,2±1,09	14,1±1,01	17,9±4,37	11,7±2,30	12,6±4,14	15,0±1,72
C18:1n11	1,61±0,14	4,11±2,60	1,35±0,15	1,51±0,12	1,73±0,05	1,32±0,19	1,44±0,15	1,11±0,24	1,63±0,20	1,76±0,08	1,34±0,13	1,55±0,11	1,64±0,22	1,85±0,20
C24:1	2,24±0,33	2,72±0,60	2,23±0,46	1,25±0,07	0,80±0,19	2,38±0,33	1,01±0,14	1,84±0,65	0,85±0,25	0,76±0,06	1,16±0,23	0,98±0,34	1,12±0,34	0,72±0,17
C18:2n6c	1,58±0,18	1,43±0,09	1,47±0,15	1,71±0,26	1,46±0,08	1,29±0,17	1,58±0,07	1,86±0,39	1,43±0,04	1,64±0,14	1,62±0,35	1,36±0,25	1,94±0,88	1,65±0,08
C20:3n6	2,61±0,09	2,54±0,22	2,03±0,29	1,91±0,27	2,56±0,16	2,31±0,25	2,25±0,40	1,47±0,51	2,38±0,10	2,23±0,30	1,68±0,34	2,31±0,18	2,25±0,35	2,32±0,22
C20:4n6	5,78±0,11	6,21±0,31	4,10±1,11	4,53±0,82	6,35±0,23	5,30±0,71	4,97±1,04	3,35±1,26	6,34±0,33	5,79±0,57	3,92±1,05	6,07±0,31	5,52±0,93	5,94±0,56
C20:5n3	0,75±0,10	1,41±0,66	2,65±2,24	2,76±1,88	0,62±0,09	1,67±0,72	0,78±0,20	2,83±2,07	0,72±0,08	0,77±0,15	1,01±0,25	1,34±0,64	1,82±0,95	1,18±0,59
C22:4n6	2,83±0,25	2,70±0,21	2,16±0,57	2,15±0,45	2,91±0,26	2,36±0,26	2,47±0,45	1,82±0,47	2,56±0,20	2,22±0,30	1,89±0,32	2,74±0,23	2,41±0,35	2,64±0,32
C22:5n6	0,26±0,10	0,84±0,54	0,26±0,09	1,85±1,22	0,25±0,10	1,17±0,69	0,40±0,25	1,54±0,92	0,18±0,06	0,17±0,06	0,65±0,16	0,27±0,12	0,24±0,10	0,58±0,45
C22:5n3	1,11±0,04	1,12±0,09	2,14±1,13	0,90±0,10	1,42±0,22	0,92±0,12	1,10±0,22	2,40±1,60	1,05±0,05	0,90±0,19	0,80±0,16	1,27±0,14	1,09±0,10	1,10±0,10
C22:6n3	27,0±2,42	27,0±1,87	21,3±5,45	18,2±6,06	29,1±0,98	20,9±3,19	23,8±4,50	17,7±6,53	29,6±0,95	25,7±3,16	17,9±4,11	30,3±1,38	25,0±5,16	24,4±2,43

Anexo 8. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*Sn-1*) e 2 (*Sn-2*) da fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo ($M \pm EPM$)

Ácidos graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 2		30°C- dia 3		30°C- dia 4		30°C- dia 5	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C16:0	22,25±2,63	17,05±1,09	21,87±0,43	17,38±1,31	21,59±0,73	12,89±2,97	22,29±2,08	17,51±2,47	24,41±1,80	18,27±1,17
C17:0	6,61±3,43	12,04±2,39	0,86±0,06	9,75±2,07	10,33±4,08	9,97±3,43	3,38±0,86	7,82±0,86	12,92±1,04	4,74±1,30
C18:0	38,97±7,39	23,78±8,82	54,66±1,23	25,38±12,28	34,5±9,88	13,79±2,46	46,62±4,73	35,91±9,80	26,03±1,40	50,20±2,26
C20:0	1,94±0,61	3,98±0,51	0,28±0,02	4,15±0,88	1,40±0,68	3,15±1,28	1,06±0,18	2,17±0,80	0,39±0,30	0,44±0,12
C16:1	2,05±1,04	2,19±0,70	0,42±0,20	1,36±0,67	1,64±0,19	2,46±0,41	0,81±0,64	1,54±0,23	2,83±0,85	0,80±0,35
C18:1n9	8,01±0,91	9,82±1,00	9,00±0,13	9,86±1,18	10,28±1,11	10,22±2,11	8,83±0,6,3	7,73±0,07	5,04±0,23	6,97±0,71
C20:1n9	3,07±2,12	2,13±0,43	0,37±0,21	1,84±0,53	1,12±0,31	4,96±2,80	1,25±0,99	2,76±1,47	4,13±1,11	0,94±0,19
C24:1	0,56±0,38	1,31±0,17	0,69±0,26	0,99±0,14	2,00±0,91	1,74±0,77	0,40±0,15	0,35±0,06	1,12±0,27	0,40±0,28
C16:2n4	2,30±1,40	1,78±0,31	1,70±0,10	4,11±2,31	2,18±0,72	11,71±6,33	0,33±0,17	1,79±0,20	3,42±1,01	2,59±0,26
C18:2n6c	2,45±1,12	3,79±1,50	1,12±0,10	1,85±0,97	3,82±1,45	3,84±1,69	1,65±0,16	1,39±0,35	4,12±1,08	1,59±0,23
C18:2n6t	0,73±0,23	1,53±0,38	1,39±0,10	2,51±0,73	0,77±0,18	3,45±2,27	2,61±0,92	0,77±0,08	0,72±0,46	1,12±0,35
C18:3n6	0,74±0,09	1,01±0,36	0,92±0,28	1,18±0,60	0,15±0,04	1,14±0,29	1,93±1,08	0,43±0,11	2,06±0,75	1,10±0,26
C20:4n6	0,76±0,31	2,36±0,92	0,44±0,21	1,83±0,59	0,74±0,21	3,66±1,77	0,70±0,25	3,81±2,09	3,06±0,59	2,29±1,26
C20:3n3	0,62±0,07	3,04±1,31	1,33±0,02	2,42±1,12	2,25±0,88	1,16±0,44	1,07±0,46	0,82±0,42	0,25±0,14	0,43±0,16
C20:5n3	1,22±0,40	2,88±1,27	0,63±0,18	2,33±1,40	1,43±0,63	5,62±1,17	0,93±0,43	5,64±3,12	3,35±0,98	2,98±1,97
C22:2n6	1,66±0,76	0,92±0,44	0,73±0,16	1,02±0,60	0,79±0,16	2,07±0,83	1,00±0,62	0,40±0,14	2,46±1,69	0,46±0,26
C22:5n6	1,28±0,20	0,83±0,26	0,31±0,09	0,61±0,34	0,38±0,12	1,17±0,52	0,93±0,20	1,68±0,27	0,77±0,46	0,78±0,36
C22:5n3	1,15±0,75	2,54±0,94	0,37±0,03	1,96±1,11	1,71±0,62	1,41±0,79	0,70±0,19	1,28±0,70	1,07±0,54	0,17±0,06
C22:6n3	3,47±1,09	7,02±3,04	2,94±0,31	9,48±2,81	2,86±0,56	7,22±5,40	3,51±0,30	6,22±2,64	1,86±0,44	3,88±1,15

- Continuação da tabela

Ácidos graxos	24°C-dia 1		24°C-dia 2		24°C-dia 3		24°C-dia 4	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C16:0	21,65±0,73	14,44±0,23	17,13±0,98	12,82±0,97	24,95±1,81	19,39±2,22	20,77±1,96	6,36±0,93
C17:0	3,67±1,22	8,09±0,80	2,21±0,16	8,73±0,01	2,88±0,94	8,71±2,49	7,42±1,88	3,34±1,85
C18:0	48,07±0,81	16,10±2,49	36,09±1,05	17,48±1,77	34,87±5,74	34,51±10,01	40,96±6,43	5,48±1,44
C20:0	0,82±0,16	3,42±0,27	1,14±0,24	2,34±0,12	3,96±1,18	2,48±1,19	1,50±1,04	0,91±0,35
C16:1	1,22±0,33	2,29±0,42	1,73±0,28	1,19±0,22	3,88±1,24	1,45±0,36	0,30±0,14	1,32±0,15
C18:1n9	11,30±1,20	11,07±1,15	10,92±0,83	10,40±1,77	3,73±2,25	8,52±0,48	7,54±1,00	24,79±2,79
C20:1n9	1,11±0,18	3,52±1,74	1,26±0,15	0,79±0,27	1,99±0,67	1,98±1,21	2,01±0,61	2,03±0,11
C24:1	0,49±0,08	10,59±1,45	0,77±0,40	1,36±0,48	0,89±0,16	1,07±0,73	1,16±0,45	0,19±0,12
C16:2n4	1,15±0,07	2,00±0,87	0,93±0,39	10,38±1,66	1,15±0,36	2,00±0,19	1,11±0,20	1,12±0,28
C18:2n6c	1,85±0,16	4,27±0,60	2,25±0,04	1,32±0,72	4,26±1,31	1,39±0,26	1,87±0,41	1,61±0,21
C18:2n6t	1,54±0,11	5,28±2,55	7,61±1,08	16,32±8,41	2,52±0,24	1,08±0,24	3,07±0,88	12,94±11,23
C18:3n6	1,10±0,61	1,55±0,37	2,38±0,15	0,75±0,17	0,73±0,42	1,06±0,58	1,07±0,36	0,88±0,28
C20:4n6	0,40±0,21	2,91±0,24	1,42±0,01	3,30±0,68	1,58±0,61	2,90±1,62	1,97±0,62	3,83±1,04
C20:3n3	0,55±0,29	2,32±0,62	1,12±0,21	3,06±0,03	3,56±1,0,3	1,75±0,99	0,84±0,67	4,42±2,75
C20:5n3	1,05±0,50	3,47±1,46	4,86±0,95	1,98±0,10	1,77±0,06	4,01±2,49	2,18±0,44	2,25±1,94
C22:2n6	1,13±0,20	0,78±0,35	1,63±0,31	2,24±0,46	1,35±1,10	1,43±0,80	1,67±0,57	2,00±1,08
C22:5n6	0,33±0,15	0,84±0,31	1,42±0,79	1,08±0,29	0,96±0,25	1,32±0,45	0,60±0,46	1,52±1,00
C22:5n3	0,19±0,06	3,59±0,07	0,85±0,33	1,44±0,68	2,25±0,77	1,32±0,60	1,30±0,43	0,66±0,35
C22:6n3	2,38±0,41	3,48±0,96	4,28±0,77	3,01±0,11	2,72±0,74	3,64±2,39	3,08±0,63	25,03±11,56

- Continuação da tabela

Ácidos graxos	17°C-dia 1		17°C-dia 2		17°C-dia 3		12°C-dia 1		12°C-dia 2	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C16:0	20,73±1,23	15,16±1,20	21,34±1,62	13,78±1,12	15,73±3,77	23,64±11,59	25,80±1,39	14,85±2,51	19,01±1,75	10,51±2,35
C17:0	11,31±3,40	7,57±3,96	15,61±4,10	5,02±0,13	7,68±2,62	4,46±0,77	7,67±2,27	9,46±3,43	8,60±2,77	8,70±1,94
C18:0	33,39±5,99	16,16±1,03	22,66±2,78	7,30±0,34	23,88±8,98	11,79±7,07	26,70±2,29	10,72±2,77	29,59±5,34	6,35±1,77
C20:0	2,50±0,56	2,95±0,59	1,78±0,30	5,13±2,03	0,93±0,73	2,52±1,53	1,06±0,20	3,00±1,34	1,21±0,39	2,04±0,77
C16:1	2,67±0,11	1,62±0,78	1,56±0,28	3,57±0,19	1,46±0,55	2,61±0,18	1,45±0,48	2,16±0,02	2,83±1,48	2,28±0,18
C18:1n9	10,82±0,77	20,72±5,15	11,91±0,40	34,54±5,07	17,98±6,60	22,31±11,74	10,69±1,34	22,96±8,09	7,76±0,62	21,30±8,55
C20:1n9	0,65±0,15	2,93±0,02	1,99±0,93	3,44±1,17	1,13±0,28	0,81±0,61	1,89±1,50	1,18±0,59	3,79±0,39	4,84±2,69
C24:1	0,15±0,05	1,32±0,54	1,27±0,50	0,65±0,04	0,61±0,20	1,42±1,17	0,86±0,34	1,87±0,79	0,90±0,11	1,40±0,94
C16:2n4	2,64±0,47	4,19±1,40	2,39±1,51	2,93±0,65	1,20±0,28	9,70±7,66	1,71±0,38	1,65±0,38	2,57±1,48	3,13±2,59
C18:2n6c	2,72±0,35	2,13±0,96	3,62±0,77	2,69±0,30	2,23±0,24	3,06±2,40	3,48±0,85	1,73±0,31	3,23±0,98	2,03±1,22
C18:2n6t	0,90±0,50	1,51±0,34	1,19±0,41	2,52±1,33	10,77±5,64	3,05±0,40	2,70±1,04	1,22±0,31	3,69±1,70	10,64±5,25
C18:3n6	1,44±0,17	1,59±0,34	1,74±0,12	3,68±1,42	1,00±0,17	1,37±0,41	2,03±0,47	2,15±0,36	2,13±0,75	1,21±0,12
C20:4n6	2,75±0,32	3,02±0,19	1,78±0,88	1,14±0,20	6,07±1,98	2,90±2,18	3,21±0,93	2,08±0,51	2,51±0,43	2,99±1,79
C20:3n3	1,95±0,97	4,62±1,12	1,13±0,20	5,16±0,05	1,28±0,10	3,24±1,78	2,65±0,58	2,46±1,23	1,18±0,38	2,32±0,46
C20:5n3	1,04±0,11	4,19±0,28	2,92±0,41	2,68±1,23	3,18±1,50	1,39±0,68	3,17±0,3,7	1,99±1,14	3,51±0,57	1,51±0,80
C22:2n6	0,86±0,07	1,85±1,31	1,10±0,20	0,24±0,09	1,28±0,56	1,27±0,37	0,99±0,47	3,20±0,32	1,38±0,36	2,56±1,96
C22:5n6	1,47±0,02	2,84±0,55	1,09±0,08	1,34±0,32	0,92±0,27	2,21±1,47	0,64±0,09	0,98±0,50	1,25±0,32	0,76±0,31
C22:5n3	0,49±0,11	1,93±0,34	2,23±0,52	1,08±0,56	1,41±0,46	0,48±0,19	0,82±0,66	1,16±0,60	1,12±0,55	0,77±0,70
C22:6n3	2,69±0,73	3,71±1,41	2,70±0,29	3,12±1,04	1,59±0,38	2,05±0,97	2,65±0,29	15,01±8,25	3,73±1,43	14,67±10,19

CAPÍTULO 3

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NAS MEMBRANAS
CELULARES DE *Steindachneridion parahybae*
(SILURIFORMES: PIMELODIDAE): ENSAIO CRÔNICO

Ribeiro, C.S., Schreiner, M. e Moreira, R.G.

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NAS MEMBRANAS CELULARES DE *Steindachneridion parahybae* (SILURIFORMES: PIMELODIDAE): ENSAIO CRÔNICO

Ribeiro, C.S.¹, Schreiner, M.³ e Moreira, R.G.¹

¹ Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências- Departamento de Fisiologia, São Paulo, SP, Brasil.

² Universität für Bodenkultur Wien- Department of Food Sciences and Technology, Vienna, Austria.

Resumo

A influência humana no ambiente natural tem aumentado continuamente, justificando a importância de se investigar os aspectos antrópicos que causam estresse nos animais em seus sistemas naturais. No presente trabalho, juvenis de *Steindachneridion parahybae* foram submetidos a duas temperaturas consideradas como extremos inferior e superior (12 e 30°C), além de 2 temperaturas intermediárias (17 e 24°C), baseadas em dados reais de temperatura dos rios da Bacia do Rio Paraíba do Sul, onde *S. parahybae* é endêmico. Os animais foram mantidos nas referidas temperaturas por 30 dias, determinando um ensaio crônico, com coleta de tecidos (fígado e encéfalo) no início aos 15 e 30 dias experimentais. Para a avaliação da dinâmica das membranas, as principais frações fosfolípídicas (fosfatidilcolina (FC) e fosfatidiletanolamina (FE)) dos tecidos foram obtidas por separação em cromatografia de camada delgada, com posterior análise posicional das cadeias *sn-1 sn-2* de FC e FE que tiveram o perfil de seus ácidos graxos analisados em cromatógrafo a gás. As análises realizadas nos 2 tecidos amostrados evidenciaram mudanças significativas nos ácidos graxos durante o experimento. Os animais mantidos em 12°C apresentaram uma queda significativa dos ácidos graxos saturados (SAT) com aumento concomitante dos ácidos graxos polinsaturados (PUFA) durante o período experimental, porém devido a pouca capacidade física do ácido graxo incorporado (C18:2n6) de aumentar a fluidez da membrana ou pela incapacidade metabólica deste grupo em se manter em baixas temperaturas, houve grande mortalidade e a taxa de sobrevivência foi 50%. Na análise dos ácidos graxos das posições *sn1* e *sn2* de FC encefálica um fato mostrou-se relevante

para os grupos 17 e 30°C, o aumento de ácidos graxos ômega 6 de cadeia longa com diminuição dos ácidos graxos da mesma série com cadeia curta nos animais mantidos nas menores temperaturas e o comportamento contrário, com aumento de C18n6 e decorrente diminuição de C20-22n6 no mesmo período para os animais mantidos a 30°C demonstrando uma resposta clássica de reformulação da membrana: aumento da fluidez com a diminuição da temperatura.

Abstract

The impact of civilization on natural systems is steadily growing, justifying the systematic investigation of anthropic factors that cause stress in animals in their natural systems. In this study, *Steindachneridion parahybae* juveniles were kept in two temperatures considered as lowest and highest limits (12 and 30°C), and two intermediate temperatures (17 and 24°C), based on real data of temperature in the rivers of the Rio Paraíba do Sul basin, where *S. parahybae* is endemic. The animals were kept in the temperature range for 30 days, in chronic trial, with collection of tissues (liver and brain) at days 0, 15 and 30 of the experiment. To evaluate the dynamic of membranes, the main tissue fractions, phospholipids (phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE)), were obtained by thin layer chromatography, with subsequent analysis of *sn*-1 and *sn*-2 positions within PC and PE.. The analysis in both tissues showed significant changes in fatty acid profiles during the experiment. Animals in the 12°C group showed a significant decrease of saturated fatty acids (SAT) with concomitant increase of polyunsaturated fatty acids (PUFA) during the experimental period, but due to the poor physical ability of the incorporated fatty acid (C18:2n6) to increase membrane fluidity or due to the metabolic inability of this group to remain at low temperatures, there was a high mortality rate, with survival rates of 50%. The analysis of fatty acids in *sn*-1 and *sn*-2 positions of PC in brain tissue showed a relevant response to temperature, represented by an increase of long chain omega-6 fatty acids in expense of mainly LA at lower temperatures (17°C) and the opposite behavior, with increased C18n6, resulting in a decrease in long chain omega-6 fatty acids in the same period for animals kept at 30°C, showing a classic response to membranes reorganization: the increased fluidity with decreasing temperature.

1. Introdução

A função primária das membranas celulares é separar dois ambientes diferentes que mantêm a comunicação por vias de transporte diversas (Miler *et al.*, 1976). Alterações na temperatura produzem efeitos imediatos nestas vias de transporte, tanto ativas quanto passivas. Porém, como sistema dinâmico, as membranas modificam-se estruturalmente para se adequar à nova situação, mantendo um grau ótimo de funcionalidade celular; este tipo de mudança é conhecido como adaptação homeoviscosa (Hochachka e Somero, 2002).

A fim de manter a integridade estrutural e funcional, os animais ectotérmicos expostos a baixas temperaturas ambientais lançam mão de uma gama de ajustes físico-químicos que compõem a adaptação homeoviscosa, dentre estas vale ressaltar: 1. Alterações na proporção de classes fosfolípicas, como por exemplo, a substituição de fosfatidilcolina, que tem um formato cilíndrico e pouco fluído por fosfatidiletanolamina, que apresenta formato cônico que favorece rotação dos ácidos graxos inseridos (Hazel e Carpenter, 1985, Hazel e Landrey, 1988); 2. Mudanças significativas na composição de ácidos graxos das cadeias laterais *sn-1* e *sn-2* inseridas nos fosfolipídeos, com acúmulo de ácidos graxos monoinsaturados em *sn-1* e polinsaturados em *sn-2* em peixes expostos a baixas temperaturas (Farkas *et al.*, 2001); 3. Variação no conteúdo de colesterol inserido nas membranas celulares, com significativa diminuição de valores com o decréscimo de temperatura já que esta estrutura privilegia e estabilidade das membranas celulares (Crockett e Londrville, 2006).

A manutenção da viscosidade das membranas celulares frente a mudanças de temperatura foi observada pela primeira vez em *Escherichia coli* (Sinensky e Ikonem, 1974). Os peixes também são muito utilizados neste tipo de estudo, pois este modelo pode ser submetido às mudanças controladas de muitos graus centígrados sem que ocorra grande mortalidade dos animais (Crockett e Londrville, 2006).

O Surubim do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) é um peixe endêmico da bacia hidrográfica do rio Paraíba do sul, que devido à localização geográfica apresenta grande amplitude térmica, variando de 10 a 32°C em sua extensão. Devido à grande ação antrópica na bacia a qual a espécie pertence e ao comportamento reofílico deste animal (Burgess, 1989), que acentua a probabilidade de se deparar com injúrias, esta espécie se encontra nas listas de espécies de peixes ameaçados de extinção, o que

sucinta a grande preocupação sobre a conservação da biodiversidade genética e de programas de repovoamento (Brasil, 2004, Honji *et al.*, 2009).

Desta forma, contextualizando a grande amplitude térmica da bacia na qual *Steindachneridion parahybae* é endêmico, e considerando as substanciais mudanças que ocorrem nas membranas biológicas frente às mudanças na temperatura, o Surubim do Paraíba mostra-se como um modelo interessante de estudo da adaptação homeoviscosa. Desta forma o objetivo deste trabalho é verificar o papel da variação da temperatura, em tratamento crônico, sobre a dinâmica das membranas celulares nesta espécie, principalmente no que se refere à análise posicional dos ácidos graxos dos principais fosfolipídios destas membranas.

2. Material e Métodos

2.1. Transporte e aclimação dos animais- Estes itens já foram descritos no capítulo 2.

2.2. Desenho experimental - Após a fase de aclimação os animais foram divididos de forma a não apresentarem diferenças estatisticamente significativas nos parâmetros biométricos em 12 aquários de 100L mantidos em câmara climatizada, com aeração e oxigenação controladas, sendo o experimento conduzido em delineamento casualizado, com 4 tratamentos (30°C, 24°C, 17°C e 12°C) e três repetições (triplicata para cada tratamento). Os dados relativos à qualidade da água durante o experimento (temperatura, pH e amônia) foram aferidos diariamente de forma a manter condições ideais de manutenção dos animais.

O regime de resfriamento dos aquários consistiu numa série de passos, em que os animais foram mantidos inicialmente a 30°C e a cada dia uma parcela dos mesmos era resfriada a temperaturas menores (24°C, 17°C e 12°C, respectivamente) e mantidos nas temperaturas descritas 30 dias, com coleta de tecidos inicial, intermediária (15 dias após o início do experimento) e final (30 dias após o início do experimento) (Figura 1).

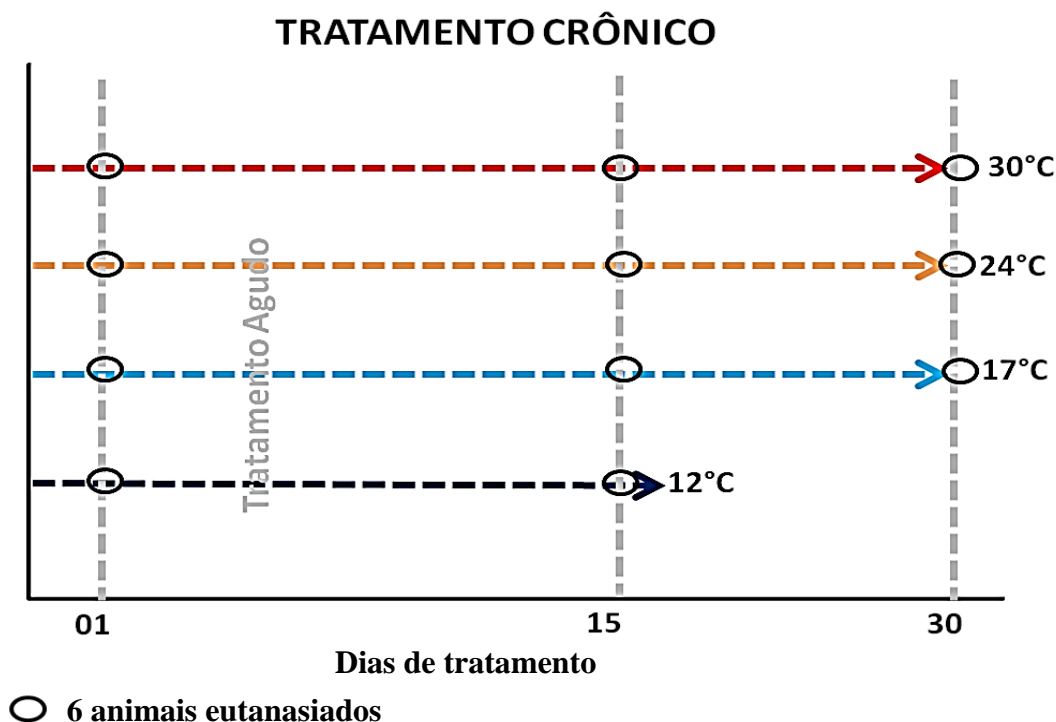


Fig.1. Representação esquemática dos regimes de resfriamento crônico

2.3. Aferição de dados biométricos e coleta de tecidos

A cada dia foi verificada a existências de animais mortos e calculada a taxa sobrevivência pela seguinte equação: $%S = N_f \times 100 / N_i$, onde: S= sobrevivência; N_f = número de animais ao final do experimento e N_i =número de peixes inicialmente estocados. No momento da coleta os exemplares de *S. parahybae* foram pesados e medidos e dessensibilizados com o uso de gelo, após isto os animais foram eutanasiados por secção da medula espinhal na altura do opérculo e, em seguida foram retirados o fígado e encéfalo, com pesagem do tecido hepático para posterior cálculo do índice hepatossomático (IHS)- $[IHS = (\text{massa do fígado}/\text{massa total}) \times 100]$, os tecidos foram acondicionados em freezer -80°C até o momento da análise.

2.4. Análise dos ácidos graxos- A extração lipídica, separação das classes fosfolipídicas mais representativas com posterior separação posicional das cadeias laterais das mesmas, metilação e análise dos ácidos graxos por cromatografia a gás foram desenvolvidas seguindo o protocolo já descrito no capítulo 2.

2.5. Análise estatística

Para as análises de resultados os valores de todos os parâmetros amostrados foram expressos em média \pm erro padrão da média (EPM). Os valores de cada variável (classe

fosfolipídicas totais e cadeias) e grupo avaliado (temperatura x dia de tratamento) foram comparados usando o teste de análise de variância (ANOVA *Two Way*), utilizando o programa estatístico Sigma Stat for Windows (Version 3.10 Copyright[®]). O nível de significância adotado foi de 0,05.

3. Resultados

1. Qualidade da água

Foram aferidos diariamente os valores de pH, oxigênio dissolvido e amônia total dos aquários e os resultados são apresentados na tabela 1. Durante o experimento foi possível verificar grande diferença nos valores de oxigênio dissolvido, que se manteve mais alto em temperaturas mais baixas apesar da tentativa de manutenção de parâmetros estáveis com o uso de aeradores. O valores de pH mantiveram-se entre 7,24 e 7,88, enquanto que os valores de amônia mostraram-se muito instáveis durante o experimento, com maiores valores encontrados para os grupos mantidos nas temperaturas mais altas (30 e 24°C) em detrimento dos valores observados para os aquários que mantiveram menores temperaturas.

Tabela 1. Qualidade da água dos aquários durante o tratamento crônico, oxigênio dissolvido (mg/L); pH e amônia (mg/L)(M ± EPM)

Oxigênio dissolvido (mg/L)	Dia 01	Dia 15	Dia 30
30°C	5,26±0,37	5,39±0,66	5,58±0,67
24°C	6,74±0,66	6,48±0,86	6,41±0,47
17°C	7,38±0,30	7,03±0,42	7,02±0,14
12°C	8,77±0,35	9,06±0,02	—
pH	Dia 01	Dia 15	Dia 30
30°C	7,70±0,09	7,62±0,33	7,51±0,16
24°C	7,88±0,07	7,54±0,43	7,55±0,55
17°C	7,81±0,02	7,44±0,78	7,24±0,72
12°C	7,83±0,03	7,45±0,46	—
Amônia (mg/L)	Dia 01	Dia 15	Dia 30
30°C	0,075±0,043	0,301±0,015	0,1±0,009
24°C	0,167±0,058	0,289±0,078	0,202±0,025
17°C	0,083±0,029	0,089±0,022	0,112±0,025
12°C	0,025±0,00	0,045±0,023	—

2. Dados biométricos e Índice hepatossomático

A análise estatística da massa corpórea e comprimento total revelaram a inexistência de diferença significativa entre as 3 replicatas de cada grupo experimental e também entre os grupos experimentais nos parâmetros analisados (Tabela 2). A taxa de sobrevivência mostrou-se muito variável na comparação entre os grupos mantidos nas maiores temperaturas testadas (30, 24 e 17°C), com nenhuma mortalidade observada (taxa de sobrevivência igual a 100%) em comparação com o grupo mantido a 12°, que apresentou grande mortalidade dos animais a partir do 11° dia de experimento alcançando o n de 6 animais no 15° dia de experimento (com taxa de sobrevivência de 50%), impossibilitando a continuidade do experimento para este grupo.

Na análise dos dados de IHS obtidos no trabalho foi possível observar para os todos os grupos experimentais um aumento dos valores no 15° dia de experimento (com diferença estatística entre o 15° e 1° dia de experimento, com $p < 0,05$ para todas as comparações). Nos animais mantidos a 30°C houve, no 30° dia de experimento, uma diminuição com volta aos valores amostrados inicialmente, com diferença significativa e entre o 15° e 30° dia experimental ($p = 0,02$). Nas demais temperaturas, os altos valores observados no 15° dia se mantiveram até o final do experimento. Os dados evidenciam os maiores índices para os grupos mantidos nas menores temperaturas testadas (Figura 2), fato corroborado pelas diferenças no 15° dia de experimento entre os grupos 24 e 30°C na comparação com 17 e 12°C ($p < 0,05$) e na comparação dos dados no 30° dia de experimento entre os grupos 30 e 24°C em relação ao grupo mantido a 17°C (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros biométricos e índice hepatossomático de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico - (IHS)* (M ± EPM)

Parâmetros Biométricos	30°C	30°C	30°C	24°C	24°C	24°C
	Dia 01	Dia 15	Dia 30	Dia 01	Dia 15	Dia 30
Massa Total (g)	29,85±2,08	30,79±2,13	28,46±1,76	32,75±1,91	35,01±2,70	32,63±1,48
CT (cm)	14,58±0,30	15,92±0,58	15,47±0,39	15,42±0,39	16,10±0,41	14,05±0,29
IHS (%)	0,57±0,03 ^a	0,64±0,03 ^{b*}	0,56±0,02 ^{a*}	0,54±0,02 ^a	0,75±0,02 ^{b*}	0,64±0,09 ^{b*}
Parâmetros Biométricos	17°C	17°C	17°C	12°C	12°C	
	Dia 01	Dia 15	Dia 30	Dia 01	Dia 15	
Massa Total (g)	27,42±1,98	35,56±1,63	34,86±2,22	30,13±0,93	32,64±2,57	
CT (cm)	16,67±0,36	15,92±0,37	16,50±0,36	15,42±0,16	15,67±0,51	
IHS (%)	0,70±0,03 ^a	0,95±0,07 ^{b**}	0,81±0,14 ^{b**}	0,70±0,05 ^a	0,82±0,06 ^{b**}	

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura;

* símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

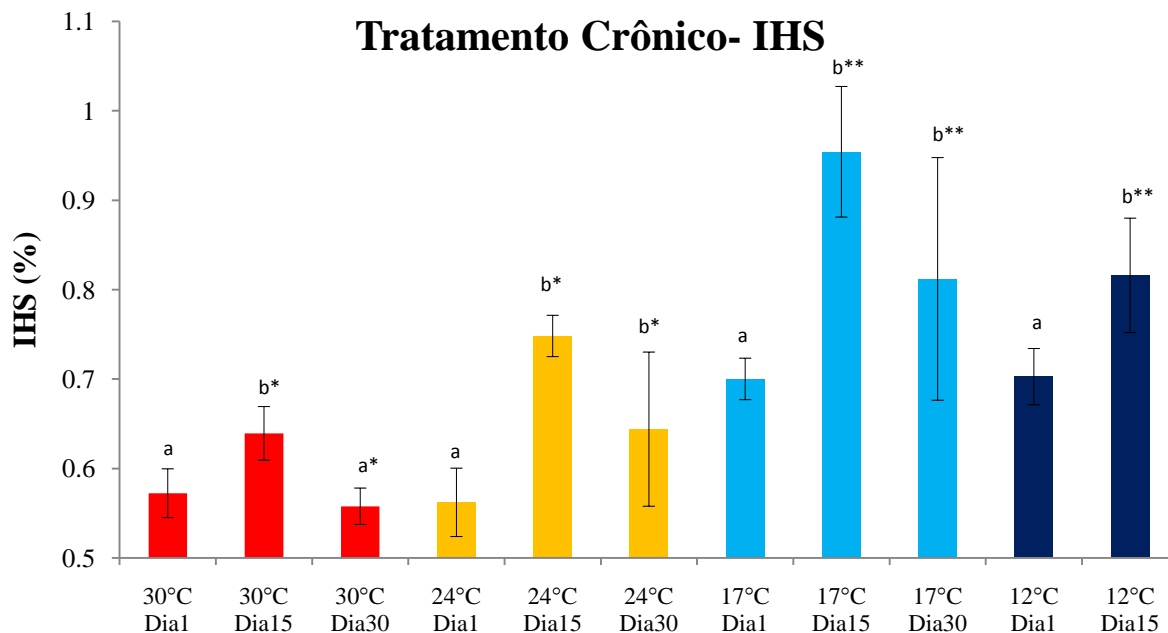


Fig.2. Índice hepatossomático (IHS) de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

3. Análises do perfil de ácidos graxos

A análise do perfil de ácidos graxos (do inglês, *fatty acids*, FA) totais e das classes de ácidos graxos polares (fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina) dos tecidos permitiu avaliar a porcentagem e, conseqüentemente os principais agrupamentos: os ácidos graxos saturados (SAT), monoinsaturados (MUFA), polinsaturados (PUFA) e dentro deste os PUFAs das séries ômega 3 (n3) e ômega 6 (n6), e ainda, dentro do grupamento de polinsaturados a separação dos ácidos graxos com cadeias curtas C18 e cadeias longas C20-C22.

O perfil de FA encontrado em todos os tecidos de ambos os grupos foi composto predominantemente por altos valores de ácido palmítico (C16:0), ácido oléico (C18:1), ácido linoléico (C18:2n6), ácido araquidônico (AA-C20:4n6) e ácido docosahexanóico (DHA- C22:6n3), como mostram as Tabelas 3 a 10 e Anexos 1 a 8.

- Tecido Hepático

Fração Fosfatidilcolina

Para a fração fosfolipídica fosfatidilcolina as maiores diferenças encontradas dizem respeito ao grupo mantido nas menores temperaturas testadas (12°C) (Figura 3), que modificou de modo significativo as membranas dos hepatócitos em 15 dias de experimento. Para os ácidos graxos saturados houve uma diminuição significativa das porcentagens do 1° para o 15° dia para este grupo, sendo esta diferença associada principalmente ao ácido graxo C18:0, que teve seus valores reduzidos ($p < 0,05$). Já para os ácidos graxos monoinsaturados, nesta fração, é possível notar uma tendência de aumento das porcentagens com a diminuição da temperatura até 17°C, com diferença significativa no último dia experimental entre os grupos 30 e 17°C com maiores valores para o último grupo ($p < 0,05$), sendo estas diferenças reflexo direto dos ácidos graxos C16:1 e C18:1.

Para PUFA foi possível verificar claramente um aumento significativo das porcentagens do 1° para o 15° dia no grupo mantido nas menores temperaturas (12°C) ($p < 0,05$) devido principalmente aos ácidos graxos ômega 6, especialmente os de cadeia curta (C18:2n6). Foi possível verificar também um comportamento isolado no grupo

24°C representado por uma queda dos valores de PUFA, mais especificamente PUFA n3, refletidos pelo ácido docosaexaenoico (C22:6n3) no 15° dia de experimento, com posterior volta aos valores iniciais ao fim do período experimental ($p < 0,001$) (Figura 1). Os altos valores observados no 1° dia experimental para o grupo 24°C refletiram em diferenças significativas para a série n3 dos ácidos graxos polinsaturados em relação ao mesmo dia entre este grupo e as demais temperaturas testadas (30°C $p = 0,009$; 17°C $p = 0,02$ e 12° $p < 0,001$) (Tabela 3- Anexo 1).

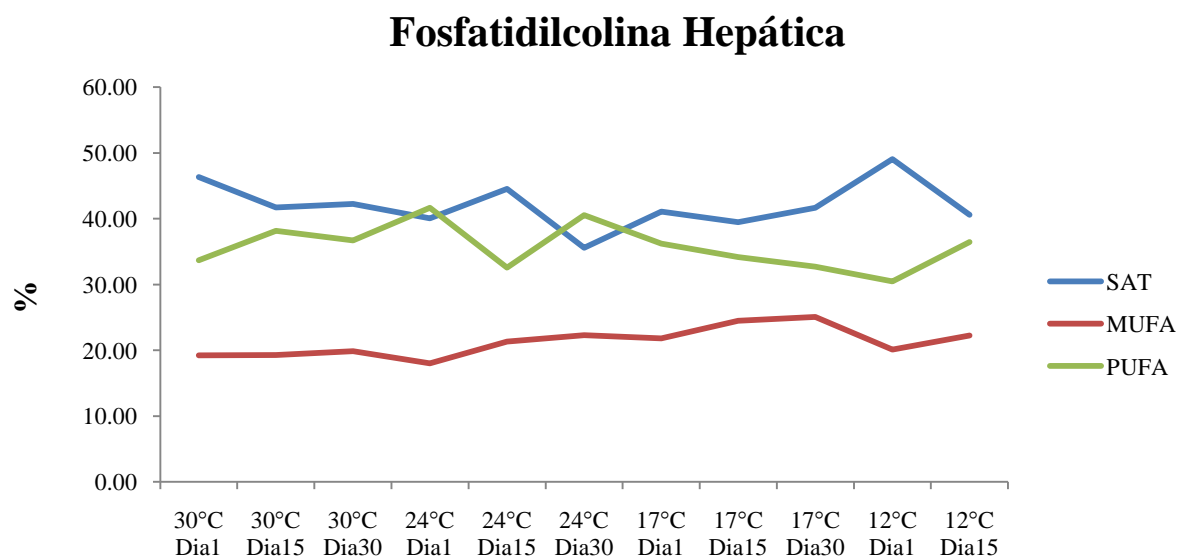


Fig. 3. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Tabela 3. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidilcolina do tecido hepático de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1	30°C- dia 15	30°C- dia 30	24°C- dia 1	24°C- dia 15	24°C- dia 30	17°C- dia 1	17°C- dia 15	17°C- dia 30	12°C- dia 1	12°C- dia 15
SAT	43,44± 3,05	41,69±0,87	42,25±3,43	40,04± 2,33	44,52± 2,17	35,57± 0,96	41,05± 2,89	39,46± 1,62	41,64±1,89	49,08±2,40 ^a	40,59±1,07 ^b
MUFA	18,60± 0,81	19,27±1,02	19,87±1,83*	18,03±1,09	21,35± 1,09	22,32± 2,79	21,83± 1,05	24,48± 1,23	25,07±0,38**	20,13±1,30	22,25±0,66
PUFA	35,77± 2,18	38,16±1,59	36,70±4,63	41,68±2,93 ^{a**}	32,55±2,21 ^b	40,53± 1,92 ^a	36,22±2,30	34,19± 1,42	32,72±2,06	30,48±3,42 ^{a*}	36,44±1,20 ^b
PUFA n3	17,25± 1,28*	23,11±1,30	18,08±3,09	23,47± 2,2 ^{a**}	16,72± 1,08 ^b	21,91± 1,55	18,60± 1,28*	16,53± 0,77	15,45±1,45	15,69±2,71*	17,60± 0,83
PUFA n6	18,15±2,99	14,95±0,84	18,45±2,64	18,10± 1,21	15,56± 0,75	18,35± 1,08	17,48± 1,20	17,47± 0,76	17,14±0,81	14,68±1,06 ^a	18,71± 0,64 ^b
C18 n3	0,45±0,12	0,35±0,06	0,29±0,05	0,49±0,04	0,26±0,07	0,36±0,04	0,47±0,10	0,23±0,05	0,21±0,04	0,34±0,08	0,43±0,05
C18 n6	6,89±0,44	5,70±0,38	5,45±0,30	6,59±0,66	5,95±0,57	6,86±0,51	6,86±0,76	6,78±0,55	7,78±0,45	5,53±0,33 ^a	8,54±0,35 ^b
C20-22 n6	6,97±0,99	7,85±0,76	11,67±2,83	9,71±0,94	8,37±0,74	9,45±1,10	8,83±1,19	8,76±1,19	7,40±0,50	7,69±0,87	7,09±0,57

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

Análise Posicional

•(sn-1)

Para o grupo mantido na maior temperatura foi possível observar um aumento progressivo dos ácidos graxos saturados, culminando com os maiores valores no 30° dia de experimento, (diferenças na comparação entre o 1° e 15° dias ($p=0,03$) e entre o 1° e 30 dias ($p<0,05$)). Este aumento de SAT foi compensado pela diminuição nas porcentagens de MUFA, com menores valores no 30° dia em relação ao 1° ($p=0,01$) e pela diminuição de PUFA, com valores diminuídos, entre o 1° e 15° dias ($p<0,001$), sendo que a série ômega 3, mais especificamente os ácidos graxos com C20-22 carbonos mostram-se como responsáveis pelas diferenças encontradas (Figura 4, Tabela 4 e Anexo 2).

