

Respostas metabólicas e ionoregulatórias de organismos aquáticos da bacia do Rio Preto (Itanhaém/SP) ao aumento de temperatura

Natalia Romano Ferreira dos Santos

São Vicente

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
CAMPUS DO LITORAL PAULISTARespostas metabólicas e ionoregulatórias de organismos aquáticos da
bacia do Rio Preto (Itanhaém/SP) ao aumento de temperatura

Mestranda: Natalia Romano Ferreira dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Rafael Mendonça Duarte

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus do Litoral Paulista, UNESP, para obtenção
do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação
em Biodiversidade de Ambientes Costeiros.

São Vicente

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

S237r

Santos, Natalia Romano Ferreira dos

Respostas metabólicas e ionoregulatórias de organismos aquáticos da bacia do Rio Preto (Itanhaém/SP) ao aumento de temperatura / Natalia Romano Ferreira dos Santos. -- São Vicente, 2023

63 p. : fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, São Vicente

Orientador: Rafael Mendonça Duarte

1. Mudanças do clima. 2. Homeostase iônica. 3. Metabolismo de rotina. 4. Excreção de nitrogênio. 5. COD. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, São Vicente. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento da pesquisa, sem o qual a mesma não seria possível.

Agradeço também ao Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular (LEEM/INPA), onde parte das análises deste trabalho foram realizadas, e ao projeto ADAPTA-II (Adaptações da Biota Aquática da Amazônia), que possibilitou minha estadia em Manaus.

Ao Professor Doutor Rafael Mendonça Duarte, pela orientação em mais um projeto.

Ao Laboratório de Aquicultura Sustentável (LAS) e ao Laboratório de Metabolismo de Plantas (LAMEP), pela disponibilidade da sua infraestrutura.

Aos colegas de laboratório, em especial Thomas e Hugo, que experimentaram o cansaço do trabalho de campo e de laboratório, e seguiram firmes até finalizarmos cada dia.

Aos professores Alessandra, Milene e Fábio, grandes incentivadores de toda minha jornada na UNESP.

As técnicas de laboratório Luciana, Márcia e Cláudia, sem as quais diversos experimentos teriam sido mais difíceis de serem concluídos.

A Nutricon, pelo fornecimento de material para a manutenção dos nossos animais.

Ao Cursinho Caiçara, um dos pontos de luz durante os anos de mestrado e de pandemia.

A Mariane, minha psicóloga, que tornou o caminho muito mais leve de ser traçado.

A Gabriela e Julis, dispostos a participar de experimentos em qualquer momento.

A todos os amigos que fizeram parte desses longos anos de UNESP, em especial a Ana Carolina, que me acompanha desde meu primeiro dia de faculdade até nossas defesas de mestrado, quase juntas.

E agradeço a razão pela qual segui até aqui e continuarei seguindo, que divide comigo todos os resultados, glórias e derrotas. Minha maior companheira e incentivadora, minha mãe Rosalia. As vitórias são nossas. Nós por nós, sempre.

Resumo

O aumento de temperatura nos corpos d'água doce em decorrência de eventos climáticos pode ultrapassar o limite térmico de algumas espécies animais ectotérmicas, causando alterações metabólicas e ionorregulatórias, como nas taxas de consumo de oxigênio, excreção de nitrogênio e fluxo iônico, podendo levar os animais à morte. Além da temperatura alta, rios e riachos possuem diferentes características limnológicas, com ambientes de águas claras e pretas, que apresentam diferenças no pH e na concentração de carbono orgânico dissolvido (COD), o que também interfere no metabolismo animal. A cidade de Itanhaém tem uma rica hidrografia, com rios e riachos de águas pretas e claras, e uma fauna aquática endêmica distribuída em grande parte de seu território, como os camarões *Macrobrachium potiuna* e *Macrobrachium acanthurus* e os peixes *Scleromystax macropterus*, *Scleromystax barbatus* e *Phalloceros reisi*. Assim, este estudo avaliou os efeitos do aumento da temperatura da água de origem sobre as respostas metabólicas e ionoregulatórias dessas espécies, verificando a influência do tipo de água de riachos da bacia do Rio Preto (Itanhaém/SP) sobre essas respostas. O experimento foi realizado em laboratório, separadamente para cada espécie, sendo *M. potiuna*, *S. macropterus* e *P. reisi* em água preta e *M. acanthurus*, *S. barbatus* e *P. reisi* em água clara, utilizando três temperaturas de aclimação, duas de ocorrência nas águas dos riachos (22 °C e 26 °C) e uma reproduzindo a situação de extremo climático do IPCC 2021 (SSP3-7,0) (30 °C), às quais os animais foram submetidos de 4 a 7 dias. O consumo de oxigênio (metabolismo de rotina; MO_2), a excreção de amônia (J_{Amm}), o uso de proteínas e os fluxos líquidos de Na^+ ($J_{Na_{Net}}$) e Cl^- ($J_{Cl_{Net}}$) foram determinados para o tempo de exposição de 2 horas em cada condição experimental de temperatura. O MO_2 de *M. acanthurus* e *P. reisi*, o J_{Amm} das espécies de camarão e de *P. reisi*, o uso de proteínas de *M. acanthurus* e *S. barbatus* e o $J_{Na_{Net}}$ de *S. macropterus* apresentaram aumento, acompanhando o aumento da temperatura. As espécies de água clara *M. acanthurus* e *P. reisi* foram as mais responsivas para todos os parâmetros avaliados em função do aumento de temperatura, exceto $J_{Cl_{Net}}$, o qual não apresentou alterações significativas em nenhuma condição experimental. Esses resultados demonstram que os animais de água clara da bacia do Rio Preto são mais responsivos ao aumento de temperatura, se tornando mais suscetíveis às alterações de regimes térmicos causados por emergências climáticas.

Palavras-chave: Mudanças do clima, homeostase iônica, metabolismo de rotina, excreção de nitrogênio, COD.

