

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 15/07/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

WELITON VILHALBA DA SILVA

**DANOS FISIOLÓGICOS CAUSADOS PELA TEMPERATURA E O POSSÍVEL
PAPEL MITIGADOR DA TAURINA**

Jaboticabal-SP

Julho de 2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**DANOS FISIOLÓGICOS CAUSADOS PELA TEMPEREATURA E O POSSÍVEL
PAPEL MITIGADOR DA TAURINA**

Weliton Vilhalba da Silva

Orientadora: Prof^a. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati

Co-orientadora: Dra. Camila de Fátima Pereira de Faria

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Jaboticabal-SP

Julho de 2024

V711d	Vilhalba, Weliton da Silva Danos fisiológicos causados pela temperatura e o possível papel mitigador da taurina : respostas fisiológicas à exposição aguda e crônica do pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) à baixa temperatura e sua modulação pela suplementação de dietas com taurina / Weliton da Silva Vilhalba. -- Jaboticabal, 2024 80 p. : tabs., fotos Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal Orientadora: Elisabeth Criscuolo Urbinati Coorientadora: Camila de Fátima Pereira de Faria 1. Aminoácidos na nutrição. 2. <i>Piaractus mesopotamicus</i>. 3. Estresse. 4. Ação antioxidante. 5. Sistema imunológico. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Suplementação de dietas com taurina para *Piaractus mesopotamicus* e respostas fisiológicas a desafios de estresse agudo e crônico causado por exposição a baixa temperatura

AUTOR: WELITON VILHALBA DA SILVA

ORIENTADORA: ELISABETH CRISCUOLO URBINATI

COORIENTADORA: CAMILA DE FÁTIMA PEREIRA DE FARIA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências, área de Aquicultura, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ELISABETH CRISCUOLO URBINATI (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV/Unesp, Jaboticabal-SP

Prof. Dr. FABIANO BENDHACK (Participação Virtual)
Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná / UFPR, Pontal do Paraná-PR

Profa. Dra. CLAUCIA APARECIDA HONORATO DA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Aquicultura / UFGD, Dourados-MS

Jaboticabal, 15 de julho de 2024

APOIO FINANCEIRO

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado, processo número 130951/2022-6.

SUMÁRIO

1	Aquicultura e os fatores do ambiente de criação considerados estressores -----	6
2	Estresse em peixes -----	7
3	Sistema imune -----	8
4	Sistema antioxidante/estresse oxidativo -----	10
5	Impactos da temperatura na fisiologia dos peixes e na produção -----	11
6	Taurina-----	12
7	Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) como modelo biológico-----	14
8	Referências -----	17
1	Introdução -----	33
2	Materiais e métodos-----	35
2.1	Protocolo experimental -----	35
2.1.1	Qualidade da água-----	36
3	Análises laboratoriais-----	37
3.1	Biomarcadores de estresse -----	38
3.2	Biomarcadores de imunidade inata -----	38
3.3	Avaliações hematológicas-----	39
3.4	Biomarcadores do sistema antioxidante e estresse oxidativo -----	40
3.4.1	Atividade da enzima superóxido dismutase -----	40
3.4.2	Atividade da enzima catalase-----	40
3.4.3	Atividade da enzima glutational peroxidase -----	40
3.4.4	Atividade da enzima glutational S-transferase-----	41
3.4.5	Concentração hepática da glutational reduzida (GSH) -----	41
3.4.6	Peroxidação lipídica -----	41
3.5	Biomarcadores metabólicos sanguíneos-----	41
3.5.1	Concentração plasmática de triglicérides -----	41

3.5.2	Concentração sérica de colesterol-----	42
3.5.3	Concentração plasmática de proteína total -----	42
3.6	Biomarcadores teciduais-----	42
3.6.1	Perfil lipídico tecidual (fígado e músculo) -----	42
3.6.2	Concentração hepática de proteínas totais -----	43
3.6.3	Concentração hepática de glicogênio -----	43
3.7	Indicadores do desempenho zootécnico (ganho de peso; taxa de crescimento específico e conversão alimentar) -----	44
3.7.1	Ganho de peso (GP)-----	44
3.7.2	Taxa de crescimento específico (TCE)-----	44
3.7.3	Conversão alimentar (CA)-----	44
3.8	Índices morfométricos -----	45
4	Análise estatística -----	45
5	Resultados-----	46
5.1	Biomarcadores de estresse (concentrações plasmáticas de cortisol e glicose)46	
5.2	Biomarcadores de imunidade inata (Atividade respiratória dos leucócitos (ARL), Atividade hemolítica do sistema complemento (AHC), concentração sérica da lisozima) 46	
5.2.1	Atividade respiratória de leucócitos (ARL) -----	46
5.2.2	Atividade hemolítica do sistema complemento (AHC)-----	46
5.2.3	Concentração sérica de lisozima -----	47
5.3	Contagem de eosinófilos, linfócitos, neutrófilos e monócitos circulante-----	48
5.4	Biomarcadores do sistema antioxidante (SOD, CAT, GPx, GST, GSH, LPO) 49	
5.4.1	Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) -----	49
5.4.2	Atividade da enzima glutationala peroxidase (GPx) -----	49
5.4.3	Atividade da enzima glutationala-S-transferase (GST)-----	49
5.4.4	Concentração da glutationala reduzida (GSH) -----	50