O grupo 24°C também mostrou um brusco aumento de SAT no 15° dia e diminuição, com manutenção dos valores iniciais no 30° dia de experimento, com diferenças na comparação do 15° em relação ao 1° ($p=0,02$) e 30° dia ($p=0,02$), sendo este comportamento compensado pela diminuição de MUFA no mesmo período, que também apresentou diferença significativa em relação ao 1° ($p<0,05$) e volta aos valores iniciais no 30° dia (comparação entre 15 e 30° dia de experimento, $p=0,02$). Houve uma tendência clara de troca de ácidos graxos PUFA n3 (C20-22 n3), que decaíram com o decorrer do experimento, chegando aos menores valores no 30° dia de experimento, por PUFA n6 (C18n6), que tiveram um aumento expressivo no mesmo período (Figuras 5 e 6).

Para o grupo mantido a 17°C nenhuma diferença foi observada para os 3 grandes grupamentos (SAT, MUFA, PUFA), porém para PUFA n6 de cadeia curta houve um aumento dos valores na comparação do 1° com o 30° dia de experimento ($p=0,04$), com aumento também observado para C20-22n6 no 15° dia experimental e retorno aos valores iniciais no 30° dia ($p=0,02$ entre 1° e 15° dia e $p<0,05$ entre 15° e 30° dia) (Figura 4).

Finalmente o grupo mantido nas menores temperaturas testadas mostrou um aumento brusco de ácidos graxos saturados no 15° dia de experimento ($p=0,01$), com compensação direta na queda de porcentagens de MUFA e PUFA (n3 de cadeia longa), ($p<0,05$ em todas as comparações entre o 1° e 15° dia experimental).

Na comparação entre os grupos experimentais no 1° dia foi possível verificar os maiores valores de SAT para os grupos 24 e 17°C na comparação com 30 e 12°C

($p < 0,05$), padrão que se inverte no 30° dia que mostra o menor valor para o grupo 24°C na comparação com 17°C ($p = 0,03$) e 30°C ($p = 0,02$) (Figura 4, Tabela 4 e Anexo 2).

A análise de MUFA no 1° dia de experimento mostrou os menores valores amostrados nos grupos mantidos a 24°C na comparação com o grupo 30°C ($p < 0,05$), mesmo resultado apontado para o 15° dia de experimento em 24°C, porém com valores estatisticamente menores também na comparação com 12°C ($p < 0,05$). No 30° dia de experimento o padrão de menores valores de MUFA se inverte, o grupo 24°C agora apresenta a maior porcentagem amostrada na comparação com 30°C ($p < 0,05$) e 17°C ($p = 0,01$).

Para PUFA no 1° dia de experimento o grupo mantido a 17°C apresentou as menores porcentagens amostradas em relação aos outros grupos experimentais, com correspondência direta com os baixos valores de PUFAn3, mais especificamente os de cadeia longa ($p < 0,05$ em todas as comparações) (Figura 5).

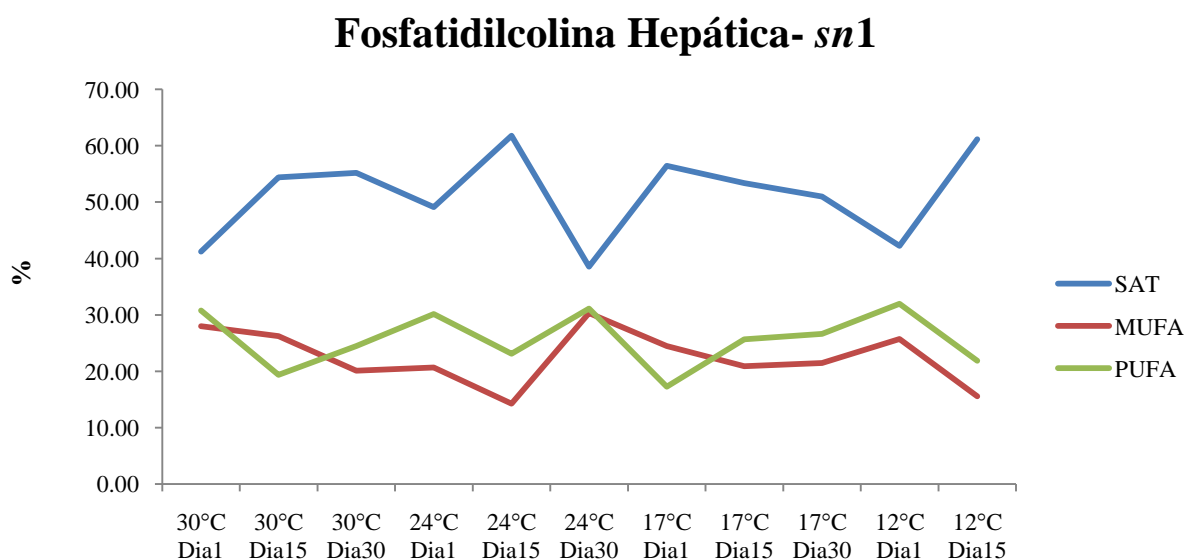


Fig. 4. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn-1* da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Fosfatidilcolina Hepática- *sn*1 (PUFA n3 e C20-22n3)

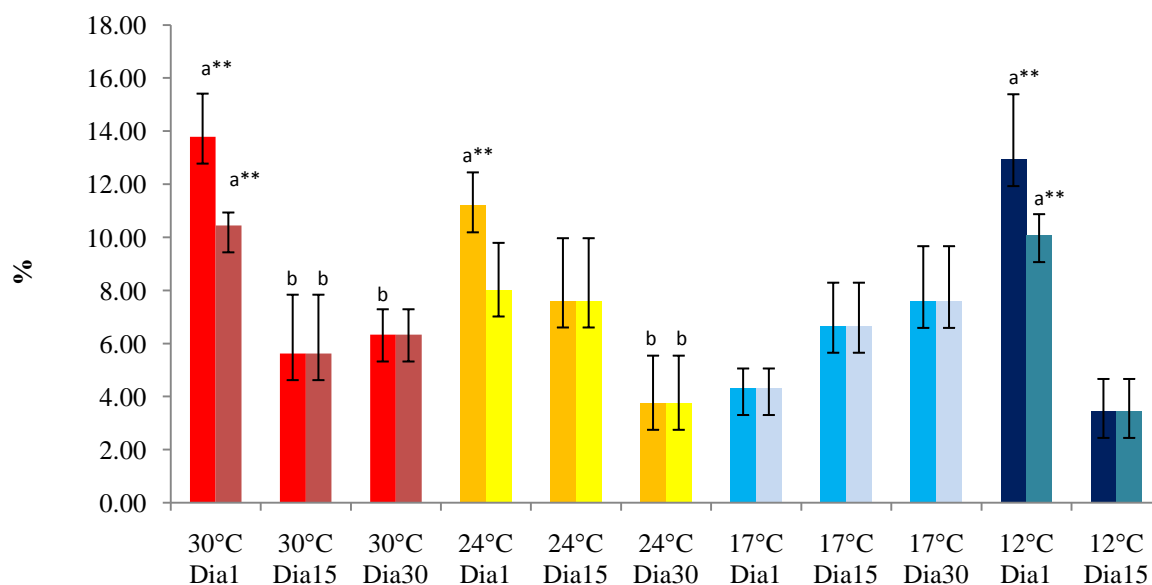


Fig.5. Somatória dos ácidos graxos da classe ômega 3 (barras a esquerda) e C20-22n3 (barras a esquerda) da posição *sn*-1 da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Fosfatidilcolina Hepática- *sn*1 (PUFA n6 e C18n6)

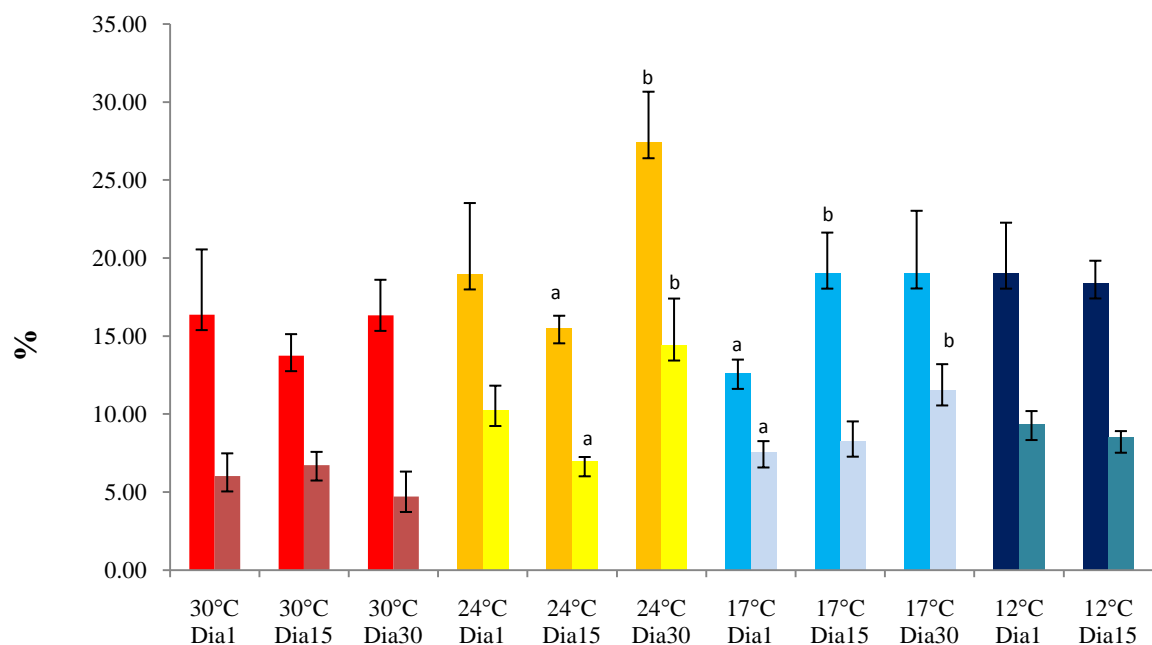


Fig.6. Somatória dos ácidos graxos da classe ômega 6 (barras a esquerda) e C18n6 (barras a direita) da posição *sn*-1 da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

•(*sn- 2*)

As membranas dos hepatócitos dos animais do grupo mantido em 30°C se mostraram estáveis na posição *sn-2* durante o tratamento, com somente alguma flutuação nos ácidos graxos polinsaturados ômega 6, que tiveram seus valores aumentados no 15° dia de experimento em relação ao início do mesmo, para C20-22n6, com volta aos valores iniciais no 30° dia, e aumento no 30° dia para C18n6 ($p<0,05$), para todas as comparações (Figura 8).

O grupo mantido a 24°C apresentou uma diminuição significativa de PUFA entre o 15° e 30° dia experimental, que apesar de não apresentar uma correspondência clara parece estar ligada aos ácidos graxos ômega 6 de cadeia longa (Tabela 4 e Anexo2).

O grupo mantido a 17°C mostrou uma diminuição nos valores de MUFA com o decorrer do experimento, com diferença significativa na comparação entre o 1° e o 15° dia ($p<0,05$) e entre o 1° e 30° dia experimental ($p=0,03$), diminuição que parece ter sido compensada por uma tendência de aumento de PUFA, C20-22n6 ($p=0,01$), ente o 1° e 15° dia de experimento, valores que voltam a diminuir no 30° dia experimental (Tabela 4).

Os animais mantidos em 12°C mostraram o mesmo comportamento da posição *sn-1*, um aumento de SAT entre o 1° e 15° dia de experimento ($p<0,05$), com diminuição significativa de MUFA no mesmo período ($p=0,01$) (Tabela 4, Figura 7).

Na comparação de MUFA entre os grupos experimentais no mesmo dia de tratamento observa-se os menores valores amostrados para o grupo 17°C na comparação com o grupo mantido a 12°C ($p=0,01$) no 1° dia de experimento, mesmo padrão observado para o 15° dia experimental, mas com valores maiores estatisticamente para o grupo 30°C na comparação com 17°C ($p<0,05$) e para o 30° dia de experimento na comparação com 24°C ($p<0,05$) e 30°C ($p<0,05$), valores que se inverteram na análise de PUFA no 30° dia de experimento, com maiores valores encontrados no grupo 17°C em relação aos animais mantidos a 24°C ($p<0,001$) (Tabela 4).

Fosfatidilcolina Hepática- *sn2*

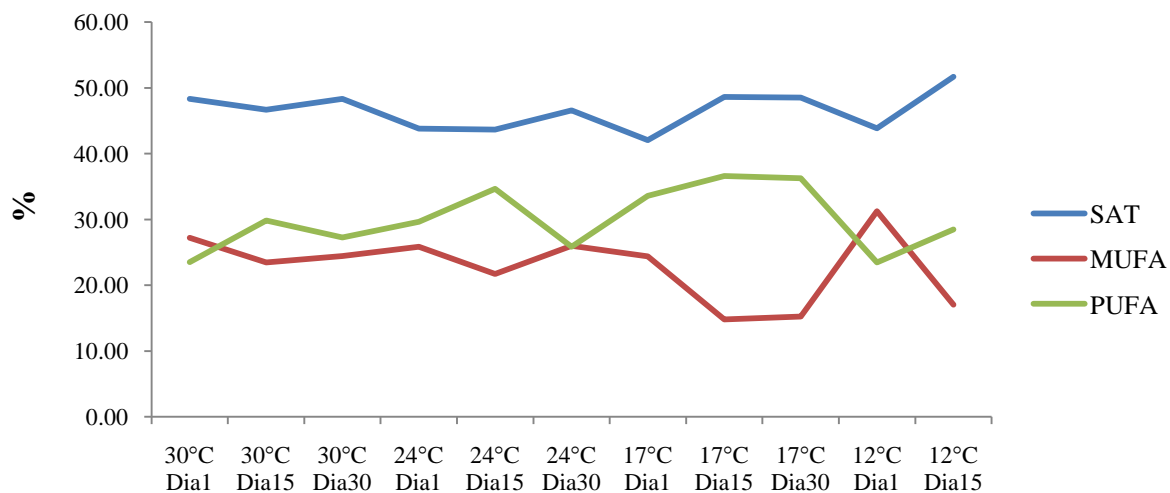


Fig. 7. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn-2* da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Fosfatidilcolina Hepática - *sn2* (PUFA n6 e C20-22n6)

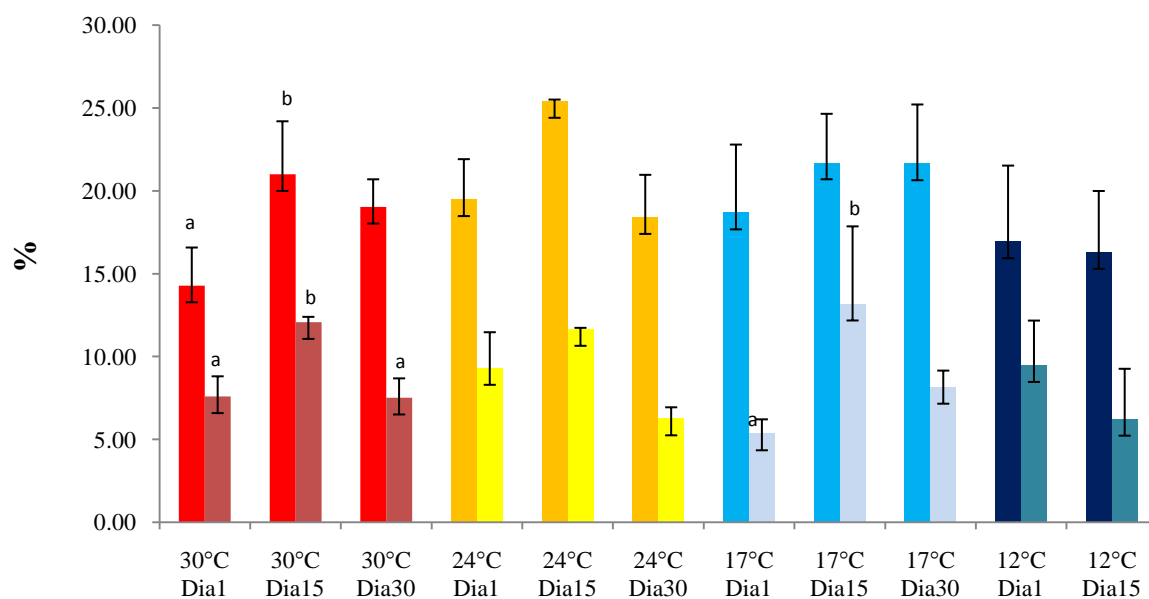


Fig.8. Somatória dos ácidos graxos da classe ômega 6 (barras a esquerda) e C20-22n6 (barras a direita) da posição *sn-2* da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Tabela 4. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*sn-1*) e 2 (*sn-2*) da fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 15		30°C- dia 30		24°C-dia 1		24°C-dia 15		24°C-dia 30	
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	41,20±0,67 ^{a*}	48,33±1,96	54,39±4,83 ^b	46,66±0,90	55,18±1,25 ^{b**}	48,31±0,51	49,12±2,41 ^{a**}	43,79±,3,16	61,79±2,26 ^b	43,63±4,34	38,54±2,92 ^{a*}	46,58±3,11
MUFA	28,01±2,58 ^{a**}	27,23±2,08 ^{**}	26,24±3,99 ^{**}	23,48±1,82 ^{**}	20,09±2,23 ^{b*}	24,42±2,54 ^{**}	20,71±1,81 ^{b*}	25,86±2,17	14,25±0,65 ^{a*}	21,70±1,18	30,32±3,69 ^{b**}	26,02±2,10 ^{**}
PUFA	30,79±2,80 ^{a**}	23,50±4,34	19,37±0,85 ^b	29,86±2,72	24,47±2,58	27,27±2,98	30,17±3,47 ^{**}	29,66±1,42	23,14±2,13	34,66±3,16 ^a	31,14±5,01	25,84±4,02 ^{b*}
PUFA n3	13,78±1,64 ^{a**}	9,22±2,38	5,63±2,22 ^b	8,86±3,92	6,33±0,97 ^b	8,24±2,43	11,20±1,26 ^{a**}	10,18±1,11	7,61±2,36	9,25±3,06	3,76±1,79 ^b	7,43±1,84
PUFA n6	16,37±4,17	14,28±2,30 ^a	13,74±1,37	21,00±3,21 ^b	16,32±2,28	19,03±1,67	18,98±4,54	19,48±2,44	15,53±0,77 ^a	25,42±0,10	27,39±3,26 ^b	18,41±2,57
C18n3	3,34±1,39	2,09±0,94	nd	nd	nd	nd	3,17±2,75	nd	nd	nd	nd	nd
C20-22n3	10,44±0,50 ^{a**}	7,13±2,14	5,63±2,22 ^b	8,86±3,92	6,33±0,97	8,24±2,43	8,03±1,77 ^{a**}	10,18±1,11	7,61±2,36	9,25±3,06	3,76±1,79 ^b	7,43±1,84
C18n6	6,03±1,44	6,69±1,08 ^a	6,73±0,84	8,93±3,30	4,72±1,59	11,52±2,70 ^b	10,23±1,59	10,19±0,27	7,00±0,24 ^a	13,76±0,19	14,42±2,97 ^b	12,16±1,96
C20-22n6	10,34±3,44	7,59±1,22 ^a	7,01±0,54	12,07±0,33 ^b	11,60±3,20	7,51±1,18 ^a	8,75±3,15	9,30±2,18	8,52±0,94	11,65±0,09	12,97±1,11	6,25±0,69
	17°C-dia 1		17°C-dia 15		17°C-dia 30		12°C-dia 1		12°C-dia 15			
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	56,44±1,29 ^{**}	42,05±5,25	53,38±6,23	48,59±5,66	51,01±6,20 ^{**}	48,52±2,82	42,27±1,41 ^{a*}	43,85±4,22 ^a	61,16±4,65 ^b	51,70±7,42 ^b		
MUFA	24,51±0,66	24,38±3,29 ^{a*}	20,93±3,15	14,80±2,42 ^{b*}	21,50±2,04 [*]	15,22±2,05 ^{b*}	25,76±2,18 ^a	31,27±0,44 ^{a**}	15,55±2,85 ^{b*}	17,06±1,96 ^b		
PUFA	17,27±0,34 [*]	33,56±2,52	25,69±3,30	36,60±3,25	26,64±5,98	36,26±2,08 ^{**}	31,97±0,77 ^{a**}	23,48±5,47	21,85±2,64 ^b	28,46±4,29		
PUFA n3	4,31±0,75 [*]	14,88±2,13	6,66±1,64	14,90±0,29	7,59±2,08	14,61±2,78	12,94±2,46 ^{a**}	6,54±0,87	3,45±1,22 ^b	12,16±4,25		
PUFA n6	12,60±0,88 ^a	18,68±1,42	19,03±2,59 ^b	21,71±2,95	19,04±3,98	21,65±3,57	19,03±3,23	16,94±4,59	18,40±1,42	16,30±3,70		
C18n3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2,86±1,65	1,31±0,76	nd	nd		
C20-22n3	4,31±0,75 [*]	14,88±2,13	6,66±1,64	14,90±0,29	7,59±2,08	14,61±2,78	10,07±0,81 ^{a**}	5,23±1,63	3,45±1,22 ^b	12,16±4,25		
C18n6	7,57±0,69 ^a	13,34±3,32	8,26±1,26	8,52±1,73	11,54±1,65 ^b	13,49±4,57	9,33±0,86	7,46±1,89	8,51±0,39	10,07±1,18		
C20-22n6	5,04±0,21 ^a	5,35±0,87 ^a	10,77±2,65 ^b	13,18±4,68 ^b	7,50±3,23 ^a	8,16±1,00	9,70±2,37	9,47±2,70	9,89±1,80	6,23±3,04		

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

Fração Fosfatidiletanolamina

Para os ácidos graxos saturados foi possível verificar a tendência de aumento das porcentagens com o passar dos dias de experimento para o grupo 24°C com diferença estatística significativa para os grupos entre o 1° e 15° dia ($p=0,04$) e 1° e 30° dia ($p<0,05$). Por outro lado, houve um decréscimo dos valores nos animais mantidos em 17°C, com diferença estatística entre o 1° e 30° dia de experimento ($p=0,02$). Para ambos os casos as mudanças de SAT compensadas por mudanças inversamente proporcionais em PUFA no mesmo período conforme observado no gráfico de flutuações (Figura 9), com diferenças estatísticas novamente para o grupo 24° (com diminuição dos valores entre os dias 1 e 30 ($p<0,05$)) e aumento dos valores para o grupo 17°C (diferença encontrada na comparação entre o 1° e 30° dia de experimento $p<0,05$) enquanto que para os ácidos graxos monoinsaturados esta tendência de maior porcentagem é claramente observada no grupo de animais mantidos na menor temperatura (12°C), quando comparados às temperaturas mais elevadas, com diferença estatística em na comparação com 30 e 24°C no 1° dia experimental ($p<0,001$).

Para PUFA n6 notou-se uma diminuição das porcentagens entre o 1°, 15° e 30° no grupo mantido a 30°C, com maiores valores encontrados na primeira coleta ($p<0,001$), diferenças que foram reflexo direto dos ácidos graxos de cadeia curta. Para o grupo mantido a 17°C foi possível observar um comportamento oposto, com aumento dos valores de PUFA n6 culminando com as maiores porcentagens no último dia de experimento ($P<0,05$), com diferenças intimamente relacionadas com os ácidos graxos de cadeia longa desta série C20-22n6. Na comparação entre os tratamentos no mesmo dia experimental é possível verificar os menores valores de PUFA n6 no 1° dia de experimento para o grupo mantido a 17°C com diferença estatística significativa em relação ao grupo 24°C (Figura 10, Tabela 5 e Anexo 3).

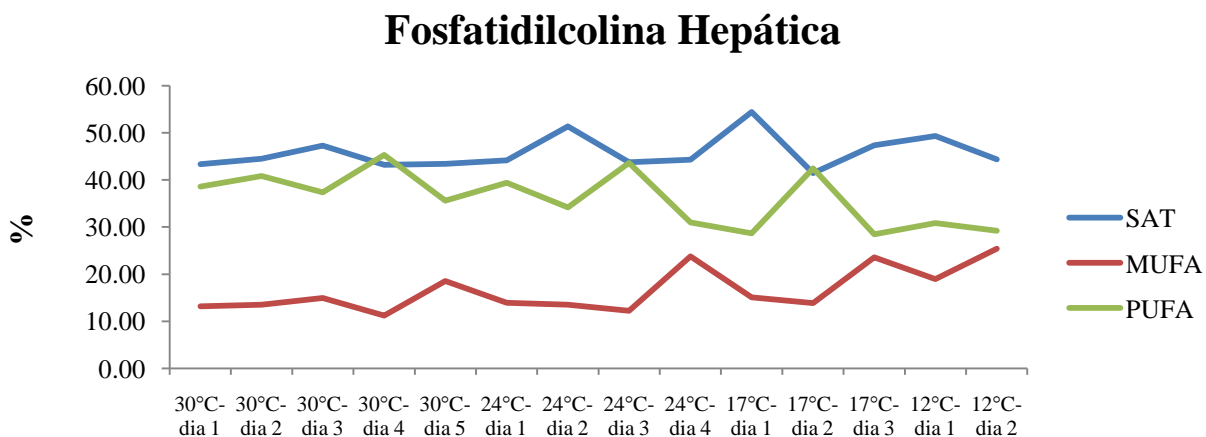


Fig. 9. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

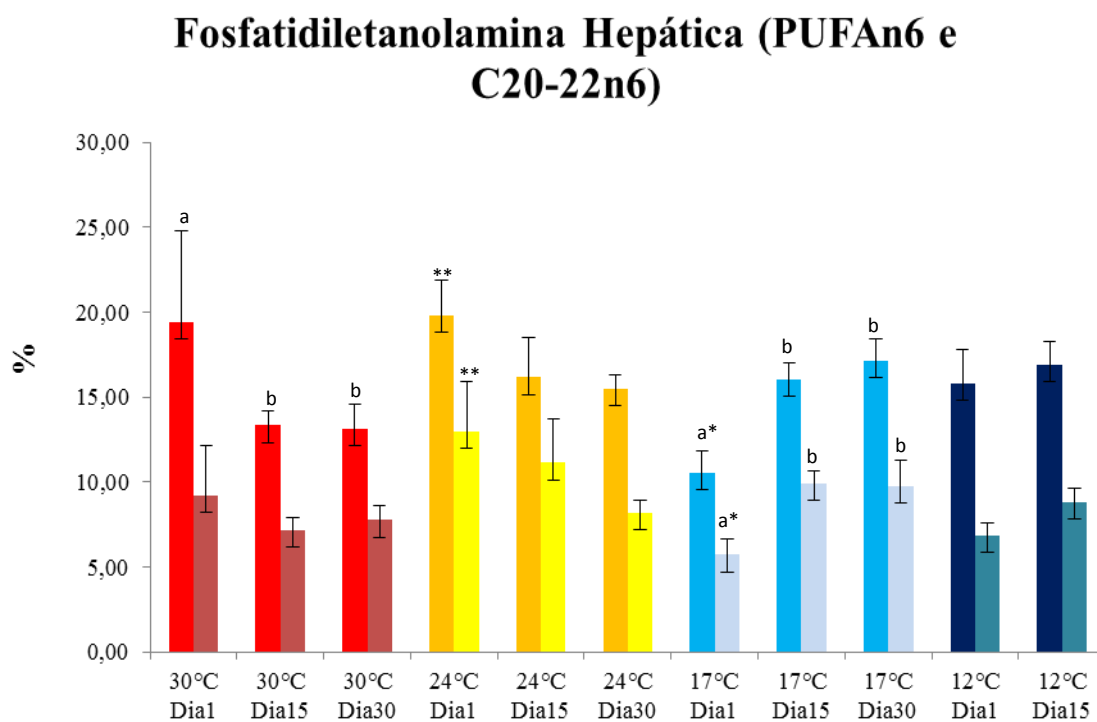


Fig.10. Ácidos graxos ômega 6 (barras a esquerda) e ômega 6 com 20-22 carbonos (barras a direita) na fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Tabela 5. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidiletanolamina do tecido hepático de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1	30°C- dia 15	30°C- dia 30	24°C- dia 1	24°C- dia 15	24°C- dia 30	17°C- dia 1	17°C- dia 15	17°C- dia 30	12°C- dia 1	12°C- dia 15
SAT	43,37±9,14	53,64±1,27	54,77±2,17	44,19±3,22 ^a	50,16±2,28 ^b	51,51±2,06 ^b	54,41±4,97 ^a	51,24±1,87	47,01±0,98 ^b	49,35±5,65	53,92±2,28
MUFA	13,17±1,75 [*]	13,35±0,41	14,02±0,49	13,94±1,59 [*]	14,51±1,09	15,47±0,52	15,07±2,90	15,97±0,81	15,30±1,29	18,95±3,42 ^{**}	14,87±1,35
PUFA	38,59±8,72	30,12±1,27	28,88±1,79	39,39±3,86 ^a	32,84±3,43	31,41±2,60 ^b	28,66±3,67 ^a	30,98±2,37	35,07±1,50 ^b	30,85±3,87	30,77±3,42
PUFA n3	18,52±3,31	16,22±0,71	15,21±1,00	18,87±2,37	16,19±1,66	15,53±3,07	17,87±4,15	14,37±1,75	17,50±1,24	14,79±2,45	13,33±1,90
PUFA n6	19,46±5,32 ^a	13,34±0,85 ^b	13,15±1,47 ^b	19,81±2,06 ^{**}	16,17±2,35	15,53±0,76	10,55±1,32 ^{a*}	16,06±0,93 ^b	17,18±1,29 ^b	15,83±1,96	16,92±1,39
C18 n3	0,42±0,08	0,23±0,04	0,46±0,14	1,62±1,01	0,78±0,33	0,41±0,15	0,36±0,09	0,30±0,04	0,22±0,06	0,60±0,14	0,32±0,16
C18 n6	8,79±2,51 ^a	5,34±0,25 ^b	4,66±0,74 ^b	5,62±1,14	4,41±0,39	6,31±0,97	4,32±0,71	5,20±0,31	6,36±0,23	7,89±1,44	7,14±0,75
C20-22 n6	9,23±2,93	7,19±0,75	7,76±0,86	12,98±2,92 ^{**}	11,15±2,58	8,20±0,72	5,72±0,93 ^{a*}	9,89±0,76 ^b	9,79±1,50 ^b	6,86±0,76	8,83±0,78

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; ^{*} símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

Análise Posicional

•(*sn-1*)

Os ácidos graxos da posição *sn-1* da fosfatidiletanolamina dos hepatócitos dos animais mantidos a 12 e 30°C mostraram-se estáveis com o passar do período experimental não apresentando nenhuma diferença estatística significativa em seus valores (Figura 11, Tabela 6).

A análise dos ácidos graxos para o grupo mantido a 24°C mostrou a diminuição de PUFA C20-22n3 (com diferença significativa entre o 15° e 30° dia, $p<0,05$), com concomitante aumento de PUFA n6 com 20-22 carbonos com aumento dos valores no 15° dia de experimento em relação ao 1° dia ($p=0,02$).

Os animais do grupo mantido a 17°C mostraram as maiores porcentagens de MUFA no 30° dia de experimento com diferença estatística significativa na comparação com o 1° dia ($p<0,05$) e, em compensação a este aumento, se observou a diminuição de PUFA, com diferença estatística significativa para PUFA n3 e C20-22n3, PUFA n6 e C18n6 entre o 1° e 15° dia de experimento ($p<0,05$ para todas as comparações, Figuras 12 e 13).

Na comparação entre os grupos experimentais no mesmo dia de tratamento foi possível notar diferença significativa na comparação entre os grupos 30°C e 17°C no 1° dia experimental para PUFA n3, com maiores valores observados na menor temperatura (C20-22n3- Figura 12). Já para os PUFA n6 de cadeia longa e curta observou-se um padrão curioso na comparação entre os animais do grupo mantido a 24°C no 1° dia experimental (o predomínio de C18n6 em detrimento de C20-22n6) enquanto que o grupo mantido a 12°C mostrou o padrão contrário, o que culminou em diferença estatística entre as temperaturas ($p<0,05$) (Figura 13, Tabela 6 e Anexo 4). Na análise do 15° dia experimental observou-se, na comparação entre os grupo 24 e 17°C valores aumentados de PUFA, correspondentes a PUFA n3 de cadeia longa para o primeiro grupo ($p<0,05$).

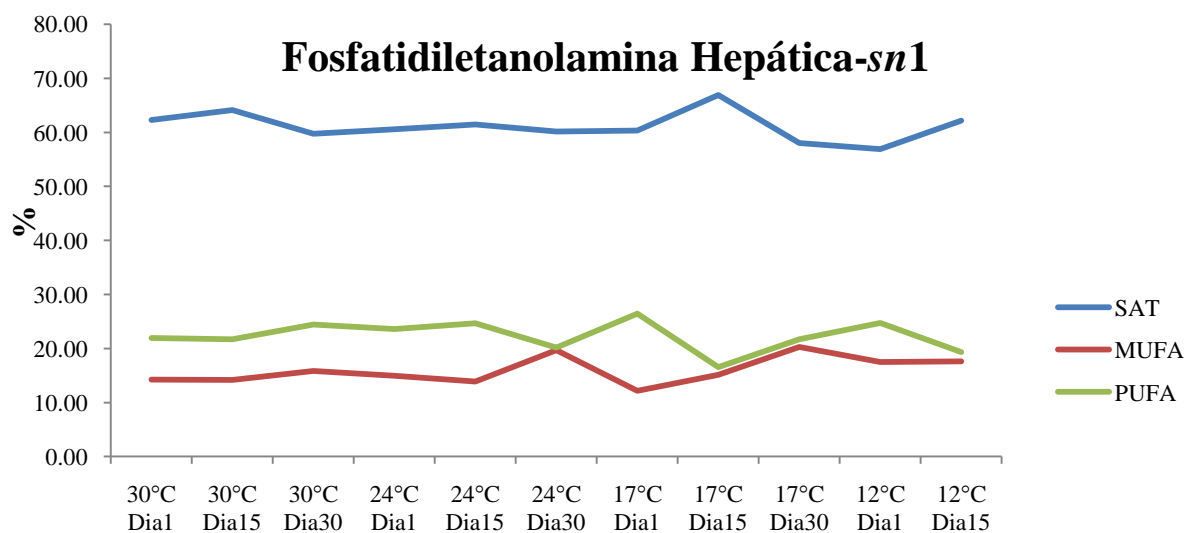


Fig. 11. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn*-1 da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Fosfatidiletanolamina Hepática- *sn*1 (PUFAn3 e n6)

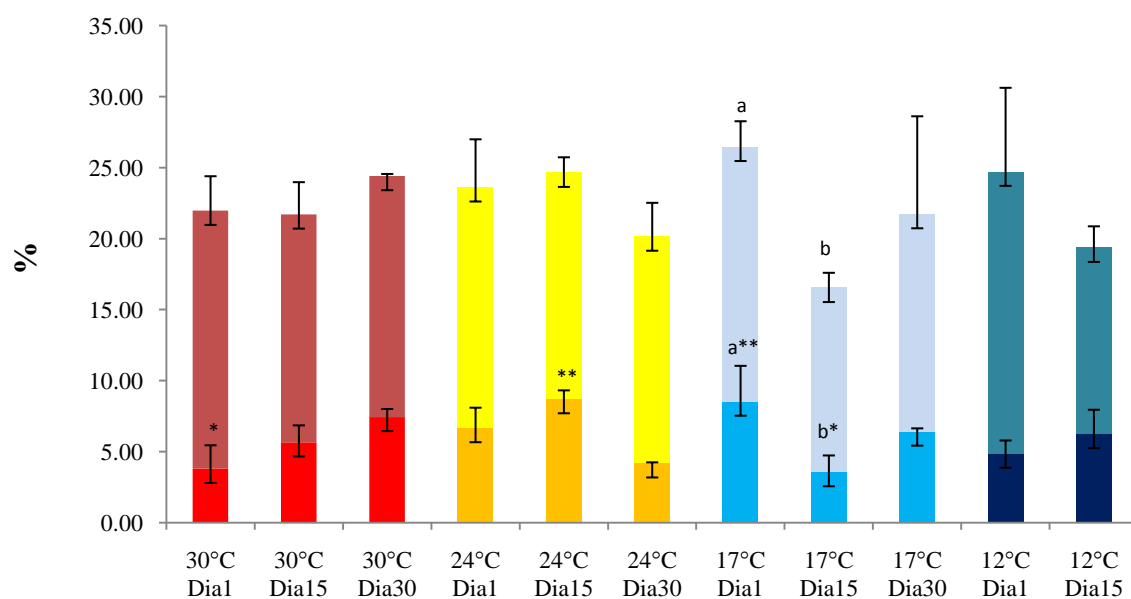


Fig.12. Somatória dos ácidos graxos da classe ômega 6 (barras superiores) e ômega 3 (barras inferiores) da posição *sn*-1 da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Fosfatidiletanolamina Hepática- *sn*1 (C18n6 e C20-22n6)

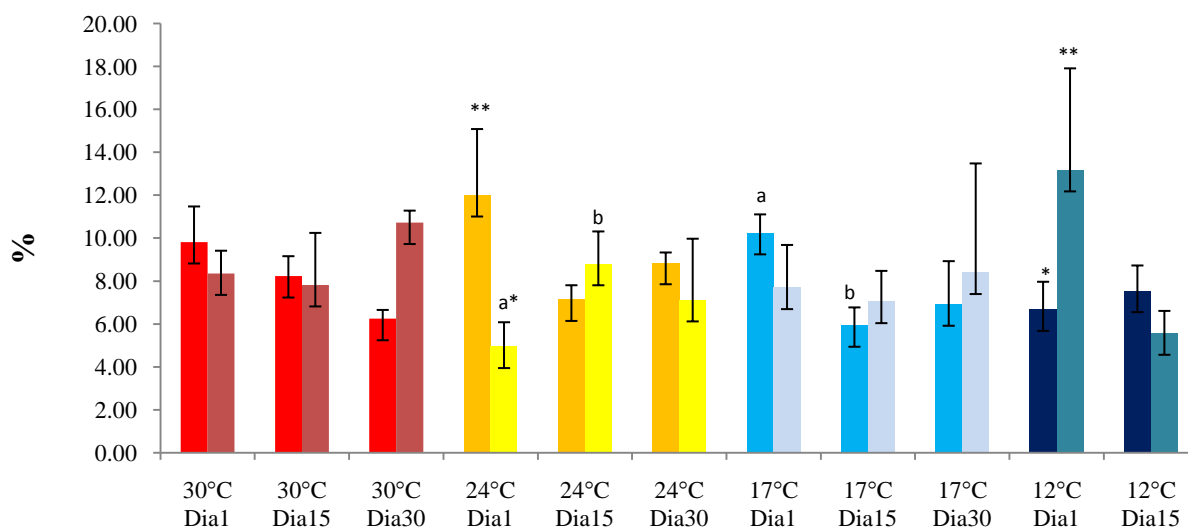


Fig.13. Somatória dos ácidos graxos da C18n6 (barras a esquerda) e C20-22n6 (barras a direita) da posição *sn*-1 da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

•(*sn*- 2)

Na análise do grupo mantido a 30°C observou-se um aumento brusco dos valores de SAT na comparação entre o 1° e 15° dia de experimento ($p=0,03$), sendo este aumento inversamente proporcional à queda das porcentagens de PUFA n3, mais especificamente do grupo com 20 ou 22 carbonos, que apresentaram valores diminuídos no 15° e 30° dia experimental na comparação com o 1° ($p<0,05$ para todas as comparações) (Figura 15, Tabela 6).