Abstract

The increase in temperature in freshwater bodies due to the climatic events may exceed the thermal limit of some ectothermic animal species, causing metabolic and ionoregulatory changes, such as in oxygen consumption rates, nitrogen excretion and ionic flux, which can lead to animals to death. In addition to the high temperature, rivers and streams have different limnological aspects, with clearwater and blackwater environments. These aspects causes differences in pH and dissolved organic carbon (DOC) concentration, and affects the metabolism of animals. Itanhaém city has a rich hydrography, with rivers and streams of clearwater and blackwater, and an endemic aquatic fauna distributed throughout much of its territory, such as the shrimps *Macrobrachium potiuna* and *Macrobrachium acanthurus* and the fishes *Scleromystax macropterus*, *Scleromystax barbatus* and *Phalloceros reisi*. This study aimed to evaluate the effects of increasing the locus water temperature on the metabolic and ionoregulatory responses of these species, verifying the influence of the type of water in the streams of the Rio Preto basin (Itanhaém/SP) on these responses. The experiment was realized in laboratory environment, separated for each species, with sampling and procedures occurring in blackwater for *M. potiuna*, *S. macropterus* e *P. reisi* and clearwater for *M. acanthurus*, *S. barbatus* e *P. reisi*, through three acclimation temperatures, two of them being regular for stream water (22 °C and 26 °C), and one related to an extreme climate scenario given by IPCC 2021 (SSP3-7,0) (30 °C), to which the individuals were submitted between 4 to 7 days. After two hours of exposure, the oxygen consumption (routine metabolism; MO_2), ammonia excretion (J_{Amm}), protein use and net flux of Na^+ ($J_{Na_{Net}}$) and Cl^- ($J_{Cl_{Net}}$) were measured for each experimental condition. The MO_2 of *M. Acanthurus* and *P reisi*, the J_{Amm} of shrimp species and *P. reisi*, the use of proteins of *M. Acanthurus* and *S. barbatus* and the $J_{Na_{Net}}$ of *S. macropterus* increased along with the increases in temperature. The clearwater species *M. acanthurus* and *P. reisi* were more responsive, for all of the parameters evaluated, in higher temperatures, except for $J_{Cl_{Net}}$, which did not manifest changes in any experimental condition. These results demonstrate that clearwater animals from the Rio Preto basin are more responsive to temperature increase, becoming more susceptible to thermal regimes changes caused by climatic emergencies.

Keywords: Climate change, ionic homeostasis, routine metabolism, ammonia excretion, DOC.

Sumário:

1. Introdução
2. Objetivos
 - 2.1. Objetivo Geral
 - 2.2. Objetivos Específicos
3. Materiais e Métodos
 - 3.1. Coleta
 - 3.2. Aclimação e Procedimentos Experimentais
 - 3.3. Técnicas Analíticas e Cálculos
 - 3.4. Análise Estatística
4. Resultados
5. Discussão
 - 5.1. Efeito da Temperatura de Aclimação sobre o Metabolismo de Rotina
 - 5.2. Efeito da Temperatura sobre a Excreção de Amônia e Metabolismo de Proteínas
 - 5.3. Respostas Ionoregulatórias ao Aumento de Temperatura
6. Conclusão
7. Referências Bibliográficas

1. Introdução

Ao longo dos anos, principalmente a partir do Século XVII e da Revolução Industrial, o desenvolvimento desse setor, em conjunto com o desenvolvimento humano e tecnológico, resultou em alterações nos ambientes naturais (Oliveira e Oliveira, 2022). A criação dos atuais modelos econômicos e ações antrópicas tem como consequência o aumento da industrialização e do consumo através dos anos, gerando conflitos diretos com a preservação e o uso sustentável dos recursos naturais globais, causando impactos e desequilíbrio ambiental de forma acelerada e progressiva, tendo difícil retorno (Rosa *et al.*, 2021; Marques, 2022; Rosa *et al.*, 2022).

Desde a década de 1970, a partir da Conferência de Estocolmo (1972), a necessidade de manutenção da natureza tem sido pautada dentro de reuniões, conselhos e governos, ganhando força a partir da Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e o Desenvolvimento (Eco-92), no Rio de Janeiro, até a criação dos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável pela Organização das Nações Unidas (ODS-ONU, em 2016, os quais interligam questões socioambientais com desenvolvimento econômico; Pessini e Sganzerla, 2016; ONU, 2023). A aplicação das ODS pode ser dificultada de acordo com a realidade de cada local, como é o exemplo da América do Sul, uma das áreas mais urbanizadas e habitadas do mundo, cedendo cada vez mais porções de biomas para o desenvolvimento humano e tecnológico, contrastando com a preservação do meio ambiente e, consequentemente, controle das alterações climáticas (Lampis *et al.*, 2020; Pörtner *et al.*, 2022).

A geração de resíduos na atividade industrial apresenta potencial de poluição ambiental, destacando-se os resíduos gasosos, por serem lançados na atmosfera terrestre durante a queima de combustíveis fósseis (Mainardi e Bidoia, 2020; Leite *et al.*, 2020; Masson-Delmotte *et al.*, 2021). Esses poluentes abrangem gases e partículas que modificam as proporções da composição do ar atmosférico afetando a sua qualidade (Pereira, 2002). Somada à outras formas de geração de poluição – como as queimadas –, a industrialização causa a emissão dos gases dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) e óxido nitroso (N₂O) responsáveis pelo efeito estufa, processo de retenção natural de calor advindo da radiação solar que mantém a atmosfera e a superfície da Terra em uma faixa de temperatura adequada à existência de vida (Siqueira Neto *et al.*, 2011; Cachola *et al.*, 2022). A emissão desses gases para a atmosfera pelas atividades humanas excede a quantidade considerada segura para a manutenção do clima, tornando todo o ambiente terrestre mais aquecido do que o normal, ocorrendo de modo mais acelerado e gerando os quadros agravados de mudanças do clima. Tais mudanças não envolvem somente

alterações no regime térmico mas, também, mudanças nos ciclos hidrológicos locais, hoje vistas como emergências climáticas (Figura 1; Silva e Paula, 2009; Leite *et al.*, 2020; Masson-Delmotte *et al.*, 2021; Moreira *et al.*, 2022).