5.5	Biomarcadores metabólicos (concentração plasmática de triglicerídeos, sérica de colesterol e proteína total)-----	51
5.5.1	Concentração plasmática de triglicerídeos -----	51
5.5.2	Concentração sérica de colesterol-----	51
5.5.3	Concentração plasmática de proteína total -----	51
5.6	Biomarcadores teciduais (concentração de lipídeo hepático e muscular, concentração de proteína hepática, concentração de glicogênio hepático) -----	52
5.6.1	Concentração de lipídeo hepático e muscular-----	52
5.6.2	Concentração de proteína total hepática -----	52
5.6.3	Concentração de glicogênio hepático -----	53
5.7	Indicadores de desempenho (Peso médio final, ganho de peso, taxa de crescimento específica, conversão alimentar)-----	53
5.8	Indicadores morfométricos (IHS e IGVS) -----	54
6	Discussão-----	56
7	Conclusão -----	61
8	Referências -----	62

LISTA DE FIGURAS

Figura I. Esquema demonstrativo do período dos peixes em diferentes temperaturas e momento de cada amostragem.....	36
Figura II. Concentração de cortisol (A) e glicose (B) do plasma no sangue de juvenis de pacu alimentados por 43 dias.	46
Figura III. Atividade Respiratória dos Leucócitos (ARL) (A) do sangue com heparina, Atividade Hemolítica do sistema Complemento (AHC) (B) do soro do sangue e concentração sérica de lisozima (C) do soro do sangue sem anticoagulante de juvenis de pacu alimentados por 43 dias.	47
Figura IV. Número de Neutrófilos (A), Eosinófilos (B), Monócitos (C) e Linfócitos (D) circulantes no sangue em juvenis de pacu alimentados por 43 dias.....	48
Figura V. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), glutathione peroxidase (GPx) (C) e glutathione-S-transferase (GST) (D) no fígado de juvenis de pacu alimentados por 43 dias.....	50
Figura VI. Concentração da glutathione reduzida (GSH) (A) e determinação da peroxidação lipídica (LPO) (B) no fígado de juvenis de pacu alimentados por 43 dias.....	51
Figura VII. Concentração de triglicerídeos no plasma (A), concentração de colesterol no soro (B) e proteína plasmática (C) de juvenis de pacu alimentados por 43 dias.....	52
Figura VIII. Concentração de lipídeo hepático (A), muscular (B), concentração de proteína total hepática (C) e concentração de glicogênio hepático (D) de juvenis de pacu alimentados por 43 dias.....	53
Figura IX. Índice Hepatossomático (IHS) (A) e Índice Gordura Viscero-somático (IGVS) (B) em juvenis de pacu alimentados por 43 dias.	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Qualidade da água do sistema de recirculação de pacus alimentados com diferentes porcentagens de taurina na ração.....	37
Tabela 2. Desempenho produtivo do <i>P. mesopotamicus</i> alimentados com dietas suplementadas de taurina por 43 dias.....	54