Para o grupo mantido a 24°C nenhuma diferença estatística foi encontrada. Já para o grupo mantido a 17°C houve um aumento de SAT entre o 1° e 15° dia de experimento ($p=0,02$) e retorno aos valores iniciais no 30° dia, com diferença encontrada na comparação com o 15° dia ($p=0,01$). Este aumento de SAT em 15 dias foi compensado pela diminuição de PUFA (Figura 14), com diferenças encontradas na comparação com o 15° e 30° dia ($p<0,05$), com correspondência para PUFA n6 de cadeia longa (diferença significativa apenas na comparação entre 1° e 15° dia para os dois grupamentos, ($p<0,05$)).

Na análise do grupo mantido a 12° é possível acentuar o aumento de SAT com correspondente diminuição de MUFA entre o 1° e 15° dia de experimento ($p < 0,05$ em ambas as comparações) (Tabela 6).

Na comparação dos ácidos graxos saturados em todos os grupos experimentais no 1° dia foi possível observar os menores valores amostrados no grupo 12°C em relação aos demais no 1° ($p < 0,05$ para todas as comparações) e 15° dias (diferença significativa na comparação com 17°C $p < 0,001$), apesar de aumento expressivo deste grupamento durante o período experimental. Já o 30° dia mostrou os maiores valores no grupo 30°C em comparação com 17°C ($p = 0,02$), valores que se invertem para MUFA, com o grupo 17°C apresentando valores significativamente maiores que o grupo 30°C ($p < 0,05$) e 24°C ($p < 0,05$) (Figura 14, Tabela 6), ainda para MUFA o padrão oposto aos visto para SAT foi notado no 1° dia de experimento para grupo 12°C que apresentou a maior porcentagem amostrada e diferença significativa na comparação com 30 ($p < 0,05$) e 17°C ($p = 0,04$). Para PUFA n3 (C20-22n3) no 15° dia este padrão se mantém, com menores porcentagens para o grupo mantido a 30°C na comparação com os grupos 12°C ($p < 0,001$) e 24°C ($p = 0,01$), com correspondência direta com C20-22n3 (Figura 15, Tabela 6 e Anexo 4).

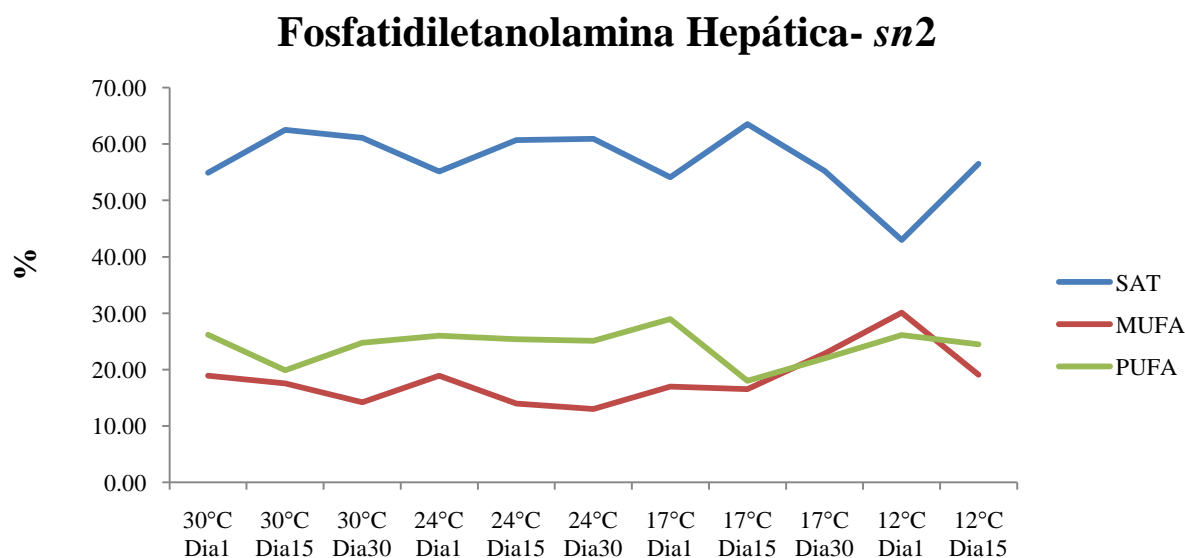


Fig. 14. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn*-2 da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Fosfatidiletanolamina Hepática- *sn2* (PUFA n3)

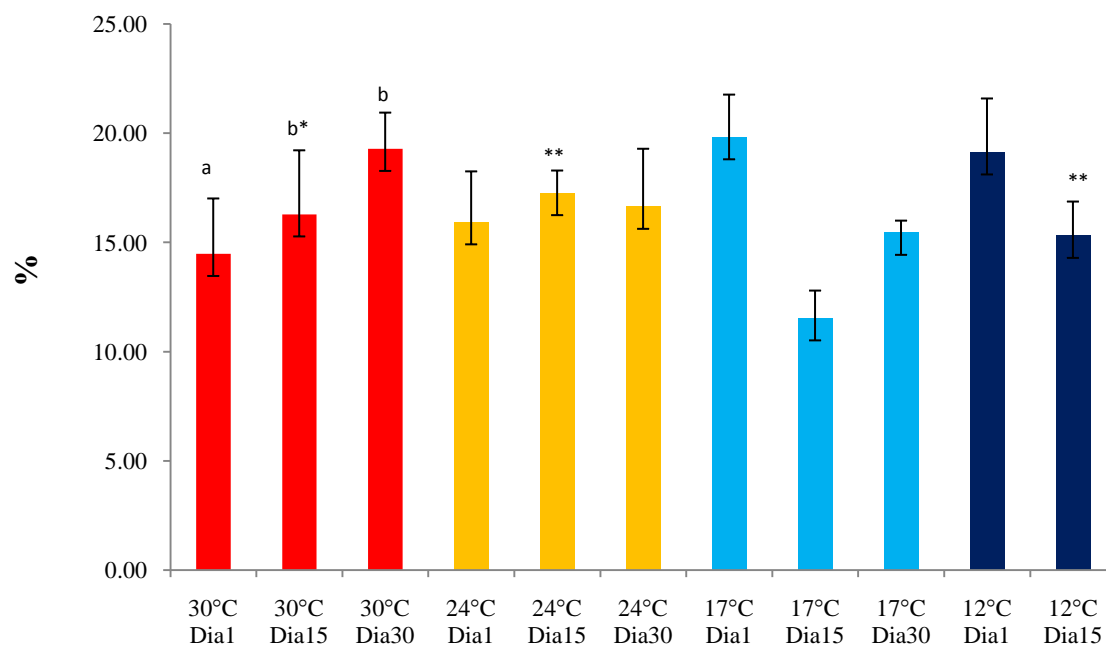


Fig.15. Somatória dos ácidos graxos da classe ômega 3 (barras inferiores) da posição *sn-2* da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Tabela 6. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*sn-1*) e 2 (*sn-2*) da fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 15		30°C- dia 30		24°C-dia 1		24°C-dia 15		24°C-dia 30	
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
	SAT	62,28±3,14	54,88±2,29 ^{a**}	64,14±0,67	62,53±0,52 ^b	59,75±2,39	61,07±2,77 ^{**}	60,57±0,96	55,12±4,29 ^{**}	61,45±4,65	60,69±0,61	60,18±3,56
MUFA	14,24±4,92	18,93±2,44 [*]	14,15±2,57	17,58±3,01	15,84±3,09	14,19±2,33 [*]	14,97±3,37	18,89±3,78	13,91±5,05	13,95±2,12	19,67±1,25	12,99±1,78 [*]
PUFA	21,97±1,26	26,19±3,44	21,71±2,27	19,89±3,44	24,41±0,70	24,75±1,67	23,61±2,70	25,99±0,71	24,64±0,89 ^{**}	25,36±2,26	20,15±2,31	25,12±2,77
PUFA n3	3,80±1,65 [*]	11,72±2,43 ^a	5,66±1,19	3,61±1,36 ^{b*}	7,45±0,56	5,47±0,30 ^b	6,66±1,43	10,07±2,01	8,70±0,62 ^{**}	8,11±1,23 ^{**}	4,18±0,07	8,49±0,26
PUFA n6	18,17±2,43	14,47±2,55	16,05±2,27	16,28±2,94	16,97±0,14	19,28±1,67	16,95±3,38	15,92±2,34	15,94±1,09	17,26±1,04	15,97±2,37	16,63±2,67
C20-22n3	3,80±1,65 [*]	11,72±2,43 ^a	5,66±1,19	3,61±1,36 ^{b*}	7,45±0,56	5,47±0,30 ^b	6,66±1,43	10,07±2,01	8,70±0,62 ^{a**}	8,11±1,23 ^{**}	4,18±0,07 ^b	8,49±0,26
C18n6	9,82±1,66	8,35±1,61	8,23±0,93	10,35±1,35	6,24±0,41	12,46±0,62	12,01±3,08 ^{**}	8,70±0,76	7,14±0,66	10,08±1,13	8,85±0,48	9,30±1,42
C20-22n6	8,35±1,06	6,12±2,67	7,82±2,43	5,94±2,42	10,73±0,56	6,82±1,33	4,94±1,14 [*]	7,22±2,77	8,80±1,51 ^b	7,18±1,11	7,12±2,85	7,33±1,63
Ácidos Graxos	17°C-dia 1		17°C-dia 15		17°C-dia 30		12°C-dia 1		12°C-dia 15			
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>		
	SAT	60,31±1,56	54,09±0,79 ^{a**}	66,90±2,78	63,55±0,83 ^{b**}	58,00±5,15	55,23±0,20 ^{a*}	56,87±4,66	42,99±5,06 ^{a*}	62,20±3,07	56,49±2,94 ^{b*}	
MUFA	12,14±4,66 ^a	16,97±3,09 [*]	15,15±3,33	16,53±1,45	20,27±1,78 ^b	22,81±0,50 ^{**}	17,50±4,36	30,08±2,44 ^{b**}	17,59±3,59	19,06±0,29 ^b		
PUFA	26,47±4,31 ^a	28,94±2,32 ^a	16,53±0,75 ^{b*}	18,01±0,72 ^b	21,73±6,69	21,97±0,30 ^b	24,71±6,15	26,11±3,48	19,36±2,74	24,45±3,17		
PUFA n3	8,53±2,51 ^{a**}	9,13±2,90	3,56±1,17 ^{b*}	6,49±0,56	6,42±0,22	6,53±0,27	4,86±0,92	6,99±1,86	6,25±1,70	9,15±1,85 ^{**}		
PUFA n6	17,94±1,80 ^a	19,81±1,96	12,97±1,06 ^b	11,52±1,28	15,31±6,89	15,44±0,57	19,85±5,91	19,12±2,48	13,11±1,51	15,30±1,58		
C20-22n3	8,53±2,51 ^{a**}	9,13±2,90	3,56±1,17 ^{b*}	6,49±0,56	6,42±0,22	6,53±0,27	4,86±0,92	6,99±1,86	6,25±1,70	9,15±1,85 ^{**}		
C18n6	10,24±0,86 ^a	8,28±0,97	5,94±0,83 ^b	6,20±1,65	6,91±2,21	7,48±0,39	6,68±1,29 [*]	9,18±1,68	7,55±1,17	7,06±0,12		
C20-22n6	7,69±1,99	11,54±2,65 ^a	7,04±1,44	5,32±0,38 ^b	8,39±5,09	7,96±0,18	13,18±4,73 ^{**}	9,94±1,90	5,56±1,05	8,24±1,57		

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

- Tecido Encefálico

Fração Fosfatidilcolina

Para a fração fosfatidilcolina encefálica (Tabela 7) notou-se uma tendência de aumento das porcentagens dos ácidos graxos saturados com o decorrer do experimento nos grupos mantidos a 30 e 24°C, (para 30°C diferença significativa entre o 1° e 30° dia $p < 0.05$; para 24°C diferença significativa entre o 1° e 30° dia $p = 0,02$), sendo que para 24°C o aumento teve como consequência direta a diminuição dos ácidos graxos polinsaturados (Figuras 16 e 17), com diferença estatística significativa entre o 1° e 30° dia de experimento ($p < 0,001$). Estas mudanças foram corroboradas com diferenças tanto na série ômega 3, quanto pelos ômega 6.

Para a mesma fração na análise dos ácidos graxos monoinsaturados observa-se que os animais mantidos nas menores temperaturas (17 e 12°C) apresentaram um aumento expressivo das porcentagens do 1° para o 15° dias (17°C $p = 0,03$; 12°C $p = 0,007$), porém o grupo mantido a 12°C curiosamente teve seus valores iniciais muito baixos, apresentando diferenças significativas em relação aos animais mantidos a 30°C ($p < 0,05$) e 24°C ($p = 0,039$) (Tabela 7, Anexo 5).

Analisando-se os ácidos graxos polinsaturados foi possível detectar um padrão de diminuição das porcentagens com o decorrer do experimento para o grupo mantido a 17°C, com queda significativa entre o 1° e 30° dias (17°C $p = 0,047$), com mudanças observadas na série ômega 3, de cadeia longa ($p < 0,05$) (Figura 17, Tabela 7).

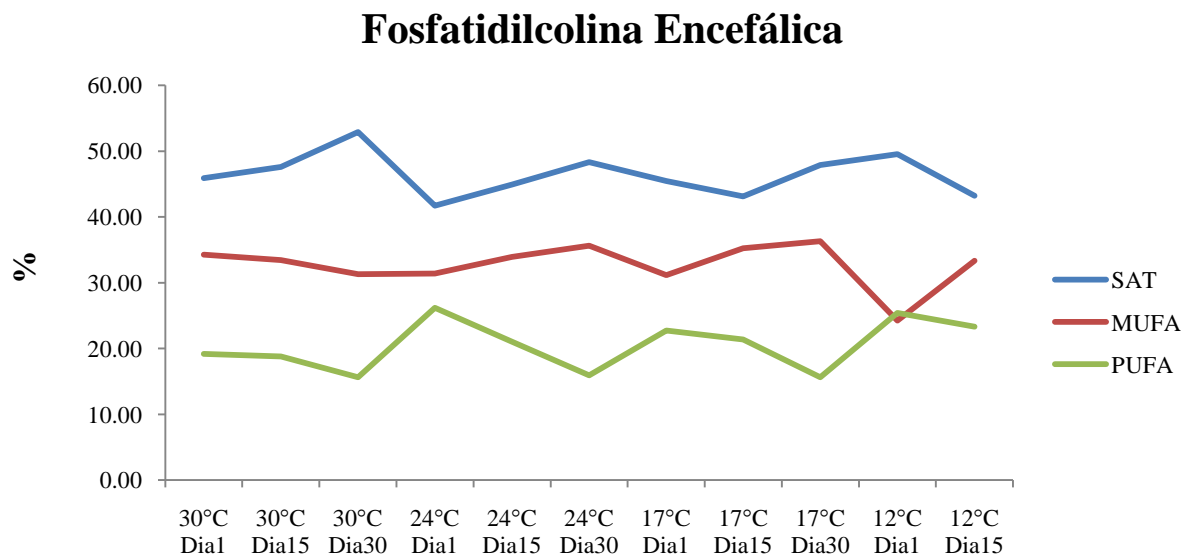


Fig. 16. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

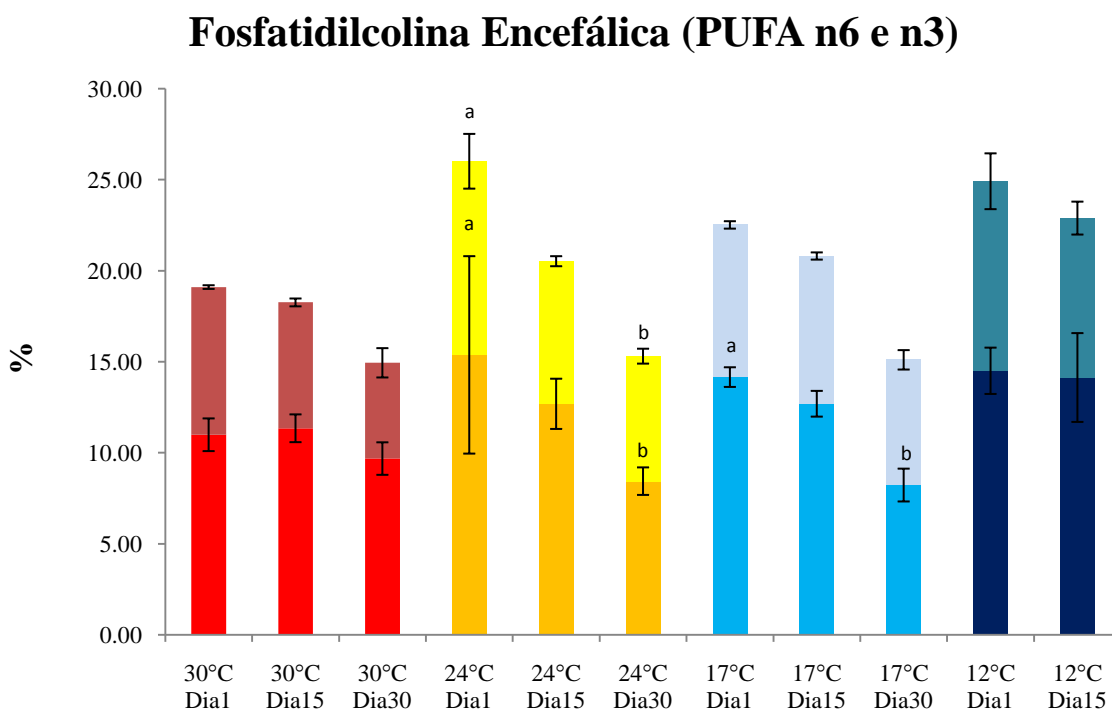


Fig.17. Ácidos graxos ômega 6 (barras superiores) e ômega 3 (barras inferiores) na fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Tabela 7. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1	30°C- dia 15	30°C- dia 30	24°C- dia 1	24°C- dia 15	24°C- dia 30	17°C- dia 1	17°C- dia 15	17°C- dia 30	12°C- dia 1	12°C- dia 15
SAT	45,89±0,74 ^a	47,60±0,85	52,90±4,99 ^b	41,70±3,88 ^a	44,91±0,40	48,34±0,81 ^b	45,45±1,10	43,10±0,65	47,88±1,70	49,53±3,89	43,19±1,32
MUFA	34,25±0,63 ^{**}	33,46±1,46	31,30±4,91	31,41±3,48 ^{**}	33,93±1,42	35,64±0,57	31,14±1,41 ^a	35,22±0,44 ^b	36,31±0,66	24,26±4,12 ^{a*}	33,34±2,01 ^b
PUFA	19,20±0,79	18,80±0,89	15,64±0,73	26,19±6,88 ^a	21,02±1,55	15,91±1,07 ^b	22,73±0,36 ^a	21,40±0,87	15,64±1,43 ^b	25,41±0,78	23,34±3,22
PUFA n3	10,99±0,90	11,35±0,76	9,68±0,89	15,38±5,42 ^a	12,69±1,38	8,44±0,76 ^b	14,16±0,54 ^a	12,69±0,71	8,23±0,90 ^b	14,51±1,27	14,14±2,44
PUFA n6	8,11±0,10	6,91±0,21	5,26±0,81	10,64±1,50 ^a	7,84±0,28	6,87±0,41 ^b	8,36±0,20	8,12±0,20	6,88±0,53	10,41±1,53	8,76±0,90
C18 n3	0,14±0,03	0,33±0,23	0,22±0,06	0,33±0,10	0,25±0,18	0,25±0,05	0,17±0,03	0,08±0,02	0,19±0,05	0,41±0,17	0,21±0,07
C20-22 n3	10,85±0,93	11,02±0,64	9,47±0,91	15,05±5,37 ^a	12,44±1,12	8,19±0,80 ^b	13,99±0,52 ^a	12,62±0,70	8,04±0,92 ^b	14,10±1,43	13,93±2,43
C18 n6	2,04±0,12	1,79±0,10	1,59±0,29	2,15±0,29	1,98±0,19	2,18±0,11	1,98±0,09	2,25±0,06	2,15±0,12	2,31±0,76	2,24±0,50
C20-22 n6	6,07±0,13	5,66±0,30	4,37±0,42	8,48±1,64	6,35±0,39	5,28±0,35	6,38±0,21	6,45±0,18	5,26±0,50	8,10±0,86	6,96±0,88

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

Análise Posicional

•(sn-1)

Na análise dos ácidos graxos dentro dos grupos experimentais durante os tratamentos foi possível detectar no grupo mantido a 30°C um aumento expressivo dos ácidos graxos saturados, com valores maiores para o 15° e 30° dias de experimento comparados com o grupo inicial ($p < 0,05$) (Figura 18). Inversamente, estas diferenças são também encontradas, para o grupo inicial quando se comparam os ácidos graxos polinsaturados em relação ao 15° ($p = 0,002$) e 30° dias ($p = 0,04$), corroborando diminuição dos valores para PUFA_{n3} de cadeia longa ($p < 0,001$ para todas as comparações entre o 1° e os demais dias de experimento), PUFA_{n6} por sua vez mostrou diminuição significativa dos valores no 15° dia de experimento ($p = 0,02$ na comparação com o 1° dia) e volta aos altos valores iniciais no 30° dia experimental (diferença na comparação entre o 15° e 30° dia, $p = 0,02$), apesar disso os dois subgrupos de PUFA_{n6} mostraram diferentes padrões de comportamento no decorrer do experimento, com diminuição brusca de C18n6 (de 17,85% para 1,77% entre o 1 e 15° dias, $p < 0,001$, diferença que se manteve na comparação com o 30° dia de experimento) e padrão de aumento observado para C20-22n6 no 30° dia ($p < 0,05$ para a comparação entre o 30° dia em relação ao 1° e 15°) (Figuras 19 e 20).

O grupo mantido a 24°C por sua vez apresentou uma queda das porcentagens de ácidos graxos saturados no último dia experimental em relação aos demais ($p < 0,001$), MUFA mostrou uma diminuição significativa dos valores no 15° dia de experimento e volta aos altos valores iniciais no 30° dia (diferenças detectadas na comparação entre o 1° e 15° dias ($p = 0,02$) e 15 e 30° dias ($p < 0,05$)) (Figura 18). Em PUFA_{n6} foi possível observar, diferente ao ressaltado para 30°C, um aumento expressivo das porcentagens na comparação do 1° para o 30° dia de experimento, corroborado pelos ácidos graxos C20-22 n6 ($p < 0,05$).

Para o grupo 17°C houve um episódio significativo de aumento das porcentagens de ácidos graxos saturados e redução de PUFA no 15° dia experimental com valores diferentes estatisticamente em comparação com os outros dias ($p < 0,05$). Para PUFA_{n6} de cadeia longa houve um aumento dos valores no 30° dia de experimento em relação ao 1° dia ($P < 0,05$), sendo este aumento inversamente proporcional à diminuição significativa de PUFA_{n6} de cadeia curta em relação ao 1° dia experimental para o 15° ($p = 0,02$) e 30° dias ($p < 0,001$) (Tabela 8 e Figura 20).

No grupo mantido a 12°C houve diminuição dos valores de MUFA (com diferença estatística entre o 1° e 15° dia de experimento, $p < 0,05$), com compensação direta pelo aumento de SAT no mesmo período (diferença estatística não detectada) (Figura 18 e Tabela 8).

Na comparação entre as temperaturas testadas no decorrer do tratamento crônico nota-se que houve uma tendência de aumento das porcentagens de ácidos graxos saturados com o passar dos dias, porém na comparação entre as diferentes temperaturas o grupo mantido a 24°C, diferente dos demais, já teve seus valores iniciais aumentados em relação aos grupos mantidos a 30°C e 17°C, apresentando diferença estatisticamente significativa nas duas comparações ($p = 0,001$). No 30° dia de experimento houve uma inversão dos valores com a maior porcentagem atribuída ao grupo mantido a 30°C na comparação com 24°C ($p = 0,02$) e 17°C ($p = 0,04$). Na comparação de PUFA entre as temperaturas testadas observa-se que os grupos mantidos a 12 e 24°C apresentaram os menores valores para o 1° dia de experimento, com diferenças na comparação com 30 e 17°C ($p < 0,05$ para todas as comparações), com PUFA n6, mais especificamente C18n6 sendo responsável por esta diferença. Para PUFA n3 no 1° dia experimental nota-se uma grande diferença entre o grupo 30°C, com valores mais altos, em relação aos grupos 24°C ($p = 0,03$) e 17°C ($p = 0,02$), sendo corroborado pelos ácidos graxos de cadeia longa pertencentes à série n3 (Figura 19, Tabela 6 e Anexo 6).

Fosfatidilcolina Encefálica- *sn*1

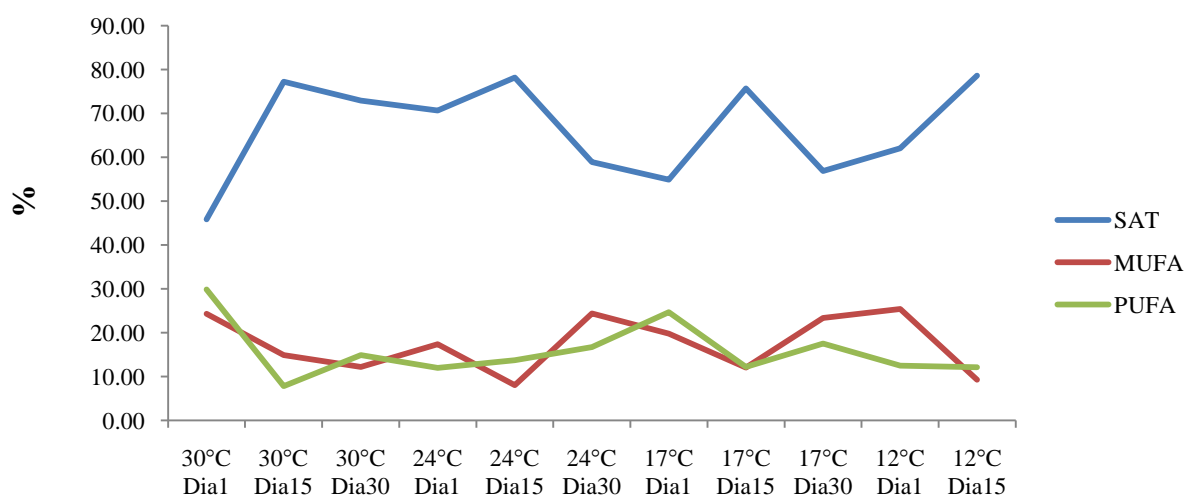


Fig. 18. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn*-1 da fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Fosfatidilcolina Encefálica- *sn1* (PUFA n3 e n6)

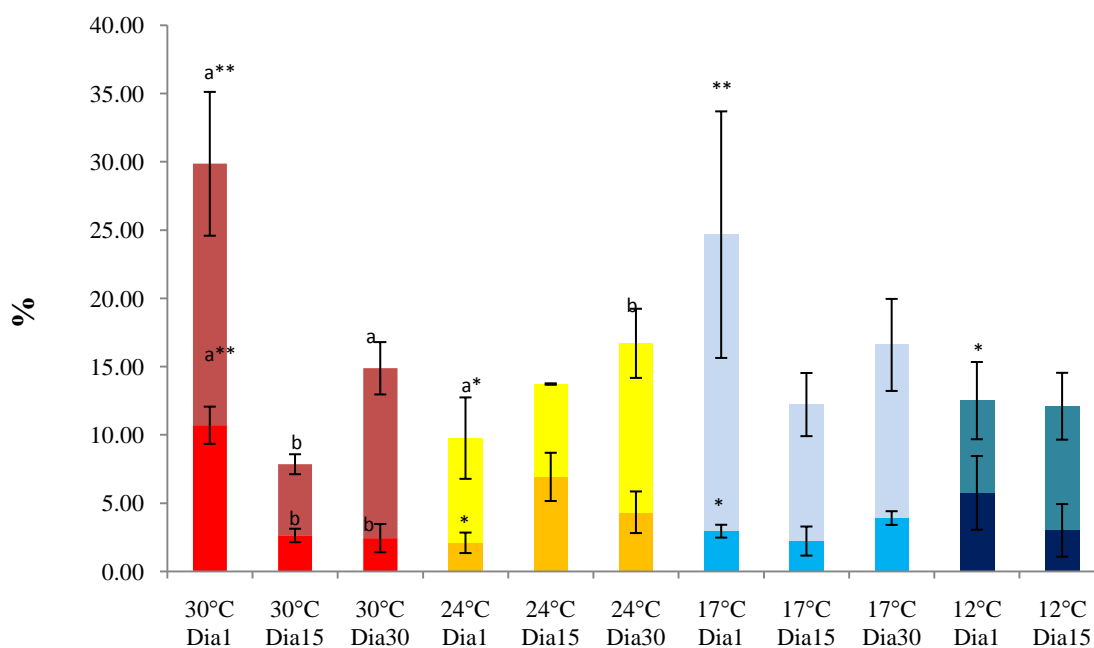


Fig.19. Ácidos graxos ômega 3 (barras inferiores) e ômega 6 (barras superiores) da posição *sn-1* da fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Fosfatidilcolina Encefálica- *sn1* (C18n6 e C20-22n6)

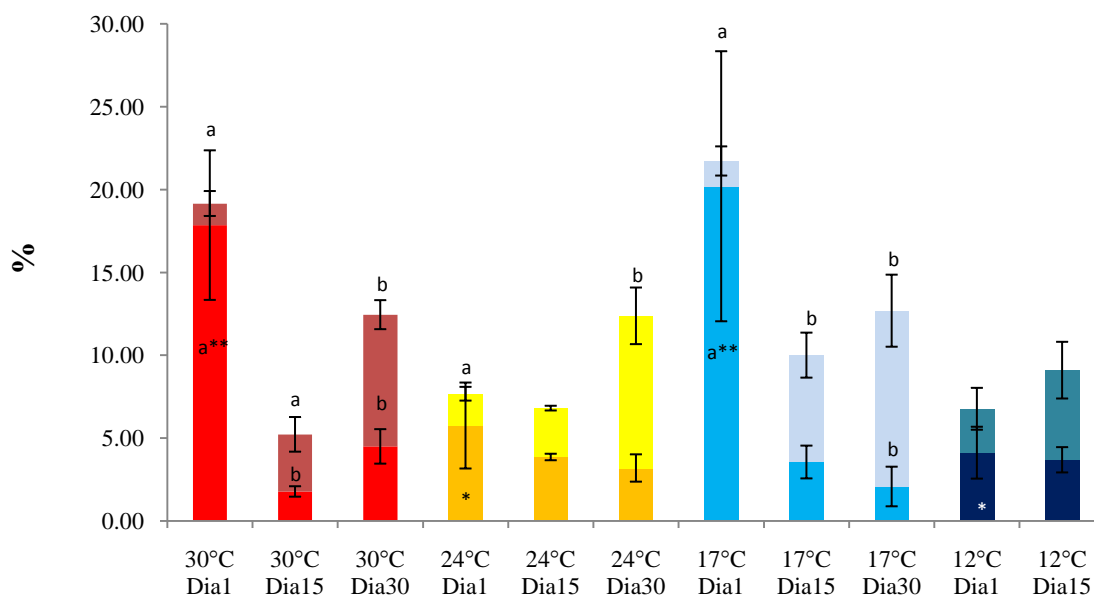


Fig.20. Somatória dos ácidos graxos C18n6 (barras inferiores) e C20-22n6 (barras superiores) da posição *sn-1* da fraçãofosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

•(sn- 2)

Para o grupo mantido a 30°C foi possível verificar a queda dos valores de SAT na comparação do 1° com o 15° e 30° dia de experimento, com compensação direta pelo aumento de MUFA no mesmo período ($p < 0,05$ para todas as comparações). Na análise de PUFA nota-se uma diminuição no 15° dia e aumento no 30° dia de experimento, sendo este comportamento diretamente relacionado com os ácidos graxos da série ômega 6, C20-22n6 mostrou uma diminuição aos 15 dias de experimento que se manteve, enquanto C18n6 apresentou um súbito aumento dos valores no 30° dia de experimento em relação aos demais ($p < 0,05$ para todas as comparações) (Figura 22, Tabela 8).

Na análise dos animais do grupo mantido em 24°C a mesma redução dos valores de SAT observada em 30°C foi verificada na comparação entre o 1° e o 15° ($p = 0,03$) dia experimental, porém, diferente do que ocorreu para 30°C houve um aumento e restabelecimento dos valores iniciais no 30° dia de experimento ($p = 0,04$ na comparação entre o 15° e 30° dia). Comportamento oposto foi notado em PUFA, com aumento dos valores no 15° e diminuição no 30° dia, corroborado por PUFA n6 de cadeia curta e longa ($p < 0,05$).

Os animais do grupo mantido em 17°C parecem ter o mesmo padrão observado para 24°C, queda de SAT ($p < 0,05$ na comparação entre o 1° e 15° dia), aumento de PUFA no mesmo período ($p = 0,01$), com correspondência direta aos PUFA n6 de cadeia curta.

O grupo mantido a 12°C apresentou um aumento significativo de PUFA entre o 1° e 15° dia de experimento ($p < 0,001$), com correspondência direta aos PUFA n6 de cadeia curta, que teve suas porcentagens dobradas no período (Figura 21, Tabela 8).

Na comparação entre os grupos experimentais foi possível verificar que os ácidos graxos saturados apresentaram os menores valores para o grupo mantido a 17°C no 15° dia de experimento em relação ao grupo mantido a 12°C ($p = 0,009$). Já na análise do último dia de experimento é possível observar valores significativamente maiores para o grupo dos animais mantidos a 24°C em relação aos grupos 30 e 17°C no mesmo período ($p < 0,05$).

Já para os ácidos graxos monoinsaturados foi observado, como já descrito anteriormente um aumento das porcentagens no grupo mantido a 30°C, sendo que no início do experimento os animais mantidos nesta temperatura apresentam porcentagens

estatisticamente menores em comparação com todos os outros tratamentos ($p < 0,001$). Ainda analisando os ácidos graxos monoinsaturados entre os grupos experimentais, o 15º dia apresentou as menores porcentagens detectadas nos grupos mantidos em temperaturas intermediárias (24 e 17°C), com diferenças significativas na comparação com as temperaturas extremas (30 e 12°C) (Figura 21).

Para os ácidos graxos polinsaturados notou-se que os animais do grupo mantido a 12°C apresentou valores significativamente menores no 1º dia de experimento quando comparado aos demais grupos ($p < 0,05$). Já o grupo 17°C no 15º dia mostra porcentagens acima de 50% para os PUFA, sendo este resultado estatisticamente significativo na comparação com 30 ($p = 0,009$) e 12°C ($p = 0,002$) no mesmo período (Figura 21, Tabela 8 e Anexo 6).

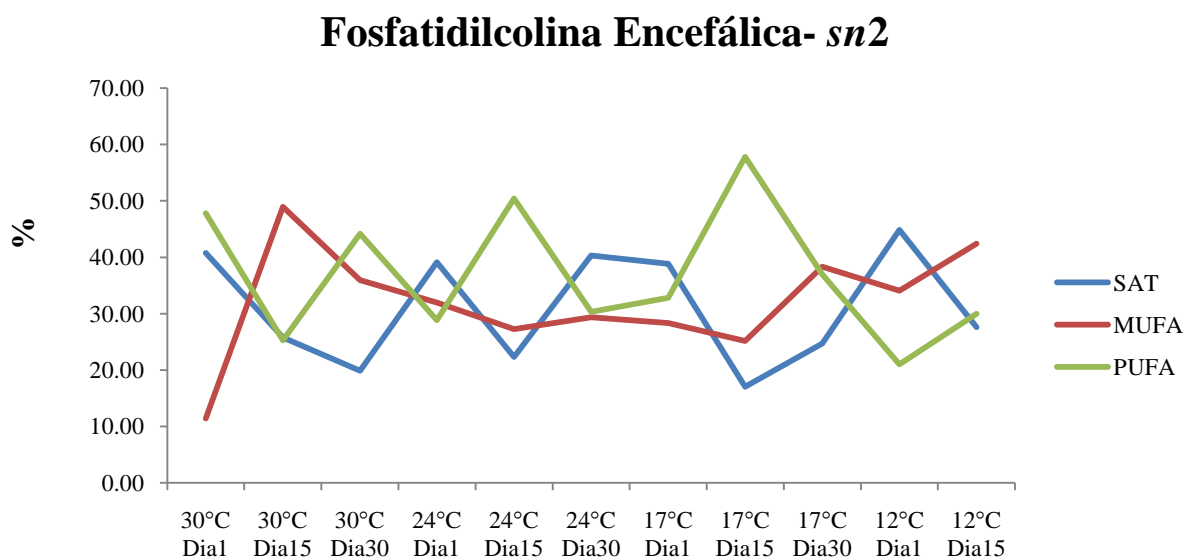


Fig. 21. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn*-2 da fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Fosfatidilcolina Encefálica- *sn2* (PUFA n6 e C18n6)

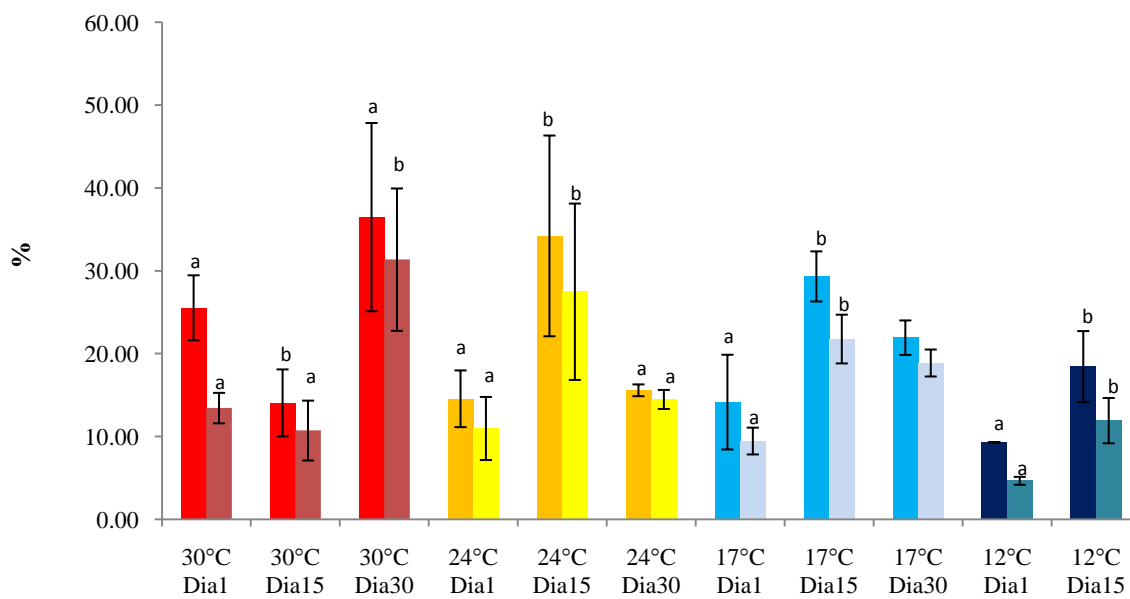


Fig.22. Somatória dos ácidos graxos da classe ômega 6 (barras a esquerda) e C18n6 (barras a direita) da posição *sn-2* da fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Tabela 8. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*sn-1*) e 2 (*sn-2*) da fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 15		30°C- dia 30		24°C-dia 1		24°C-dia 15		24°C-dia 30	
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	45,85±1,061 ^{a*}	40,75±3,45 ^a	77,25±4,18 ^b	25,81±0,51 ^b	72,93±5,19 ^{b**}	19,90±4,34 ^{b*}	70,63±7,65 ^{a**}	39,14±3,65 ^a	78,21±2,13 ^a	22,34±0,03 ^b	58,88±14,50 ^{b*}	40,31±7,44 ^{a**}
MUFA	24,29±3,98	11,43±1,76 ^{a*}	14,89±2,96	48,92±3,68 ^{b**}	12,18±2,24	35,92±7,21 ^b	17,39±3,61 ^a	32,00±7,02 ^{**}	8,06±0,42 ^b	27,27±2,23 [*]	24,41±5,44 ^a	29,37±10,99
PUFA	29,87±6,63 ^{a**}	47,82±5,20 ^{a**}	7,86±1,22 ^b	25,26±4,19 ^{b*}	14,89±2,95 ^b	44,18±11,56 ^a	11,95±4,11 [*]	28,85±4,61 ^{a**}	13,73±1,71	50,39±12,19 ^b	16,72±4,06	30,31±3,55 ^a
PUFA n3	10,71±1,35 ^{a**}	13,75±1,34	2,64±0,49 ^b	10,04±0,28	2,45±1,04 ^b	6,73±0,47	2,10±0,75 [*]	10,29±2,19	6,93±1,76	12,77±1,21	4,34±1,52	11,78±3,38
PUFA n6	19,15±5,27 ^{a**}	25,56±3,92 ^a	5,22±0,73 ^b	14,08±4,05 ^b	12,44±1,92 ^a	36,51±11,36 ^a	7,67±2,98 ^{a*}	14,58±3,42 ^a	6,80±0,99	34,24±12,12 ^b	12,37±2,53 ^b	15,60±0,71 ^a
C20-22n3	10,71±1,36 ^{a**}	13,75±1,34	2,64±0,49 ^b	10,04±0,28	2,45±1,04 ^b	6,73±0,47	2,10±0,75 [*]	10,29±2,19	6,93±1,76	12,77±1,21	4,34±1,52	11,78±3,38
C18n6	17,85±4,51 ^{a**}	13,45±1,84 ^a	1,77±0,31 ^b	10,74±3,61 ^a	4,49±1,04 ^b	31,37±8,59 ^b	5,75±2,59 [*]	10,99±3,81 ^a	3,85±0,20	27,49±10,65 ^b	3,19±0,82	14,49±1,15 ^a
C20-22n6	1,30±0,75 ^a	15,65±2,84 ^a	3,45±1,05 ^a	4,01±0,66 ^b	7,95±0,88 ^b	5,87±2,37 ^b	1,92±0,41 ^a	5,18±0,09 ^a	2,95±0,14	7,06±1,39 ^b	9,19±1,71 ^b	2,74±0,56

Ácidos Graxos	17°C-dia 1		17°C-dia 15		17°C-dia 30		12°C-dia 1		12°C-dia 15	
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	54,92±10,78 ^{a*}	38,86±0,98 ^a	75,71±4,15 ^b	17,03±0,84 ^{b*}	56,88±14,09 ^{a*}	24,70±3,77 [*]	62,07±14,66	44,87±13,73	78,59±3,29	27,59±1,34 ^{**}
MUFA	19,82±2,13	28,32±7,19 ^{**}	12,06±2,25	25,15±3,66 [*]	23,37±10,26	38,32±2,78	25,41±9,13 ^a	34,10±13,19 ^{**}	9,31±0,31 ^b	42,44±2,50 ^{**}
PUFA	24,68±8,56 ^{a**}	32,82±8,17 ^{a**}	12,23±2,63 ^b	57,81±4,18 ^{b**}	17,55±4,42 ^a	36,97±0,99	12,52±5,53 [*]	21,03±0,53 ^{a*}	12,11±3,01	29,98±3,83 ^{b*}
PUFA n3	2,96±0,47 [*]	12,01±0,63	2,23±1,07	19,57±3,89	3,92±0,50	10,91±0,64	5,76±2,70	10,28±1,61	3,01±1,93	7,82±0,52
PUFA n6	21,72±9,03 ^{**}	14,17±5,72 ^a	10,00±2,31	29,35±3,02 ^b	12,68±3,37	21,95±2,08	6,76±1,07 [*]	9,31±0,07 ^a	9,09±2,45	18,46±4,29 ^b
C20-22n3	2,96±0,47 [*]	12,01±0,63	2,23±1,07	19,57±3,89	3,92±0,50	10,91±0,64	5,76±2,70 [*]	10,28±1,16	3,01±1,93	7,82±0,52
C18n6	20,19±8,15 ^{a**}	9,47±1,62 ^a	3,55±0,99 ^b	21,79±2,94 ^b	2,07±1,20 ^b	18,89±1,63	4,11±1,56 [*]	4,67±0,48 ^a	3,68±0,76	11,93±2,73 ^b
C20-22n6	1,53±0,88 ^a	8,76±4,52	6,45±1,36	8,31±1,63	10,61±2,18 ^b	4,11±0,46	2,65±1,26	5,46±0,07	5,41±1,71	7,32±2,22

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

Fração Fosfatidiletanolamina

Quando foram analisados os ácidos graxos saturados da fração fosfatidiletanolamina das membranas celulares encefálicas, foi possível detectar o aumento dos valores em 30 24 e 17°C, com aumento somente no 30° dia para 30 e 17°C e no 15° dia para 24°C (Tabela 9 e Anexo 7) ($p < 0,001$), sendo que para os grupos mantidos a 17°C e 12°C houve um aumento também das porcentagens de MUFA, com diferença estatística significativa entre os dias 1 e 30 ($p = 0,02$) para o grupo mantido a 17°C e entre o 1 e 15° dias para o grupo mantido a 12°C ($p < 0,05$) (Figura 21 e Tabela 9).