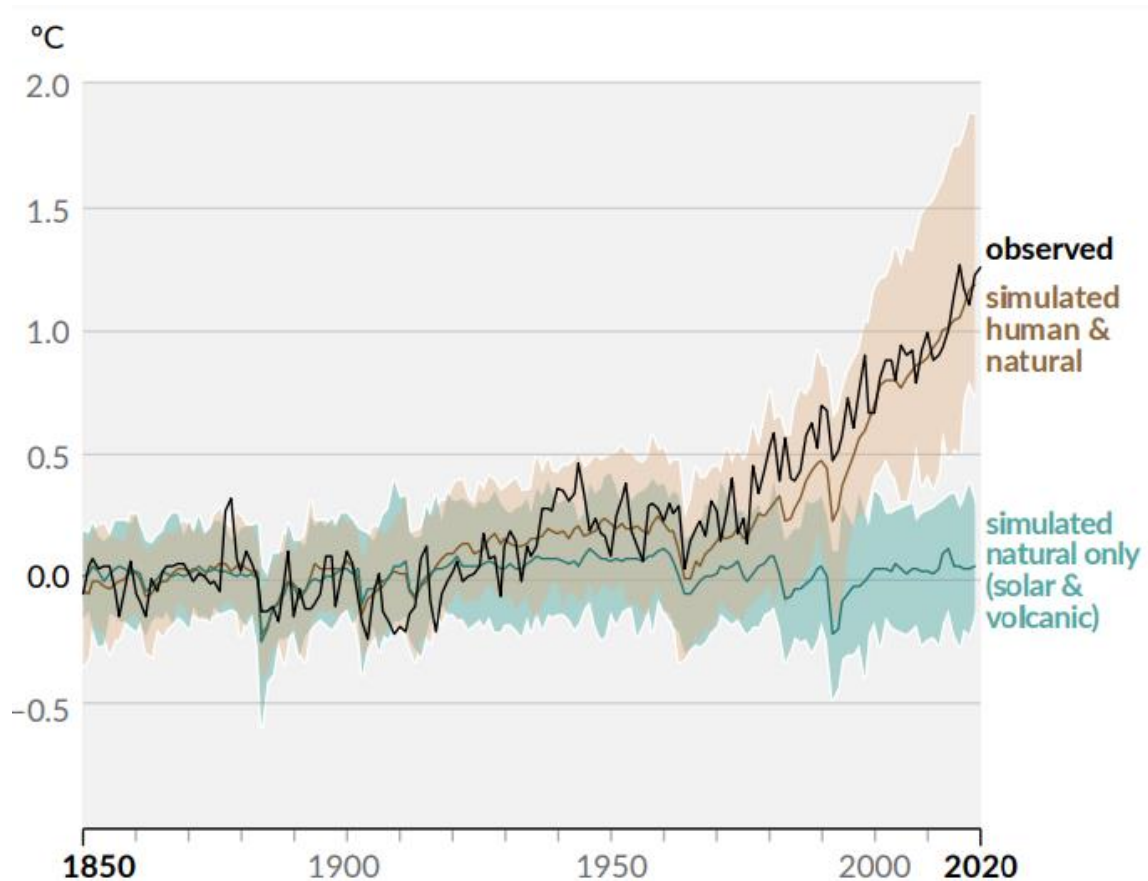


Figura 1. Alterações na temperatura média anual da superfície terrestre considerando dados reais e a simulação, utilizando fatores humanos e naturais juntos (tom laranja) e apenas fatores naturais (tom azul) entre 1850 e 2020 (Figura presente em Masson-Delmotte *et al.*, 2021).

Os ecossistemas costeiros possuem características abióticas que determinam suas formações, sendo a temperatura um fator modulador fundamental e que interfere tanto na dinâmica dos processos abióticos, quanto nas respostas bióticas do sistema (Brett, 1971; Madeira *et al.*, 2012). A aceleração do aumento de temperatura expõe não somente os ambientes aquáticos dessas regiões, já muito sensíveis devido as ações antrópicas, como também a toda a biodiversidade, particularmente as espécies animais endêmicas (Lough, 2007; Gonçalves, *et al.*, 2012; Vinagre *et al.*, 2018), como observado na estimativa de aumento de 1,5 °C (SSP1-1,9) a 4,4 °C (SSP5-8,5), considerando apenas o cenário mais ameno apresentado pelo Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC); (IPCC, 2021). Ainda, em relatório avaliativo desenvolvido para o IPPC, é apresentada a forte tendência de consequências

deletérias na fenologia, morfologia e fisiologia de espécies de água doce (Parmesan *et al.*, 2022).

Rios e riachos são habitados por muitos vertebrados e invertebrados ectotérmicos, incapazes de regular metabolicamente sua temperatura corporal (T_c), tornando-se fortemente dependente da temperatura da água (T_a) (Beitinger *et al.*, 2000; Woodward *et al.*, 2010; Madeira *et al.*, 2012). Embora variações de temperatura sejam naturais em ambientes aquáticos e influenciem desde a distribuição e comportamento, até a bioquímica e fisiologia dos animais, o aquecimento da água torna os organismos ectotérmicos vulneráveis ao estresse térmico (Angilletta *et al.*, 2002; IPCC, 2021; Messina *et al.*, 2023). Algumas espécies conseguem tolerar alterações de temperatura dentro de sua janela térmica (faixa de temperatura ótima para o funcionamento de seus sistemas biológicos), se tornando vulneráveis quando a T_a ultrapassa esses limites (Chauí-Berlink *et al.*, 2002; Vinagre *et al.*, 2018). O efeito do aquecimento da água em um processo fisiológico é observado, de modo geral, através da curva de desempenho térmico, a qual apresenta três regiões distintas: A fase de ascensão do processo, acompanhando o aumento da temperatura (I); a fase de platô, no topo, onde há o ótimo térmico para a reação em questão (II); a fase de queda acentuada, onde a temperatura já impede ou dificulta o funcionamento do processo (III), com o organismo enfrentando estresse e podendo levar a morte (Fig. 2; Schulte, 2015). Assim, para entender o nível de dependência de um processo fisiológico de uma determinada espécie em função do aumento de temperatura, é calculado o coeficiente de temperatura (Q_{10}), que demonstra sua responsividade à temperatura e capacidade de ajuste em cenários de aquecimento global (Meyer *et al.*, 2018; Mundim *et al.*, 2020).