RESUMO

Uma série de estressores em um sistema de cultivo de peixes pode levar o animal a uma condição de vulnerabilidade, ativando uma sequência de reações metabólicas e do sistema imunológico, que impõem uma sobrecarga no sistema de produção de energia e afetam o equilíbrio redox celular. Em caso de se ultrapassar a capacidade de ajuste do organismo, pode ocorrer danos oxidativos em diferentes estruturas celulares, o que se reflete em vários sistemas biológicos e na qualidade de vida dos peixes, com prejuízo para a produção. A suplementação da dieta com substâncias que previnam ou reduzam o impacto do estresse nos diferentes sistemas afetados é uma estratégia que deve ser testada quanto aos potenciais benefícios que pode promover. Desta forma, esse trabalho avaliou se a suplementação de taurina (TAU) em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) possui efeito protetor ou remediador de efeitos causados no sistema de estresse, da imunidade e do sistema antioxidante dos peixes expostos à baixa temperatura, de forma aguda e crônica, bem como uma melhora na resposta de desempenho dos peixes alimentados com suplementação de TAU. Um total de 84 pacus jovem ($122,23 \pm 41,17\text{g}$ e $23,01 \pm 17,95\text{cm}$, média $\pm$ DP) foi alimentado com ração suplementada de TAU (1; 2 e 4 % de taurina/kg ração) por 43 dias, quando foram mantidos a 28 °C, seguido de exposição por 24 horas e 7 dias a 16 °C. Os indicadores de respostas metabólicas, de estresse, da imunidade e do sistema antioxidante foram avaliados no sangue e tecidos (fígado e músculo). Os resultados encontrados mostram que a suplementação de 2% TAU proporcionou maiores concentrações de cortisol nos peixes, entre os tratamentos, após exposição crônica ao frio. Os peixes de todos os tratamentos apresentaram aumento da glicose frente a cronicidade estressora. A suplementação dietética de 1 e 2 % TAU proporcionou diminuição da atividade respiratória dos leucócitos (ARL) frente ao estressor de forma aguda, no entanto, apenas com suplementação de 2% TAU manteve baixo os valores de ARL nos peixes após a cronicidade estressora. A atividade hemolítica do sistema complemento (AHC) nos peixes não teve um padrão claro de resposta, no entanto a taurina suplementada em 2% proporcionou maior AHC nos peixes após 43 dias de alimentação e maior atividade nos peixes alimentados com suplementação de 1% TAU após a cronicidade estressora. A concentração de lisozima foi maior nos peixes alimentados com suplementação de 2% TAU após 43 dias de alimentação, comparados aos peixes da dieta controle. O sistema antioxidante dos peixes foi ativado após estresse térmico a 16°C e a suplementação com TAU modulou, cronicamente, o sistema antioxidante da superóxido dismutase (SOD), glutational peroxidase (GPx) e glutational

reduzida (GHS) com suplementação de TAU (2%, 1%, 2% e 4%, respectivamente) dos peixes após estímulo estressor térmico. A suplementação de 1% TAU promoveu o melhor desempenho de crescimento e de aproveitamento do alimento pelos peixes, assim como os níveis suplementares de 2% e 4% TAU aumentou o percentual de ganho de peso dos peixes. Concluindo assim que a exposição crônica do pacu a 16°C se mostrou promotor de estresse nos peixes, considerando o perfil das concentrações sanguíneas de glicose. A taurina ativou agudamente o sistema complemento e modulou o sistema antioxidante. Bem como a suplementação de TAU demonstrou melhorar o desempenho dos peixes.

Palavras-chave: aminoácido na nutrição; pacu; estresse; sistema antioxidante; sistema imune; homeostase.

ABSTRACT

A series of stressors in a fish farming system can lead the animal to a vulnerable condition, activating a sequence of metabolic and immune system reactions, which impose an overload on the energy production system and affect cellular redox balance. If the organism's ability to adjust is exceeded, oxidative damage can occur in different cellular structures, which is reflected in various biological systems and in the quality of life of fish, with harm to production. Supplementing the diet with substances that prevent or reduce the impact of stress on the different affected systems is a strategy that should be tested for the potential benefits it can promote. Thus, this work evaluated whether taurine (TAU) supplementation in diets for juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) has a protective or remedial effect on the effects caused on the stress system, immunity and antioxidant system of fish exposed to low temperature, acutely and chronically, as well as an improvement in the performance response of fish fed with TAU supplementation. A total of 84 young pacus ($122.23 \pm 41.17\text{g}$ and $23.01 \pm 17.95\text{cm}$, mean $\pm$ SD) were fed TAU-supplemented feed (1, 2 and 4% taurine/kg feed) for 43 days, when they were kept at 28 °C, followed by exposure for 24 hours and 7 days at 16 °C. Indicators of metabolic responses, stress, immunity and the antioxidant system were evaluated in blood and tissues (liver and muscle). The results found show that 2% TAU supplementation provided higher concentrations of cortisol in fish, between treatments, after chronic exposure to cold. Fish from all treatments showed an increase in glucose in the face of chronic stress. Dietary supplementation of 1 and 2% TAU provided a decrease in the respiratory activity of leukocytes (ARL) in the face of the stressor in an acute form, however, only 2% TAU supplementation maintained low ARL values in fish after the chronic stressor. The hemolytic activity of the complement system (AHC) in fish did not have a clear pattern of response, however taurine supplemented at 2% provided greater AHC in fish after 43 days of feeding and greater activity in fish fed with 1% TAU supplementation after stressful chronicity. Lysozyme concentration was higher in fish fed with 2% TAU supplementation after 43 days of feeding, compared to fish on the control diet. The fish antioxidant system was activated after heat stress