Observou-se também um padrão de diminuição das porcentagens de ácidos graxos polinsaturados no decorrer do experimento para todos os grupos analisados, exceto em 24°C, sendo este compensado em 30°C pelo aumento dos ácidos graxos saturados e no caso do grupos mantidos a 17°C e 12°C ao aumento dos MUFA (Tabela 9 e Anexo 7).

Na análise de PUFA n3 dentro dos grupos experimentais no decorrer dos dias detecta-se queda significativa entre o 15 e 30° dia em 30°C ($p = 0,09$), entre o 1° e 30° dia para o grupo mantido a 17°C ($p < 0,001$) e entre o 1° e 15° dias para o grupo 12°C ($p < 0,05$), sendo que para 17 e 30°C estas diferenças são corroboradas por diferenças nas porcentagens dos ácidos graxos ômega 3 de cadeia longa (Figura 24).

Fosfatidiletanolamina Encefálica

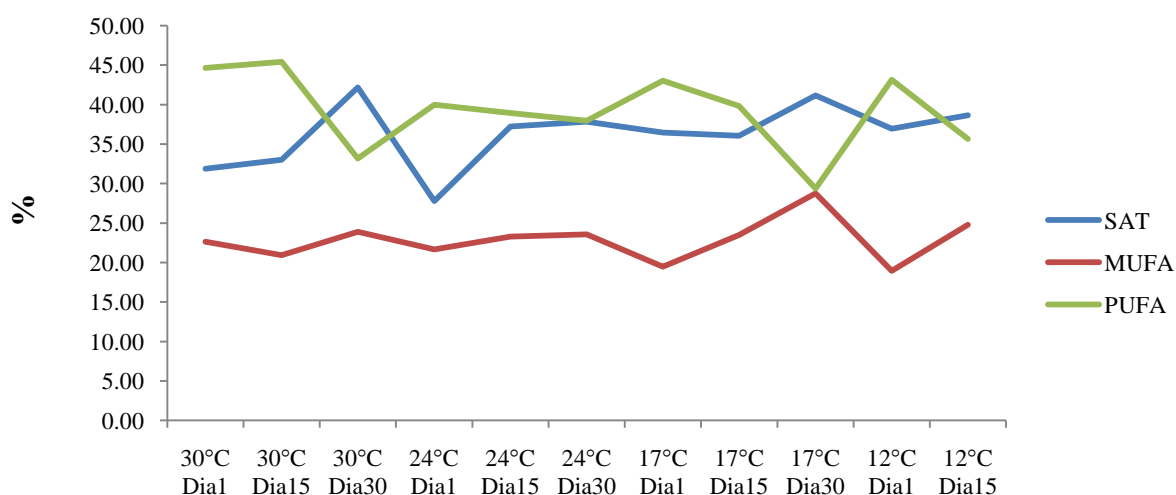


Fig. 23. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da fração fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

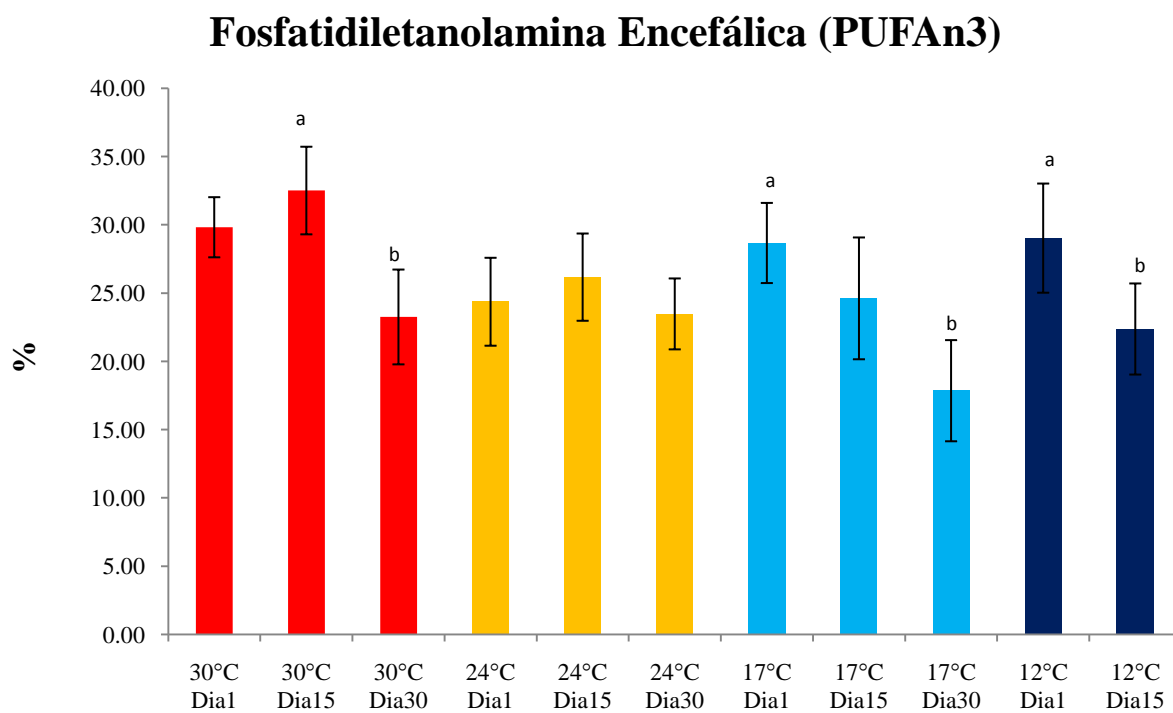


Fig. 24. Ácidos graxos ômega 3 da fração fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Tabela 9. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EPM)

Ácidos graxos	30°C- dia 1	30°C- dia 15	30°C- dia 30	24°C- dia 1	24°C- dia 15	24°C- dia 30	17°C- dia 1	17°C- dia 15	17°C- dia 30	12°C- dia 1	12°C- dia 15
SAT	31,88±0,57 ^a	33,02±2,61	42,19±3,06 ^b	27,79±5,37 ^a	37,23±2,40 ^b	37,83±3,50 ^b	36,47±3,58 ^a	36,06±3,55 ^a	41,16±2,96 ^b	36,94±3,33	38,65±2,65
MUFA	22,64±1,67	20,95±1,07	23,88±2,10	21,68±4,06	23,29±1,33	23,57±0,47	19,46±0,98 ^a	23,50±2,55	28,76±2,00 ^b	18,94±5,53 ^a	24,77±1,86 ^b
PUFA	44,63±1,99	45,44±3,56 ^a	33,18±4,28 ^b	39,98±4,64	38,93±3,86	37,95±3,81	43,03±3,59 ^a	39,83±6,10	29,36±4,70 ^b	43,13±4,41 ^a	35,63±4,48 ^b
PUFA n3	29,83±2,20	32,52±3,21 ^a	23,26±3,47 ^b	24,38±3,22	26,18±3,20	23,49±2,60	28,68±2,94 ^a	24,62±4,46	17,86±3,70 ^b	29,04±4,00 ^a	22,38±3,34 ^b
PUFA n6	14,20±0,53	12,91±0,36	9,92±0,82	14,95±2,12	12,75±0,75	14,46±2,24	13,56±0,80	15,21±1,72	11,50±1,05	13,65±0,64	13,25±1,22
C20-22 n3	29,13±2,37	32,52±3,21 ^a	23,26±3,47 ^b	23,82±3,18	26,18±3,20	23,49±2,60	27,71±3,18 ^a	24,62±4,46	17,86±3,70 ^b	28,19±4,29	22,38±3,34
C18 n6	1,84±0,20	1,20±0,09	1,14±0,04	1,68±0,18	1,33±0,05	1,41±0,07	2,26±0,29	1,45±0,18	1,45±0,09	2,25±0,95	1,82±0,08
C20-22 n6	12,36±0,40	11,71±0,43	8,78±0,81	13,27±2,05	11,43±0,77	13,05±2,30	11,31±1,01	13,76±1,88	10,05±1,10	11,40±1,42	11,43±1,22

^{ab}letras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

Análise Posicional

•(sn-1)

Para os animais mantidos nas três temperaturas mais elevadas foi possível observar um padrão comum, a diminuição significativa de SAT, aumento de MUFA no 15° dia experimental e volta a altas porcentagens de SAT no final do experimento (com diferença significativa entre o 1° e 30° dia experimental em relação ao 15° para 30°C ($p<0,05$) e 17°C ($p<0,05$) e entre o 1° e 15° dia para o grupo mantido a 24°C ($p<0,05$)) (Figura 25). PUFA também parece ser um compensador da queda de SAT no 15° dia, com valores aumentados no 15° dia para as três temperaturas supracitadas, com diferença estatística significativa entre o 1° e 15° dia para 30°C ($p=0,02$) (PUFAn6, C18n6- Figura 26), entre o 1° e 15° dia ($p=0,01$) e 1° e 30° dia ($p<0,01$) para 24°C e entre o 1° e 15° dia ($p=0,02$) (PUFAn3 de cadeia longa) e volta aos valores iniciais e diferença entre o 15° e 30° dia para o grupo mantido a 17°C (PUFAn6, C18n6) (Figura 26). O grupo mantido a menores temperaturas também apresentou um aumento de MUFA no 15° dia de experimento ($p<0,01$) (Tabela 10).

Na comparação entre as temperaturas testadas no mesmo dia experimental notou-se a existência das maiores porcentagens de SAT para o grupo 24°C no 1° dia de experimento em comparação com o grupo 12°C, porém para o 15° dia de experimento, como já foi descrito anteriormente houve uma brusca diminuição de SAT para todos os grupos, o que ocasionou maior porcentagem deste grupamento em 12° C na comparação com todas as outras temperaturas testadas ($p<0,05$ para todas as comparações). Para MUFA os menores valores foram encontrados nos grupos 12 e 24°C na comparação com 30 e 17°C no 15° dia de experimento ($p<0,05$) (Tabela 10 e Anexo 8).

O grupo mantido a 24°C, como já citado anteriormente, apresentou um aumento dos valores de PUFA (n3 e n6), na metade do experimento, o que ocasionou diferenças estatísticas na comparação com os outros grupos experimentais, para o 1° dia experimental os menores valores foram observados neste grupo, com diferença estatística significativa na comparação com o grupo 12°C ($p=0,01$). No 15° dia, os animais mantidos em 24°C apresentaram as maiores porcentagens de PUFA na fração quando comparados com a mesma fração dos animais mantidos em 17°C ($p=0,04$) e 12°C ($p=0,02$), o mesmo foi observado para o 30° dia de experimento, com diferença significativa na comparação do grupo mantido a 24°C com o grupo 30°C ($p<0,05$).

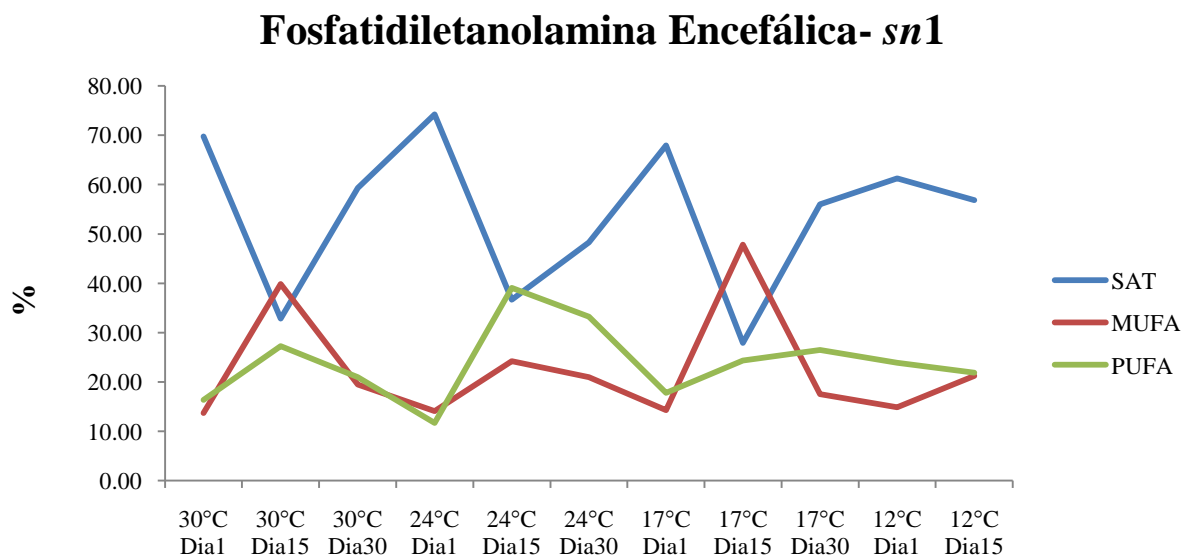


Fig. 25. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição *sn-1* da fração fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

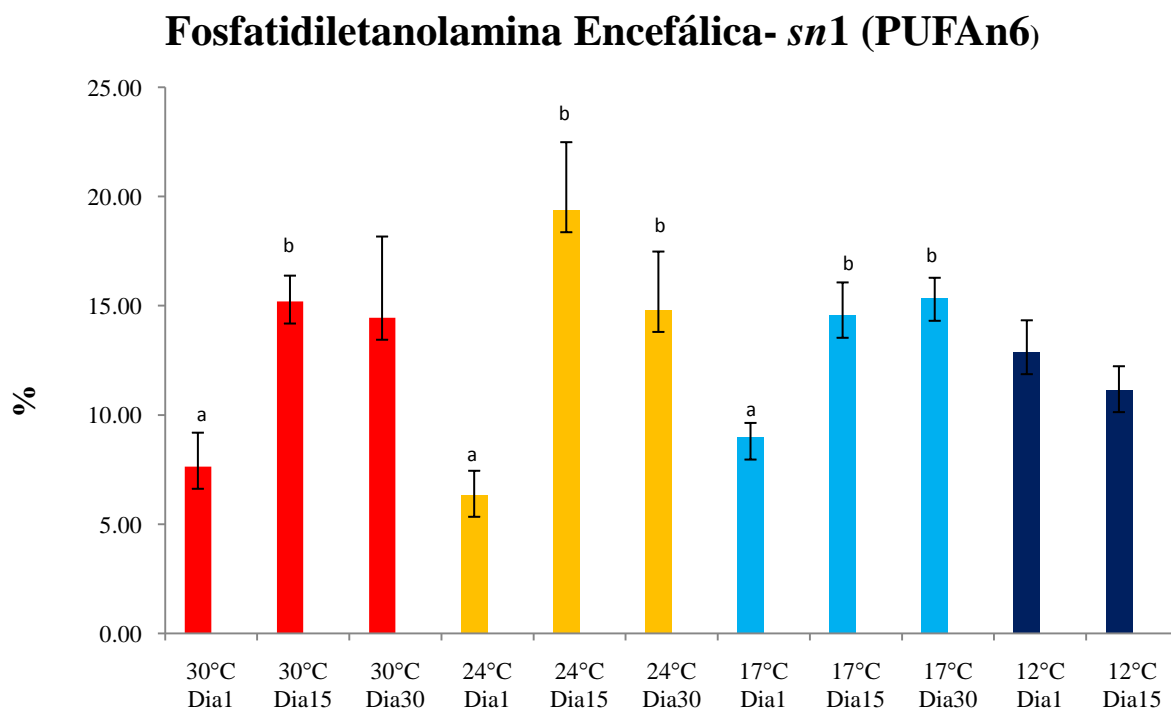


Fig.26. Ácidos graxos ômega 3 da posição *sn-1* da fração fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

•(sn- 2)

Esta posição apresentou valores de erro padrão extremamente elevados, o que dificultou a análise estatística dos dados. Somente os valores de PUFA passaram pelo teste de normalidade o que mostrou a diminuição das porcentagens do 15° para o 30° dia experimental para o grupo 24°C (p=0,01), corroborado pelos dados de PUFA n6, C18n6, sendo esta mesma queda de PUFA observada neste período nos animais expostos em 17°C (p<0,001) (Figura 27 e Tabela 10).

Na comparação entre os grupos experimentais no mesmo dia de tratamento notam-se as menores porcentagens de MUFA no 1° dia de experimento para o grupo 30°C em relação a 24°C (p=0,01) e no 15° dia na comparação com 12°C (p=0,03). Para PUFA o mesmo padrão se mantém com menores valores para o grupo 30°C na comparação com 24°C no 15° dia (p=0,02), com valores diretamente relacionados com PUFA ômega 3, C20-22n3 (Tabela 10 e Anexo 8).

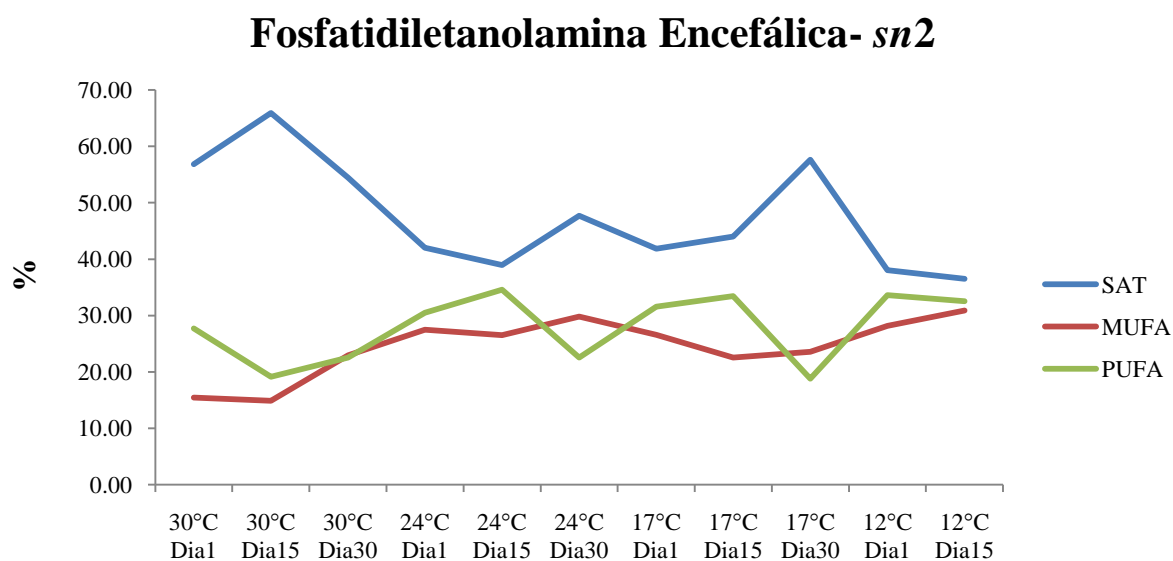


Fig. 27. Flutuação das principais classes de ácidos graxos da posição sn-2 da fração fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico

Tabela 10. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*sn-1*) e 2 (*sn-2*) da fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 15		30°C- dia 30		24°C-dia 1		24°C-dia 15		24°C-dia 30	
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	69,76±5,73 ^a	56,84±7,62	32,85±4,71 ^{b*}	65,94±6,54	59,32±5,69 ^a	54,46±5,94	74,21±0,67 ^{a**}	42,04±1,65	36,67±4,92 ^{b*}	38,94±9,05	48,26±11,36	47,67±8,68
MUFA	13,69±2,21 ^a	15,45±1,95 [*]	39,87±7,06 ^{b**}	14,90±0,74 [*]	19,46±2,10 ^a	22,96±8,51	14,12±1,17 ^a	27,46±0,45 ^{**}	24,25±1,59 ^{b*}	26,51±5,96	21,00±4,40	29,79±5,50
PUFA	16,40±3,74 ^a	27,71±5,71	27,28±2,35 ^b	19,16±5,79 [*]	20,99±3,54 [*]	22,57±2,56	11,67±1,49 ^{a*}	30,49±2,09	39,08±3,33 ^{b**}	34,56±3,10 ^{a**}	33,24±7,88 ^{b**}	22,54±3,18 ^b
PUFA n3	6,47±1,06	15,50±4,89	10,79±2,10	8,37±2,83 [*]	5,37±0,81	6,83±0,46	4,17±1,21 ^a	12,86±1,88	18,35±0,73 ^{b**}	16,21±1,70 ^{**}	16,67±9,87 ^b	13,29±3,92
PUFA n6	7,63±1,57 ^a	10,44±2,08	15,20±1,19 ^b	10,10±3,03	14,45±3,72	14,59±3,04	6,35±1,11 ^a	15,64±3,10	19,38±3,12 ^b	16,75±0,81 ^a	14,81±2,68 ^b	7,65±0,66 ^b
C20-22n3	6,47±1,06	15,50±4,89	10,79±2,10	8,37±2,83 [*]	5,37±0,81	6,83±0,46	4,17±1,21 ^a	12,86±1,88	18,35±0,73 ^{b**}	16,21±1,70 ^{**}	16,67±9,87 ^b	13,29±3,92
C18n6	3,93±1,26 ^a	6,33±1,62	12,74±1,82 ^b	4,69±1,28	8,99±2,45	7,91±0,51	4,50±0,76 ^a	11,11±3,52 ^a	16,06±2,24 ^b	6,85±0,04 ^b	8,60±1,95 ^b	4,50±0,47
C20-22n6	3,70±0,90	4,11±0,52	2,46±0,73	5,40±1,75	5,46±1,30	6,68±2,53	1,85±0,41	4,53±0,42	3,32±0,88	9,90±0,85	6,21±0,78	3,15±0,19
	17°C-dia 1		17°C-dia 15		17°C-dia 30		12°C-dia 1		12°C-dia 15			
	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>
SAT	67,94±0,80 ^a	41,84±6,47	27,90±2,12 ^{b*}	44,01±11,98	55,97±2,43 ^a	57,64±10,59	61,23±3,47 [*]	38,04±10,05	56,86±6,13 ^{**}	36,51±14,28		
MUFA	14,29±0,78 ^a	26,60±5,45	47,83±3,41 ^{b**}	22,53±8,26	17,55±0,51 ^a	23,57±8,15	14,89±2,00 ^a	28,17±6,72	21,22±5,41 ^{b*}	30,92±6,15 ^{**}		
PUFA	17,78±0,03 ^a	31,57±2,64	24,34±1,33 [*]	33,47±3,72 ^a	26,48±2,94 ^b	18,78±2,45 ^b	23,88±1,54 ^{**}	33,62±3,23	21,92±1,25 [*]	32,57±10,55		
PUFA n3	6,17±0,24	14,45±0,86	8,40±2,18 [*]	12,59±3,79	9,28±1,13	7,59±2,11	9,29±0,52	20,62±5,29	9,93±0,75 [*]	20,66±8,03		
PUFA n6	8,97±0,68 ^a	12,93±0,82	14,54±1,53 ^b	19,01±0,49	15,32±0,97 ^b	10,34±0,90	12,88±1,47	11,36±1,68	11,14±1,10	9,84±1,89		
C20-22n3	6,17±0,24	14,45±0,86	8,40±2,18 [*]	12,59±3,79	9,28±1,13	7,59±2,11	9,29±0,52	20,62±5,29	9,93±0,75	20,66±8,03		
C18n6	5,06±0,32 ^a	5,23±0,54	9,70±1,02	7,80±0,58	11,29±0,70 ^b	6,77±0,30	8,21±1,94	5,10±0,36	6,85±1,00	5,46±1,11		
C20-22n6	3,91±0,36	7,70±1,32	4,85±0,52	11,21±0,09	4,04±0,27	3,57±0,72	4,67±1,06	6,26±1,32	4,29±0,64	4,38±0,81		

^a^bletras representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura; * símbolos representam diferenças entre grupos em um mesmo dia

4. Discussão

A exposição crônica de juvenis de *S. parahybae* à diferentes temperaturas evidencia que os animais, dependendo da temperatura considerada, apresentam uma capacidade de remodelar as membranas celulares dos hepatócitos e do tecido encefálico, mostrando em alguns casos respostas clássicas já observadas em espécies íctias de clima temperado.

Todos os parâmetros físico-químicos aferidos (pH, oxigênio dissolvido e amônia) encontraram-se dentro dos valores ideais para o cultivo de espécies em aquicultura, de acordo com os dados de Boyd (1996). Para valores de amônia os dados obtidos mostraram para maiores concentrações nos aquários mantidos nas maiores temperaturas quando comparados aos demais grupos, porém, mantiveram-se dentro dos limites considerados subletais para peixes, 0,5 mg/L de acordo com Boyd, (1990), embora a literatura disponível não defina de forma clara um valor letal para que cada espécie, que pode apresentar diferentes níveis de sensibilidade.

Os dados de massa corpórea e comprimento total mostraram-se inalterados durante o experimento, enquanto que os valores de IHS apresentaram, para todos os grupos experimentais, um aumento no 15º dia experimental, valores que se mantiveram altos até o final do experimento para 24 e 17°C. Outro fato importante a ser ressaltado são os altos valores de IHS para os animais mantidos nas menores temperaturas em relação aos animais mantidos a 30 e 24°C, este resultado pode ser explicado pela capacidade de aumento da massa cardíaca e hepática em animais mantidos em baixas temperaturas (Baldisserotto, 2002).

Organismos aquáticos são expostos a variações e algumas vezes condições ambientais extremas, que podem em último caso afetar ou debilitar algum ponto fisiológico específico e, frente a estas condições, mudanças comportamentais podem se tornar armas poderosas para a manutenção da homeostase (Arts e Kolher, 2009). No entanto, em condições de laboratório como as utilizadas neste experimento, somente a aclimação bioquímica e fisiológica, principalmente no que diz respeito à remodelação da membrana celular, sustentaria as mudanças ocorridas nas temperaturas as quais os animais foram expostos.

Tendo-se esta premissa como verdadeira a mortalidade do grupo mantido a 12°C pode ser explicada pela falta de capacidade metabólica e de reestruturação física das membranas como fator limitante à manutenção de Surubins do Paraíba nas condições

impostas no tratamento crônico. Esta situação corroborou o trabalho de Hsieh e Kuo, (2001) que testando a aclimação a frio (de 25 para 15°C) em “milkfish” e carpa-comum, se confrontaram no 8º dia com a mortalidade do grupo de “milkfish” por falência metabólica enquanto que as carpas sobreviveram até o final do experimento, mostrando assim a plasticidade fenotípica das carpas em modificar sua temperatura de conforto de forma mais eficiente quando comparado à outra espécie testada.

Este resultado evidencia as questões adaptativas inerentes à remodelação das membranas, pois a temperatura de 12°C provavelmente não seria uma temperatura que condiz com a estória evolutiva desta espécie, e assim, estes animais não apresentam estratégias fisiológicas e/ou bioquímicas para sobreviverem nesta condição. A incapacidade de ajuste do grupo mantido a 12°C é claramente demonstrada também pelo aumento de SAT em detrimento da queda de MUFA e PUFA em algumas frações, como por exemplo: nas posições *sn1* e *sn2* da fosfatidilcolina hepática, para a posição *sn2* da fosfatidiletanolamina no mesmo tecido, com correspondência para o grupo 17°C e para a posição *sn1* na fração fosfatidilcolina encefálica também para 17 e 12°C.

Seguindo o raciocínio das mudanças alostáticas nos grupos mantidos nas menores temperaturas amostradas foi possível observar em muitos momentos (para o grupo mantido a 12°C na fosfatidilcolina hepática e para a posição *sn2* da fração fosfatidilcolina encefálica, e para 17°C em que este padrão é encontrado na posição *sn1* da fosfatidilcolina hepática, na fração fosfatidiletanolamina do mesmo tecido e na posição *sn2* da fosfatidilcolina encefálica) um padrão de aumento de PUFA com o passar dos dias experimentais, o que seria esperado de acordo com os princípios da aclimação homeoviscosa (Buda *et al.*, 1994, Lemieux *et al.*, 2008). Porém por algum motivo o ácido graxo incorporado é o ácido linoléico (C18:2n6), um ácido graxo de cadeia curta e poucas insaturações, ácido graxo que possivelmente teve uma capacidade física limitada de aumentar a fluidez da membrana. Desta forma a mortalidade ocorrida nos animais expostos à 12°C pode estar ligada à incapacidade metabólica deste grupo em se manter em baixas temperaturas. Para os dois padrões observados acima, aumento de SAT e incorporação de C18:2n6, o grupo mantido a 17°C parece ter demonstrado outros ajustes metabólicos, e por estar mantido em temperaturas mais altas sobreviveu durante o período experimental diferente do grupo mantido a 12°C.

Para 12 e 17° foi possível notar que em alguns momentos a fluidez parece ter sido alçada com o aumento de MUFA em detrimento da queda de PUFA, comportamento observado para 17°C na posição *sn1* da fosfatidiletanolamina hepática, e para 17 e 12°C

na fração fosfatidilcolina encefálica. Similarmente a estes resultados encontrados, Stuart *et al.*, (1998), analisando o perfil de ácidos graxos de lesmas, mostraram que durante o período de estivação existe uma remodelação dos fosfolípidos de membrana no hepatopâncreas, mais especificamente com o aumento dos ácidos graxos monoinsaturados e diminuição dos polinsaturados em aproximadamente 49%, refletido principalmente na série n3. Esta substituição de ácidos graxos SAT por MUFA, nas membranas celulares, como ocorrido no presente trabalho, teria como resultado direto um aumento da área de superfície da membrana em cerca de 30% (Farkas *et al.*, 2000), o que auxiliaria na passagem de substâncias pela bicamada lipídica.

O tecido hepático mostrou para os grupos mantidos nas maiores temperaturas um padrão de diminuição de PUFA e aumento de SAT (C16:0 e C18:0), corroborado pelas frações fosfatidilcolina total e posição *sn1* e para a fração fosfatidiletanolamina, com predomínio destes ácidos graxos na fração saturada de todos os tecidos, frações e temperaturas testadas, o que não é uma surpresa, pois C16:0 é o metabólito chave em peixes. Andrade *et al.*, (1995) mostraram que em diversos peixes a porcentagem deste ácido graxo variou de 50 a 70%.

Na análise dos ácidos graxos das posições *sn1* e *sn2* da fração fosfatidilcolina encefálica um fato mostrou-se relevante para os grupos 17 e 30°C, o aumento de ácidos graxos ômega 6 de cadeia longa com diminuição dos ácidos graxos da mesma série com cadeia curta nos animais mantidos nas menores temperaturas e o comportamento contrário, com aumento de C18n6 e decorrente diminuição de C20-22n6 no mesmo período para os animais mantidos a 30°C. Estes dois casos ilustram claramente o metabolismo de PUFA em animais; no 1º caso é observada claramente a ação das enzimas elongases e dessaturases, que neste caso participam na conversão de ácidos graxos essenciais (AGE) básicos (com 18 carbonos) em ácido araquidônico (20:4n-6; AA) conversão realizada pela ação das dessaturases $\Delta 6$ e $\Delta 5$, e de duas elongases, como demonstrado na Figura 26 (Zheng *et al.*, 2004).

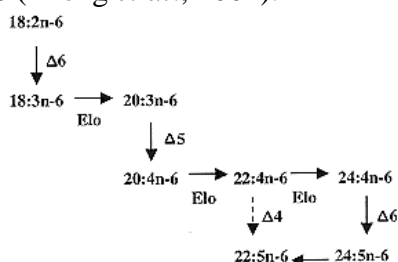


Fig. 26. Síntese de HUFA a partir de ácidos graxos essenciais com C₁₈ da série n6. As setas na vertical indicam dessaturases e na horizontal elongases. (Fonte: Zheng *et al.*, 2004).

O 2º caso mostra a diminuição de PUFA n6 de cadeia longa e aumento de ácidos graxos com 18 carbonos (C18n6) no mesmo período no grupo mantido a 30°C, o que pode ser interpretado por dois ângulos, o energético e o imunitário. Pensando pelo prisma energético a utilização dos ácidos graxos de cadeia longa como substrato seria vantajosa, já que este grupo experimental não parece necessitar da incorporação de ácidos graxos de cadeia longa para fins estruturais e o catabolismo de ácidos graxos é a maior fonte de energia para muitas espécies de peixes (Tocher, 2003). Considerando o prisma imunitário as altas temperaturas enfrentadas por este grupo experimental poderiam estar levando os tecidos a desviar os ácidos graxos com 20 ou 22 carbonos (provavelmente o ácido araquidônico- C20:4n6) deste tecido e fração para sistemas conhecidos de oxigenação e transformando-os em produtos biologicamente ativos, como os eicosanóides (Schreiner, 2003), que participam ativamente de cascatas inflamatórias e respostas ao estresse.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem à CESP e seus funcionários pelo auxílio na manutenção e transporte dos animais. E ao Dr. Matthias Schreiner e todos os integrantes do *Department of Food Sciences and Technology* pelo auxílio nas análises posicionais dos fosfolípídeos. Esta pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP: Processo- 2008/53966-1-bolsa de doutorado e pelo Auxílio-Projeto Temático: 2008/57687-0).

6. Referências bibliográficas

- Andrade, V. X. L.; Moreira, R. G.; Schreiner, M.; Scorvo Filho, J. D.; Romagosa, E. Influência da dieta no crescimento e na composição dos ácidos graxos de fêmeas de pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) criados em tanques-rede. In: Congresso Aquacultura 2006, 2006, Bento Gonçalves (RS). Anais do Congresso Aquacultura 2006. Bento Gonçalves (RS): Aquabio / UFRG.
- Arts, M.T., Kohler, C.C., 2009. Health and condition in fish: the influence of lipids on membrane competency and immune response. In: Arts, M.T., Brett, M.T., Kainz, M.J. (Eds.), *Lipids in aquatic ecosystems*. Springer, New York, pp. 237–256.

- Baldisserotto, B. 2002. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 1º edição Ed. UFSM: Rio Grande do Sul. 211p.
- Boyd, C.E. 1996. Water quality in ponds for aquaculture. Shrimp Mart (Thai) Co Ltd. Hatayi: Songkhla Thailand. 451p.
- Boyd, C.E. 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Alabama Agricultural Experimental Station. Auburn University, Alabama, USA.
- Brasil. 2004. Instrução normativa N° 05 de 21 de maio de 2004. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Ministério do Meio Ambiente.
- Buda, C., Dey, I., Balogh, N., Horvath, L.I., Maderspach, K., Juhasz, M., Yeo, Y.K. and Farkas, T., 1994. Structural order of membranes and composition of phospholipids in fish brain cells during thermal acclimatization. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 91, 8234–8238.
- Burgess, W. E. 1989. An atlas of freshwater and marine catfishes. A preliminary survey of the Siluriformes. United States of America. 784p.
- Crockett, E.L., Londrville, R.L. 2006. Temperature. *In*: Evans, D.H., Claiborne, J.B. The physiology of fishes. Ed. Taylos & Francis. 3ªEdição. Florida. 232-258.
- Farkas, T., Kitajka, K., Fodor, E., Csengeri, L., Lahdes, E., Yeo, Y.K., Kraszna, Z., Halver, J.E. 2000. Docosahexaeinoic acid-containing phospholipids molecular species in brain of vertebrates. PNAS. 67, 19-42.
- Farkas, T., Fodor, E., Kitajka, K., Halver, J.E. 2001. Response of fish membranes to environmental temperature. Aquac. Res. 32, 645-655.
- Hazel, J.R., Carpenter, R. 1985. Rapid changes in the phospholipid composition of gill membranes during thermal acclimation of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*; J. comp. Physiol., 155 (B), 597–602.
- Hazel, J.R., Landrey, S.R. 1988. Time course of thermal adaptation in plasma membrane of trout kidney. II. Molecular species composition. Am. J. Physiol. 225, R628-R634.
- Hochachka P. W., Somero, G. N. 2002. Biochemical Adaptation: mechanism and process in physiological evolution. Oxford University Press, New York, 466p.
- Honji, R. M., Caneppele, D., Hilsdorf, A. W. ; Moreira, R.G. . 2009. Threatened fishes of the world: *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877). Environmental Biology of Fishes,85, 207-208.
- Hsieh, S.I., Liao, W.L., Kou, C.M. 2001. Molecular cloning and sequence analysis of stearoyl CoA desaturase in milkfish, *Chanos chanos*. Comp. Biochem Physiol .130, 467-477.

- Lemieux H, Blier PU, Tardif JC. 2008. Does membrane fatty acid composition modulate mitochondrial functions and their thermal sensitivities? *Comp. Biochem. Physiol.* 149, 20-29.
- Miller, N.G.A., Hill, M.W., Smith, M.W. 1976. Positional and species analysis of membrane phospholipids extracted from goldfish adapted to different environmental temperatures. *Biochim. Biophys. Acta.* 455, 644-654.
- Schreiner, M. 2003. The incorporation and position of omega-3 fatty acids into egg yolk lipid and sensory attributes of egg yolk from laying hens fed seal Blubber oil. Phd Thesis. Boku Universität, Vienna, 173 p.
- Sheridan, M.A. Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. 1994 *Comp. Biochem. Physiol.* 107, 495-508.
- Sinensky, K., Ikonem, E. 1974. Homeoviscous adaptation- a homeostatic process that regulates the viscosity of membrane lipids in *Scherichia coli*. *PNAS* 71, 522-525.
- Stuart, J. A., Gillis, T. E., Ballantyne, J. S. 1998 Compositional correlates of metabolic depression in the mitochondrial membranes of estivating snails. *Am. J. Physiol.* 275, 1977-1982.
- Tocher, D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev. Fish. Sciences* 11, 108-162.
- Zheng, X.; Tocher, D. R.; Dickson, C. A.; Bell, J. G.; Teale, A. J. 2004. Effects of diets containing vegetable oil on expression of genes involved in highly unsaturated fatty acids biosynthesis in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 236, 467-483.