Nesse contexto, o metabolismo de rotina (isto é, a taxa de consumo de oxigênio), a excreção de nitrogênio e a homeostase iônica de organismos aquáticos são processos fisiológicos diretamente influenciados pela variação da temperatura ambiental (Luo e Xie, 2009; Campos *et al.*, 2017; Alfonso *et al.*, 2021). Por exemplo, em animais de regiões tropicais, a taxa metabólica é geralmente maior do que nas espécies de regiões temperadas, conforme a maior demanda energética do organismo em função do regime térmico mais elevado, o que pode gerar estresse térmico ao organismo (Clarke e Johnston, 1999). Ao mesmo tempo, a maior velocidade de reações bioquímicas leva a formação de grandes quantidades de espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem resultar em estresse oxidativo nos tecidos (Campos *et al.*, 2019). Caso a demanda não seja suprida pelo metabolismo aeróbico, o animal pode entrar em estado de hipóxia metabólica, resultando em um maior recaimento sobre o metabolismo anaeróbico (Campos *et al.*, 2017; 2018).

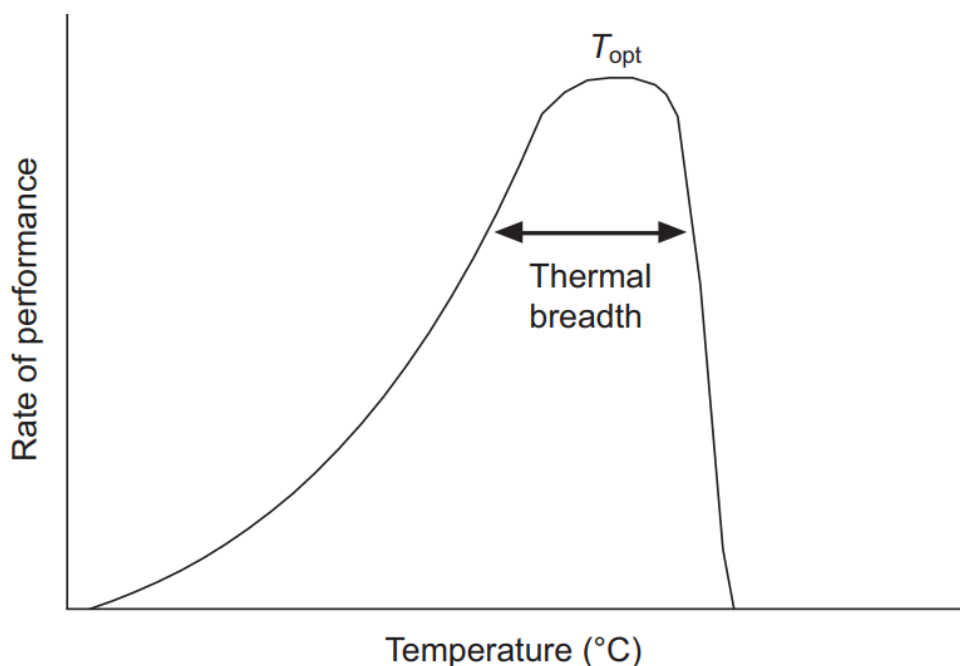


Figura 2. Curva de desempenho térmico representando a inclinação ascendente, o platô (ótimo térmico) e inclinação descendente do processo fisiológico de uma espécie (Figura presente em Schulte, 2015).

Uma das maneiras de manter o metabolismo aeróbico em situações de estresse ocorre pelo aumento da oxidação de aminoácidos, a partir da gliconeogênese, para gerar energia, o que resulta no aumento da concentração intracelular de amônia ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) e, conseqüentemente, da excreção de nitrogênio para o meio externo (Bucking, 2017; Wood *et al.*, 2017; Malek, 2022). Ao mesmo tempo, peixes teleósteos e crustáceos de água doce já apresentam altas taxas de produção de amônia naturalmente para manterem-se hiperosmóticos, pois esta atua como um osmólito, auxiliando na manutenção de uma maior pressão osmótica do plasma/hemolinfa dos animais em relação a pressão do meio externo, mais diluído, juntamente com a regulação da concentração extracelular dos íons Na^+ e Cl^- (Lignot *et al.*, 2000; Evans, 2008; Weihrauch *et al.*, 2009).

De modo geral, a amônia é a principal excreta nitrogenada produzida por ectotérmicos aquáticos, independente da sua forma (iônica ou molecular), e sua excreção pode ser aumentada pela maior demanda energética (Regnault, 1987; Wright, 1995). A retirada do excesso de amônia intracelular ocorre nas membranas branquiais, onde são ancoradas proteínas triméricas organizadas em formato de canal que possuem afinidade com amônia, tais como as proteínas Rhesus (Rh), canais presentes em vertebrados e invertebrados; e as proteínas Transportadoras de Amônio (AMT), presentes apenas em invertebrados e plantas (Weihrauch e O'Donnell, 2017; Weihrauch e Allen, 2018). As proteínas Rh têm maior afinidade com a forma não iônica de amônia (NH_3), facilitando sua difusão para o meio externo a favor do gradiente de

concentração (Weihrauch *et al.*, 2009). Já o íon amônio (NH_4^+) é retirado da hemolinfa e do plasma substituindo o íon K^+ nos trocadores Na^+/K^+ -ATPase (NKA) na membrana basolateral dos ionócitos, e na membrana apical pode ser dissociado em NH_3 , que será eliminado pelas proteínas Rh, enquanto o íon H^+ resultante é transportado para o ambiente externo via trocadores Na^+/H^+ (NHE) ou H^+ - ATPase (Wright e Wood, 2012; Weihrauch e O'Donnell, 2017). Há ainda a possibilidade da amônia gasosa (NH_3) se difundir através da membrana para o meio externo por aquaporinas (Wilkie, 2002).