at 16°C and TAU supplementation chronically modulated the antioxidant system of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and reduced glutathione (GHS) with TAU supplementation (2 %, 1%, 2% and 4%, respectively) of fish after thermal stressor stimulation. The 1% TAU supplementation promoted better growth performance and food utilization by the fish, just as the supplemental levels of 2% and 4% TAU increased the percentage of fish weight gain. Concluding that the chronic exposure of pacu to 16°C proved to promote stress in fish, considering the profile of blood glucose concentrations. Taurine acutely activated the complement system and modulated the antioxidant system. As well as TAU supplementation has been shown to improve fish performance.

Kay words: amino acid in nutrition; pacu; stress; antioxidant system; Imune system; homeostasis.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

1 Aquicultura e os fatores do ambiente de criação considerados estressores

A produção de peixes vem se intensificando a cada novo ano, em todo o mundo. No Brasil, a produção foi 887.029 toneladas em 2023 e, só o estado de São Paulo participou com um total de 75.700 toneladas. As espécies nativas atingiram um total de 263.479 toneladas no mesmo ano (PeixeBR, 2024). Os peixes nativos têm tido um papel significativo no desenvolvimento da aquicultura no país, pois nos últimos anos houve um número crescente na produção e na pesquisa nacional, priorizando essas espécies (Saint-Paul, 2017; Valenti *et al.*, 2021).

Apesar da intensificação no cultivo ser benéfica para os produtores aumentando a produtividade, em criações intensivas de peixes, inúmeros fatores, de diferentes naturezas, são considerados estressantes. Podendo ser de natureza química como variações de oxigênio dissolvido na água, concentração elevada de amônia e nitrito decorrente da degradação de matéria orgânica e presença de poluentes orgânicos e inorgânicos (Costa *et al.*, 2004) ou de natureza física como manuseio, altas densidades de estocagem, confinamento, variação na temperatura da água, captura ou transporte (Urbinati *et al.*, 2004b; Baldisseroto, 2009; Diniz & Honorato, 2012; Leira *et al.*, 2017). O estresse é o principal fator que tem causado prejuízo econômico nas pisciculturas, uma vez que interfere na homeostase biológica, afetando o metabolismo e a imunidade e, conseqüentemente, o desempenho dos peixes, que seja em relação ao crescimento, reprodução e imunidade (Wendelaar Bonga, 2011).

A exposição dos peixes aos diferentes estressores pode ser tanto rápida e intensa (aguda) quanto prolongada e contínua (crônica) e é um evento frequente e inevitável na rotina de uma piscicultura (Barcellos *et al.*, 2018). Enquanto a resposta de estresse desenvolve um mecanismo adaptativo diante de ameaças agudas e de curto prazo, a exposição contínua ou crônica ao estressor pode resultar em danos ao sistema de defesa, crescimento e capacidade reprodutiva dos peixes (McEwen, 2007; Russell & Lightman, 2019; Bienertova-Vasku *et al.*, 2020; Lu *et al.*, 2021).

Os peixes absorvem o oxigênio dissolvido na água por meio de trocas gasosas nas brânquias. Para a maioria das espécies de peixes tropicais, é crucial que a concentração mínima de oxigênio dissolvido na água seja superior a 4 mg/L, quando expostos a concentrações inferiores por períodos prolongados, os peixes enfrentam estresse (Leira *et al.*, 2017b). Concentração de resíduos nitrogenados como amônia ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$) e nitrito (NO_2^-) que são os principais produtos de excreção derivados do metabolismo de proteínas da dieta, podem

alcançar níveis tóxicos em sistemas intensivos mal manejados. A forma tóxica da amônia (NH_3) é eliminada por difusão passiva pelas brânquias dos peixes, no entanto, quando há alta concentração de NH_3 na água do viveiro, reduz o gradiente de concentração entre o meio interno (sangue) e o meio externo (água) e sua eliminação pelos peixes é dificultada, levando a um aumento na concentração interna e consequentes alterações fisiológicas negativas. O nitrito, em concentrações superiores às toleradas pelos peixes, pode afetar a capacidade de transporte de oxigênio, dificultando a ligação de O_2 com a hemoglobina, podendo ocasionar hipóxia ou até anoxia nos peixes (Urbinati *et al.*, 2004b; Oba *et al.*, 2009; Leira *et al.*, 2017a).