Anexos capítulo 3

Anexo 1. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EP)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1	30°C- dia 15	30°C- dia 30	24°C- dia 1	24°C- dia 15	24°C- dia 30	17°C- dia 1	17°C- dia 15	17°C- dia 30	12°C- dia 1	12°C- dia 15
C14:0	1,69± 0,23	2,01±0,23	1,65±0,24	1,56±0,25	1,69±0,26	1,81±0,23	1,95±0,18	1,84±0,16	2,32±0,22	1,95±0,23	1,90±0,12
C16:0	22,58± 1,52	26,87±1,02	23,47±2,29	21,90± 1,82	24,83±2,85	20,67±1,12	24,36± 2,20	24,22± 1,22	26,47± 1,66	24,96± 2,27	26,84±1,24
C17:0	1,36± 0,24	0,90±0,07	0,77±0,08	0,90±0,15	1,09± 0,24	1,16± 0,25	0,91±0,09	0,86± 0,06	0,88± 0,11	1,63±0,31	1,19±0,21
C18:0	13,97± 2,16	9,63±0,38	11,96±1,79	13,32±1,10	12,71± 1,26	9,23± 0,64	11,64± 1,32	9,91± 0,73	9,40± 0,95	17,68± 1,01	8,02±0,43
C20:0	0,41± 0,08	0,40±0,11	1,46±0,76	0,23±0,05	0,66± 0,22	0,58± 0,16	0,24± 0,05	0,44± 0,05	0,48± 0,13	0,32± 0,09	0,42±0,06
C21:0	1,05± 0,36	0,20±0,03	0,27±0,04	0,45± 0,08	0,49± 0,15	0,28± 0,01	0,41± 0,10	0,27± 0,02	0,31± 0,04	0,68± 0,14	0,37±0,03
C23:0	0,81± 0,18	0,52±0,05	1,39±0,27	0,62± 0,07	0,72± 0,28	0,58± 0,12	0,45± 0,08	0,57± 0,05	0,53± 0,06	0,44± 0,06	0,71±0,05
C16:1	2,71± 0,29	3,10±0,12	2,64±0,26	2,92±0,30	3,52± 0,33	3,42±0,23	3,82± 0,29	4,42± 0,17	5,07±0,30	3,04±0,29	4,87±0,15
C18:1c	10,91± 0,52	12,33±0,74	12,63±1,13	10,86± 0,69	12,59± 1,29	14,43± 2,33	12,93± 0,58	15,55± 0,90	15,87±0,32	12,35±0,80	14,00±0,35
C18:1n11	2,20± 0,18	2,36±0,18	2,47±0,23	2,43± 0,19	2,15± 0,18	2,38± 0,24	3,02± 0,19	2,38± 0,23	2,24± 0,06	2,27±0,21	1,99±0,10
C24:1	1,19± 0,41	0,51±0,31	0,80±0,14	0,67± 0,02	1,74± 0,67	0,68± 0,10	0,55± 0,06	0,90± 0,26	0,77± 0,29	0,78±0,11	0,23±0,07
C18:2n6c	5,86± 0,47	5,17±0,29	5,02±0,32	6,04± 0,61	4,92± 0,48	6,05± 0,49	6,29± 0,80	5,52± 0,55	6,41±0,25	4,92±0,35	8,04±0,34
C18:3n6	1,09± 0,46	0,52±0,13	0,44±0,05	0,56± 0,08	1,03± 0,25	0,81± 0,08	0,56± 0,10	1,26± 0,15	1,37±0,24	0,61±0,07	0,49±0,03
C20:2n6	0,85± 0,15	0,81±0,08	0,94±0,15	1,12± 0,09	0,99± 0,29	0,81± 0,13	1,05± 0,09	0,81± 0,09	0,71±0,04	0,79±0,12	0,64±0,03
C20:3n6	1,26± 0,18	1,41±0,03	1,33±0,18	1,80± 0,07	1,24± 0,12	2,04± 0,31	1,79± 0,24	1,93± 0,07	1,96±0,18	1,46±0,03	3,08±0,26
C20:4n6	1,83± 0,31	2,68±0,33	3,19±0,62	6,46± 1,01	3,15± 0,37	3,60± 0,36	4,24± 0,72	3,92± 0,35	3,57±0,50	4,93±0,70	2,69±0,42
C20:5n3	3,95± 1,63	3,03±0,54	4,14±1,25	3,20± 0,47	3,94± 1,07	4,15± 0,87	3,10± 0,74	3,94± 1,08	3,12±0,18	2,27±0,34	3,53±0,26
C22:2n6	2,49± 1,78	1,38±0,43	3,22±1,58	0,23± 0,09	1,55± 0,27	1,84± 0,72	1,24± 0,91	0,90± 0,13	1,11±0,24	0,30±0,13	1,42±0,27
C22:4n6	1,86± 0,36	1,98±0,15	1,43±0,23	1,74± 0,14	1,23± 0,24	2,08± 0,20	1,41± 0,05	1,56± 0,12	1,37±0,13	1,33±0,17	1,51±0,08
C22:5n6	2,90± 1,67	0,99±0,39	2,90±1,62	0,16±0,07	1,46± 0,54	1,11± 0,50	0,89± 0,77	1,56± 0,88	0,65±0,17	0,34±0,09	0,82±0,23
C22:5n3	1,76± 0,32	2,53±0,06	2,02±0,44	2,86± 0,43	1,67± 0,40	2,98± 0,30	2,14± 0,14	2,09± 0,17	2,12±0,21	2,29±0,45	2,46±0,16
C22:6n3	10,20 ±2,19	16,98±1,29	11,35±2,68	16,49±1,58	10,29± 2,04	14,13± 1,48	12,41± 1,00	10,03± 0,71	9,81±1,06	10,45±1,95	10,80±0,59

Anexo 2. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*Sn-1*) e 2 (*Sn-2*) da fosfatidilcolina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EP)

Ácidos graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 15		30°C- dia 30		24°C-dia 1		24°C-dia 15		24°C-dia 30	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	3,03±0,62	3,00±0,10	4,18±0,36	2,39±0,39	6,10±3,41	1,51±0,60	2,82±0,02	3,67±0,23	4,91±0,94	0,32±0,13	1,13±0,33	5,49±1,74
C16:0	16,16±1,82	20,94±1,40	20,56±1,16	18,87±1,20	16,16±1,27	17,68±2,13	21,44±1,04	19,73±1,45	19,37±2,99	19,79±3,01	12,86±1,96	16,25±0,81
C18:0	17,11±1,36	14,27±1,40	18,35±3,04	17,94±1,08	21,51±1,46	16,97±2,03	19,43±1,56	13,45±0,60	21,66±1,07	17,57±0,75	12,08±1,23	14,74±1,00
C20:0	4,92±1,17	7,58±0,72	5,79±0,48	3,88±0,38	5,76±0,64	5,83±0,73	2,77±0,77	4,10±0,46	7,94±0,99	3,79±0,64	7,57±1,40	7,39±1,29
C21:0	nd	0,87±0,04	3,38±0,40	4,63±0,78	4,54±0,72	3,07±0,24	1,32±0,38	2,39±0,63	3,91±0,68	0,25±0,01	2,71±1,06	1,82±0,97
C22:1	2,40±0,25	2,10±0,91	2,14±0,60	2,32±1,41	1,33±0,23	2,07±0,51	1,48±0,56	1,33±0,24	4,93±2,12	3,83±0,07	0,60±0,36	4,48±2,33
C16:1	6,82±1,63	6,84±0,13	4,77±0,24	7,54±2,17	6,48±0,37	8,18±1,74	2,27±1,52	6,19±0,84	2,60±1,10	3,50±0,48	3,37±1,97	6,41±1,06
C18:1n9	17,59±4,19	16,93±2,61	17,80±3,84	11,20±4,65	10,00±1,12	12,05±2,88	12,18±0,31	17,28±1,50	10,36±1,05	12,19±0,74	14,52±2,86	12,17±3,47
C20:1n11	5,28±0,98	3,46±0,55	3,67±0,10	4,75±1,67	3,61±0,84	4,19±1,70	6,27±2,29	2,39±1,04	2,15±1,05	6,01±0,93	12,42±0,84	7,44±1,95
C18:2n6t	3,66±0,89	3,72±0,25	4,48±0,52	3,19±1,90	3,57±1,00	5,06±1,07	7,44±0,31	6,70±0,41	4,76±0,25	4,58±0,21	4,45±1,71	5,10±1,40
C18:3n6	3,56±1,22	4,46±0,15	2,25±0,31	5,74±1,45	1,72±1,20	6,46±1,68	4,18±0,60	3,49±0,45	2,24±0,15	9,18±0,40	9,98±2,33	7,06±1,74
C20:3n3	6,12±1,25	1,48±0,25	0,25±0,07	3,25±1,24	2,67±0,78	3,50±1,62	3,25±0,23	1,33±0,36	3,03±0,94	4,02±1,75	3,14±1,63	3,29±0,41
C20:5n3	2,81±1,15	3,13±1,08	3,29±1,41	1,69±0,36	3,66±1,48	2,48±0,95	3,19±1,81	3,53±0,65	4,75±2,16	4,52±1,72	0,61±0,22	0,58±0,14
C22:5n3	1,51±0,67	1,40±0,07	2,21±0,74	2,56±0,58	nd	1,87±0,31	nd	0,33±0,20	2,13±1,24	nd	nd	1,24±0,72
C22:6n3	2,65±0,40	2,55±0,71	nd	9,21±2,56	nd	1,52±0,17	nd	5,10±0,23	nd	1,43±0,07	nd	4,02±1,75
C20:2n6	2,36±0,27	3,42±1,01	2,01±0,92	3,67±1,15	4,61±0,95	nd	3,81±0,18	2,27±0,98	3,99±0,50	5,90±0,52	7,18±1,14	3,46±1,23
C20:4n6	6,66±0,50	2,03±0,53	0,95±0,01	4,28±0,97	nd	3,44±1,42	2,28±0,26	3,27±1,31	1,38±0,04	1,88±0,06	0,48±0,25	2,25±1,10
C22:2n6	5,70±0,89	0,70±0,03	1,75±0,16	3,14±0,56	7,23±2,95	3,15±1,22	2,80±0,45	2,55±1,72	1,20±0,75	2,75±0,26	2,04±0,47	0,06±0,01
C22:4n6	nd	1,13±0,25	nd	1,90±0,47	nd	3,46±2,33	3,10±0,90	0,28±0,01	2,81±1,12	1,12±0,63	4,32±0,87	1,09±0,23
C22:5n6	2,60±0,27	1,95±0,44	2,30±0,54	4,17±2,32	2,17±1,01	2,80±0,96	nd	2,39±1,07	nd	nd	3,22±1,09	1,97±1,02

-continuação da tabela

Ácidos graxos	17°C-dia 1		17°C-dia 15		17°C-dia 30		12°C-dia 1		12°C-dia 15	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	3,31±1,15	3,78±0,90	2,96±1,92	11,36±0,59	3,52±2,01	4,34±0,99	2,46±0,18	3,42±0,16	3,52±0,29	4,47±1,78
C16:0	22,20±0,86	17,05±2,42	15,95±2,37	14,67±5,77	20,03±1,99	18,37±1,06	15,84±1,93	18,52±1,23	21,28±1,44	18,57±5,76
C18:0	17,96±0,61	10,86±1,45	17,45±2,18	12,55±4,13	15,33±2,51	13,03±2,58	14,98±0,52	14,85±1,40	23,08±1,71	20,06±3,76
C20:0	6,12±0,56	4,66±0,77	9,07±1,90	7,83±2,39	3,18±0,23	6,21±0,88	6,57±2,33	4,54±0,87	6,52±0,66	5,63±1,00
C21:0	3,27±2,32	4,04±0,01	4,45±1,97	nd	3,08±1,31	2,43±0,70	nd	0,98±0,36	4,36±0,54	1,38±0,47
C22:1	3,71±0,27	3,68±0,27	0,76±0,44	nd	2,55±0,69	nd	2,33±0,03	4,06±1,45	1,24±0,47	0,12±0,01
C16:1	5,31±0,98	6,70±1,72	5,35±1,83	2,31±0,37	7,62±1,40	1,80±1,33	4,57±0,68	6,08±0,31	6,90±2,96	4,18±0,63
C18:1n9	17,19±1,73	9,66±1,92	10,51±1,64	3,44±0,60	6,82±1,24	8,96±2,66	16,06±1,84	21,70±0,68	6,55±0,87	6,91±3,59
C20:1n11	2,01±0,76	6,31±3,69	5,07±2,24	7,70±1,87	7,06±1,82	4,47±1,29	5,01±0,95	3,49±0,56	5,55±1,72	5,97±1,27
C18:2n6t	5,19±0,45	8,99±2,26	2,95±1,00	4,54±0,11	3,36±0,89	7,30±3,37	5,02±1,42	5,31±0,65	5,96±0,73	2,59±0,47
C18:3n6	3,57±0,66	4,34±1,76	5,31±1,98	3,98±1,62	8,18±2,52	6,19±2,12	4,31±0,57	4,31±2,01	2,55±0,34	7,48±1,41
C20:3n3	1,30±0,08	6,31±1,95	2,95±0,44	9,30±1,40	5,24±1,85	5,74±2,40	5,41±1,43	0,82±0,07	0,95±0,47	3,03±1,28
C20:5n3	2,40±1,20	3,80±0,81	3,71±1,59	4,23±0,07	2,35±0,32	1,63±0,90	3,62±1,22	1,92±0,25	2,97±1,50	2,29±0,86
C22:5n3	3,16±1,02	0,90±0,07	nd	1,43±0,08	nd	2,26±0,68	nd	nd	nd	9,58±6,56
C22:6n3	nd	5,74±1,99	nd	2,05±0,04	nd	5,98±1,86	2,08±0,47	2,90±1,14	nd	13,97±9,56
C20:2n6	1,49±0,20	0,08±0,01	5,83±2,46	3,66±0,25	4,57±2,73	nd	3,57±1,27	2,79±0,97	2,70±0,20	1,74±1,07
C20:4n6	nd	4,60±1,19	nd	9,55±2,97	nd	5,41±1,30	4,01±0,91	0,96±0,09	2,05±0,26	3,10±1,68
C22:2n6	1,48±0,59	nd	2,66±0,64	nd	4,03±0,74	nd	3,44±0,78	4,98±2,47	3,84±1,66	0,40±0,01
C22:4n6	3,16±0,25	nd	nd	nd	0,82±0,41	nd	4,38±1,36	nd	1,18±0,16	1,98±0,03
C22:5n6	1,35±0,09	1,08±0,06	2,28±1,01	1,81±0,66	7,67±0,78	4,13±0,86	nd	3,24±0,38	0,25±0,04	1,79±0,09

Anexo 3. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EP)

Ácidos graxos	30°C- dia 1	30°C- dia 15	30°C- dia 30	24°C- dia 1	24°C- dia 15	24°C- dia 30	17°C- dia 1	17°C- dia 15	17°C- dia 30	12°C- dia 1	12°C- dia 15
C14:0	0,71±0,08	0,76±0,03	0,96±0,39	1,34±0,24	0,74±0,41	1,09±0,44	0,45±0,18	0,99±0,10	1,02±0,11	1,16±0,18	0,72±0,19
C16:0	14,30±3,32	17,01±0,60	17,38±1,33	16,05±2,24	16,77±1,41	20,45±1,04	16,34±3,56	20,84±1,34	20,75±1,50	18,20±1,73	22,19±2,15
C17:0	1,13±0,15	1,85±0,16	2,48±0,19	1,38±0,33	1,83±0,50	1,50±0,40	0,54±0,13	2,06±0,31	1,37±0,13	1,19±0,40	1,83±0,02
C18:0ant.	0,67±0,19	0,81±0,09	1,12±0,32	0,49±0,13	0,45±0,22	0,79±0,18	2,48±1,56	0,90±0,26	0,39±0,07	0,66±0,16	0,30±0,05
C18:0	22,38±3,68	24,66±1,17	24,43±1,97	18,94±2,13	21,24±1,40	19,80±1,35	28,81±3,25	20,86±2,44	16,95±1,03	24,55±4,02	23,35±1,11
C20:0	1,11±0,54	2,24±0,45	1,58±0,40	1,39±0,49	1,34±0,43	1,97±0,68	0,88±0,30	1,44±0,84	2,06±0,79	0,81±0,21	1,54±0,16
C21:0	0,98±0,23	0,67±0,05	1,02±0,31	1,01±0,28	0,63±0,25	0,81±0,04	1,90±0,84	0,55±0,10	0,47±0,04	0,95±0,30	0,73±0,15
C23:0	1,41±1,31	4,30±0,40	4,65±1,31	1,60±0,82	5,42±1,95	3,57±0,57	1,86±0,68	2,53±0,73	3,25±1,12	1,17±0,47	2,48±1,27
SAT	43,37±9,14	53,64±1,27	54,77±2,17	44,19±3,22	50,16±2,28	51,51±2,06	54,41±4,97	51,24±1,87	47,01±0,98	49,35±5,65	53,92±2,28
C16:1	1,49±0,11	1,49±0,10	2,54±0,21	1,59±0,33	2,28±0,24	2,36±0,04	2,90±1,93	2,29±0,12	2,25±0,38	2,30±0,61	2,01±10,34
C18:1c	6,03±0,86	7,51±0,15	7,63±0,24	7,39±1,44	6,51±0,73	8,17±0,44	7,10±1,04	7,39±0,48	8,35±0,75	11,12±2,67	7,64±0,56
C18:1n11	2,45±0,19	1,76±0,09	1,64±0,17	2,33±0,21	2,07±0,23	2,07±0,25	2,54±0,31	2,98±0,33	2,55±0,18	3,15±0,22	3,38±0,41
C24:1	0,50±0,20	1,13±0,33	0,69±0,17	0,96±0,36	1,20±0,39	1,04±0,28	0,49±0,13	0,91±0,25	0,44±0,12	0,14±0,08	0,17±0,08
MUFA	13,17±1,75	13,35±0,41	14,02±0,49	13,94±1,59	14,51±1,09	15,47±0,52	15,07±2,90	15,97±0,81	15,30±1,29	18,95±3,42	14,87±1,35
C18:2n6c	5,77±1,63	3,97±0,20	3,13±0,71	3,81±0,79	3,17±0,38	5,42±0,56	3,07±0,64	4,17±0,16	5,29±0,41	6,88±1,57	5,94±0,56
C18:3n6	3,02±1,87	1,37±0,10	1,54±0,26	1,81±0,90	1,25±0,22	0,89±0,41	1,26±0,23	1,03±0,18	1,08±0,27	1,02±0,15	1,20±0,19
C20:2n6	0,70±0,18	0,23±0,04	0,98±0,42	1,86±1,26	0,85±0,22	0,69±0,17	0,29±0,08	1,27±0,20	0,70±0,13	0,76±0,23	1,38±0,97
C20:3n6	1,44±0,29	0,81±0,08	0,73±0,11	1,21±0,27	0,61±0,15	1,03±0,17	0,50±0,07	0,97±0,14	1,03±0,12	1,07±0,30	0,95±0,24
C20:4n6	2,49±0,60	1,76±0,43	1,79±0,21	3,17±0,72	3,30±0,29	2,44±0,39	1,83±0,60	4,14±0,45	4,16±0,64	3,43±0,42	3,04±0,52
C20:3n3	0,85±0,06	0,52±0,06	1,39±0,60	2,00±1,64	0,65±0,12	0,70±0,11	1,82±1,20	0,66±0,06	0,54±0,07	0,45±0,05	0,27±0,06
C20:4n3	1,44±1,27	4,51±0,51	2,63±1,17	4,09±0,88	5,62±0,91	3,14±1,58	2,84±1,08	5,17±0,78	6,85±0,87	3,43±0,63	5,64±0,95
C20:5n3	5,10±3,38	0,36±0,06	2,38±1,33	0,19±0,05	3,15±1,78	1,55±1,43	0,83±0,66	0,21±0,08	0,19±0,02	0,11±0,04	0±0,00
C22:2n6	3,78±2,71	0,89±0,21	1,20±0,34	3,01±1,36	1,41±0,56	1,13±0,35	0,42±0,14	1,39±0,35	0,82±0,56	0,27±0,08	0,16±0,04
C22:4n6	1,55±0,42	1,30±0,24	1,13±0,15	1,51±0,32	1,16±0,24	1,73±0,16	0,91±0,26	1,20±0,25	1,40±0,23	1,15±0,13	1,42±0,82
C22:5n6	0,73±0,09	3,06±0,37	2,66±0,66	3,42±1,16	4,78±1,85	2,20±0,47	2,28±0,54	1,89±0,25	2,71±1,33	1,26±0,42	2,89±1,04
C22:5n3	1,55±0,43	0,87±0,12	0,86±0,15	1,73±0,45	0,92±0,20	1,08±0,06	0,62±0,21	1,21±0,21	1,37±0,22	1,65±0,39	1,22±0,46
C22:6n3	9,15±3,23	9,74±0,79	8,55±0,95	9,25±1,90	7,89±1,87	8,64±2,76	11,40±3,84	6,83±1,12	8,34±1,46	8,57±1,58	5,87±0,93

Anexo4. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*Sn-1*) e 2 (*Sn-2*) da fosfatidiletanolamina hepática de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EP)

Ácidos graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 15		30°C- dia 30		24°C-dia 1		24°C-dia 15		24°C-dia 30	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	3,33±1,71	2,74±0,19	3,35±0,91	1,97±0,84	3,66±0,06	1,96±0,74	5,09±0,64	4,95±0,69	2,06±0,41	1,23±0,47	2,81±0,11	3,58±0,78
C16:0	21,01±0,12	19,02±1,23	20,57±0,17	22,95±1,86	22,16±1,68	22,13±3,43	23,06±1,14	18,67±0,23	21,56±1,48	21,10±0,76	25,48±1,99	23,71±0,41
C18:0	22,44±1,05	21,29±0,78	24,25±1,67	23,94±0,72	22,57±0,84	24,85±1,04	23,51±1,66	18,34±0,91	24,74±1,32	24,10±0,22	22,10±0,67	21,05±1,52
C20:0	8,50±0,67	5,80±0,49	6,87±1,11	5,38±0,69	6,11±0,84	6,40±1,84	4,77±0,67	6,34±1,28	4,90±0,24	8,67±1,09	6,68±0,87	5,60±0,86
C21:0	2,80±0,85	2,65±0,43	3,40±0,42	3,61±0,83	1,76±0,23	5,19±0,94	2,92±1,12	4,06±1,77	4,18±1,47	3,65±0,42	2,96±0,01	3,53±0,10
C22:1	1,71±0,31	1,20±0,31	2,47±1,32	1,92±0,94	0,32±0,02	0,81±0,54	1,91±0,44	1,90±1,35	4,32±0,53	1,85±0,36	0,31±0,03	3,12±1,04
C16:1	4,05±2,69	4,35±0,98	3,20±1,05	2,20±1,22	1,00±0,27	5,11±1,16	1,75±0,39	4,05±0,94	1,28±0,40	3,57±1,23	6,22±2,56	1,77±0,30
C18:1n9	8,64±4,43	11,34±2,47	6,58±2,37	11,37±1,68	11,94±1,60	6,77±1,88	8,87±3,56	10,06±3,38	11,04±5,22	5,93±0,45	8,38±1,00	8,73±2,44
C20:1n11	1,54±0,63	3,24±1,48	4,38±0,50	4,01±0,19	2,91±1,22	2,31±0,50	4,20±0,48	4,78±0,63	1,59±0,98	4,45±0,96	5,07±0,24	2,48±1,27
C18:2n6t	6,28±1,07	4,37±0,30	5,52±1,27	4,00±0,31	3,68±0,48	5,16±0,87	4,75±0,41	3,58±0,51	4,36±0,87	5,47±0,48	4,43±0,26	5,47±0,09
C18:3n6	3,54±0,89	3,98±1,74	2,72±0,58	6,34±1,05	2,56±0,89	7,30±0,25	7,26±2,96	5,12±0,93	2,78±0,99	4,61±0,90	4,42±0,22	3,82±1,40
C20:3n3	1,62±0,66	2,59±0,30	4,22±0,08	1,26±0,42	1,59±0,53	2,65±0,54	1,74±0,047	3,26±0,99	2,30±0,71	2,71±1,16	1,75±0,01	2,83±0,34
C20:5n3	2,17±1,43	1,15±0,56	1,72±0,74	1,42±0,71	2,68±0,84	0,32±0,09	4,48±1,10	3,59±1,67	6,24±0,68	1,60±0,74	1,23±0,43	3,76±0,63
C22:5n3	nd	1,65±0,11	nd	0,99±0,30	4,69±1,22	nd	1,47±0,21	4,52±1,25	0,47±0,01	2,82±0,14	0,59±0,47	nd
C22:6n3	nd	6,87±2,18	3,39±1,08	0,82±0,28	1,67±0,14	2,50±0,84	4,21±1,36	1,72±0,50	nd	2,87±1,61	1,81±0,22	1,91±0,67
C20:2n6	3,47±1,29	3,32±2,10	2,21±1,19	3,26±1,22	4,52±0,01	2,58±2,07	1,15±0,32	3,00±0,47	1,48±0,65	2,70±0,61	2,87±1,38	4,28±1,65
C20:4n6	1,89±0,54	2,27±1,01	1,83±0,94	1,41±0,59	2,58±0,35	0,97±0,40	4,45±1,44	1,25±0,23	3,39±0,85	1,95±0,73	0,72±0,28	0,68±0,10
C22:2n6	1,98±0,04	nd	3,05±0,96	0,61±0,34	0,30±0,17	2,21±0,74	5,04±1,48	3,05±2,04	1,31±0,36	2,70±1,51	1,60±0,38	1,19±0,77
C22:4n6	2,11±0,53	1,48±0,74	0,37±0,08	1,38±0,11	3,97±0,44	1,16±0,14	0,36±0,07	2,57±0,77	1,83±0,27	0,91±0,22	nd	2,39±0,58
C22:5n6	0,61±0,08	1,95±0,47	0,92±0,44	1,18±0,24	2,97±0,48	1,01±0,12	1,34±0,34	3,12±1,57	2,85±1,60	0,62±0,32	1,93±0,82	1,17±0,52

-continuação da tabela

Ácidos graxos	17°C-dia 1		17°C-dia 15		17°C-dia 30		12°C-dia 1		12°C-dia 15	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	2,75±1,04	2,77±1,59	2,29±0,82	3,12±1,05	3,90±0,75	3,49±0,78	1,40±0,42	2,37±0,14	4,10±1,34	3,08±0,77
C16:0	21,62±1,54	20,19±0,66	24,07±0,53	24,98±0,99	20,62±0,91	18,65±0,97	16,63±2,12	15,89±1,81	21,92±2,79	21,10±1,92
C18:0	20,51±1,32	19,36±1,20	27,53±1,56	23,50±1,14	20,46±1,33	24,79±0,56	22,24±2,32	16,30±2,48	24,47±1,83	22,74±2,50
C20:0	6,85±0,85	7,42±0,74	6,29±1,22	7,13±0,05	5,98±1,19	5,29±0,86	7,34±0,83	6,47±0,36	6,24±0,26	5,12±0,76
C21:0	6,36±0,88	3,91±0,61	3,62±1,02	2,97±0,90	3,18±0,88	0,58±0,01	5,19±1,63	1,75±0,24	2,39±1,00	4,10±0,09
C22:1	3,33±0,08	1,11±0,25	2,80±0,57	1,86±0,43	3,50±2,00	5,44±1,33	3,78±0,36	0,65±0,14	1,81±0,47	0,23±0,04
C16:1	2,44±0,99	1,05±0,42	3,41±1,14	3,11±0,86	2,02±0,97	1,38±0,56	1,65±0,43	3,56±1,11	2,51±0,87	3,12±1,33
C18:1n9	6,73±4,51	14,69±3,03	11,19±3,52	7,50±2,42	17,19±1,07	17,79±0,53	14,20±4,11	22,43±2,38	13,62±3,22	11,78±1,88
C20:1n11	2,97±1,26	1,23±0,14	0,56±0,26	5,93±1,76	1,06±0,43	3,64±0,47	1,65±0,69	4,09±0,88	1,47±0,19	4,16±2,85
C18:2n6t	6,54±0,08	5,38±0,54	4,49±0,61	3,68±0,87	4,81±1,88	4,05±1,02	3,54±1,29	8,00±2,06	5,92±1,79	4,80±0,79
C18:3n6	3,70±0,80	2,90±1,36	1,44±0,28	2,52±1,05	2,11±0,19	3,43±0,63	3,13±0,39	1,19±0,40	1,63±0,62	2,27±0,91
C20:3n3	3,16±0,38	4,00±2,09	1,35±0,86	1,46±0,35	1,56±0,37	1,84±0,47	1,17±0,35	0,73±0,45	1,84±0,87	2,12±0,68
C20:5n3	4,78±2,06	2,19±1,53	2,21±0,57	2,74±0,26	4,00±0,33	1,98±0,56	3,87±1,06	3,60±1,64	4,08±0,86	2,96±1,44
C22:6n3	nd	2,94±0,67	nd	2,21±0,80	2,35±0,47	3,63±0,24	1,67±0,33	3,82±1,01	nd	3,56±0,48
C20:2n6	2,24±1,30	4,58±0,52	2,62±0,38	1,30±0,30	2,57±0,98	3,12±0,31	6,34±2,32	3,34±0,89	2,29±0,63	1,46±0,38
C20:4n6	nd	3,70±0,04	1,39±0,53	1,78±0,73	3,24±1,69	2,67±0,98	nd	3,23±0,24	1,40±0,36	1,56±0,62
C22:2n6	2,25±0,90	2,77±0,05	2,08±0,25	0,78±0,25	2,34±1,53	2,15±0,84	6,64±3,01	1,58±0,20	1,13±0,24	2,85±0,17
C22:4n6	2,05±0,20	3,45±0,58	2,17±1,02	2,22±1,02	0,97±0,07	nd	3,21±0,47	2,52±0,32	0,47±0,04	1,56±0,74
C22:5n6	5,50±1,58	0,81±0,14	2,73±0,47	3,73±0,90	2,68±1,05	nd	1,34±0,43	1,82±0,44	1,43±0,54	5,61±1,23

Anexo 5. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EP)

Ácidos graxos	30°C- dia 1	30°C- dia 15	30°C- dia 30	24°C- dia 1	24°C- dia 15	24°C- dia 30	17°C- dia 1	17°C- dia 15	17°C- dia 30	12°C- dia 1	12°C- dia 15
C14:0	1,08±0,07	0,90±0,11	1,01±0,02	0,88±0,17	0,94±0,15	1,04±0,09	1,06±0,12	1,07±0,05	1,16±0,14	1,28±0,33	1,00±0,11
C16:0	23,00±1,00	23,94±2,56	27,99±0,30	19,53±3,22	22,50±2,87	28,05±0,68	23,11±0,57	24,52±0,55	27,87±0,88	20,74±0,73	21,95±2,32
C18:0anteiso	0,87±0,11	0,87±0,19	2,71±2,55	0,86±0,17	0,22±0,13	0,30±0,10	0,51±0,12	0,67±0,25	0,40±0,07	3,20±2,75	0,87±0,23
C18:0	18,31±1,04	18,87±3,10	18,12±2,07	17,25±1,00	18,42±2,61	16,15±0,34	17,89±0,50	14,34±0,29	15,91±0,65	20,22±1,06	16,80±0,86
C16:1	1,90±0,10	1,78±0,13	1,88±0,03	1,69±0,29	1,99±0,21	2,05±0,09	1,91±0,06	2,26±0,12	2,45±0,19	1,90±0,10	2,14±0,17
C18:1c	27,43±0,66	27,28±1,28	24,97±4,80	24,53±2,98	27,26±1,50	29,02±0,51	25,50±1,05	28,38±0,34	29,32±0,70	18,00±4,34	26,71±1,60
C18:1n11	1,17±0,04	1,27±0,12	1,21±0,05	1,28±0,11	1,38±0,12	1,35±0,05	1,04±0,08	1,33±0,02	1,31±0,05	1,18±0,09	1,52±0,21
C24:1	2,42±0,20	2,67±0,19	2,95±0,19	2,60±0,44	2,38±0,40	2,71±0,19	1,85±0,38	2,72±0,18	2,69±0,24	1,64±0,30	2,35±0,32
C18:2n6c	1,82±0,09	1,62±0,11	1,48±0,28	1,85±0,21	1,85±0,21	2,06±0,09	1,77±0,03	2,14±0,06	2,04±0,12	1,79±0,47	1,84±0,35
C20:3n6	1,57±0,05	1,46±0,10	1,08±0,20	1,77±0,26	1,70±0,08	1,61±0,18	1,56±0,11	1,89±0,02	1,47±0,18	1,51±0,12	1,95±0,13
C20:4n6	2,11±0,13	2,35±0,09	1,52±0,33	3,12±1,07	2,80±0,31	1,92±0,15	2,53±0,08	2,54±0,11	2,09±0,30	2,42±0,41	2,98±0,55
C20:5n3	0,46±0,18	0,46±0,09	0,37±0,05	0,70±0,32	0,89±0,28	0,56±0,11	0,42±0,11	2,16±0,21	1,06±0,38	0,70±0,34	0,87±0,31
C22:4n6	1,40±0,10	1,32±0,09	1,07±0,03	1,89±0,44	1,36±0,11	1,16±0,06	1,40±0,11	1,43±0,09	1,18±0,16	1,81±0,41	1,59±0,17
C22:6n3	9,77±1,04	10,05±0,61	8,65±0,89	13,68±5,20	10,98±0,93	7,02±0,67	12,84±0,47	9,68±0,59	6,38±1,11	12,06±2,29	12,22±2,47

Anexo 6. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*Sn-1*) e 2 (*Sn-2*) da fosfatidilcolina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EP)

Ácidos graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 15		30°C- dia 30		24°C-dia 1		24°C-dia 15		24°C-dia 30	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	2,03±0,22	nd	1,79±0,24	nd	1,42±0,14	nd	1,15±0,09	nd	nd	nd	nd	nd
C16:0	19,03±4,66	15,67±3,07	44,47±2,55	18,94±0,67	31,78±4,71	13,84±2,59	36,17±7,99	18,60±0,77	44,05±0,43	10,68±3,13	34,44±9,29	23,25±2,85
C17:0	9,03±0,12	3,94±1,32	2,37±0,05	2,20±0,31	9,22±0,28	2,12±0,90	5,77±2,56	4,95±2,30	4,63±1,87	2,22±0,08	4,09±0,43	6,11±1,40
C18:0	19,72±4,08	16,49±3,42	26,61±1,67	4,13±0,71	24,57±0,14	3,33±0,72	23,33±3,50	12,82±3,21	24,06±0,34	8,36±2,64	15,75±6,04	10,19±3,24
C20:0	nd	11,27±0,48	0,77±0,08	0,54±0,01	3,20±0,12	0,60±0,13	2,13±1,26	2,77±1,11	0,40±0,09	1,09±0,44	1,21±0,23	0,76±0,04
C22:0	1,32±0,65	nd	0,02±0,01	nd	nd	nd	0,44±0,10	nd	0,51±0,14	nd	0,61±0,10	nd
C24:0	3,85±2,02	nd	1,04±0,16	nd	2,23±0,65	nd	1,15±0,22	nd	3,38±1,42	nd	0,91±0,10	nd
C16:1	7,88±0,62	6,54±2,87	1,94±0,33	3,90±0,28	0,40±0,16	1,87±0,27	2,87±1,34	4,13±1,20	0,79±0,34	2,30±0,63	1,04±0,54	1,95±0,22
C18:1n9	8,47±0,05	5,03±1,39	10,14±2,55	44,51±3,44	9,99±1,18	32,23±7,39	10,84±2,79	26,01±6,85	7,09±0,66	23,91±12,09	23,02±9,93	26,28±10,83
C20:1n9	nd	5,47±0,59	0,55±0,22	0,35±0,03	2,78±0,04	1,65±0,40	0,76±0,14	1,51±0,32	2,45±0,39	0,96±0,45	0,49±0,20	0,64±0,18
C22:1n9	4,62±1,26	nd	nd	nd	nd	nd	2,38±0,96	nd	nd	nd	nd	nd
C24:1	5,33±0,27	1,32±0,22	2,81±0,07	0,17±0,07	1,80±0,90	0,17±0,04	3,33±0,28	0,46±0,19	0,34±0,11	0,10±0,04	0,35±0,02	0,50±0,24
C16:2n4	nd	6,63±0,75		0,47±0,20		0,21±0,12	4,37±0,57	2,39±1,05	nd	3,08±1,05	nd	1,30±0,75
C18:2n6	13,36±5,17	9,91±2,80	1,12±0,16	10,06±3,39	3,21±0,79	30,64±9,72	2,62±1,30	9,40±4,27	2,70±0,19	27,18±12,30	2,33±0,66	12,86±1,33
C18:3n6	4,48±0,66	4,72±1,61	0,65±0,16	0,68±0,23	1,28±0,25	0,73±0,40	3,13±1,31	2,12±0,63	1,15±0,39	0,31±0,07	0,86±0,17	1,64±0,13
C20:4n6	nd	6,74±0,48	0,81±0,07	2,66±0,18	2,55±0,53	1,66±0,83	0,41±0,05	1,86±0,62	0,06±0,01	2,06±0,15	0,43±0,01	0,28±0,03
C20:3n3	2,27±0,12	1,46±0,04	nd	0,41±0,10	1,19±0,47	0,91±0,25	nd	1,95±0,24	3,99±0,19	1,39±0,72	2,35±0,58	0,80±0,18
C20:5n3	1,88±0,78	11,37±0,41	nd	4,06±0,37	nd	2,60±0,49	nd	3,07±1,92	1,87±0,32	1,71±0,07	nd	5,37±1,12
C22:2n6	nd	7,34±1,03	0,33±0,18	0,29±0,13	0,27±0,07	0,29±0,06	1,46±0,88	2,37±0,70	0,89±0,35	1,01±0,15	3,35±1,36	0,97±0,45
C22:4n6	nd	nd	1,52±0,86	nd	2,36±0,31	nd	0,48±0,16	nd	0,05±0,02	nd	1,05±0,54	nd
C22:5n6	2,61±1,02	9,04±0,17	1,16±0,12	1,06±0,35	nd	3,92±1,48	0,11±0,04	0,95±0,28	nd	3,98±1,40	5,53±1,95	1,50±0,08
C22:5n3	4,87±2,65	4,68±0,85	0,42±0,31	0,30±0,17	nd	0,36±0,03	nd	1,15±0,35	2,16±1,02	0,65±0,36	1,05±0,04	0,36±0,03
C22:6n3	6,20±1,24	5,36±1,45	2,23±0,71	5,27±0,18	1,85±0,69	2,87±0,69	2,80±0,33	5,38±1,67	1,99±0,33	9,02±0,91	2,12±0,88	5,25±2,06

-continuação da tabela

Ácidos graxos	17°C-dia 1		17°C-dia 15		17°C-dia 30		12°C-dia 1		12°C-dia 15	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C14:0	1,75±0,15	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C16:0	20,25±0,76	15,96±2,06	35,61±4,06	9,32±1,22	33,60±9,89	15,68±1,88	34,03±9,02	27,17±7,26	35,67±4,84	17,17±2,45
C17:0	13,99±5,10	7,41±0,27	6,30±1,55	2,96±0,79	1,79±0,72	3,21±0,95	2,99±0,05	1,62±0,54	8,83±1,77	2,75±1,06
C18:0	12,83±7,11	13,74±0,76	25,94±0,58	3,66±0,52	16,32±5,32	5,06±1,23	19,47±6,54	15,69±2,68	25,18±1,29	6,71±0,78
C22:0	3,28±1,23	nd	1,97±0,56	nd	0,66±0,10	nd	0,73±0,34	nd	3,73±1,27	nd
C24:0	1,92±0,85	nd	1,29±0,78	nd	0,98±0,14	nd	1,03±0,22	nd	0,92±0,72	nd
C16:1	1,86±0,99	4,33±0,85	1,48±0,36	1,72±0,47	6,28±2,65	3,32±0,02	3,35±1,12	3,08±0,85	1,76±0,69	3,13±0,55
C18:1n9	12,17±1,59	21,21±5,66	7,54±2,04	21,72±3,36	19,26±8,47	33,85±3,21	19,51±8,10	30,29±11,08	5,80±0,67	37,04±1,29
C20:1n9	1,10±0,22	0,92±0,15	2,21±0,40	1,41±0,19	6,29±2,36	0,68±0,19	0,70±0,28	0,45±0,14	1,88±0,14	1,97±1,03
C22:1n9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,50±0,14	nd	nd	nd
C24:1	4,03±1,67	1,86±0,53	3,04±0,67	0,30±0,06	0,97±0,03	0,48±0,25	1,27±0,32	0,28±0,17	1,75±0,43	0,30±0,19
C16:2n4	nd	2,58±1,40	nd	8,14±2,46	1,90±0,23	3,06±1,74	nd	0,62±0,22	nd	2,91±1,06
C18:2n6	16,80±8,73	5,41±1,38	2,36±0,74	21,03±3,37	2,92±0,58	17,84±1,74	1,88±0,55	3,85±0,89	2,70±0,70	11,14±2,51
C18:3n6	3,39±0,58	4,06±0,42	1,19±0,39	0,75±0,22	1,22±0,11	1,05±0,01	2,23±1,02	0,82±0,10	0,98±0,07	0,79±0,28
C20:0	1,78±0,45	1,75±0,05	2,88±0,34	1,09±0,18	0,97±0,48	0,75±0,29	0,52±0,10	0,38±0,01	2,93±0,79	0,95±0,10
C20:4n6	3,29±1,95	4,84±2,74	2,05±0,61	5,15±1,32	3,37±1,35	2,08±0,70	1,92±1,00	3,75±0,17	1,85±0,60	3,73±2,05
C20:3n3	nd	1,11±0,27	1,19±0,11	1,91±0,35	nd	1,31±0,22	nd	0,47±0,20	nd	1,22±0,27
C20:5n3	nd	4,56±1,73	nd	11,25±2,52	nd	5,59±0,21	nd	2,69±0,61	nd	2,87±0,78
C22:2n6	nd	3,50±1,72	1,73±0,64	0,45±0,24	4,41±0,56	1,74±0,34	nd	0,63±0,24	1,46±0,76	2,58±0,63
C21:5n3	nd	nd	nd	nd	1,40±0,17	nd	nd	nd	nd	nd
C22:4n6	nd	nd	2,90±0,23	nd	0,30±0,10	nd	0,06±0,01	nd	1,41±0,57	nd
C22:5n6	nd	0,42±0,05	0,68±0,11	2,72±0,83	1,57±0,23	0,29±0,10	nd	1,09±0,33	nd	1,01±0,24
C22:5n3	0,57±0,12	0,58±0,14	1,27±0,85	0,22±0,04	0,62±0,34	0,92±0,40	0,64±0,33	0,81±0,06	3,69±1,07	0,71±0,20
C22:6n3	2,67±0,64	5,75±0,70	1,62±0,71	6,20±1,18	2,59±1,25	3,09±1,06	5,11±2,47	6,31±2,11	1,17±0,70	3,01±0,50