Outra alteração advinda dos eventos climáticos é acidificação de ambientes aquáticos decorrente da interação do CO_2 atmosférico com a água, se dissolvendo e produzindo ácido carbônico (H_2CO_3), altamente instável, que se dissocia em íons H^+ e íons HCO_3^- (Woodward *et al.*, 2010; Sodré *et al.*, 2016; Jeremias *et al.*, 2018). Como consequência, pode haver alterações nas taxas de crescimento, no comportamento animal, nos níveis populacionais e nas dinâmicas entre as espécies, ou até mesmo levando a morte (Rosa *et al.*, 2016; Hasler *et al.*, 2018; Sampaio *et al.*, 2018). Em condições naturais, os íons H^+ e HCO_3^- são intimamente relacionados aos processos de transporte de Na^+ e Cl^- , respectivamente, pelos epitélios transportadores (e.g. brânquias) dos organismos hiperosmóticos, e alterações em suas concentrações no ambiente aquático podem promover distúrbios na homeostase iônica dos animais (Evans *et al.*, 2005; Evans, 2008). O transporte de Na^+ para o interior dos ionócitos branquiais ocorre na porção apical por meio do transportador Na^+/H^+ (NHE), ou por canais de Na^+ acoplados a H^+ -ATPase em peixes, ou pela ação do transportador $\text{H}^+/2\text{Na}^+$ em crustáceos, sendo a enzima Na^+/K^+ -ATPase (NKA), presente na membrana basolateral, responsável pela geração do gradiente eletroquímico favorável a tomada de Na^+ , transportando o Na^+ intracelular para o sangue/hemolinfa enquanto retira íons K^+ do fluido extracelular (Larsen *et al.*, 2011; Leone *et al.*, 2017). Ao mesmo tempo, os íons Cl^- são absorvidos do meio externo para o citoplasma dos ionócitos por meio do co-transportador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, sendo transportado basolateralmente para o fluido interno por canais de Cl^- (Dissanayake *et al.*, 2010).

Entretanto, durante a exposição à condições ácidas ocorrem distúrbios nos mecanismos de ionoregulação, onde a maior concentração de íons H^+ e HCO_3^- inibe a absorção ativa de íons Na^+ e Cl^- , promovendo a redução dos níveis plasmáticos desses íons e aumentando a excreção de nitrogênio (Gonzalez *et al.*, 2005; Duarte *et al.*, 2018). Isso ocorre pois os trocadores Na^+/H^+ e $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ tem seu potencial elétrico de membrana das brânquias invertido, acompanhando a diferença de gradiente entre o meio interno e meio externo, gerando um efluxo de Na^+ e Cl^- e influxo de H^+ e HCO_3^- (Fig. 3; Griffith, 2017). No entanto, em ambientes dulcícolas

naturalmente ácidos, a presença de carbono orgânico dissolvido (COD), proveniente da degradação bacteriana da matéria orgânica e rico em substâncias húmicas, tem papel importante no controle de distúrbios na homeostase iônica dos animais associados ao elevado nível de H^+ do ambiente (Holland *et al.*, 2013). Estudos vêm demonstrando que o COD atua impedindo o aumento das perdas difusivas de íons na membrana branquial, protegendo o animal contra severos distúrbios ionoregulatórios durante a exposição a águas ácidas (Wood *et al.*, 2011; Duarte *et al.*, 2016). Esses ambientes apresentam condições consideravelmente limitantes, trazendo a ideia de espécies que evoluíram em contato com essas características e estão bem adaptadas para lidar com os fatores abióticos extremos (Wood, 2003; Campos *et al.*, 2019).