7 Conclusão

A exposição crônica do pacu a 16°C se mostrou um fator de estresse, considerando o perfil das concentrações sanguíneas de glicose; causou neutropenia, eosinopenia e linfocitose, sugerindo prejuízo da resposta imune inata.

A suplementação da dieta com taurina ativou agudamente o sistema complemento. O sistema antioxidante foi ativado nos peixes alimentados com suplementação de taurina.

Os peixes alimentados com suplementação de taurina apresentaram o melhor desempenho de crescimento, aproveitamento do alimento e ganho de peso.

8 Referências

- ABRAM, Q.; DIXON, B.; KATZENBACK, B. Impacts of low temperature on the teleost immune system. **Biological**. v. 6, n. 4, p. 39, 2017. <https://doi.org/10.3390/biology6040039>
- ABRAM, Q. H., RODRIGUEZ-RAMOS, T., BOLS, N. C., KATZENBACK, B. A., DIXON, B. Effect of suboptimal temperature on the regulation of endogenous antigen presentation in a rainbow trout hypodermal fibroblast cell line. **Developmental & Comparative Immunology**. v, 100, p. 103–423, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.103423>
- AEBI H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.
- AHMAD, S. M., SHAH, F. A., BHAT, F. A., BHAT, J. I. A., BALKHI, M. H. Thermal adaptability and disease association in common carp (*Cyprinus carpio communis*) acclimated to different (four) temperatures. **Journal of Thermal Biology**, v. 36, p. 492–497, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2011.08.007>
- ALZAID, A.; HORI, T. S.; HALL, J. R.; RISE, M. L.; GAMPERL, A. K. Low-induced changes in stress hormone and steroidogenic transcript levels in cunner (*Tautoglabrus adspersus*), a fish capable of metabolic depression. **Gen Comp Endocrinol**. v. 224, p. 126–135, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.07.007>
- ANDERSON D.P., SIWICKI A.K. Hematologia básica e sorologia para programas de saúde de peixes. In: Shariff M, Arthur JR, Subasinghe RP (eds) Doenças na Aquicultura Asiática II. Manila: Seção de Saúde dos Peixes, Sociedade de Peixes Asiáticos, p. 185–202, 1995.
- ARAUJO, D. D. M., PEZZATO, A. C., BARROS, M. M., PEZZATO, L. E., NAKAGOME, F. K. Hematologia de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 294-302, 2011.
- ASSEFA, A.; ABUNNA, F. Maintenance of Fish Health in Aquaculture: Review of Epidemiological Approaches for Prevention and Control of Infectious Disease of Fish. **Veterinary Medicine International**. v. 2018, n. 1, p. 5432497, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5432497>

AYDOGDU, N.; ERBAS, H.; KAYMAK, K. The antioxidant effects of taurine, melatonin and N-Acetylcysteine in cadmium-induced lung injury. **Trakya Univ. Tip Fak. Derg.** v. 24, p. 43–48, 2007.

BARROS, M. M.; FALCON, D. R.; DE OLIVEIRA ORSI, R.; PEZZATO, L. E.; FERNANDES JR, A. C.; GUIMARÃES, I. G.; SARTORI, M. M. P. Non-specific immune parameters and physiological response of Nile tilapia fed β -glucan and vitamin C for different periods and submitted to stress and bacterial challenge. **Fish & shellfish immunology**, v. 39 n. 2, p. 188-195, 2014.

BARTON, B. A.; MORGAN, J. D.; VIJAYAN, M. M. Physiological and Condition-Related Indicators of Environmental Stress in Fish. **American Fisheries Society**, Bethesda, p. 111–148, 2002.

BEUTLER E, DURAN O, KELLY B.M. Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v. 284, p. 861-882, 1963.

BILLER-TAKAHASHI, J.D.; TAKAHASHI, L.S.; SAITA, M.V.; GIMBO, R.Y.; URBINATI, E.C. Leucocytes respiratory burst activity as indicator of innate immunity of pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Brazilian Journal of Biology**, v.73, n.2, p.425-429, 2013.

DEMERS N. E., BAYNE C. J. **The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout.** *Dev Comp Immunol* 21:363–373, 1997.

CAMEJO, G., WALLIN, B., ENOJÄRVI, M. Analysis of oxidation and antioxidants using microtiter plates. **Free radical and antioxidant protocols**, p. 377-387, 1998.