Anexo 7. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EP)

Ácidos graxos	30°C- dia 1	30°C- dia 15	30°C- dia 30	24°C- dia 1	24°C- dia 15	24°C- dia 30	17°C- dia 1	17°C- dia 15	17°C- dia 30	12°C- dia 1	12°C- dia 15
C16:0	9,41±0,35	7,67±0,65	8,51±0,83	10,11±3,53	9,25±0,73	9,15±0,97	10,17±1,01	12,02±3,63	10,02±1,09	11,01±1,75	11,31±1,23
C18:0	15,44±0,57	21,23±2,09	28,64±2,26	13,28±2,72	23,59±1,39	23,95±2,60	21,25±1,99	19,93±1,12	25,90±1,98	17,32±0,83	21,65±2,00
C24:0	0,68±0,10	0,60±0,12	0,94±0,22	0,63±0,10	0,30±0,10	0,77±0,17	0,33±0,05	0,44±0,19	1,16±0,14	0,31±0,07	0,62±0,22
C16:1	1,02±0,11	0,80±0,05	0,75±0,05	1,12±0,26	1,04±0,05	0,94±0,09	0,98±0,11	1,17±0,24	1,18±0,11	1,25±0,28	1,28±0,16
C18:1c	15,28±1,49	16,43±1,39	17,95±1,44	15,08±3,73	18,89±0,94	17,22±0,79	14,14±1,01	18,56±2,06	20,02±0,40	12,67±4,14	18,82±1,69
C18:1n11	1,61±0,14	1,43±0,10	1,59±0,12	1,32±0,19	1,86±0,11	1,65±0,06	1,76±0,08	1,63±0,11	2,01±0,15	1,64±0,22	2,15±0,26
C24:1	2,24±0,33	1,86±0,48	3,20±0,85	2,38±0,33	1,26±0,67	3,20±0,74	0,76±0,06	1,61±0,63	4,81±0,45	1,12±0,34	2,19±0,85
C18:2n6c	1,58±0,18	1,00±0,07	0,94±0,06	1,29±0,17	1,12±0,04	1,19±0,05	1,64±0,14	1,32±0,18	1,25±0,08	1,94±0,88	1,55±0,08
C18:3n6	0,26±0,05	0,20±0,02	0,20±0,02	0,39±0,11	0,21±0,02	0,22±0,03	0,62±0,22	0,14±0,02	0,19±0,02	0,31±0,12	0,27±0,02
C20:2n6	0,60±0,10	0,53±0,03	0,51±0,06	0,50±0,03	0,53±0,01	0,59±0,03	0,53±0,09	0,51±0,05	0,58±0,04	0,61±0,06	0,50±0,12
C20:3n6	2,61±0,09	2,17±0,08	1,87±0,17	2,31±0,25	2,19±0,13	2,18±0,24	2,23±0,30	2,09±0,21	1,86±0,12	2,25±0,35	2,30±0,17
C20:4n6	5,78±0,11	5,27±0,15	3,86±0,46	5,30±0,71	5,06±0,39	4,66±0,52	5,79±0,57	4,46±0,72	3,63±0,45	5,52±0,93	4,94±0,43
C20:5n3	0,75±0,10	0,63±0,22	0,62±0,04	1,67±0,72	1,33±0,35	1,12±0,12	0,77±0,15	4,21±1,10	1,82±0,54	1,82±0,95	1,63±0,62
C22:4n6	2,83±0,25	2,94±0,28	2,02±0,23	2,36±0,26	2,44±0,25	2,52±0,27	2,22±0,30	2,50±0,43	1,97±0,30	2,41±0,35	2,37±0,34
C22:5n3	1,11±0,04	1,43±0,14	0,84±0,14	0,92±0,12	1,16±0,21	1,02±0,19	0,90±0,19	0,91±0,21	0,88±0,17	1,09±0,10	1,59±0,59
C22:6n3	27,05±2,49	30,46±3,16	21,80±3,36	20,97±3,19	23,68±3,03	21,34±2,47	25,75±3,16	19,50±3,92	15,16±3,21	25,08±5,16	19,16±2,48

Anexo 8. Ácidos graxos (%) das posições 1 (*Sn-1*) e 2 (*Sn-2*) da fosfatidiletanolamina encefálica de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EP)

Ácidos graxos	30°C- dia 1		30°C- dia 15		30°C- dia 30		24°C-dia 1		24°C-dia 15		24°C-dia 30	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C16:0	22,25±2,63	17,05±1,09	18,35±0,87	33,23±6,46	21,07±0,84	19,60±2,20	21,65±0,73	14,44±0,23	15,40±2,98	17,05±2,89	17,64±3,59	16,62±2,73
C17:0	6,61±3,43	12,04±2,39	4,67±0,76	3,21±0,27	2,62±0,74	11,48±3,87	3,67±1,22	8,09±0,80	5,97±0,09	1,95±0,46	2,22±0,54	5,23±2,30
C18:0	38,97±7,39	23,78±8,82	8,47±2,89	25,87±1,14	32,54±6,78	21,01±7,54	48,07±0,81	16,10±2,49	13,89±1,64	16,16±4,47	25,97±6,61	25,27±8,42
C20:0	1,94±0,61	3,98±0,51	1,36±0,43	3,62±1,33	3,09±1,16	2,38±0,07	0,82±0,16	3,42±0,27	1,41±0,21	3,77±1,24	2,43±1,06	0,55±0,17
C16:1	2,05±1,04	2,19±0,70	2,74±0,98	0,94±0,14	2,42±0,51	0,88±0,47	1,22±0,33	2,29±0,42	1,47±0,80	1,55±0,49	1,41±0,63	2,06±0,85
C18:1n9	8,01±0,91	9,82±1,00	35,80±6,48	9,35±0,05	15,00±1,57	21,05±8,40	11,30±1,20	11,07±1,15	17,98±0,69	20,06±6,23	17,91±3,44	23,95±4,27
C20:1n9	3,07±2,12	2,13±0,43	0,38±0,08	2,25±1,18	1,56±0,59	0,38±0,01	1,11±0,18	3,52±1,74	3,71±1,82	3,57±0,42	0,86±0,15	2,96±0,36
C24:1	0,56±0,38	1,31±0,17	0,95±0,32	2,35±0,25	0,48±0,05	0,65±0,35	0,49±0,08	10,59±1,45	1,09±0,34	1,32±0,35	0,81±0,61	0,82±0,01
C16:2n4	2,30±1,40	1,78±0,31	1,29±0,36	0,70±0,07	1,16±0,09	1,15±0,02	1,15±0,07	2,00±0,87	1,35±0,52	1,59±0,58	1,77±0,58	1,60±0,08
C18:2n6c	2,45±1,12	3,79±1,50	3,71±0,37	2,50±1,32	1,82±0,60	2,53±1,17	1,85±0,16	4,27±0,60	3,72±0,60	3,82±0,56	2,71±0,36	0,36±0,20
C18:2n6t	0,73±0,23	1,53±0,38	7,54±1,94	1,88±0,06	3,21±0,89	1,95±0,69	1,54±0,11	5,28±2,55	9,99±2,72	2,48±0,41	4,88±1,40	2,26±0,39
C18:3n6	0,74±0,09	1,01±0,36	1,48±0,93	0,31±0,02	3,96±1,14	3,43±0,04	1,10±0,61	1,55±0,37	2,35±1,07	0,55±0,12	1,01±0,44	1,88±0,12
C20:4n6	0,76±0,31	2,36±0,92	1,22±0,69	2,68±1,15	2,99±1,07	1,78±0,83	0,40±0,21	2,91±0,24	1,42±0,41	6,03±0,78	2,74±0,50	1,69±0,40
C20:3n3	0,62±0,07	3,04±1,31	1,64±0,68	3,00±1,72	1,16±0,42	0,66±0,12	0,55±0,29	2,32±0,62	4,89±0,84	3,12±1,64	1,07±0,67	2,54±0,29
C20:5n3	1,22±0,40	2,88±1,27	3,60±1,19	1,90±1,09	1,47±0,17	1,66±0,30	1,05±0,50	3,47±1,46	4,40±1,32	2,72±0,62	1,64±0,12	6,39±1,99
C22:2n6	1,66±0,76	0,92±0,44	0,66±0,16	2,27±0,64	1,26±0,32	2,65±1,07	1,13±0,20	0,78±0,35	0,74±0,06	2,92±0,27	1,98±0,72	0,63±0,16
C22:5n6	1,28±0,20	0,83±0,26	0,58±0,17	0,46±0,05	1,22±0,29	2,26±0,63	0,33±0,15	0,84±0,31	1,15±0,53	0,96±0,33	1,49±0,51	0,83±0,36
C22:5n3	1,15±0,75	2,54±0,94	1,27±0,43	1,84±0,41	1,23±0,42	1,22±0,38	0,19±0,06	3,59±0,07	1,71±0,37	2,05±0,29	2,06±0,46	0,09±0,01
C22:6n3	3,47±1,09	7,02±3,04	4,28±1,21	1,64±0,39	1,51±0,52	3,29±1,02	2,38±0,41	3,48±0,96	7,35±1,59	8,32±4,25	11,90±10,17	4,27±1,65

-continuação da tabela

Ácidos graxos	17°C-dia 1		17°C-dia 15		17°C-dia 30		12°C-dia 1		12°C-dia 15	
	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>	<i>Sn-1</i>	<i>Sn-2</i>
C16:0	20,73±1,23	15,16±1,20	9,93±0,41	17,73±3,28	24,81±1,03	19,20±1,65	25,80±1,3,9	14,85±2,51	21,90±1,09	20,06±8,96
C17:0	11,31±3,40	7,57±3,96	7,12±1,21	2,97±1,04	1,14±0,24	7,14±2,80	7,67±2,27	9,46±3,43	12,14±3,07	3,68±1,43
C18:0	33,39±5,99	16,16±1,03	9,86±0,51	21,24±7,41	29,20±0,99	28,05±6,60	26,70±2,29	10,72±2,77	21,16±2,69	11,75±5,08
C20:0	2,50±0,56	2,95±0,59	0,98±0,01	2,07±0,25	0,83±0,16	3,25±0,52	1,06±0,20	3,00±1,34	1,66±0,58	1,03±0,60
C16:1	2,67±0,11	1,62±0,78	2,48±0,35	1,23±0,67	1,21±0,10	1,51±0,41	1,45±0,48	2,16±0,02	2,73±0,98	2,26±0,5
C18:1n9	10,82±0,77	20,72±5,15	41,18±5,66	18,68±7,03	14,35±1,14	16,90±5,93	10,69±1,34	22,96±8,09	14,99±4,80	26,46±5,99
C20:1n9	0,65±0,15	2,93±0,02	2,16±1,01	1,62±0,71	1,49±0,70	1,05±0,36	1,89±1,50	1,18±0,59	2,96±1,30	1,57±0,39
C24:1	0,15±0,05	1,32±0,54	2,01±0,89	0,99±0,16	0,49±0,18	4,12±2,23	0,86±0,34	1,87±0,79	0,54±0,42	0,63±0,58
C16:2n4	2,64±0,47	4,19±1,40	1,39±0,68	1,86±0,43	1,88±0,84	0,84±0,48	1,71±0,38	1,65±0,38	0,84±0,21	2,07±0,70
C18:2n6c	2,72±0,35	2,13±0,96	3,76±0,18	3,70±0,49	3,20±0,26	3,30±0,48	3,48±0,85	1,73±0,31	1,49±0,76	1,96±0,65
C18:2n6t	0,90±0,50	1,51±0,34	5,35±0,75	1,97±0,70	5,65±0,52	2,43±0,32	2,70±1,04	1,22±0,31	3,60±0,74	2,44±0,55
C18:3n6	1,44±0,17	1,59±0,34	0,59±0,09	2,12±0,79	2,43±0,96	1,04±0,39	2,03±0,47	2,15±0,36	1,76±0,43	1,07±0,11
C20:4n6	2,75±0,32	3,02±0,19	2,03±0,59	5,30±1,21	1,12±0,12	1,33±0,37	3,21±0,93	2,08±0,51	2,61±0,21	1,69±0,54
C20:3n3	1,95±0,97	4,62±1,12	2,12±0,79	0,36±0,05	2,83±0,05	1,42±0,65	2,65±0,58	2,46±1,23	2,32±0,44	2,27±0,72
C20:5n3	1,04±0,11	4,19±0,28	1,18±0,26	1,91±0,15	1,65±0,44	1,71±0,91	3,17±0,37	1,99±1,14	1,36±0,94	0,78±0,10
C22:2n6	0,86±0,01	1,85±1,31	1,93±0,11	3,47±0,59	1,01±0,49	1,46±0,46	0,99±0,47	3,20±0,32	1,26±0,53	2,08±0,35
C22:5n6	1,47±0,02	2,84±0,55	0,88±0,04	2,44±0,52	1,90±0,89	0,78±0,33	0,64±0,09	0,98±0,50	0,42±0,26	0,61±0,09
C22:5n3	0,49±0,11	1,93±0,34	0,80±0,46	1,71±0,09	1,16±0,11	0,97±0,66	0,82±0,66	1,16±0,60	0,97±0,32	0,79±0,21
C22:6n3	2,69±0,73	3,71±1,41	4,29±0,68	8,61±4,09	3,63±1,72	3,50±1,03	2,65±0,29	15,01±8,25	5,28±0,90	16,82±7,19

CAPÍTULO 4

REGULAÇÃO DA Na^+/K^+ -ATPase, HISTOMORFOLOGIA E
COMPOSIÇÃO FOSFOLIPÍDICA BRANQUIAL EM
Steindachneridion parahybae (Siluriformes: Pimelodidae)
ACLIMATADOS A DIFERENTES TEMPERATURAS

Ribeiro, C.S., Gomes, A.D., Cortez, L.L. e Moreira, R.G.

REGULAÇÃO DA Na⁺/K⁺-ATPase, HISTOMORFOLOGIA E COMPOSIÇÃO FOSFOLIPÍDICA BRANQUIAL EM *Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae) ACLIMATADOS A DIFERENTES TEMPERATURAS

Ribeiro, C.S.¹, Gomes, A.D.¹, Cortez, L.L.¹ e Moreira, R.G.¹

¹ Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências- Departamento de Fisiologia, São Paulo, SP, Brasil.

Resumo

A manutenção da homeostase branquial muitas vezes é atingida por mudanças estruturais do órgão sob influência de mudanças ambientais, que pode ocorrer de forma direta, em aspectos macroscópicos (morfologia externa) e microscópicos (fluidez de membrana e atividade de bombas) deste tecido. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da temperatura em ensaio agudo e crônico sobre o perfil de ácidos graxos dos fosfolipídeos, atividade da enzima Na⁺/K⁺-ATPase e histomorfologia branquial em *Steindachneridion parahybae*. Os resultados da fração fosfatidilcolina (FC) nos dois ensaios realizados mostraram-se menos afetados pela temperatura, diferente do observado para a fração fosfatidiletanolamina (FE), classe que mostrou, no tratamento agudo, um curioso padrão de aumento de SAT para os animais mantidos nas menores temperaturas testadas, enquanto que o tratamento crônico mostrou grande variação dos ácidos graxos durante o período experimental, ressaltando-se a diminuição de PUFA nos grupos mantidos nas menores temperaturas. A atividade da Na⁺/K⁺-ATPase no tratamento agudo apresentou uma diminuição progressiva em 30 e 24°C, com concomitante aumento da atividade em 17°C e 12°C. Já para o ensaio crônico os grupos mantidos a 24°C e 17°C tiveram seus valores aumentados no 15º dia experimental e diminuídos no 30º dia, as temperaturas extremas mantiveram o padrão descrito para o ensaio agudo. A histomorfologia branquial mostrou mudanças drásticas na estrutura branquial principalmente nos animais mantidos nas menores temperaturas durante o ensaio crônico, com presença de aneurismas lamelares em 17°C e total ausência de lamelas secundárias no grupo mantido a 12°C no 15º dia de experimento.

Os dois tratamentos aos quais os animais foram expostos no presente trabalho induziram mudanças na morfologia e estrutura de membranas.

Abstract

The maintenance of branchial homeostasis is often achieved by structural changes in the organ under the influence of environmental changes, which can be macroscopic (external morphology) and microscopic (membrane fluidity and activity of pumps) in this tissue. In this context, the present study aimed to evaluate the influence of temperature in acute and chronic trials on the phospholipid fatty acid profile, the activity of the enzyme Na^+/K^+ -ATPase and histomorphology of *Steindachneridion parahybae* gills. The results showed the fatty acid composition of the phosphatidylcholine (PC) was less affected by temperature than the one in phosphatidylethanolamine (PE) class, that showed, in acute trial, a curious pattern of higher saturated fatty acids for animals kept at lower temperatures tested, whereas chronic trial showed large variation in fatty acids during the experimental period, highlighting the decreased in polyunsaturated fatty acids in the groups kept at the lower temperatures. The activity of Na^+/K^+ -ATPase in the acute trial had a progressive decrease at 30 and 24°C, with concomitant increase in activity at 17 and 12°C. In the chronic trial the same pattern for the acute trial was observed in the extreme temperatures, the groups 24 and 17°C, on the other hand, presented an increase in the values at the 15° day and a decrease at the 30° day. The branchial histomorphology showed drastic changes in the chronic test, the presence of lamellar aneurysms in 17°C and total absence of secondary lamellae in the group maintained at 12°C at the 15° day of the experiment. Both treatments, to which the animals were exposed in this study, induced changes in the morphology and structure of membranes.

1. Introdução

Estudos do IPCC (Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas) avaliam que no último século a temperatura média global aumentou 0,6 °C. Nesse mesmo ano a Assembléia Geral da ONU, em sua 70ª Sessão Plenária, realizada em 06/12/1988, aprovou uma resolução visando a “proteção do clima mundial para as gerações presentes e futuras” (Houghton *et al.*, 2001).

Aceitando-se que o clima da Terra está mudando rapidamente em um processo acelerado pela atividade humana e tal processo pode ter consequências drásticas para a distribuição da fauna, justifica-se a importância de se estudar como estas mudanças podem afetar os organismos em diferentes níveis de organização, desde a redistribuição das áreas ocupadas pelos biomas representativos de uma região até os efeitos das mudanças de temperatura sobre a fisiologia (Helmut *et al.*, 2005).

Uma consequência importante decorrente do aumento da temperatura atmosférica está ligada a mudanças de solubilidade dos gases na água, principalmente o oxigênio, que apresenta naturalmente uma redução na sua capacidade de solubilização com a elevação da temperatura (Schmidt-Nielsen, 2002). Segundo este autor o valor de solubilidade do oxigênio na água a 20°C é 6,57 (mL O₂ / litro de H₂O) e torna-se significativamente menor a 30°C, chegando a 3,57 (mL O₂ / litro de H₂O). Para a maioria das espécies de peixes tropicais os valores ideais do oxigênio dissolvido na água estão em torno de 4-6 (mL O₂ / litro de H₂O) (Pezzato *et al.*, 2004). O aumento da temperatura ainda reduz a afinidade da hemoglobina ao oxigênio, que em parte é compensada, pois os peixes, em face à queda na solubilidade do oxigênio na água, aumentam a demanda deste gás em resposta à hipóxia (Whiters, 1992).

As brânquias dos peixes são um órgão multifuncional, envolvido em uma ampla variedade de funções básicas, incluindo, captação de oxigênio, liberação de dióxido de carbono, osmorregulação, regulação ácido-base, excreção de nitrogênio, metabolismo hormonal e sensorial, sendo, portanto, o primeiro órgão a sofrer as consequências da diminuição da concentração de oxigênio aquático. Tais tarefas são refletidas em uma complexa estrutura e anatomia vascular onde supõe-se que muitos destes sistemas são responsáveis por manter a homeostase durante diferentes níveis de atividade ou alteração das condições ambientais (Olson, 2002; Sollid *et al.*, 2003).

A manutenção da homeostase pelas brânquias muitas vezes é atingida por mudanças estruturais do órgão sob influência de mudanças ambientais que não são suportadas por simples aumento e/ou diminuição da atividade respiratória ou mudanças comportamentais (Sollid *et al.*, 2005), esta reestruturação atua de forma direta na estrutura macroscópica (morfologia externa) e microscópica (membranas celulares e atividade de bombas) do tecido branquial.

O Surubim do Paraíba (*S. parahybae*) é um peixe endêmico da bacia hidrográfica do rio Paraíba do sul e, atualmente, se encontra nas listas de espécies de peixes ameaçados de extinção. Grande preocupação sobre a conservação da biodiversidade genética e de programas de repovoamento com esta espécie tem sido levantadas. Esta é uma espécie reofílica, isto é, migra rio acima para se reproduzir (Burgess, 1989), tal comportamento combinado aos impactos sofridos na Bacia do Paraíba do Sul (principalmente as barragens) levou esta espécie à Lista Nacional das Espécies de Peixes Ameaçadas de Extinção – criticamente em perigo (Brasil, 2004 e Honji *et al.*, 2009).

Desta forma, contextualizando a grande amplitude térmica encontrada na extensão da bacia do Rio Paraíba do Sul, o comportamento migratório que submete esta espécie a uma grande magnitude de temperaturas, a grande influência deste fator abiótico sobre as brânquias e considerando a situação de endemismo da espécie- alvo da presente proposta, o Surubim do Paraíba, o objetivo deste trabalho é verificar o papel da variação da temperatura (de forma aguda e crônica) sobre a histomorfologia branquial, atividade da Na^+/K^+ -ATPase e perfil de ácidos graxos dos fosfolípidos das brânquias na espécie escolhida.

2. Materiais e Métodos

2.1. Procedimentos experimentais

Maiores detalhes sobre o delineamento experimental foram apresentados nos capítulos 2 (tratamento agudo) e 3 (tratamento crônico).

2.2. Coleta de tecidos

No momento das coletas foram realizadas a biometria e dessensibilização dos animais com o uso de gelo que, em seguida, foram eutanasiados por secção da medula

espinhal na altura do opérculo e retiradas amostras de brânquias, sendo que parte do tecido foi mantida em criotubos armazenados posteriormente a -80°C para análises de ácidos graxos e atividade da $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase e os dois primeiros arcos branquiais foram acondicionados em formol tamponado para análises histomorfológicas.

2.3. Separação de classes fosfolipídicas e perfil de ácidos graxos

Os lipídeos branquiais foram extraídos de acordo com o método de Folch *et al.*, (1957) adaptado por Parrish, (1998), utilizando-se uma mistura de clorofórmio, metanol e água (2: 1: 0,5). Após a extração as amostras foram evaporadas em atmosfera de nitrogênio e armazenadas em freezer (-20°C) para posterior análise.

As classes fosfolipídicas predominantes (fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina) foram separadas pela aplicação de aproximadamente 20mg de lipídeos em placas de cromatografia de camada delgada (TLC) mantidas em fase móvel contendo clorofórmio, metanol e água na proporção de 65:35:4 (por volume). Após a corrida das amostras na fase móvel descrita as placas foram secas, reveladas com diclorofluoresceína (2%) (Fluka, Buchs, Switzerland) e identificadas sob luz ultravioleta (UV). As bandas reveladas foram raspadas e eluídas em metanol. Após a evaporação das amostras em nitrogênio as mesmas foram metiladas com cloreto de acetila e metanol pelo método ácido proposto por Kitson *et al.*, (1996).

O perfil dos ácidos graxos foi determinado por cromatografia gasosa, utilizando um cromatógrafo a gás acoplado a um ionizador de chama (FID) e a um autoinjeter (Varian GC 3900). A identificação dessas moléculas foi feita com base nos tempos de retenção, utilizando-se um padrão composto de metil ésteres (FAME) (SUPELCO, 37 *components*, Larodan Chemical Company - Mixture Me93 e Qualmix PUFA fish M - Menhaden Oil), com resultados expressos em %.

2.4. Bomba de sódio e potássio ($\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase)

A atividade máxima da $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase foi determinada em amostras do tecido branquial, com base na diferença entre a taxa de liberação de fosfato a partir de ATP na presença e na ausência de ouabaína e $\text{K}^+ 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, segundo Else *et al.*, (1999). Os resultados foram expressos por $\mu\text{M Pi/h.mg}$ de proteína.

2.5. Análises histomorfológicas branquiais

Após a etapa de fixação das brânquias as mesmas foram processadas conforme protocolo rotineiro de histologia, com cortes histológicos realizados em micrótomo Leica RM2255. Em seguida os cortes foram corados com Hematoxilina/Eosina e analisados em microscópio óptico DM 1000 utilizando-se o programa LAS (Leica Application Suite) para a captura de imagens.

2.6. Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento casualizado, com 4 tratamentos (30, 24, 17 e 12°C) e três repetições (triplicatas dos tratamentos). Todos os valores foram expressos em média \pm erro padrão (EPM). Os valores de cada parâmetro e grupo avaliados foram comparados usando o teste de análise de variância (ANOVA- *Two Way*), utilizando o programa estatístico Sigma Stat for Windows (Version 3.10 Copyright[®]). O nível de significância adotado foi de 0,05.

3. Resultados

* Ácidos graxos

Foram analisados e estão aqui apresentados os dados das classes fosfolipídicas, fosfatidilcolina (FC) e fosfatidiletanolamina (FE) branquiais que foram selecionadas por serem as mais representativas durante a separação em cromatografia de camada delgada nas amostras analisadas. Os resultados serão apresentados como somatória dos principais grupamentos observados: SAT (saturados), MUFA (monoinsaturados) e PUFA (polinsaturados), com as seguintes subdivisões: n6 de cadeia longa (C22n6) e curta (C18n6) e n3 de cadeia longa (C22n3) e curta (C18n3).

1. Fosfatidilcolina

- Tratamento Agudo

Este tratamento mostrou-se bastante estável para esta fração, com mudanças significativas para o grupo mantido a 30°C que apresentou uma queda de SAT no 3° dia experimental em relação ao 1° dia ($p=0,02$), com restabelecimento dos valores no 4° dia (com diferença estatística na comparação com o 3° dia, $p=0,01$). Esta queda parece ter sido compensada no 3° dia pelo aumento de MUFA no mesmo período, valores que se

mantiveram altos até o final do experimento, ocasionando diferenças em relação ao 1º dia experimental na comparação com o 3º ($p<0,05$) e 5º dias ($p=0,03$) (Tabela 1 e Anexo 1).

O grupo mantido a 24°C durante o tratamento agudo mostrou uma diminuição progressiva de SAT no período experimental, culminando em diferença estatística na comparação entre o 4º e 1º dia de experimento ($p=0,04$), padrão oposto ao apresentado por MUFA, que aumento no período, com diferença significativa na comparação entre o 2º e 4º dia de experimento ($p=0,02$). Para o grupo 17°C observou-se um aumento de PUFA, com valores elevados no 3º dia de experimento em relação ao 1º, valores corroborando PUFAn3 de cadeia longa ($p<0,05$ para as três comparações).

Na comparação entre temperaturas no mesmo dia experimental verificou-se o menor valor de SAT no 1º dia de experimento para o grupo mantido na menor temperatura testada na comparação com 30 e 24°C ($p<0,05$). No 4º dia de experimento o grupo mantido a 30°C apresentou valores altos de SAT na comparação com 24°C ($p=0,02$). Para MUFA evidencia-se diferença estatística significativa na comparação entre os grupos 30 e 17°C no 3º dia experimental, com maiores valores para 30°C ($p=0,02$). Na comparação de PUFA observou-se as maiores porcentagens no grupo 12°C em relação a 17°C no 1º dia de experimento, reflexo dos ácidos graxos ômega 6 ($p<0,05$) (Tabela 1 e Anexo 1).

-Tratamento Crônico

Para 30, 24 e 17°C observou-se um padrão de diminuição de SAT durante o experimento, culminando em diferenças estatísticas significativas para 30°C na comparação entre o 15 e 30º dia ($p=0,01$); para 17°C na comparação entre o 1º e 15º dia ($p=0,02$) e no grupo 24°C esta diminuição foi evidenciada no 15º dia de experimento e houve um aumento, com volta ao valor inicial no 30º dia experimental ($p<0,05$ para todas as comparações) (Tabela 2 e Anexo 2). Na comparação entre os grupos experimentais observou-se, como já evidenciado para o tratamento agudo, os menores valores de SAT para os animais do grupo mantido a 12°C no 1º dia experimental na comparação com 30 e 24°C ($p<0,05$), o 15º dia experimental mostrou os maiores valores amostrados de SAT para os grupos mantidos nas temperaturas extremas em relação a 17 e 24°C ($p<0,05$ para todas as comparações).

Para MUFA observou-se um aumento das porcentagens na comparação entre o 15 e 30º dia experimental para 30°C ($p=0,02$), já para o grupo mantido a 12°C notou-se

uma diminuição das porcentagens na comparação entre o 1° e 15° dias de experimento ($p=0,02$). Na comparação entre temperaturas os baixos valores amostrados para o 15° dia experimental no grupo mantido a 30°C culminou em diferença estatística significativa deste dia em relação aos grupos 24°C ($p=0,02$) e 17°C ($p<0,05$).

Na análise de PUFA evidencia-se o aumento expressivo das porcentagens no grupo 24°C, com diferença estatística na comparação entre o 1° dia de experimento e os demais dias ($p<0,05$ para todas as comparações). Na observação de PUFA n3 (C20-22 n3) foi possível notar um súbito aumento das porcentagens no 15° dia para o grupo mantido a 17°C na comparação com os valores observados no 1° dia (Tabela 2 e Anexo 2). Os baixos valores para este grupo no 1° dia experimental mostraram-se diferentes estatisticamente na comparação com o grupo mantido a 12°C ($p=0,02$), diferença corroborada por PUFA n6 de cadeia longa ($p<0,05$).

Tabela 1. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidilcolina branquial de Surubins do Paraíba (*S. parahybae*) durante o tratamento agudo (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C Dia 01	30°C Dia 02	30°C Dia 03	30°C Dia 04	30°C Dia 05	24°C Dia 01	24°C Dia 02	24°C Dia 03	24°C Dia 04	17°C Dia 01	17°C Dia 02	17°C Dia 03	12°C Dia 01	12°C Dia 02
SAT	51,13±6,07 ^{b**}	50,63±6,10	42,60±3,79 ^a	51,33±2,23 ^{b**}	46,88±1,32	50,48±2,47 ^{a**}	49,63±2,70	46,62±3,64	44,79±1,67 ^{b*}	49,42±3,79	43,36±1,51	48,40±4,24	43,84±2,96 [*]	46,58±2,86
MUFA	20,43±4,15 ^b	21,63±4,71	28,94±2,67 ^{a**}	25,55±2,46	27,68±1,94 ^a	20,29±2,96	17,13±1,25 ^a	22,23±1,15	27,83±5,94 ^b	25,34±5,21	23,40±1,34	17,89±1,19 [*]	24,47±1,91	19,75±4,60
PUFA	28,44±5,28	27,74±5,33	28,46±1,13	23,12±2,51	25,44±0,61	29,22±4,45	29,42±5,24	31,15±3,39	27,39±4,85	24,97±7,61 ^{a*}	32,27±2,57	33,72±5,09 ^b	31,70±4,47 ^{**}	33,28±6,80
PUFA n3	7,63±1,66	5,81±0,63	7,37±0,37	6,38±1,13	5,78±0,55	4,60±2,52	7,83±3,20	9,18±1,66	7,02±0,97	7,30±4,97 ^a	9,56±1,23	13,52±4,21 ^b	8,50±2,62	11,36±2,01
PUFA n6	19,13±3,73	19,51±4,41	17,44±0,40	13,49±3,11	18,24±0,07	14,41±5,52	17,17±1,15	19,37±2,60	15,52±5,01	16,14±2,71 [*]	19,67±1,29	17,43±4,00	22,04±1,34 ^{**}	17,18±5,29
C20-22n3	7,37±1,91	5,81±0,63	7,37±0,37	6,38±1,13	5,78±0,55	4,60±2,52	7,83±3,20	9,18±1,66	7,02±0,97	7,30±4,97	9,56±1,23	9,89±2,10	8,50±2,62	9,84±2,56
C18n6	5,27±2,23	4,81±2,79	5,65±0,28	4,80±1,60	8,08±1,12	3,99±1,29	3,33±1,38	5,16±0,60	3,64±0,70	4,27±1,98 ^a	5,46±0,40	1,22±0,65 ^b	6,16±0,39	4,41±0,68
C20-22n6	13,85±3,66	14,69±4,64	11,79±0,11	8,69±1,75	10,16±1,06	10,42±4,82	13,84±2,46	14,21±3,03	11,87±4,67	11,87±2,11	14,21±1,43	16,21±3,54	15,88±1,40	12,77±4,67

^{ab}letras representam diferenças entre grupos em um mesmo dia experimental; * símbolos representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura

Tabela 2. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidilcolina branquial de Surubins do Paraíba (*S. parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1	30°C- dia 15	30°C- dia 30	24°C- dia 1	24°C- dia 15	24°C- dia 30	17°C- dia 1	17°C- dia 15	17°C- dia 30	12°C- dia 1	12°C- dia 15
SAT	51,13±6,07**	54,97±5,83 ^{a**}	43,80±4,51 ^b	50,48±2,47 ^{a**}	39,06±4,71 ^{b*}	48,22±4,06 ^a	49,42±3,79 ^a	39,03±4,61 ^{b*}	40,80±3,94	43,84±2,96 [*]	50,94±4,05 ^{**}
MUFA	20,43±4,15	15,66±2,67 ^{a*}	20,60±3,18 ^b	20,29±2,96	24,91±4,41 ^{**}	23,97±3,23	25,34±5,21	26,33±4,40 ^{**}	25,93±2,87	24,47±1,91 ^a	16,86±2,99 ^b
PUFA	28,44±5,28	29,37±3,28	35,13±2,76	29,22±4,45	35,00±2,33	27,81±5,13	24,97±7,61 ^{a*}	34,54±0,93 ^b	32,19±6,95 ^b	31,70±4,47 ^{**}	31,80±3,70
PUFA n3	7,63±1,66	9,87±4,18	9,85±3,17	4,60±2,52 ^a	11,65±1,14 ^b	8,17±2,49	7,30±4,97	10,59±0,69	10,25±1,92	8,50±2,62	10,53±1,88
PUFA n6	19,13±3,73	16,52±2,00	18,29±4,80	14,41±5,25	19,00±1,25	18,15±4,41	16,14±2,71 [*]	16,81±1,39	18,31±5,58	22,04±1,34 ^{**}	16,08±2,46
C20-22n3	7,37±1,91	9,87±4,18	9,85±3,17	4,60±2,52 ^a	11,65±1,14 ^b	8,17±2,49	7,30±4,97	10,59±0,69	10,25±1,92	8,50±2,62	10,53±1,88
C18n6	5,27±2,23	4,81±0,56	4,44±0,38	3,99±1,29	5,24±0,92	6,62±1,25	4,27±1,98	5,50±1,01	3,89±2,12	6,16±0,39	5,31±0,48
C20-22n6	13,85±3,66	11,71±2,14	13,85±4,82	10,42±4,82	13,76±1,68	11,53±3,46	11,87±2,11 [*]	11,31±0,39	14,42±5,06	15,88±1,40 ^{**}	10,77±2,53

^{ab}letras representam diferenças entre grupos em um mesmo dia experimental; * símbolos representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura

2. Fosfatidiletanolamina

-Tratamento Agudo

A análise dos ácidos graxos saturados (SAT) mostrou um aumento significativo para os grupos 17 e 12°C no último dia experimental, com diferença detectada na comparação entre o 2 e 3º dias em relação ao 1º dia experimental para 17°C ($p < 0,05$) e entre o 1º e 2º dias de experimento para o grupo mantido a 12°C ($p = 0,02$). A comparação entre os grupos experimentais para SAT mostrou os menores valores encontrados para o grupo mantido a 24°C, com diferenças detectadas na comparação com 30°C e 12°C no 2º dia de experimento ($p = 0,03$ e $p = 0,02$, respectivamente) e 17°C no 3º dia experimental ($p = 0,02$) (Tabela 3 e Anexo 3).

Os grupos 24 e 30°C mostraram o mesmo padrão para MUFA, uma brusca diminuição dos valores, diminuição esta da ordem de 3 vezes o valor inicial para o grupo 30°C, que mostrou diferença estatística significativa para o 5º dia experimental em relação aos demais ($p < 0,001$ para todas as comparações), para o grupo mantido a 24°C a queda pode ser evidenciada no 3º dia experimental, com porcentagens que mantiveram-se baixas no 4º dia de experimento, com as seguintes diferenças estatísticas: entre o 1º e 3º dias ($p = 0,02$), entre o 1º e 4º dias ($p = 0,02$), entre o 2º e 3º dias ($p < 0,05$) e finalmente, entre o 2 e 4º dias ($p = 0,02$). Diferente do apresentado anteriormente, o grupo mantido a 17°C mostrou um aumento dos valores no 2º dia de experimento e queda no 3º dia, com retorno aos valores iniciais, com diferenças do 2º dia experimental em relação ao 1º ($p = 0,03$) e 3º dias ($p = 0,02$), mesmo padrão observado para os animais mantidos a 12°C, que também apresentaram um aumento da porcentagem na comparação entre o 1º e 2º dias de experimento ($p < 0,05$).

Na comparação entre os grupos experimentais para MUFA observou-se os maiores valores amostrados no 1º dia experimental para os grupos mantidos nas maiores temperaturas testadas em relação aos mantidos nas menores temperaturas ($p < 0,05$ para todas as comparações), já para o 2º dia de experimento o grupo 24°C mostrou a maior porcentagem na comparação com os grupos 30°C ($p = 0,01$) e 12°C ($p = 0,02$).

As diferenças evidenciadas para MUFA parecem ter sido diretamente compensadas por padrões inversamente proporcionais de PUFA, em que houve um aumento substancial dos valores no 5º dia de experimento em 30°C, com diferença estatística significativa em relação ao 2º dia de experimento, diferença esta corroborada

por C20-22n3 ($p < 0,05$) e por C20-22n6 que mostrou diferença estatística na comparação entre o 3 e 5º dias ($p = 0,02$). No grupo mantido a 24°C houve um aumento das porcentagens de PUFA no 3º dia experimental (com diferenças na comparação com o 1º e 2º dias- $p < 0,05$). A análise de PUFA_{n3} nesta temperatura mostrou uma diminuição dos valores no 4º dia de experimento em relação ao 1º e 2º dias ($p < 0,05$) corroborado por C20-22n3, diminuição que foi compensada pelo aumento de n6 no mesmo período, corroborado por C20-22n6. Na análise de PUFA nas menores temperaturas testadas notou-se um padrão de diminuição dos valores no 2º dia experimental para os dois grupos ($p < 0,05$ para as duas temperaturas), queda esta corroborada por PUFA_{n6} de cadeia longa C20-22n6.

Na comparação entre as temperaturas no mesmo dia experimental observou-se as maiores porcentagens de PUFA amostradas para o grupo mantido a 12°C no 1º dia experimental, com diferença significativa na comparação com 30°C ($p = 0,02$), com correspondência direta com PUFA n6 de cadeia longa, no 3º dia de experimento o grupo 24°C mostrou valores estatisticamente maiores em relação ao grupo 17°C ($p < 0,05$). Para PUFA_{n3} o grupo mantido a 12°C mostrou a menor porcentagem amostrada no 2º dia experimental em relação as demais temperaturas, com diferença estatística na comparação com 17°C ($p = 0,02$), já para PUFA n6 os grupos mantidos nas menores temperaturas no 1º dia experimental mostraram valores estatisticamente maiores na comparação com o grupo 24°C ($p < 0,05$) (Tabela 3 e Anexo 3).