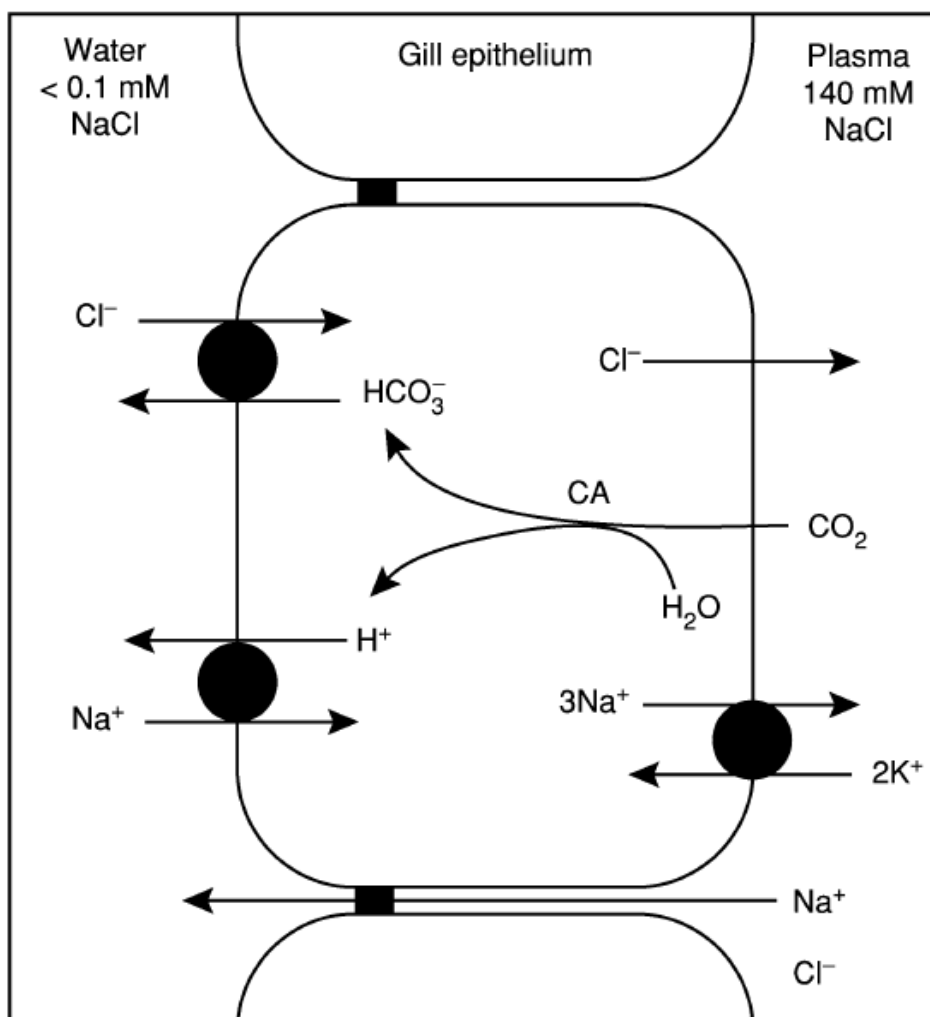


Figura 3. Modelo geral de trocadores Na^+/H^+ e Cl^-/HCO_3^- presentes em brânquias de peixes de água doce e responsáveis por regular íons (Figura presente em Gonzalez *et al.*, 2005).

A Mata Atlântica corresponde a 15% do território nacional, abrangendo 17 estados e sendo responsável por parte da regulação do clima no Brasil e disponibilidade de recursos naturais para a maior parte dos habitantes do país (Fundação SOS Mata Atlântica, 2021).

Embora restem apenas 24% da área original, esse bioma cobre quase a totalidade do litoral da costa brasileira, com sua grande extensão representando a segunda maior floresta tropical da América do Sul, possuindo diferentes tipos de condições climáticas e um dos locais com maior índice de endemismo do Brasil (Pinto *et al.*, 2006; Jesus e Ferracioli, 2022). Ecossistemas como a Mata Atlântica englobam grandes áreas contendo corpos de água doce, havendo estreita ligação entre floresta e a manutenção dos rios, uma vez que, o ambiente por completo gera um ciclo de evaporação e precipitação de água, absorção no solo e fornecimento da mesma às bacias hidrográficas (Santos, 2019). Devido à amplitude de tamanho e variação de características da Mata Atlântica, suas bacias podem conter corpos d'água que apresentam diferentes características físicas e químicas, como os rios de águas pretas e de águas claras (Gonçalves e Braga, 2012).

Dentre as bacias hidrográficas que compõem vasto bioma da Mata Atlântica, a bacia do Rio Itanhaém ocupa uma área de 912,68 km² extensão, sendo a maior bacia costeira exclusivamente do estado de São Paulo e abrange os municípios de Peruíbe, Itanhaém, Mongaguá, Praia Grande, São Vicente e a porção sudeste da Região Metropolitana de São Paulo (IPT, 2012; Moraes, 2012). A bacia apresenta muitos rios e riachos que cortam diferentes formações, apresentando heterogeneidade paisagística e diferenças limnológicas e na estrutura dos habitats, sendo considerados uma das regiões de *hotspots* da ictiofauna (Myers *et al.*, 2000; Camargo e Cancian, 2016). Na porção da bacia que compreende a planície costeira, encontra-se totalmente ou parcialmente as sub-bacias dos rios Aguapeú, Branco, Mambú e Preto (Ferreira, 2007). Nesta, são encontrados riachos de águas claras, com nascentes mais próximas da Serra do Mar, sedimentos maiores, com água mais oxigenada, pH próximo ao neutro e baixos níveis de COD, e os riachos de águas pretas, mais lentos, que possuem pH ácido, com maior quantidade de matéria orgânica dissolvida e assim, baixo teor de oxigênio e coloração escura (Ferreira *et al.*, 2014; Felisberto, 2020). Estes dois tipos de riachos fazem parte da bacia de drenagem do Rio Preto, um dos principais afluentes do Rio Itanhaém, que possui uma microbacia com origens tanto no planalto, dentro do Parque Estadual da Serra do Mar, onde a mata é mais protegida e há corredeiras, quanto na planície, composta por rios e riachos curtos e coberta principalmente por restinga, facilitando a dominação da região pela agricultura (Ferreira, 2007; Ferreira e Petrere, 2009).

O ciclo hidrológico dos riachos pode influenciar a distribuição e composição da fauna local, que está diretamente ligada às mudanças de temperatura da água durante o ano, o teor de oxigênio e os sedimentos que compõem o substrato (Correa, 2020). Dentre esses, o clima

representa uma barreira forte que determina os limites de distribuição geográfica de uma espécie, considerando suas adaptações evolutivas, ou mesmo sua extinção (Vasquez, 2021). Animais de regiões tropicais tendem a evoluir enfrentando menores variações na temperatura do ambiente aquático, uma vez que, essas áreas são termicamente mais estáveis (Vinagre *et al.*, 2018). Assim, esses organismos se tornam potencialmente mais vulneráveis à exposição ao aumento de temperatura, por não possuírem grande plasticidade térmica (Pörtner, 2001). A região da Mata Atlântica apresenta registro de 32 espécies de crustáceos decápodes e 300 espécies de peixes em suas sub-bacias, às quais o conhecimento gira em torno do alto endemismo, mas pouco se sabe sobre suas características ecológicas, fisiológicas e estado de conservação (Rocha e Bueno, 2004; Cetra *et al.*, 2009).