DONALDSON, M. R.; COOKE, S. J.; PATTERSON, D. A.; MACDONALD, J. S. Cold shock and fish. **Journal of Fish Biology**, v. 73, n. 7, p. 1491-1530, 2018.

ESLAMLOO, K.; FALAHATKAR, B.; YOKOYAMA, S. Effects of dietary bovine lactoferrin on growth, physiological performance, iron metabolism and non-specific immune responses of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). **Fish Shellfish Immunol**, v. 32, p. 976–985, 2012.

FABREGAT, T. E. H. P., RODRIGUES, L. A., NASCIMENTO, T. M., URBINATI, E. C., SAKOMURA, N. K., FERNANDES, J. B. K. Fontes de fibra na alimentação do pacu: desempenho, composição corporal e morfometria intestinal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 1533-1540, 2011.

FALCON, D. R., BARROS, M. M., PEZZATO, L. E., SAMPAIO, F. G., HISANO, H. Physiological responses of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed vitamin C-and lipid-supplemented diets and submitted to low-temperature stress. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 38, n. 2, p. 287-295, 2007.

FARIA, C. F. P., PIEDADE, A. E., URBINATI, E. C. Effect of low water temperature on the stress, innate immune, and antioxidant responses of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, a sub-tropical fish. **Aquaculture International**, v. 31, p. 3297–3310, 2023. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01125-4>

FERNANDES, J. A. C., PEZZATO, L. E., GUIMARÃES, I. G., TEIXEIRA, C. P., KOCH, J. F. A., BARROS, M. M. Resposta hemática de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com colina e submetidos a estímulo por baixa temperatura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1619-1625, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000800001>

FLOHÉ, L. The fairytale of the GSSG/GSH redox potential, **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, n. 5, p. 3139-3142, 2013.

FRINGS, C. S., FENDLEY, T. W., DUNN, R. T., QUEEN, C. A. Improved determination of total serum lipids by the sulfo-phosphovanillin reaction. **Clinical chemistry**, v. 18, n. 7, p. 673–674, 1972.

GONÇALVES, G. S.; RIBEIRO, M. J. P.; VIDOTTI, R. M; SUSSEL, F. R. Taurine supplementation in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **World Aquaculture**, p. 6-10, 2011.

HAN, Y.; KOSHIO, S.; JIANG, Z.; REN, T.; ISHIKAWA, M.; YOKOYAMA, S.; GAO, J. Interactive effects of dietary taurine and glutamine on growth performance, blood parameters and oxidative status of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v. 434, p. 348-354, 2014.

HAVIXBECK, J. J., BARREDA, D. R. Neutrophil Development, Migration, and Function in Teleost Fish. **Biology**, v. 4, p. 715-734, 2015. doi:10.3390/biology4040715

HOPKINS, J.; TUDHOPE, G. R. Glutathione peroxidase in human red cells in health and disease. **British Journal of Haematology**, v. 25, n. 5, p. 563-575, 1973.

ISLAM, M. J.; KUNZMANN, A.; SLATER, M. J. Responses of aquaculture fish to climate change-induced extreme temperatures: a review. **Journal World Aquaculture Soc.** v. 53, n. 2, p. 314–366, 2021. <https://doi.org/10.1111/jwas.12853>

ISLAM, M. J., SLATER, M. J., BÖGNER, M., ZEYTIN, S., KUNZMANN, A. Extreme ambient temperature effects in European seabass, *Dicentrarchus labrax*: Growth performance and hemato-biochemical parameters. **Aquaculture**, v. 522, p. 735093, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735093>

JIA S, LI X, HE W, WU G. Protein-Sourced Feedstuffs for Aquatic Animals in Nutrition Research and Aquaculture. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, 1354: pp. 237-261, 2022. doi: 10.1007/978-3-030-85686-1_12. PMID: 34807445.

KALMAR, B., GREENSMITH, L. Induction of heat shock proteins for protection against oxidative stress. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 61, n. 4, p. 310–318, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.02.003>

KIRON, V. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. **Animal Feed Science and Technology**. v. 173, p. 111-133, 2012.

KLEIN, J. **Immunology**. Massachusetts: Blackwell Scientific Publications. p. 311334, 1990.

KORTET, R.; VAINIKKA, A. Seasonality of Innate Immunity; Evolutionary Aspects and Latest Updates. In: DURAND, M.; MOREL, C. V (Ed.). **New Research on Innate Immunity**. p. 13–45. 2008.

KEEN J.H., HABIG, W.H., JAKOBY, W.B. Mechanism of the several activities of the glutathione S-transferases. **Journal of Biology Chemistry**, v.251, p.6183-6188, 1976.