-Tratamento Crônico

Na análise de SAT observou-se o mesmo padrão para as duas temperaturas extremas, um aumento das porcentagens no 15º dia de experimento em relação ao 1º dia ($p = 0,02$ para 30°C e $p = 0,01$ para 12°C), sendo que os animais do grupo mantido a 30°C mostraram no 15º dia de experimento os mais altos valores amostrados, o que culminou com diferença estatística significativa na comparação com todas as outras temperaturas testadas ($p < 0,05$ em todas as comparações) (Tabela 4 e Anexo 4).

Para MUFA foi observado uma queda brusca das porcentagens na comparação entre o 1º e 15º dia de experimento para 30 e 24°C ($p = 0,01$ e $p = 0,02$ respectivamente), com volta aos valores iniciais no grupo 24°C no 30º dia, com diferença estatística em relação ao 15º dia ($p < 0,05$), já para o grupo mantido a 17°C o oposto foi observado, houve um aumento das porcentagens no 15º dia experimental ($p = 0,02$ na comparação com o 1º dia). Como já descrito no tratamento agudo os valores de MUFA no primeiro dia experimental mostraram um padrão de porcentagens elevadas para os grupos

mantidos nas maiores temperaturas em comparação com os grupos mantidos nas menores temperaturas experimentais ($p < 0,05$ para todas as comparações), para o 15º dia de experimento observou-se as menores porcentagens amostradas no grupo mantido a 12°C, com diferença estatística em relação ao grupo 17°C ($p = 0,02$).

Os ácidos graxos polinsaturados apresentaram um aumento significativo dos valores no grupo mantido a 24°C, com diferença na comparação entre o 1º e 30º dia ($p = 0,02$), enquanto que para 17 e 12°C notou-se uma diminuição das porcentagens no decorrer do experimento (diferenças entre o 1º e 30º dias para 17°C ($p = 0,01$) e entre o 1º e 15º dias para 12°C ($p < 0,05$)), sendo que para 17°C houve correspondência para PUFAn3 de cadeia longa e para C20-22n6, enquanto que para 12°C para PUFAn6 de cadeia longa. A análise de PUFAn6 no grupo mantido a 24°C mostrou um aumento expressivo no 30º dia experimental em relação aos demais dias, com correspondência com os ácidos graxos de cadeia longa C20-22n6 ($p < 0,05$).

Como já descrito anteriormente muitas diferenças foram observadas entre os grupos experimentais para PUFA no 1º dia de experimento, com valores aumentados no grupo 12°C em relação ao grupo 30°C ($p = 0,02$), com correspondência direta com PUFA n6 de cadeia longa e para PUFA n6 os grupos mantidos nas menores temperaturas no 1º dia experimental mostraram valores estatisticamente maiores na comparação com o grupo 24°C ($p < 0,05$) (Tabela 4 e Anexo 4). No 15º dia experimental evidencia-se valores aumentados de PUFA no grupo 24°C na comparação com 30°C, com correspondência direta com PUFAn3 de cadeia longa ($p < 0,05$ para todas as comparações). No 30º dia de experimento os altos valores de PUFA amostrados para 24°C se mantem, com diferença estatística na comparação com 30°C, com correspondência agora com PUFAn6 de cadeia curta e longa ($p < 0,05$), sendo estes dois grupamentos também diferentes estatisticamente na comparação com o grupo mantido a 17°C ($p < 0,05$ para todas as comparações) (Tabela 4 e Anexo 4).

Tabela 3. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidiletanolamina branquial de Surubins do Paraíba (*S. parahybae*) durante o tratamento agudo (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C Dia 01	30°C Dia 02	30°C Dia 03	30°C Dia 04	30°C Dia 05	24°C Dia 01	24°C Dia 02	24°C Dia 03	24°C Dia 04	17°C Dia 01	17°C Dia 02	17°C Dia 03	12°C Dia 01	12°C Dia 02
SAT	43,32±4,07	48,00±6,56**	37,47±6,96	42,99±6,61	37,62±9,71	37,55±3,48	34,99±3,01*	34,74±1,47*	37,70±2,08	37,96±4,98 ^a	38,76±5,12 ^a	51,47±3,31 ^{b*}	33,03±1,46 ^a	49,8±9,45 ^{b**}
MUFA	23,40±3,70 ^{b**}	20,67±1,20 ^{b*}	21,83±10,62 ^b	24,88±3,27 ^b	8,28±0,59 ^a	27,31±4,77 ^{a**}	31,58±2,41 ^{a**}	14,66±1,76 ^b	16,67±2,55 ^b	11,25±3,88 ^{a*}	25,56±6,33 ^b	11,72±3,35 ^a	10,76±1,65 ^{a*}	16,4±3,99 ^{b*}
PUFA	33,03±1,46*	31,33±5,37 ^a	38,38±7,61	32,13±5,02	50,60±11,59 ^b	35,14±7,79 ^a	33,43±0,60 ^a	48,13±1,29 ^{b**}	42,60±2,50	45,01±5,97 ^a	34,53±4,67 ^b	36,30±3,32*	51,38±3,13 ^{a**}	33,6±12,25 ^{b*}
PUFA n3	17,86±4,09	13,87±5,30	20,51±0,91	19,57±5,56	22,89±2,01	25,74±9,54 ^a	21,93±3,76 ^a	24,82±8,73	14,92±1,53 ^b	22,91±2,05	24,59±3,66 ^{**}	20,59±1,77	15,84±5,55	10,27±4,12 [*]
PUFA n6	14,37±3,81*	17,46±3,43	10,31±3,79	11,26±2,56	21,27±8,85	6,85±0,54 ^{a*}	9,42±2,68 ^a	17,96±6,09	22,15±2,77 ^b	23,59±2,21 ^{a**}	14,66±5,13 ^b	17,27±1,26	26,10±3,24 ^{a**}	16,04±6,30 ^b
C18n3	5,05±2,43	3,21±1,09	7,11±0,65	5,91±1,88	5,54±0,83	7,32±1,72	5,15±0,82	4,84±2,01	3,36±0,96	2,40±1,39	3,18±1,72	6,42±1,73	4,35±1,74	2,54±1,63
C20-22n3	12,72±2,15	10,66±4,35 ^a	13,40±0,26	13,45±3,76	17,35±2,84 ^b	18,42±8,21 ^a	16,79±2,94 ^a	19,98±6,75	11,55±1,62 ^b	11,19±1,30	15,27±3,92	7,00±1,02	7,01±2,24	6,45±1,12
C18n6	4,46±0,56	6,03±1,61	2,75±1,41	4,74±1,36	1,60±0,88	2,57±0,44	3,60±0,45	3,82±1,00	3,98±0,37	3,35±0,97	5,94±4,04	4,46±0,66	2,73±0,86	2,76±0,82
C20-22n6	9,91±3,25 [*]	11,44±1,97	7,56±3,00 ^a	6,52±1,68	19,66±7,96 ^b	4,28±0,46	5,82±2,22 ^a	14,14±5,09 ^b	18,17±2,92 ^b	20,17±3,22 ^a	8,62±6,04 ^b	12,76±1,02	23,37±2,87 ^{a**}	13,28±5,53 ^b

^{ab}letras representam diferenças entre grupos em um mesmo dia experimental; * símbolos representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura

Tabela 4. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidiletanolamina branquial de Surubins do Paraíba (*S. parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C- dia 1	30°C- dia 15	30°C- dia 30	24°C- dia 1	24°C- dia 15	24°C- dia 30	17°C- dia 1	17°C- dia 15	17°C- dia 30	12°C- dia 1	12°C- dia 15
SAT	43,32±4,07 ^a	56,64±2,40 ^{b**}	51,40±9,12	37,55±3,48	41,90±4,85 [*]	35,48±1,95	37,96±4,98	43,64±4,77 [*]	48,61±5,53	33,03±1,46 ^a	40,91±5,15 ^{b*}
MUFA	23,40±3,70 ^{a**}	16,79±2,69 ^b	21,04±4,84	27,31±4,77 ^{a**}	14,07±1,40 ^b	16,28±5,74 ^a	11,25±3,88 ^{a*}	17,79±1,72 ^{b**}	15,80±0,36	10,76±1,65 [*]	8,47±0,97 [*]
PUFA	33,03±1,46 [*]	26,58±4,01 [*]	27,03±4,62 [*]	35,14±7,79 ^a	43,00±3,52 ^{**}	48,24±3,78 ^{b**}	45,01±5,97 ^a	38,57±3,97	32,52±4,79 ^b	51,38±3,13 ^{a**}	39,24±6,16 ^b
PUFA n3	17,86±4,09 ^a	7,77±1,33 ^{b*}	13,72±1,39 ^a	25,74±9,54	19,40±7,68 ^{**}	17,63±0,73	22,91±2,05 ^a	15,72±2,21	9,42±1,68 ^b	15,84±5,55	15,89±0,79
PUFA n6	14,37±3,81	15,13±2,02	10,57±2,74 [*]	6,85±0,54 ^{a*}	18,95±4,78 ^b	30,61±4,51 ^{c**}	23,59±2,21 ^{**}	20,30±3,79	22,58±5,09	26,10±3,24 ^{a**}	20,81±5,95 ^b
C18n3	5,05±2,43	4,66±1,47	2,81±1,08	7,32±1,72	7,62±1,71	3,81±0,27	2,40±1,39 ^a	6,35±1,30 ^b	3,61±2,08	4,35±1,74	4,58±1,63
C20-22n3	12,72±2,15	3,91±0,52 [*]	13,65±4,10	18,42±8,21	11,78±7,24 ^{**}	13,82±0,99 ^{**}	11,19±1,30 ^a	9,36±1,69	5,81±1,73 ^{b*}	7,01±2,24	11,31±1,65
C18n6	4,46±0,56	3,78±0,82	4,29±0,94 [*]	2,57±0,44 ^a	3,07±0,60 ^a	13,26±3,45 ^{b**}	3,35±0,97	5,28±0,57	5,54±1,40 [*]	2,73±0,86	2,54±0,70
C20-22n6	9,91±3,25 [*]	11,35±1,80	6,28±2,40 [*]	4,28±0,46 ^{a*}	15,88±4,61 ^b	17,36±1,06 ^{b**}	20,17±3,22 ^a	9,36±1,69	5,81±1,73 ^{b*}	23,37±2,87 ^{a**}	20,81±5,95 ^b

^{ab}letras representam diferenças entre grupos; * símbolos representam diferenças entre os dias de experimento em uma mesma temperatura

Na⁺ K⁺ ATPase

Para o tratamento agudo foi possível observar um padrão de diminuição da atividade da Na⁺ K⁺ ATPase nos animais dos grupos mantidos nas maiores temperaturas e aumento nos grupos mantidos nas menores temperaturas testadas, com diferenças observadas para o grupo 30°C na comparação entre o 1°, 3°, 4° e 5° dias (p<0,05 em todas as comparações) e entre o 2° e 5° dia (p=0,01); para os animais mantidos em 24°C houve diminuição entre o 2° e 3° dia (p=0,02); para os animais mantidos em 17°C na comparação entre o 3° dia em relação ao 1° (p=0,03) e 2° dia (p=0,02); e, finalmente para os animais mantidos em 12°C, houve um aumento entre o 1° e 2° dias (p<0,05), sendo este grupo o que apresentou os maiores valores amostrados. Na comparação entre os grupos experimentais foi possível observar os maiores valores para os animais do grupo 30°C no 1° dia experimental em comparação com 17°C (p=0,02) e 12°C (p=0,01), enquanto que para o 2° dia houve um grande aumento dos valores nos animais do grupo 12°C, com diferenças comparando-se com 17°C, grupo em que os valores mostraram-se aumentados no 3° dia experimental, com diferenças em relação aos grupos 30°C e 24°C (p<0,05 para as duas comparações) (Tabela 5 e Figura 1).

Tabela 5. Atividade da Na⁺/K⁺-ATPase branquial (μM Pi/h.mg de proteína) de Surubins do Paraíba (*S. parahybae*) durante o tratamento agudo (M± EPM)

Tratamento Agudo- Atividade (μM Pi/h.mg de proteína)							
30°C		24°C		17°C		12°C	
1	13.56±1.28 ^{**a}	1	11.17±0.48 ^{ab}	1	7.16±1.25 ^{*b}	1	8.94±0.57 ^{*a}
2	11.25±1.09 ^{ac}	2	12.02±0.99 ^a	2	7.66±1.41 ^{*b}	2	17.15±1.60 ^{b**}
3	6.36±0.80 ^{*bc}	3	8.63±1.42 ^{*b}	3	13.05±3.20 ^{**a}		
4	7.69±1.19 ^{bc}	4	8.98±0.55 ^{ab}				
5	6.53±1.49 ^b						

^{ab} letras representam diferenças entre grupos, * símbolos representam diferenças entre temperaturas em um mesmo dia de experimento

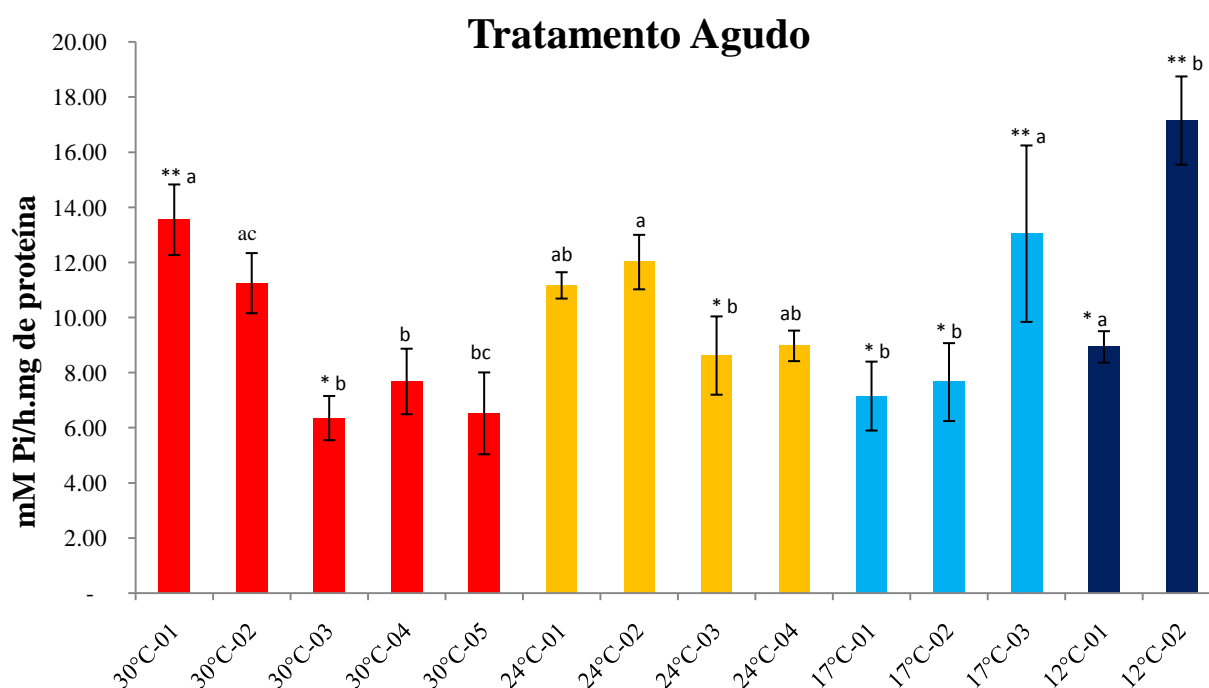


Fig. 1. Atividade da Na^+/K^+ -ATPase branquial ($\mu\text{M Pi/h.mg}$ de proteína) de Surubins do Paraíba (*S. parahybae*) durante o tratamento agudo

A análise da atividade da Na^+/K^+ -ATPase no tratamento crônico, assim como observado para o tratamento agudo houve uma diminuição dos valores para o grupo 30°C , o que culminou em diferença estatística na comparação entre o 30° em relação ao 1° e 15° dias ($p < 0,05$). Para os grupos mantidos a 17 e 24°C um padrão diferente da temperatura mais elevada foi observado, com um padrão comum nesta duas temperaturas, que é um aumento dos valores no 15° dia experimental, com diferença na comparação com o 1° dia ($p < 0,05$ para as duas temperaturas) e uma volta dos valores iniciais no 30° dia, com diferença estatística na comparação com o 15° dia ($p = 0,01$ para 24°C e $p = 0,01$ para 17°C). Já nos animais do grupo mantido a 12°C , como já apontado para o tratamento agudo houve um aumento brusco dos valores no 15° dia de experimento em relação ao 1° dia ($p < 0,001$) (Figura 2).

Na comparação entre as temperaturas no 1° dia experimental é possível ressaltar os maiores valores para os animais amostrados no grupo 30°C na comparação com 17°C ($p = 0,01$) e 12°C ($p = 0,02$). O mesmo padrão observado para 24°C em comparação com 17°C ($p < 0,05$). No 15° dia experimental observou-se o menor valor amostrado nos animais mantidos em 17°C em relação aos grupos 24°C e 12°C ($p < 0,05$). Já no 30° dia

experimental observou-se o maior valor amostrado nos animais do grupo 24°C na comparação com 30 e 17°C ($p < 0,05$ para todas as comparações) (Tabela 6).

Tabela 6. Atividade da Na^+/K^+ -ATPase branquial ($\mu\text{M Pi/h.mg}$ de proteína) de Surubins do Paraíba (*S. parahybae*) durante o tratamento crônico ($M \pm \text{EPM}$)

Tratamento Crônico- Atividade ($\mu\text{M Pi/h.mg}$ de proteína)							
30°C		24°C		17°C		12°C	
1	13.56 \pm 1.28 ^{*b}	1	11.17 \pm 0.48 ^{*+a}	1	7.16 \pm 1.25 ^{**a}	1	8.94 \pm 0.57 ^{**+a}
15	14.29 \pm 1.19 ^b	15	15.18 \pm 1.50 ^{**b}	15	11.91 \pm 0.48 ^{*b}	15	15.47 \pm 1.75 ^{**b}
30	7.39 \pm 0.37 ^{*a}	30	10.83 \pm 0.55 ^{**a}	30	7.26 \pm 0.93 ^{*a}		

^{ab} letras representam diferenças entre grupos, * símbolos representam diferenças entre temperaturas em um mesmo dia de experimento

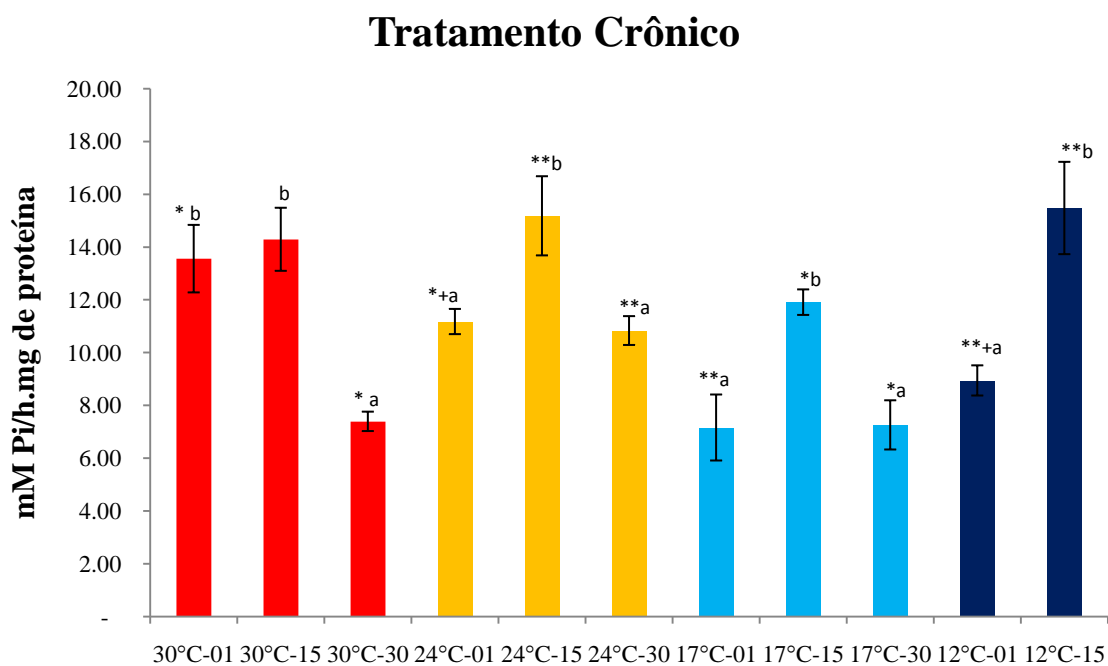


Fig. 2. Atividade da Na^+/K^+ -ATPase branquial ($\mu\text{M Pi/h.mg}$ de proteína) de Surubins do Paraíba (*S. parahybae*) durante o tratamento crônico

Histomorfologia das Brânquias

Manifestações de agressão ao epitélio celular foram registradas nos dois ensaios realizados, e, embora não tenha sido realizada nenhuma análise quantitativa, foi possível verificar uma gama de ajustes estruturais relacionados à demanda de oxigênio e de caráter bioquímico dependentes da temperatura as quais os animais foram submetidos.

A figura 3 mostra a morfologia branquial nos animais coletados nos ensaios agudo e crônico. As fotos A, B e C mostram as brânquias dos animais mantidos nas maiores temperaturas testadas no tratamento agudo (30, 24 e 17°C, respectivamente), foi possível verificar nos três casos o grande desenvolvimento das lamelas secundárias, fato que não é observado nos corte D e G, que correspondem aos animais mantidos nas menores temperaturas testadas nos tratamentos agudo e crônico, em que é possível notar a diminuição das lamelas secundárias e aumento marcante da massa celular intralamelar, que chegou a impedir o contato das lamelas secundárias com o meio externo no caso de G. Em H, que representa os animais mantidos a 12°C ao final do período crônico, foi possível notar alterações morfológicas ainda mais exacerbadas, com completa ausência de lamelas secundárias e um aumento da vascularização na lamela primária.

O corte E mostra as brânquias dos animais mantidos a 17°C no tratamento crônico, o corte demonstra a ausência de massa celular intralamelar e a presença de aneurisma lamelar localizado em toda a extensão do tecido, estrutura mostrada em detalhe no corte F, estrutura esta que corresponde à dilatação da vasculatura periférica do epitélio branquial.

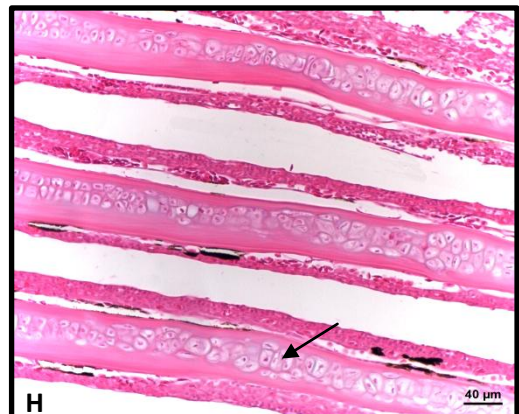
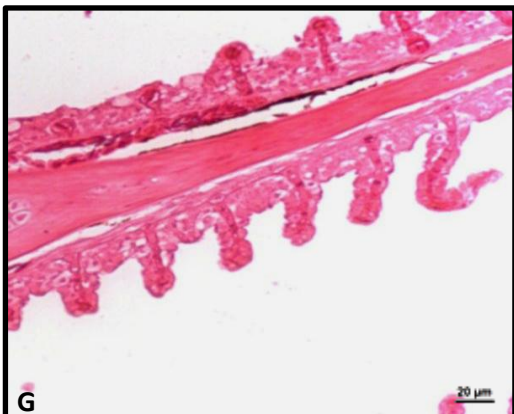
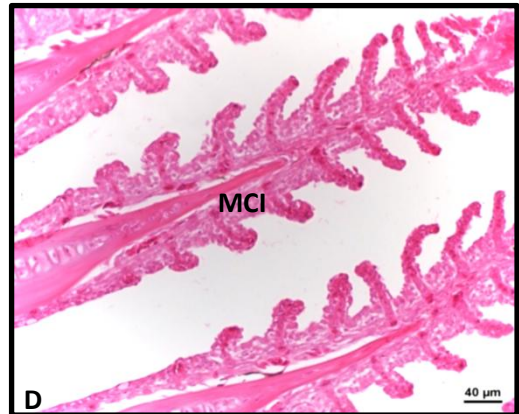
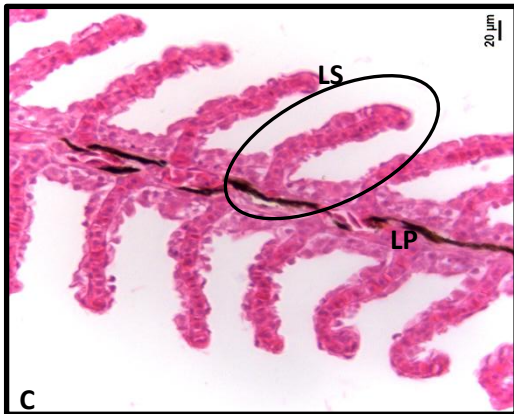
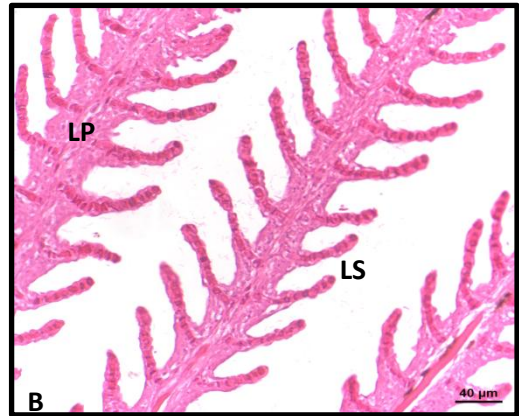
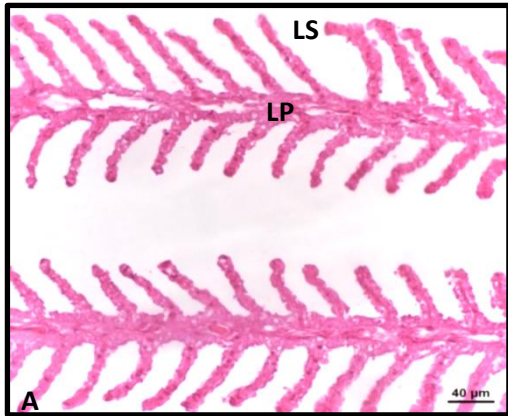


Figura 3: Cortes histológicos branquiais de *S. Parahybae* durante os tratamentos agudo e crônico. **A e B:** Grupos 30 e 24°C-Agudo (4° dia), **LP:** Lamela Primária, **LS:** Lamela Secundária, disposição lamelar isenta de fusão e/ou colapso entre si com grande desenvolvimento das lamelas secundárias; **C:** Tratamento Agudo, 17°C (2°dia). Em destaque (círculo) disposição lamelar isenta de fusão; **D:** Grupo Agudo exposto a temperatura de 12°C (2°dia), pequeno desenvolvimento das lamelas secundárias e aumento da massa celular intralamelar (MCI); **E:** Tratamento Crônico, grupo exposto a 17°C (15°dia), lamelas secundárias bem desenvolvidas e presença de aneurisma lamelar, em destaque (**F**) Aneurisma lamelar (AL) **G:** Grupo Crônico exposto a 12°C aumento de vascularização na lamela primária e diminuição das lamelas secundárias e grande desenvolvimento de massa celular intralamelar e **H:** Grupo Crônico exposto a 12°C (15°dia), não formação das lamelas secundárias, ocorrência de colapso no epitélio, alta vascularização nas lamelas primárias (apontado com seta).

4. Discussão

Os tecidos, células e moléculas dos animais são afetados diretamente pelas variações nas temperaturas ambientais promovendo dois grandes efeitos, o primeiro diz respeito às taxas de funcionamento dos processos biológicos, mais especificamente a energia de ativação enzimática que é altamente dependente da temperatura, e o segundo diz respeito aos limites de tolerância extremas que causam distúrbios ou efeitos letais (Randall *et al.*, 2008), como é o caso, no presente trabalho, dos animais mantidos a 12°C que tiveram alta taxa de mortalidade aos 15 dias de experimento, não completando o período experimental do ensaio crônico, demonstrando que esta temperatura é letal para *S. parahybae*.

A relação entre oxigênio e temperatura também se mostra muito importante no metabolismo do animais aquáticos, dentre eles os peixes, já que em altas temperaturas a taxa de dissolução de gases na água é diminuída, concomitantemente com um aumento na taxa metabólica dos animais, o que causa um aumento de demanda de oxigênio (Baldisserotto, 2002). O compromisso entre a captação de oxigênio e a temperatura, no que diz respeito ao ambiente aquático parece ser determinante nas modificações na morfologia branquial observadas neste estudo, em que os animais mantidos em altas temperaturas mostraram um grande desenvolvimento das lamelas secundárias, o que corrobora o trabalho de Sollid *et al.*, (2003) que observaram o aumento da superfície respiratória, ligada ao desenvolvimento de lamelas secundárias, na ordem de 7,5 vezes em carpas aclimatadas a altas temperaturas.

Os animais mantidos na menor temperatura testada por sua vez mostraram a presença de uma massa de células localizada entre as lamelas branquiais (MCI), sendo que este aspecto, segundo Nilsson, (2007) mostra-se como um ajuste fisiológico utilizado por animais que vivem em normóxia a baixas temperaturas que auxiliaria a diminuição do influxo de água e conseqüentemente a perda de íons nestes animais. Sollid *et al.*, (2003) mostraram o aumento de aproximadamente 50% de IMC em carpas (*Carassius carassius*) mantidas a 8°C na comparação com 12°C. No presente estudo, aos 15 dias de experimento crônico, observou-se a total extinção das lamelas secundária, fato que pode ter causado a morte dos animais neste tratamento, já que esta estrutura é a principal responsável pela captação de oxigênio. A presença de aneurisma lamelar, histopatologia considerada grave, no grupo mantido a 17°C é uma

característica muito observada em estudos ecotoxicológicos (Correia, 2008), porém nenhuma ligação com aclimação a temperatura foi encontrada na literatura.

Como já discutido anteriormente alguns fenômenos fisiológicos em peixes são altamente dependentes da temperatura e do consumo de oxigênio (Becker *et al.*, 1992), dentre eles fatores imunitários, de crescimento e ligados ao metabolismo energético (Metz *et al.*, 2003). Também fazem parte desta gama de processos a osmorregulação, envolvendo bombas iônicas branquiais, que são extremamente sensíveis à temperatura. A principal e mais estudada bomba em animais de água doce é a Na^+/K^+ -ATPase, localizada nas células de cloreto do epitélio branquial (Evans, 2002).

No presente estudo observamos, para os animais mantidos nas menores temperaturas, o aumento da atividade desta enzima nos animais expostos ao tratamento agudo, quando comparados com os animais mantidos nas maiores temperaturas, resultados corroborados pelo trabalho de Metz *et al.*, (2003) que mostraram 2 vezes mais atividade da Na^+/K^+ -ATPase em brânquias de carpa comum (*Cyprinus carpio*) mantidas em 15°C na comparação com os grupos 22 e 29°C. Este aumento da atividade da Na^+/K^+ -ATPase pode estar ligado ao aumento do número de células de cloreto tecidual, e conseqüentemente no número de enzimas ligadas às membranas destas células, o que já foi demonstrado em espécies aclimatadas em baixas temperaturas, como é o caso de *Micropterus salmoides* (Leino e McCormick, 1993), *Cyprinus carpio* (Metz *et al.*, 2003), *Anguilla anguilla* (Dunel-Erb *et al.*, 1996) e *Alosa sapidissima* (Zydlewski e McCormick, 2001).

As análises dos animais mantidos a 12°C no tratamento crônico no 15º dia experimental mostraram um aumento de 58% na atividade de Na^+/K^+ -ATPase em relação ao 1º dia de experimento, resultado que pode estar diretamente ligado ao aumento de expressão gênica desta enzima, o que compensaria a inativação temperatura- dependente que ocorre naturalmente em ectotermos mantidos a baixas temperaturas (Hochachka e Somero, 2002),

O método de medição da atividade da Na^+/K^+ -ATPase neste trabalho foi todo realizado a 37°C, conforme descrito na metodologia empregada (Else *et al.*, 1999), o que pode dificultar a análise fisiológica, já que o aumento de expressão que pode ser deduzido pelo aumento da atividade de 12°C não necessariamente pode significar um aumento real em atividade, o que somente seria verificado com o emprego deste método nas temperaturas reais de aclimação.

Tem sido largamente demonstrado na literatura a íntima ligação entre a atividade de enzimas ligadas à membrana, como é o caso da Na^+/K^+ -ATPase, e o grau de fluidez das mesmas, mediado pelo tipo e quantidade de ácidos graxos insaturados; pela mistura de espécies moleculares compreendidas numa determinada classe de fosfolípido; pelo tamanho, hidrofobicidade e carga das cabeças polares dos fosfolípidos; pelo balanço entre a estabilidade bilateral e a desestabilização dos lípidos; além da proporção de plasmalogênios e a razão da quantidade de moléculas de colesterol inseridas na membrana (Hazel, 1984), sendo que todas estas mudanças estruturais podem afetar diretamente a os fluxos de osmólitos nos tecidos osmorregulatórios (Evans e Claiborne, 2006).

Neste trabalho foi possível verificar que para o tecido branquial, na fração fosfatidilcolina, os animais do grupo mantido a 17°C nos dois tratamentos empregados mostrou um aumento na porcentagem de ácidos graxos insaturados nas membranas celulares e redução na porcentagem de ácidos graxos saturados. Este fenômeno é conhecido como aclimação homeoviscosa e descreve a manutenção da fluidez de membrana quando o animal é imposto a desafios ambientais (Buda *et al.*, 1994; Lemieux *et al.*, 2008).

Porém, quando analisamos o padrão de distribuição dos ácidos graxos polinsaturados na fração fosfatidiletanolamina, para os animais mantidos nas menores temperaturas testadas foi possível verificar a diminuição das porcentagens com o decorrer do experimento, fato que pode ter causado uma diminuição da fluidez das membranas nos dois casos, mas que pode ter sido contornado pelo aumento de PUFA na fração fosfatidilcolina em 17°C e não pelo grupo mantido a 12°C , que então foi exposto a condições não sustentáveis do ponto de vista fisiológico, ocasionando estresse, que segundo Schreck, (2010) apresenta-se como um evento de cascatas fisiológicas que ocorrem quando o organismo está tentando resistir a morte ou restabelecer a homeostase frente a uma injúria. Sob estresse constante intenso, a resposta fisiológica pode perder seu valor adaptativo e tornar-se disfuncional, acarretando danos permanentes à saúde e bem estar (Carmichael, 1984), o que pode ser observado nos grupos mantidos a 12°C que tiveram sua estrutura branquial alterada de modo tão drástico a ponto de causar a morte dos animais.

Deste modo é possível compilar os principais resultados descritos e discutidos em alguns itens principais:

- 1- A manutenção dos animais a 17°C desencadeou o aumento de PUFA nos dois tratamentos em FC;
 - 2- Curiosamente FE apresentou em 17 e 12°C aumento de SAT no tratamento agudo, e diminuição de PUFA no tratamento crônico;
 - 3- Injúrias observadas nas análises histomorfológicas advém dos grupos mantidos em 17 e 12°C em tratamento crônico;
- A atividade da Na⁺K⁺ATPase mostrou-se aumentada para as menores temperaturas e diminuída para 30 e 24°C no tratamento agudo.

Em conjunto os resultados mostram que os dois tratamentos ocasionaram respostas reativas no tecido branquial, tanto nos padrões morfológicos quanto na reestruturação das membranas e consequente modulação da atividade da Na⁺/K⁺-ATPase, possivelmente devido às alterações no perfil de ácidos graxos dos fosfolípidos analisados.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem à CESP e seus funcionários pelo auxílio na manutenção e transporte dos animais, ao pós-doutorando Renato M. Honji pelo auxílio nas análises histomorfológicas e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro, Processo- 2008/53966-1 (bolsa de doutorado) e 2008/57687-0 (Auxílio-Projeto Temático).

6. Referências Bibliográficas

- Baldisserotto, B. 2002. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 1º edição Ed. UFSM: Rio Grande do Sul. 211p.
- Becker, K., Meyer-Burgdorff, K., Focken, U. 1992. Temperature induced metabolic costs in carp *Cyprinus carpio* L., during warm and cold acclimatization. J. Appl. Ichthyol. 8, 10-20.
- Brasil., 2004. Instrução normativa N° 05 de 21 de maio de 2004. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Ministério do Meio Ambiente.
- Buda, C., Dey, I., Balogh, N., Horvath, L.I., Maderspach, K., Juhasz, M., Yeo, Y.K., Farkas, T., 1994. Structural order of membranes and composition of phospholipids in fish brain cells during thermal acclimatization. PNAS. 91, 8234–8238.
- Burgess, W.E. 1989. An atlas of freshwater and marine catfishes. A preliminary survey of the Siluriformes. T.F.H. Publications: New Jersey.784p.

- Carmichael, G.J. 1984. Long as distance truck transport of intensively reared largemouth bass. *Progr. Fish. Cult.* 46, 11-115.
- Correia, T.G. 2008. Influência do alumínio e do pH ácido sobre a fisiologia reprodutiva de peixes teleósteos continentais. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo IB-USP. 204p.
- Dunel-Erb, S., Sebert, P., Chevalier, C., Simon, B., Barthelemy, L. 1996. Morphological changes induced by acclimation to high pressure in the gill epithelium of the freshwater yellow eel. *J. Fish. Biol.* 48,1018-1022.
- Else, P.L., Wu, B.J. 1999. What role for membranes in determining the higher sodium pump molecular activity of mammals compared to ectotherms? *J. Comp. Physiol. (B)* 169, 296–302.
- Evans, D.H., Claiborne, J.B. 2006. *The physiology of fishes*. Third edition. Ed. Taylor & Francis: Florida- USA. 601 pp.
- Evans, D.H. 2002. Cell signaling and ion transport across the fish gill epithelium. *J. Exp. Zool.* 293, 336-347.
- Folch, J. , Less, M. , Stanley, G.H.S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226,497-503.
- Hazel, J.R. 1984. Effects of temperature on the structure and metabolism of cell membranes in fish. *Am. J. Physiol.* 246, 460–470.
- Helmuth, B., Kingsolver, J.G., Carrington, E. 2005. Biophysics, physiological ecology, and climate change: does mechanism matter? *Annu. Rev. Physiol.* 67, 177-201.
- Hochachka, P.W., Somero, G.N. 2002. *Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution*. Oxford University Press: Oxford. 466p.
- Honji, R. M., Caneppele, D., Hilsdorf, A. W., Moreira, R.G. 2009. Threatened fishes of the world: *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877). *Environ. Biol. Fish.* 85, 207-208.
- Houghton, J.E.T., ding, Y., Griggs, D.J., Noguier, M., Van-Der-Linden, P.J., Maskell, K., Johnson, C.A. 2001. *Climate change: The scientific basis*. Cambridge University Press: Cambridge. 881p.
- Kitson, G, Larsen, B.S., Mcewen, C.N. 1996. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide*, Academic Press: New York. 352p.
- Leino, R.L., McCormick, J.H. 1993. Responses of juvenile largemouth bass to different pH and aluminum levels at overwintering temperatures: effects on gill morphology,

- electrolyte balance, scale calcium, liver glycogen, and depot fat. *Am. J. Zool.* 71, 531-543.
- Lemieux, H., Blier, P.U., Tardif, J.C. 2008. Does membrane fatty acid composition modulate mitochondrial functions and their thermal sensitivities? *J. Exp. Biol.* 210, 2403-2409.
- Metz, J.R., Burg, E.H., Bonga, S.E.W., Flik, G. 2003. Regulation of branchial Na⁺ K⁺ ATPase in common carp *Cyprinus carpio* L. acclimated to different temperatures. *J. Exp. Biol.* 206, 2773-2280.
- Nilsson, G.E. 2007. Gill remodeling in fish- a new fashion or an ancient secret? *J. Exp. Biol.* 210, 2403-2409.
- Olson, K.R. 2002. Gill circulation: regulation of perfusion distribution and metabolism of regulatory molecules. *J. Exp. Zool.* 293,320-335.
- Parrish, C. C., 1998. Dissolved and particulate marine classes: A review. *Mar. Chem.* 23, 17-40.
- Pezzato, L.E., Barros, M.M., Fracalossi, D.M., Cyrino, J.E.P. 2004. Nutrição de Peixes. *In: Cyrino, J.E.P., Urbinati, E.C., Fracalossi, D.M., Castagnolli, N.* 2004. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. pp. 75-170. Ed. TecArt: São Paulo.
- Randall, D., Burggren, W., French, K. 2008. *Eckert Fisiologia Animal*. 4^a Edição. Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. 729p.
- Schimdt-Nielsen, K., 2002. *Fisiologia Animal, Adaptação e Meio ambiente*. 5^a Edição. Ed. Santos: São Paulo. 611p.
- Schreck, C.B. 2010. Stress and fish reproduction: The roles of allostasis and hormesis. *Gen. Comp. Endocrinol.* 165,549-556.
- Sollid, J., De Angelis, P., Gundersen, K., Nilsson, G.E. 2003. Hypoxia induces adaptive and reversible gross morphological changes in crucian carp gills. *J. Exp. Biol.* 206, 3667–3673.
- Sollid, J., Kjærnsli, A., De Angelis, P.M., Røhr, A.K., Nilsson, G.E., 2005. Cell proliferation and gill morphology in anoxic crucian carp (*Carassius carassius*). *Am. J. Physiol. Reg. Integr. Comp. Physiol.* 289, R1196–R1201.
- Whiters, P.C., 1992. *Comparative Animal Physiology*. Ed. Saunders College Publishing, 607 pp.
- Zydlewski, J., McCormick, S.D. 2001. Developmental and environmental regulation of chloride cells in young American shad, *Alosa sapidissima*. *J. Exp. Zool.* 290, 73-87.