Dentre os animais encontrados em rios e riachos, camarões de água doce, conhecidos popularmente por “pitú”, fazem parte do funcionamento da cadeia trófica, sendo consumidores importantes, assim como presas para animais maiores e produto para a pesca, e estruturam a comunidade bentônica, ocupando diferentes habitats que forneçam condições de abrigo (García-Guerrero *et al.*, 2013; Cruz, 2020). Nas regiões tropicais, o gênero *Macrobrachium* (Palaemonidae, Decapoda) apresenta importância ecológica e econômica e é um dos mais abundantes, sendo 240 espécies no mundo, 55 espécies nas Américas e 17 registradas no Brasil (Pileggi e Mantelatto, 2012; Melendez, 2021; Freitas *et al.*, 2022). Se distribuem entre a faixa tropical e subtropical do globo, em regiões continentais ou costeiras, com alta precipitação e temperaturas médias anuais entre 16 °C e 32 °C (Vega-Villasante *et al.*, 2014). Fêmeas de *Macrobrachium* podem desovar diversas vezes ao ano, e a incubação pode ter duração variada de acordo com a temperatura da água (García-Guerrero *et al.*, 2013). A espécie de camarão dulcícola *Macrobrachium potiuna* (Müller, 1880) é endêmica de riachos brasileiros de água preta, distribuídos entre as regiões Sudeste e Sul do país (Bond-Buckup e Buckup, 1989; Viana e Ramos-Porto, 1998). Apresentando tamanho médio variável, entre 6,0 mm e 50 mm, e é totalmente independente de salinidade para reprodução, habita margens de corpos d’água cobertos por trechos de vegetação, onde se protege contra a exposição às variações da temperatura na superfície da água (Lobão e Fernandes, 1988; Müller e Carpes, 1991; Antunes e Oshiro, 2004). A espécie de camarão *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) também apresenta tamanho variável (entre 5 mm e 31 mm) e está distribuída por corpos d’água clara ao longo da Mata Atlântica, podendo ocorrer também em águas salobras e estuarinas (Bond-Buckup e Buckup, 1989; Viana e Ramos-Porto, 1998). Considerada bastante adaptável,

consegue viver em áreas antropizadas e apresenta potencial produtivo para carcinicultura (Viana e Ramos-Porto, 1998; Díaz *et al.*, 2002; Freitas *et al.*, 2022).

A família Callichthyidae compreende os bagres da região tropical, conhecidos como “cascudos”, “tamuatás” ou pelo nome comercial “coridora”, com 200 espécies, das quais seis pertencem ao gênero *Scleromystax* (Vera-Alcaraz, 2013). Duas dessas espécies – *Scleromystax macropterus* (Regan, 1913) e *Scleromystax barbatus* (Quoy e Gaimard, 1824) – encontradas em bacias costeiras, possuem importância econômica por serem peixes ornamentais (Brito e Reis, 2005; Geller, 2020). Os peixes desse gênero apresentam tamanho máximo de 21 mm, hábito bento-pelágicos, distribuídos entre rios continentais e costeiros, cobrindo o território entre os litorais da Bahia e de Santa Catarina (Vera-Alcaraz, 2013; Britto e Malabarba, 2016). Conseguem engolir ar e realizar trocas gasosas através do intestino, o que possibilita sua distribuição tanto em riachos com alta oxigenação, assim como em riachos com baixo teor de oxigênio dissolvido (Maia, 2014).

A espécie *S. macropterus* é um bagre forrageador com tamanho entre 170 mm e 500 mm, presente em riachos rasos de água preta, com fundo arenoso ao longo de toda a bacia do Rio Preto (Moraes, 2012; Gonçalves e Cestari, 2013). A conservação da espécie tem sido recomendada, uma vez que ela está ameaçada de extinção (Gonçalves e Pérez-Mayorga, 2016). Já a espécie *S. barbatus*, outro forrageador de riachos rasos, apresenta tamanho médio que varia entre 2,0 cm e 7 cm (Moraes, 2012). Assim como em *S. macropterus*, os adultos de *S. barbatus* possuem odontóides na cabeça, principalmente ao redor da boca, porém mais visíveis e característicos, dando nome à espécie (Lima e Britto, 2020). Geralmente encontrado em águas claras, sempre se camuflando nos fundos arenosos ricos em alimento, pode-se ligar suas características de indicador de conservação ambiental e de objeto comercial do aquarismo, havendo necessidade de conciliar a preservação dos seus habitats e o uso econômico visando a manutenção da espécie (Gonçalves e Cestari, 2013; Ticiani *et al.*, 2022).

A família Poeciliidae representa um dos grupos mais ricos em espécies nas regiões tropicais de água doce, abrangendo cerca de 274 já registradas e apresentando processo de divergência ecológica rápida, acelerando a especiação (Thomaz *et al.*, 2019). A maior parte das espécies da família poeciliidae apresenta viviparidade, incluindo o gênero *Phalloceros*, mais rico da família, com 22 espécies ocorrendo ao longo da América do Sul (Zandonà *et al.*, 2021). A espécie *Phalloceros reisi* (Lucinda, 2008) ocorre principalmente em riachos de correnteza da região sudeste, independente de antropização e tipo de água (Lucinda, 2008; Almeida, 2020;

Souza, 2019). Habitam a superfície de corpos d'água rasos de fundo arenoso, em assembleias e ocupando as margens, próximos à sombra da vegetação ou entre rochas (Wolff e Donatti, 2016; Cetra *et al.*, 2017; Almeida *et al.*, 2022). Popularmente conhecida como "barrigudinho" e de comprimento variando entre 6 mm e 40 mm, possui gonopódio, órgão proveniente da nadadeira anal utilizado para reprodução e presente em todo o gênero (Souza, 2019; Meneses, 2022).

Tendo em vista que as atividades humanas, somadas aos eventos climáticos, ameaçam de extinção a fauna endêmica dos riachos da costa brasileira, estudos sobre a fisiologia destes animais permitem aumentar a compreensão de suas capacidades de aclimação e tolerância térmica às alterações em seus regimes térmicos naturais. Assim, avaliações das alterações no metabolismo de rotina, excreção de nitrogênio e homeostase iônica em função de diferentes temperaturas ambientais permite entender seus limites de tolerância térmica, e prever futuros prejuízos ambientais relacionados à perda de biodiversidade local, tal como estabelecer parâmetros para a conservação desses ambientes aquáticos.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do aumento da temperatura sobre as respostas metabólicas e ionoregulatórias de *Macrobrachium potiuna*, *Scleromystax macropterus* e *Phalloceros reisi* em água preta, e *M. acanthurus*, *S. barbatus* e *P. reisi* em água clara comumente encontrados na bacia do Rio Preto (Itanhaém/SP e Peruíbe/SP), verificando a influência do tipo de água sobre essas respostas.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar o consumo de oxigênio e o coeficiente de temperatura_{Q10} dessas espécies aclimatadas a três regimes térmicos diferentes (22 °C, 26 °C e 30 °C);
- Determinar o efeito da aclimação a esses três regimes térmicos diferentes sobre o metabolismo de nitrogênio (taxa de excreção de amônia e uso de proteínas) dessas espécies;
- Verificar o efeito da aclimação a esses três regimes térmicos sobre os fluxos líquidos iônicos de Na⁺ e Cl⁻ dessas espécies.