LI, M.; LAI, H.; LI, Q.; GONG, S.; WANG, R. Effects of dietary taurine on growth, immunity and hyperammonemia in juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* fed all-plant protein diets. **Aquaculture**, v. 450, p. 349-355, 2016.

LI X, ZHENG S, WU G. Nutrition and Functions of Amino Acids in Fish. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, pp. 133-168, 2021. doi: 10.1007/978-3-030-54462-1_8. PMID: 33770406.

LIU, H.; LI, H.W.; XU, Y.J.; SHI, X.G.; ZHU, Z.C. Effects of taurine on growth and nutritional value of carps. **Food Sci. Technology**, v. 8, p. 97, 2006.

LIU, B.; WANG, M. Y.; XIE, J.; XU, P.; GE, X. P.; HE, Y. J.; MIU, L. H.; PAN, L. S. Effects of acute low stress on serum biochemical and immune parameters and liver Hsp70 gene expression in gift strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Acta Ecologica Sinica**. v. 31, p. 4866–4873, 2011.

LIU, C.; ZHANG, W.; JIANG, P.; YV, L.; LU, W. The anti-stress effect of taurine in fish: Assessments based on repeat acute stress and animal individuality. **Aquaculture**, v. 561, p. 738685, 2022.

LIMA, S.G.C., MELO, G.P.H., SANTOS, D.G., NETO, S.G., DUARTE, A.M.C. Modelagem na nutrição de não ruminantes: aspectos gerais, dinâmica de nutrientes, limitações e sistemas de serviços. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 1, p. 114-132, 2020.

LUSHCHAK, V. I., BAGNYUKOVA, T. V. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 1. Indices of oxidative stress. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 143, n. 1, p. 30–35, 2006. <https://doi.org/10.1016/J.CBPC.2005.11.017>

MAGALHÃES, R.; MARTINS, N.; MARTINS, S.; LOPES, T.; DIÁZ-ROSALES, P.; POUSÃO-FERREIRA, P.; PERES, H. Is dietary taurine required for white seabream (*Diplodus sargus*) juveniles? **Aquaculture**, v. 502, p. 296-302, 2019.

MAGOUZ, F. I.; DAWOOD, M. A.; SALEM, M. F.; EL-GHANDOUR, M.; VAN DOAN, H.; MOHAMED, A. A. The role of a digestive enhancer in improving the growth performance, digestive enzymes activity, and health condition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under suboptimal temperature. **Aquaculture**, v. 526, n. March, p. 735388, 2020.

MEZZOMO, N. J.; FONTANA, B. D.; MÜLLER, T. E.; DUARTE, T.; QUADROS, V. A.; CANZIAN, J.; BARCELLOS, L. J. Taurine modulates the stress response in zebrafish. **Hormones and Behavior**, v. 109, p. 44-52, 2019.

MCCORD, J. M., FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). **Journal of Biological chemistry**, v.244, p. 6049-6055, 1969.

MILSTEIN, A.; ZORAN, M.; PERETZ, Y.; JOSEPH, D. Low temperature tolerance of pacu, *Piaractus mesopotamicus*. **Environ Biol Fishes**. v. 58, n. 4, p. 455–460, 2000. <https://doi.org/10.1023/A:1007672401544>

VAN MUISWINKEL, W. B.; VERVOORN-VAN DER WAL, B. The Immune System of Fish. In: WOO, P. T. K. (Ed.). *Fish Diseases and Disorders, Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections*. 2nd. ed. Wallingford: CABI, 2006. p. 678–701.

NUNES, L.T., SALMITO-VANDERLEY, C.S.B., REIS, F.Y.T., NERES, R.W.P., DA SILVA, S.Q. Reprodução de peixes reofílicos nativos do Brasil: fertilização artificial e qualidade da água. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 42, n. 1, p. 15-21, 2018.

PAULA, J. E. D., MORAIS FILHO, M. B. D., BERNARDINO, G., MELO, J. S. C. D., FERRARI, V. A. Estudo da vegetação relacionada com a alimentação do "pacu" (*Colossoma mitrei*-Berg (1895) no Pantanal mato-grossense. **Acta Botanica Brasilica**, v. 2, p. 73-96, 1988.