Anexo 1. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidilcolina branquial de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C					24°C				17°C			12°C	
	Dia 01	Dia 02	Dia 03	Dia 04	Dia 05	Dia 01	Dia 02	Dia 03	Dia 04	Dia 01	Dia 02	Dia 03	Dia 01	Dia 02
C14:0	1,41±0,54	3,44±1,03	1,90±0,01	2,81±0,35	1,81±0,06	2,03±0,43	4,85±1,33	2,34±1,17	2,19±1,00	3,02±0,35	1,98±0,32	2,27±0,39	1,66±0,96	2,36±0,75
C15:0	2,78±0,93	3,94±2,23	0,46±0,15	0,68±0,31	0,64±0,05	0,58±0,03	5,71±2,16	1,21±0,33	0,63±0,31	1,93±0,75	0,67±0,03	0,58±0,19	1,40±0,04	1,21±0,44
C16:0	23,19±0,85	17,30±1,12	21,70±2,37	25,15±0,69	20,37±2,89	23,04±5,07	16,00±2,17	21,22±1,05	15,66±2,62	26,68±2,48	20,84±1,79	16,28±1,03	21,71±0,84	17,44±1,04
C18:0ant.	0,41±0,10	0,56±0,27	1,00±0,02	0,42±0,19	0,54±0,09	0,91±0,22	1,39±0,32	2,62±1,14	1,79±0,79	1,32±0,43	0,61±0,27	1,02±0,10	1,12±0,36	0,14±0,09
C18:0	16,43±3,27	13,44±2,00	11,49±0,64	16,28±2,06	11,07±0,21	15,69±0,86	13,89±1,66	11,20±1,21	16,44±1,11	10,78±1,13	14,03±0,59	17,88±1,25	13,31±0,94	19,78±1,28
C20:0	2,15±0,44	5,74±2,67	3,10±0,05	2,73±0,85	6,64±1,99	3,03±0,84	2,14±0,81	3,06±0,50	2,58±0,69	1,49±0,89	2,08±0,29	5,54±1,34	2,44±0,33	3,33±1,67
C21:0	0,67±0,10	1,92±1,31	1,64±0,01	0,59±0,09	1,01±0,32	1,06±0,14	1,34±0,18	1,49±0,31	3,19±0,56	1,31±0,02	0,43±0,05	1,57±0,05	1,25±0,69	2,06±0,50
C22:0	nd	2,72±0,32	nd	2,25±0,12	0,27±0,01	3,41±0,23	1,44±0,84	1,42±0,12	nd	2,96±0,12	3,74±0,12	3,35±0,24	nd	nd
C23:0	0,36±0,10	0,71±0,13	nd	1,18±0,02	nd	2,19±0,12	0,07±0,01	0,15±0,04	1,29±0,02	1,86±0,12	0,02±0,01	4,20±0,23	nd	nd
C24:0	0,89±0,07	0,86±0,36	1,87±0,06	0,32±0,05	1,19±0,23	3,87±0,23	0,77±0,38	0,84±0,01	1,22±0,03	1,01±0,03	1,29±0,57	0,08±0,01	nd	0,68±0,21
C16:1	3,29±1,21	3,37±0,68	3,56±0,12	3,51±0,73	3,65±0,08	2,66±0,86	2,76±0,98	4,07±0,49	7,18±2,72	5,27±0,97	3,18±0,82	2,63±0,56	4,29±0,94	3,34±0,16
C18:1n9	14,51±3,22	13,22±2,58	18,20±0,02	17,93±3,99	18,17±0,04	13,94±2,54	10,77±2,44	15,71±1,82	13,32±3,14	17,77±3,47	16,45±1,86	7,30±1,11	17,66±1,96	9,16±1,22
C20:1n11	2,63±0,21	6,03±2,49	7,18±2,81	3,85±2,38	5,70±0,96	3,47±1,68	3,60±0,51	2,45±0,51	6,46±2,40	1,85±0,84	3,53±2,42	7,84±0,52	2,07±0,85	10,60±2,42
C22:1	2,49±1,72	1,06±0,18	nd	1,90±0,19	1,06±0,01	0,72±0,01	1,13±0,03	1,89±0,34	nd	1,86±0,14	0,40±0,04	2,67±1,46	2,05±0,02	0,10±0,02
C24:1	0,79±0,12	0,34±0,01	nd	0,80±0,10	0,34±0,02	0,36±0,17	nd	nd	2,59±0,12	1,34±0,12	0,26±0,01	0,38±0,08	1,33±0,10	0,54±0,02
C18:2n6t	5,27±2,23	4,81±2,76	5,65±0,28	4,80±1,60	8,08±1,12	3,99±1,02	3,33±1,38	5,16±0,60	3,64±0,70	4,27±1,98	5,46±0,40	1,83±0,32	6,16±0,39	4,41±0,68
C18:3n6	1,68±1,12	2,42±0,68	3,65±1,15	3,25±1,81	1,42±0,10	9,07±0,53	4,42±1,20	2,60±0,50	4,85±1,72	1,54±0,63	3,04±1,26	4,14±1,45	1,15±0,66	7,11±0,96
C20:3n3	1,17±0,53	0,55±0,09	1,50±0,56	1,37±0,53	1,49±0,23	1,80±1,23	1,09±0,14	2,77±1,12	1,06±0,84	2,01±0,35	0,95±0,20	4,17±2,42	0,78±0,19	1,34±0,57
C20:5n3	1,51±1,09	0,62±0,03	2,04±0,17	1,15±0,37	1,50±0,12	0,45±0,36	5,29±0,23	1,32±0,77	2,54±0,50	0,79±0,31	1,39±0,43	4,31±2,36	2,19±0,82	1,12±0,45
C22:5n3	2,14±0,83	0,76±0,42	nd	0,44±0,22	0,48±0,01	0,20±0,13	1,11±0,28	1,80±0,39	2,80±0,12	3,24±2,18	1,22±0,11	0,27±0,10	0,84±0,64	0,49±0,01
C22:6n3	3,00±1,00	3,05±0,29	3,46±0,89	3,31±1,03	2,42±0,29	2,37±1,56	2,95±1,03	2,97±1,07	1,91±0,82	2,30±1,53	6,32±0,69	4,14±0,12	4,97±1,76	6,18±2,67
C21:5n3	3,47±0,10	1,56±1,06	0,74±0,02	0,76±0,04	0,26±0,02	nd	1,37±0,81	2,76±0,23	1,38±0,82	2,09±0,12	nd	nd	nd	1,55±0,69
C20:2n6	5,57±1,67	5,24±2,44	2,90±0,23	2,08±0,23	1,87±0,12	5,06±2,73	5,29±1,63	4,94±1,16	4,20±1,81	3,03±0,63	4,23±2,35	4,75±2,01	2,64±0,45	7,99±1,14
C20:3n6	1,86±0,23	0,74±0,53	1,44±0,67	2,37±0,27	nd	1,38±0,49	2,32±0,52	0,80±0,17	1,24±0,73	3,00±0,36	1,83±0,33	1,83±0,15	1,92±0,31	1,40±0,23
C20:4n6	1,97±1,04	3,07±0,32	5,41±0,25	3,84±1,02	3,71±0,32	2,85±1,21	2,31±0,55	2,26±0,21	5,68±1,87	4,22±1,44	5,69±0,37	4,92±2,70	7,28±0,24	3,12±0,36
C22:2n6	1,53±0,33	2,94±2,13	1,40±0,02	0,39±0,20	1,71±0,01	5,89±0,23	3,62±0,36	2,98±1,26	nd	2,47±0,23	0,99±0,12	8,11±0,12	1,53±0,90	7,88±0,12
C22:4n6	6,14±0,12	0,96±0,16	nd	0,08±0,01	0,76±0,02		1,37±0,10	0,58±0,44	nd	0,78±0,45	1,32±0,01	2,73±0,03	1,18±0,61	nd
C22:5n6	2,63±0,25	3,47±1,52	1,34±0,13	0,91±0,42	1,36±0,14	1,97±0,52	1,81±0,69	2,65±1,04	3,48±0,02	1,28±0,58	1,26±0,62	2,57±0,69	2,24±0,12	1,16±0,08

Anexo 2. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidilcolina branquial de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EPM)

Ácidos	30°C	30°C	30°C	24°C	24°C	24°C	17°C	17°C	17°C	12°C	12°C
Graxos	Dia 1	Dia 15	Dia 30	Dia 1	Dia 15	Dia 30	Dia 1	Dia 15	Dia 30	Dia 1	Dia 15
C14:0	1,41±0,54	2,29±0,53	1,91±0,20	2,03±0,43	2,00±0,39	1,60±0,61	3,02±0,35	1,99±0,54	2,04±0,53	1,66±0,96	1,92±0,34
C15:0iso	2,78±0,93	0,66±0,15	0,82±0,04	0,58±0,34	1,74±0,66	1,55±0,85	1,93±0,75	0,75±0,28	0,69±0,22	1,40±0,04	0,94±0,22
C16:0	23,19±0,85	18,06±2,10	16,38±1,60	23,04±5,07	13,57±1,81	19,73±4,52	26,68±2,48	13,68±2,09	17,20±2,24	21,71±0,84	17,29±1,74
C17:0	2,89±0,31	1,43±0,53	1,33±0,24	1,94±1,33	1,46±0,44	0,43±0,15	1,21±0,51	1,04±0,43	0,73±0,19	1,15±0,32	1,93±0,70
C18:0anteiso	0,41±0,10	2,47±0,36	0,91±0,28	0,91±0,55	0,91±0,47	2,47±1,83	1,32±0,43	0,86±0,46	1,12±0,06	1,12±0,36	0,53±0,20
C18:0	16,43±3,27	22,96±2,10	18,26±3,88	15,69±0,86	15,53±1,81	18,75±1,55	10,78±1,13	16,76±1,85	15,71±2,34	13,31±0,94	21,73±0,26
C20:0	2,15±0,44	5,68±1,03	4,13±1,45	3,03±0,84	3,59±0,71	2,31±1,00	1,49±0,89	3,37±0,48	2,82±0,38	2,44±0,33	4,12±1,28
C21:0	0,67±0,01	2,11±0,23	nd	1,06±0,14	1,64±0,23	0,98±0,28	1,31±0,25	0,81±0,08	1,10±0,23	1,25±0,69	0,91±0,17
C22:1	2,49±0,72	1,81±0,67	nd	0,72±0,01	1,19±0,18	nd	1,86±0,41	nd	nd	2,05±0,05	0,62±0,16
C23:0	0,36±0,02	nd	0,21±0,03	2,19±0,12	nd	0,92±0,05	1,86±0,15	1,11±0,01	nd	nd	1,08±0,02
C24:0	0,89±0,07	0,41±0,10	nd	3,87±0,25	0,85±0,08	1,03±0,37	1,01±0,08	1,64±0,10	nd	nd	1,14±0,51
C24:1	0,79±0,01	nd	nd	0,36±0,17	0,84±0,02	0,52±0,09	1,34±0,25	1,30±0,18	1,38±0,05	1,33±0,12	1,99±0,77
C16:1	3,29±1,21	2,38±0,67	1,61±0,35	2,66±0,89	3,55±0,38	4,22±0,46	5,27±0,97	3,04±0,48	3,88±0,40	4,29±0,94	2,75±0,87
C18:1n9	14,51±3,22	10,55±1,26	10,91±2,55	13,94±2,54	14,38±3,48	11,36±4,88	17,77±3,47	11,60±3,98	17,34±2,49	17,66±1,96	7,51±1,77
C20:1n11	2,63±0,21	2,53±1,10	8,08±3,76	3,47±1,68	6,76±3,80	8,14±1,04	1,85±0,84	11,25±4,51	4,25±0,71	2,07±0,85	5,94±1,63
C18:2n6t	5,27±0,23	4,81±0,56	4,44±0,38	3,99±1,29	5,24±0,92	6,62±1,25	4,27±1,98	5,50±1,01	5,83±1,20	6,16±0,39	5,31±0,48
C18:2n9	1,68±1,12	3,96±0,72	7,00±0,35	9,07±5,34	4,35±2,20	2,98±1,05	1,54±0,63	7,14±2,46	3,63±0,96	1,15±0,66	6,23±1,03
C20:3n3	1,17±0,53	2,73±0,62	1,89±0,23	1,80±1,05	2,22±0,40	0,99±0,17	2,01±0,35	2,43±0,25	1,85±0,67	0,78±0,19	2,07±0,55
C20:5n3	1,51±1,09	1,21±0,15	2,69±1,88	0,45±0,36	1,46±0,58	3,00±1,40	0,79±0,31	2,07±0,89	4,72±0,70	2,19±0,82	2,74±0,75
C22:5n3	2,14±0,83	1,22±0,49	0,67±0,27	0,20±0,13	0,77±0,29	0,62±0,22	3,24±2,18	1,08±0,62	1,18±0,15	0,84±0,62	0,74±0,02
C22:6n3	3,00±1,00	5,93±2,77	4,41±2,11	2,37±0,15	6,43±1,39	4,04±1,49	2,30±1,53	4,37±1,75	2,23±0,43	4,97±1,76	6,96±1,97
C21:5n3	3,47±0,03	nd	1,24±0,03	nd	1,54±0,21	0,90±0,46	2,09±0,06	0,97±0,23	1,00±0,70	nd	0,23±0,09
C20:2n6	5,57±1,67	2,08±0,42	3,31±0,32	5,06±2,73	2,59±0,87	2,85±1,71	3,03±0,63	1,77±0,53	5,28±1,38	2,64±0,45	5,57±2,08
C20:3n6	1,86±0,01	3,22±1,27	2,41±0,67	1,38±0,49	2,42±1,24	3,41±1,73	3,00±0,36	4,25±1,53	1,25±0,52	1,92±0,31	2,56±0,47
C20:4n6	1,97±1,04	3,44±1,31	2,46±1,45	2,85±1,21	3,36±0,88	3,36±1,04	4,22±1,44	3,69±1,68	3,60±0,40	7,28±0,72	1,81±0,25
C22:2n6	1,53±0,33	1,32±0,42	5,88±0,25	5,89±0,26	2,49±0,89	3,33±1,79	2,47±0,05	1,72±0,20	6,28±0,08	1,53±0,90	5,13±0,06
C22:4n6	6,14±0,25	3,03±0,40	2,76±0,03	3,41±0,58	1,80±0,58	0,96±0,02	0,78±0,45	0,09±0,07	0,18±0,07	1,18±0,61	0,41±0,01
C22:5n6	2,63±0,25	1,86±0,03	2,79±1,03	1,97±0,52	2,17±0,33	nd	1,28±0,58	2,74±1,02	3,75±2,83	2,24±0,12	0,82±0,04

Anexo 3. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidiletanolamina branquial de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento agudo (M± EPM)

Ácidos Graxos	30°C	30°C	30°C	30°C	30°C	24°C	24°C	24°C	24°C	17°C	17°C	17°C	12°C	12°C
	Dia 01	Dia 02	Dia 03	Dia 04	Dia 05	Dia 01	Dia 02	Dia 03	Dia 04	Dia 01	Dia 02	Dia 03	Dia 01	Dia 02
C14:0	2,31±0,76	2,32±0,43	1,91±0,44	2,91±0,67	1,49±0,36	3,10±0,40	2,61±0,64	2,24±0,30	1,09±0,18	2,09±0,37	2,18±1,10	3,71±0,54	0,98±0,29	3,13±1,52
C15:0	1,98±1,53	1,58±0,38	0,70±0,57	1,37±0,58	0,92±0,01	0,39±0,28	0,33±0,12	0,96±0,85	1,39±0,74	1,63±0,94	1,38±0,64	0,18±0,14	2,07±0,60	0,78±0,59
C16:0	18,92±1,60	18,09±5,43	15,60±2,28	22,61±1,95	11,79±2,78	23,50±1,24	19,03±0,80	14,73±4,43	11,72±1,50	12,53±4,03	18,88±1,75	19,19±1,32	12,35±1,01	19,40±4,86
C18:0	13,60±2,76	16,28±0,36	12,47±3,07	11,24±2,61	12,55±2,43	8,48±1,61	10,71±3,58	12,39±3,29	14,44±0,73	13,16±2,18	13,71±4,60	18,22±0,73	12,83±1,22	21,05±6,73
C20:0	1,44±1,18	3,27±0,41	1,49±1,42	0,90±0,65	2,17±1,53	0,15±0,08	0,27±0,07	0,07±0,07	1,10±0,41	0,14±0,08	1,19±1,03	0,19±0,07	0,17±0,17	0,38±0,22
C16:1	3,72±1,84	3,02±0,61	4,14±2,97	6,69±1,87	0,68±0,28	6,54±0,80	8,14±2,81	5,51±0,24	3,85±0,25	0,25±0,14	10,16±2,22	1,02±0,79	1,91±0,22	2,26±1,70
C18:1n9	16,28±1,82	14,68±1,75	14,79±6,28	14,18±0,93	5,09±0,18	15,23±2,62	19,04±1,23	7,68±1,30	8,74±0,39	8,59±2,35	13,36±2,65	7,10±2,83	6,74±0,77	12,94±2,91
C18:1n7	2,72±0,90	1,13±0,25	1,59±1,22	2,76±0,67	0,56±0,05	3,54±0,78	3,34±0,73	0,99±0,60	0,47±2,59	0,81±0,47	1,53±0,26	0,74±0,47	0,56±0,21	1,09±0,28
C18:3n3	3,56±2,12	nd	2,90±1,89	3,32±1,81	1,14±0,27	3,53±1,83	2,59±1,50	1,47±0,25	0,23±0,02	0,48±0,28	1,73±0,58	0,32±0,32	0,32±0,32	nd
C18:4n3	2,68±0,87	3,21±1,09	4,21±1,25	2,59±0,60	4,40±0,56	3,80±0,30	2,56±0,68	3,37±0,76	3,14±0,56	1,92±1,11	1,45±0,28	6,09±1,90	nd	nd
C18:2n6c	nd	2,53±2,48	nd	nd	nd	2,43±0,40	3,44±0,55	3,77±1,04	3,98±0,68	5,89±3,16	1,77±0,37	nd	nd	0,64±0,33
C18:2n6t	4,31±0,63	3,49±1,30	2,66±1,41	4,63±1,40	1,60±0,88	nd	nd	nd	nd	3,35±0,97	4,17±2,28	4,46±0,66	2,73±0,86	2,12±1,03
C18:3n6	0,39±0,02	nd	3,29±1,74	0,41±0,32	4,70±0,90	1,80±1,35	1,09±0,63	2,64±1,14	3,63±0,55	nd	nd	nd	3,58±1,18	11,15±6,89
C20:3n3	1,00±0,36	1,27±0,29	2,65±0,80	1,65±0,33	2,92±0,94	1,27±0,22	2,09±0,43	2,15±0,76	2,17±0,76	0,52±0,30	1,62±0,18	1,91±0,56	2,71±0,82	0,60±0,36
C20:4n3	2,45±0,35	1,57±0,83	1,87±0,81	1,24±0,51	2,37±0,76	2,45±1,26	2,42±0,01	3,06±1,54	1,82±0,90	7,78±3,26	0,82±0,79	3,16±0,51	2,10±1,22	3,72±2,05
C20:5n3	1,52±0,39	0,95±0,53	0,38±0,38	1,11±0,46	4,46±0,25	2,98±0,79	1,19±0,18	2,57±1,34	2,90±1,48	0,37±0,21	1,51±0,31	0,25±0,14	0,40±0,34	2,00±1,41
C22:5n3	2,52±0,67	0,40±0,17	1,80±0,80	2,71±1,27	0,75±0,27	3,44±1,90	3,77±1,72	2,18±2,18	0,35±0,23	0,73±0,42	3,75±1,77	0,49±0,37	1,78±0,34	0,19±0,08
C22:6n3	5,24±0,84	6,48±3,30	6,69±1,46	6,74±1,55	6,85±1,64	8,09±4,67	7,15±1,38	9,87±3,59	3,01±1,11	1,78±1,03	7,46±1,74	1,19±0,36	8,84±3,83	3,82±0,39
C20:2n6	1,48±1,14	2,50±0,89	2,74±1,34	1,87±0,72	9,24±3,00	1,78±1,22	0,80±0,35	3,04±1,16	3,81±0,61	7,64±4,25	2,12±1,93	3,48±1,62	5,53±1,55	1,99±1,52
C20:4n6	3,59±1,64	1,83±0,61	2,86±1,32	1,79±0,60	2,11±0,17	0,84±0,22	2,19±0,89	5,93±2,84	5,10±1,60	3,36±1,94	3,42±2,64	2,79±1,99	6,69±2,16	1,93±0,72
C22:2n6	1,13±1,02	3,44±1,25	0,22±0,02	0,84±0,34	2,56±0,28	0,37±0,11	0,75±0,43	1,01±0,74	3,37±1,08	5,38±3,10	0,50±0,28	2,37±1,26	3,93±1,69	5,52±0,58
C22:4n6	2,26±1,48	1,55±1,34	0,91±0,14	0,43±0,26	1,26±0,14	0,39±0,22	0,99±0,33	2,45±0,91	2,23±0,84	2,59±1,49	1,97±1,43	1,73±0,25	3,93±0,33	1,30±0,26
C22:5n6	0,92±0,25	2,11±0,42	0,74±0,27	1,31±0,58	4,10±2,16	0,70±0,23	0,46±0,13	1,66±0,59	3,26±1,02	0,64±0,37	0,44±0,13	2,01±0,37	3,06±0,43	2,52±0,25

Anexo 4. Perfil de ácidos graxos (%) da fração fosfatidiletanolamina branquial de Surubins do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) durante o tratamento crônico (M± EPM)

Ácidos	30°C	30°C	30°C	24°C	24°C	24°C	17°C	17°C	17°C	12°C	12°C
Graxos	Dia 1	Dia 15	Dia 30	Dia 1	Dia 15	Dia 30	Dia 1	Dia 15	Dia 30	Dia 1	Dia 15
C14:0	2,31±0,76	2,61±0,85	1,17±0,13	3,10±0,40	2,27±0,35	2,55±0,10	2,09±0,37	1,44±0,43	2,40±0,70	0,98±0,29	1,16±0,29
C15:0	1,98±1,53	1,37±0,81	2,21±0,28	0,39±0,28	0,06±0,08	5,78±0,89	1,63±0,94	0,84±0,40	1,32±0,95	2,07±0,60	nd
C16:0	18,92±1,60	22,78±2,67	21,16±1,81	23,50±1,24	15,71±3,25	3,24±0,69	12,53±4,03	17,18±2,52	16,79±7,28	12,35±1,01	10,65±1,43
C18:0	13,60±2,76	17,76±0,87	26,34±9,94	8,48±1,61	13,52±2,67	7,44±0,63	13,16±2,18	17,88±2,23	21,45±3,35	12,83±1,22	16,07±3,95
C20:0	1,44±1,18	1,05±0,81	0,53±0,35	0,15±0,08	0,05±0,01	3,24±1,85	0,14±0,08	0,36±0,05	3,00±1,64	0,17±0,17	0,78±0,57
C16:1	3,72±1,84	nd	0,60±0,26	nd	0,40±0,08	nd	0,25±0,14	4,53±1,97	4,12±1,20	1,91±0,22	1,40±0,21
C18:1n9	16,28±1,82	1,42±0,77	nd	6,54±0,80	2,31±1,08	1,06±0,60	8,59±2,35	11,96±1,79	8,71±0,04	6,74±0,77	4,62±0,66
C20:1n11	0,93±0,30	nd	nd	15,23±2,62	5,86±1,79	7,70±3,99	0,10±0,01	nd	0,09±0,01	nd	0,84±0,36
C16:2n4	0,54±0,16	1,61±0,95	nd	0,84±0,69	0,03±0,03	nd	1,93±0,69	1,58±0,86	nd	1,19±0,52	2,54±0,70
C18:3n3	3,56±2,12	nd	nd	0,56±0,16	0,87±0,72	nd	0,48±0,28	nd	nd	nd	nd
C18:4n3	2,68±0,87	4,66±1,47	2,81±1,08	0,28±0,04	1,16±1,16	nd	1,92±1,11	6,35±1,30	3,61±0,28	4,35±1,74	nd
C18:2n6c	nd	3,78±0,82	1,51±0,34	3,80±0,30	5,49±0,85	3,81±0,27	nd	2,74±1,52	1,70±2,05	0,00±	3,11±1,52
C20:3n3	1,00±0,36	0,80±0,32	2,74±1,91	1,27±0,22	2,14±1,23	2,40±0,62	0,52±0,30	1,97±0,76	1,23±0,30	2,71±0,82	9,56±1,96
C20:4n3	2,45±0,35	0,87±0,59	1,41±0,59	2,45±1,26	2,51±0,95	4,49±0,95	7,78±3,26	2,90±1,37	0,60±0,18	2,10±1,22	nd
C20:5n3	1,52±0,39	nd	1,85±0,42	2,98±0,79	1,16±1,12	0,90±0,02	0,37±0,21	0,16±0,08	1,19±0,72	0,40±0,34	0,18±0,02
C22:5n3	2,52±0,67	0,27±0,12	0,80±0,26	3,44±1,90	1,64±1,23	1,87±0,54	0,73±0,42	0,17±0,02	1,67±0,56	1,78±0,34	0,62±0,46
C22:6n3	5,24±0,84	1,98±0,72	7,12±1,77	8,09±4,67	4,25±0,42	4,16±1,09	1,78±1,03	4,16±2,64	1,13±0,01	8,84±3,83	nd
C20:2n6	1,48±1,14	4,18±0,50	1,56±0,36	1,78±1,22	4,26±1,53	5,16±1,13	7,64±4,25	3,08±1,47	4,56±0,59	5,53±1,55	9,65±2,12
C20:4n6	3,59±1,64	1,52±0,37	1,36±0,62	0,84±0,22	0,52±0,30	4,93±0,47	3,36±1,94	1,81±1,16	5,76±0,75	6,69±2,16	1,16±0,46
C22:2n6	1,13±1,02	2,75±0,70	1,30±0,57	0,37±0,11	8,09±4,03	1,84±0,96	5,38±3,10	7,55±1,81	3,39±0,27	3,93±1,69	5,13±2,87
C22:4n6	2,26±1,48	nd	1,25±0,61	0,39±0,22	0,19±0,19	3,08±0,74	2,59±1,49	0,69±0,60	0,82±1,60	3,93±0,33	nd
C22:5n6	0,92±0,25	2,90±1,40	1,23±0,44	0,70±0,23	2,78±1,40	2,35±0,18	0,64±0,34	1,89±1,05	1,92±0,35	3,06±0,43	nd

CAPÍTULO 5

DISCUSSÃO GERAL

1. Discussão Geral

Virtualmente todos os organismos vivos experimentam uma variável ambiental que, ao extremo, pode debilitar o desempenho fisiológico (Cossins *et al.*, 2002). Todavia os organismos são geralmente não passivos a estas mudanças, exibindo uma gama de ajustes mitigadores a este novo estado (McEwen e Wingfield, 2003). Alterações na fluidez de membrana em resposta a mudanças de fatores abióticos, principalmente flutuações de temperatura, são vistas como resposta primária em animais ectotérmicos impostos a desafios climáticos (Farkas *et al.*, 2001, Hochachka e Somero, 2002).

No presente trabalho foi possível observar que os animais responderam reativamente a mudanças de temperatura de forma aguda e a manutenção em diferentes temperaturas em regime crônico, com alterações significativas em 24 horas de experimento. Como já ressaltado por diversos autores o equilíbrio entre o meio interno e o ambiente é mantido nos seres vivos através de vários “sinais” que são recebidos por canais eferentes específicos, traduzidos e respondidos de forma a sincronizar eventos, buscando a manutenção da espécie. Esta ação responsiva pode se dar de duas maneiras genéricas: a primeira seria a reação a eventos inesperados, resposta esta, reativa e de curto período, enquanto que o segundo tipo já estaria previamente embutido no aparato genético dos grupos, sendo considerada uma resposta programada, constante, que aconteceria de forma preditiva durante toda a vida do animal e elaborada evolutivamente durante a seleção de espécies mais aptas (Mrosovsky, 1990).

Os tecidos utilizados neste trabalho foram escolhidos criteriosamente, o fígado por sua importância na síntese e mobilização de substratos, (Sheridan, 1994), o encéfalo por não apresentar mudanças nos ácidos graxos decorrentes da dieta e por ser um tecido com estrutura de membrana bastante preservado nos vertebrados (Farkas *et al.*, 2001, Mitchell *et al.*, 2007) e as brânquias por serem um órgão multifuncional, que responderia de forma eficaz ao desafio imposto pelo desenho experimental, com reestruturação das membranas e, de forma direta, na modulação da atividade da Na^+K^+ /ATPase, importante bomba responsiva a mudanças estruturais (Wu *et al.*, 2001), e finalmente, este tecido evidenciaria mudanças morfológicas em sua estrutura, demonstrando a capacidade reativa destes animais ao regime de resfriamento (Sollid e Nilsson, 2006).

Duas classes fosfolipídicas foram selecionadas como representantes da estrutura de membrana nos tecidos escolhidos, a fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina, por serem as mais representativas, a primeira perfazendo mais de 50% da estrutura de membrana de todos os tecidos animais e a segunda classe que representa aproximadamente 45% do total de fosfolipídeos no tecido cerebral, ambas as classes apresentam diferenças químicas e no que tange as propriedades físicas, a fosfatidiletanolamina tem a cabeça polar menor, o que dá aos ácidos graxos adjacentes maior poder de rotação, favorecendo a fluidez, enquanto que a fosfatidilcolina apresenta uma cabeça polar maior, o que diminui sua capacidade fluídica (Christie e Han, 2010). Foi possível observar nos resultados dos dois tecidos, maior flutuação de dados na fração fosfatidiletanolamina, o que sucinta a interpretação de favorecimento de mudanças na classe fosfolipídica que mais favorece a fluidez. Porém, esta interpretação somente poderia ser provada com a medição quantitativa das razões PC:PE, que podem se alterar consideravelmente em animais aclimatados a diferentes temperaturas (Hazel, 1995, Farkas *et al.*, 2001).

A composição posicional dos ácidos graxos nas classes fosfolipídicas também pode mostrar de forma eficaz a natureza fluídica da membrana, levando à formação de estruturas com diferentes graus de condensação, juntamente com a reestruturação da composição da cabeça polar das classes dos fosfolipídeos assegurando que os componentes presentes nas células tenham uma conformação ideal dentro das limitações de mudanças climáticas (Dey *et al.*, 1993).

Nas análises realizadas foi possível observar um padrão curioso de posicionamento de ácidos graxos no tecido hepático, com fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina muito similares, com altas porcentagens de ácidos graxos saturados, diferente do tecido encefálico, que corroborando trabalhos da literatura mostraram um posicionamento preferencial de ácidos graxos saturados em *sn*-1 e ácidos graxos monoinsaturados e polinsaturados em *sn*-2 (Roy *et al.*, 1999). Uma comparação geral entre os tratamentos mostra que o teste agudo aparentemente afetou consideravelmente C20-22n3 (FC hepática e *sn*-1 ; FE encefálica e hepática), enquanto que no teste crônico, C20-22n6 foi o grupamento mais afetado (FC e FE hepático em *sn*-2 e *sn*-1), mostrando que o período de exposição em diferentes temperaturas pode desencadear diferentes respostas de remodelamento das membranas celulares. Estes resultados mostram que os animais de ambiente tropical, pouco estudados no âmbito de estruturação de membranas podem apresentar diferentes padrões de distribuição de

ácidos graxos do que já observado exaustivamente para animais de ambiente marinho e clima temperado.

Corroborando a ideia de mobilização do tecido hepático dois resultados podem ser destacados no tratamento agudo; na fração fosfatidilcolina, uma diminuição de ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa em todas as temperaturas com compensação direta pelo aumento dos ácidos graxos saturados, e na fração fosfatidiletanolamina, o comportamento já discutido anteriormente de diminuição de C20-22n3, ácido graxo muito importante na manutenção de fluidez de membranas e aumento destas classes para o tecido encefálico no mesmo período para os grupos 30, 24 e 17°C.

O tecido encefálico mostrou, como já discutido anteriormente altas porcentagens de ácidos graxos polinsaturados na posição *sn*-2 nas duas classes analisadas, o que segundo Farkas *et al.*, (2000) seria indispensável no desenvolvimento de funções cognitivas e capacidade de estímulo elétricos em todos os vertebrados. Além disso, foi verificado para este tecido um aumento dos ácidos graxos monoinsaturados nos animais mantidos a 12°C na posição *sn*-1 da fosfatidiletanolamina durante o tratamento crônico, com diminuição direta dos ácidos graxos saturados, o que reflete-se diretamente na troca de C18:0 por C18:1n9 nesta posição, comportamento que pode ser explicado pela atividade da esteroil-CoA Δ 9 dessaturase, que age acrescentando uma insaturação entre os carbonos 9 e 10 da cadeia de ácidos graxos saturados, convertendo-os em ácidos graxos monoinsaturados, sendo esta uma enzima chave de mudanças nas propriedades físicas da membrana e como resultado final aumentando a fluidez da mesma (Trueman *et al.*, 2000, Pereira *et al.*, 2003, Polley *et al.*, 2003).

A teoria proposta por Hulbert e Else, (2000) a respeito da membrana como marcapasso do metabolismo postula que a composição lipídica das membranas determina a intensidade metabólica característica das espécies através de sua influência na atividade das proteínas inseridas na membrana. A importância das membranas para a função das células é realçada pelo fato de que 20 a 30% do genoma de vários organismos codificam proteínas de membrana e que processos relacionados a estas estruturas representam mais da metade da taxa metabólica basal de mamíferos (Rolfe e Brown, 1997).

Os dados de atividade da Na^+/K^+ ATPase branquial, importante proteína de membrana, mostraram para os grupos mantidos nas menores temperaturas, no tratamento crônico, e em 12°C no tratamento agudo, um padrão de aumento da

atividade com diminuição da temperatura, o que evidenciaria uma reestruturação das membranas, com vistas ao aumento da atividade de proteínas inseridas e, adicionalmente a maior expressão destas proteínas como forma de aumentar o número e conseqüentemente a atividade das mesmas nestas temperaturas. Uma explicação plausível para este aumento de atividade é apresentado na revisão de Gibbs, (1995) que mostra diversos trabalhos em que foi observado que as baixas temperaturas levariam ao estado cristal das membranas e conseqüentemente as bombas necessitariam de uma energia de ativação superior que em estados normais (fase transitória), o que levaria a uma hidrólise maior de ATP para a mesma ativação e conseqüentemente à maior atividade das bombas.

Outros componentes podem estar envolvidos na mudança de atividade da Na^+/K^+ ATPase com a diminuição da temperatura, dentre eles o aumento da síntese de isoenzimas mais ativas, ou a o aumento de volume de moléculas, associados às respostas pós-translacionais e por modificação das enzimas (fosforilação ou modificações de resíduos de carboidratos), além de ligações com outras proteínas, mudanças alostéricas, mudanças na concentração de solutos e nos lipídeos associados (Kaplan, 2002).

A natureza homeostática das funções do organismo se expressa na habilidade de exibir mudanças em resposta a variações externas. O tamanho da maioria dos órgãos, por exemplo, não é fixo e pode mudar em resposta à demanda (Hulbert e Else, 2005). Respostas macroscópicas na estrutura dos órgãos foram observadas durante o experimento, com aumento da massa hepática e modificações significativas na estrutura branquial nas menores temperaturas testadas, ressaltando que a espécie utilizada no trabalho apresentou mudanças macroscópicas em algumas estruturas em resposta à demanda imposta pelo gradiente de temperatura.

A grande mortalidade dos animais no grupo mantido a 12°C no tratamento crônico sucinta a discussão sobre os limites termais para esta espécie, que provavelmente se encontram entre 17°C e 12°C, porém outros trabalhos, com vistas exclusivas para esta proposta precisam ser realizados para estas análises, porém os resultados obtidos mostram que esta temperatura desencadeou mudanças significativas nos tecidos analisados, com mudanças muitas vezes ineficazes, como já explorado no capítulo 3.

Embora sejam importantes outras abordagens, como a quantificação de classes fosfolipídicas, análises físicas da membrana, como a anisotropia e análises moleculares

com vistas à medição de mudanças na expressão gênica de enzimas ligadas ao aumento da fluidez, podemos supor que *Steindachneridion parahybae*, por ser um animal reofílico, que se confronta com mudanças importantes na temperatura da água durante a migração reprodutiva e por apresentar respostas de reestruturação de membranas importantes durante os dois tratamentos aos quais os animais foram expostos, é um modelo importante de estudo de respostas reativas a mudanças de temperatura em ambiente tropical.

2. Referências Bibliográficas

- Christie, W.W., Han, X. 2010. Lipid Analysis - Isolation, Separation, Identification and Lipidomic Analysis. 4th edition Oily Press, Bridgwater, U.K. 446 pp.
- Dey, I., Buda, C., Wiik, T., Halver, J.E., Farkas, T. 1993. Molecular and structural composition of phospholipid membranes in livers of marine and freshwater fish in relation to temperature. PNAS. 7498-7502.
- Farkas, T., Kitajka, K., Fodor, E., Csengeri, L., Lahdes, E., Yeo, Y.K., Kraszna, Z. e Halver, J.E. 2000. Docosahexaenoic acid-containing phospholipids molecular species in brain of vertebrates. PNAS. 67, 19-42.
- Farkas, T., Fodor, E., Kitajka, K., Halver, J.E. 2001. Response of fish membranes to environmental temperature. Aquac. Res. 32, 645-655.
- Gibbs, A. 1995. Temperature, pressure, and the sodium pump: the role of homeoviscous adaptation. In: Biochemistry and Molecular Biology of Fishes. Vol. 5. Hochachka, P.W. Mommsen, T.P. eds. pp. 197-212.
- Hazel, J. R. 1995. Thermal adaptation in biological membranes: Is homeoviscous adaptation the explanation? A. Rev. Physiol. 57, 19-42.
- Hochachka P. W., Somero, G. N. 2002. Biochemical Adaptation: mechanism and process in physiological evolution. Oxford University Press, New York, 466p.
- Hulbert, A.J., Else, P.L. 2000. Mechanisms underlying the cost of living in animals. Annu. Rev. Physiol. 62, 207-235.
- Hulbert, A.J., Else, P.L. 2005. Membranes and the setting of energy demand. J. Exp. Biol. 208, 1593-1599.
- Kaplan, J.H. 2002. Biochemistry of Na,K-ATPase. Annu. Rev. Biochem. 71, 511-535.

- McEwen, B.S., Wingfield, J.C. 2003. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Horm. Behav.* 43, 2-15.
- Mitchell, T.W., Ekrons, K., Blanksby, S.J., Hulbert, A.J., Else, P.L. 2007. Differences in membrane acyl phospholipid composition between an endothermic mammal and an ectothermic reptile are not limited to any phospholipid class. *J. Exp. Biol.* 210, 3440-3450.
- Mrosovsky, N. 1990. *Rheostasis: The Physiology of Change*. Oxford University Press. New York. 192pp.
- Pereira, S.L., Leonard, A.E., Mukerji, P. 2003. Recent advances in the study of fatty acid desaturases from animals and lower eukaryotes. *Prostagl., Leukotr. and EFA.* 68, 97-106.
- Polley, S.D., Tiku, P.E., Trueman, R.T., Caddick, M.X., Morozov I.Y., Cossins, A.R. 2003. Differential expression of cold- and diet-specific genes encoding two carp liver Δ^9 -acyl-coA desaturase isoforms. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 284, R41-R50.
- Rolfe, D.F.S., Brown, G.C. 1997. Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals. *Physiol. Rev.* 77, 731-758.
- Roy, R., Fodor, E., Kitajakta, K., Farkas, T. 1999. Fatty acid composition of the ingest food only slightly affects physicochemical properties of liver total phospholipids and plasma membranes in cold-adapted freshwater fish. *Fish. Physiol. Biochem.* 20, 1-11.
- Sheridan, M.A. 1994. Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, 107: 495-508.
- Sollid, J., Nilsson, G.E. 2006. Plasticity of respiratory structures- Adaptative remodeling of fish gills induced by ambient oxygen and temperature. *Resp. Physiol. Neurobi.* 154, 241-251.
- Trueman, R.J., Tiku, P.E., Caddick, M.X., Cossins, A.R. 2000. Thermal thresholds of lipid restructuring and delta (9)-desaturase expression in the liver of carp (*Cyprinus carpio* L.) *J. Exp. Biol.* 203, 641-650.
- Wu, B.J., Hulbert, A.J., Storlien, L.H., Else, P.L. 2004. Membrane lipid and sodium pumps of cattle and crocodiles: an experimental test of the membrane pacemaker theory of metabolism. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Physiol.* 287, R633-R641.