PASCHKE, K., AGÜERO, J., GEBAUER, P., DIAZ, F., MASCARÓ, M., LÓPEZ-RIPOLL, E., RE, D., CAAMAL-MONSREAL, C., TREMBLAY, N., PÖRTNER, H. O., ROSAS, C. Comparison of aerobic scope for metabolic activity 14 in aquatic ectotherms with temperature related metabolic stimulation: a novel approach for aerobic power budget. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 1438, 2018. doi: 10.3389/fphys.2018.01438

PINTO, W.; FIGUEIRA, L.; SANTOS, A.; BARR, Y.; HELLAND, S.; DINIS, M. T.; ARAGÃO, C. Is dietary taurine supplementation beneficial for gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae? **Aquaculture**, v. 384, p. 1-5, 2013.

PÖRTNER, H. O. Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: **Molecular & Integrative Physiology**, v. 132, n. 4, p. 739-761, 2002. doi:10.1016/S1095-6433(02)00045-4

PRESS, C. M. Immunology of Fishes. In: PASTORET, P. P. et al. (Ed.). **Handbook of Vertebrate Immunology**. San Diego: Academic Press, 1998. p. 3–62.

ROMBENSO, A.; ARAUJO, B.; LI, E. Recent Advances in Fish Nutrition: Insights on the Nutritional Implications of Modern Formulations. **Animals**. v. 12, p. 1705, 2022. <https://doi.org/10.3390/ani12131705>

ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. **Mem. Inst. Butantan**, v. 20, p. 329-334, 1947.

SCHMIDT-NIELSEN, K. Effects of temperature. In: *Animal physiology: adaptation and environment*. 5th Ed. **Cambridge University Press**. p. 217-239, 2002.

THOMPSON, M.; LOCHMANN, R.; PHILLIPS, H.; SINK, T. D. A dietary dairy/yeast prebiotic and flaxseed oil enhance growth, hematological and immunological parameters in channel catfish at a suboptimal temperature (15 C). **Animal**, v. 9, n. 7, p. 1113-1119, 2015.

TRENZADO, C.E.; MORALES, A.E.; PALMA, J.M.; HIGUER, M. Blood antioxidant defenses and hematological adjustments in crowded/uncrowded rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*) fed on diets with different levels of antioxidant vitamins and HUFA. **Comp. Biochem. Physiology**, v. 149, p. 440–447, 2009.

URBINATI, E. C.; GONÇALVES, F. D.; TAKAHASHI, L. S. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Editora da UFMS, v. 2, p. 205-244, 2005.

URBINATI, E. C.; ZANUZZO, F. S.; BILLER, J. D. Stress and immune system in fish, In: *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*. Baldisserotto, B., Urbinati, E.C., Cyrino, J.E.P. (Eds). Chap. 5. Elsevier, Academic Press, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815872-2.00005-1>

VALLADÃO, G. M. R., GALLANI, S. U., PILARSKI, F. South American fish for continental aquaculture. Reviews in **Aquaculture**, v. 10, n. 2, p. 351-369, 2018.

VELMURUGAN, B. K.; CHAN, C. R.; WENG, C. F. Innate-immune responses of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) exposure to acute cold stress. *Journal of Cellular Physiology*, v. 234, n. 9, p. 16125–16135, 2019.

WU, G. Functional amino acids in nutrition and health. *Amino Acids*. Springer, 45: 407–411, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1500-6> 15

WU, G. Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: a paradigm shift in protein nutrition. *Journal of animal science and biotechnology*, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2021.

YUE, Y.R.; LIU, Y.J.; TIAN, L.X.; GAN, L.; YANG, H.J.; LIANG, J.Y.; HE, J.Y. The effect of dietary taurine supplementation on growth performance, feed utilization and taurine contents in tissues of juvenile white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) fed with low-fishmeal diets. **Aquaculture Research**, v. 44, p. 1317–1325, 2013.

ZANUZZO F. S., ZAIDEN S. F., SENHORINI J. Á., MARZOCCHI-MACHADO C. M., URBINATI E. C. *Aloe vera* bath improved physical and humoral protection in breeding stock of matrinxã (*Brycon amazonicus*) after induced spawning. **Fish Shellfish Immunol**, v. 45, p. 132–140, 2015.

ZANUZZO, F. S.; SABIONI, R. E.; MONTROYA, L. N.; FAVERO, G. URBINATI, E. C. *Aloe vera* enhances the innate immune response of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after transport stress and combined heat killed *Aeromonas hydrophila* infection. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 65, p. 198-205, 2017.

ZHOU, T.; GUI, L.; LIU, M.; LI, W.; HU, P.; DUARTE, D. F. C.; NIU, H.; CHEN, L. Transcriptomic responses to low temperature stress in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish Shellfish Immunol**. v. 84, p. 1145–1156, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.10.023>