3. Metodologia:

3.1. Coleta

Os indivíduos das espécies *Macrobrachium potiuna* ($0,407 \pm 0,06$ g; média $\pm$ desvio padrão), *Scleromystax macropterus* ($1,09 \pm 0,19$ g) e *Phalloceros reisi* ($0,219 \pm 0,007$ g) foram coletados na cidade de Itanhaém, no Rio Panema, afluente de água preta da bacia do Rio Preto (Itanhaém/SP) entre Outubro de 2021 e Março de 2022, enquanto os indivíduos das espécies *M. acanthurus* ($0,296 \pm 0,1$ g), *S. barbatus* ($2,54 \pm 0,49$ g) e *P. reisi* ($0,394 \pm 0,04$ g) foram coletados na cidade de Peruíbe em riachos de água clara da mesma bacia entre Setembro de 2022 e Janeiro de 2023 (Fig. 4). As coletas ocorreram com rede de arrasto e puças de malha fina (Fig. 5).

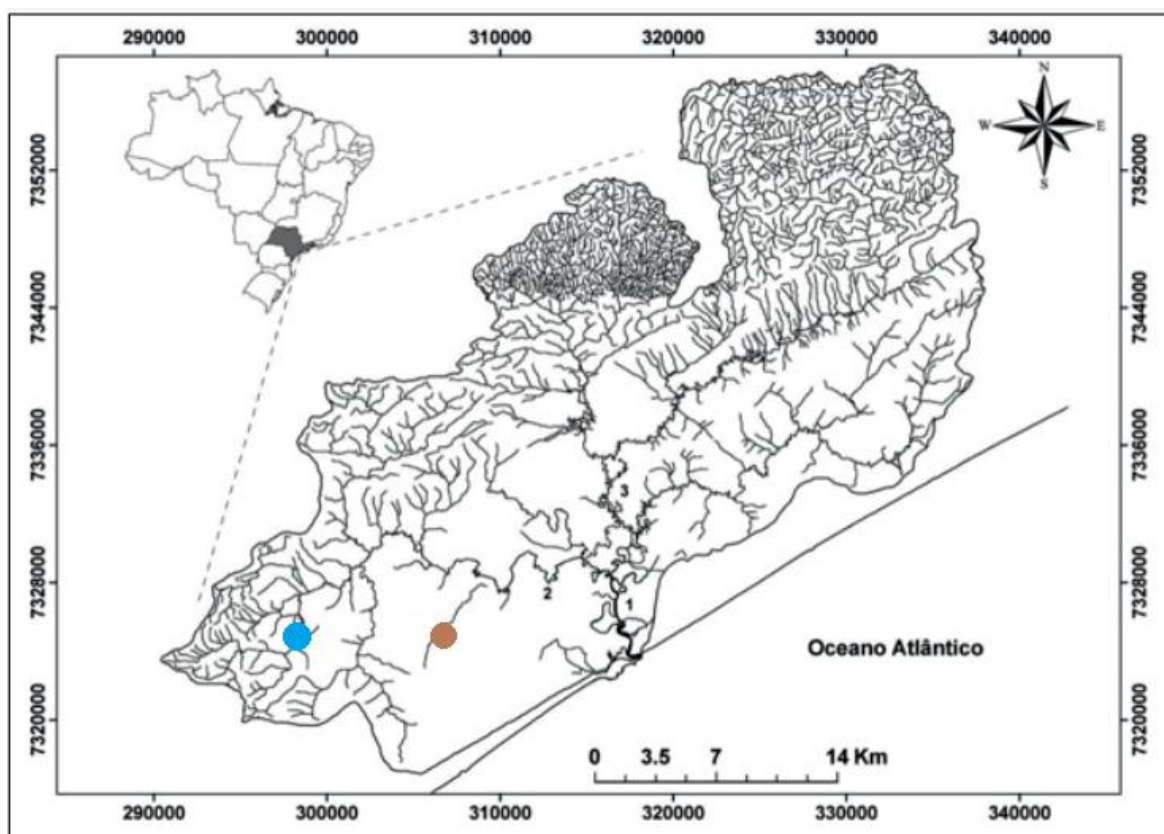


Figura 4. Mapa hidrográfico da planície costeira da Bacia do Rio Itanhaém onde os exemplares de *Macrobrachium potiuna*, *M. acanthurus*, *Scleromystax macropterus*, *S. barbatus* e *Phalloceros reisi* foram coletados. 1) Rio Itanhaém; 2) Rio Preto e 3) Rio Branco. O círculo marrom representa a área de coleta em riacho de água preta, enquanto o círculo azul representa o riacho de água clara na área de drenagem da bacia do Rio Preto (Itanhaém/SP). Figura modificada de Camargo e Cancian, 2016.

Em seguida, os animais foram acondicionados em sacos de 10 L contendo dois terços de água do próprio riacho e um terço de carga de oxigênio puro em temperatura ambiente. Posteriormente, os animais foram transportados para o Laboratório de Ecofisiologia e

Toxicologia Aquática, no Instituto de Biociências do Câmpus do Litoral Paulista da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", onde foram aclimatados às diferentes temperaturas. Em cada ponto de coleta foram determinados os parâmetros físicos da água – temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica – com sonda multiparâmetro (AK88 Akso). Os procedimentos experimentais, de coleta e transporte dos peixes foram previamente submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da unidade (Protocolo 04/2020 – CEUA IB/CLP).



Figura 5. Coleta manual de *M. acanthurus*, *S. barbatus* e *P. reisi* com rede de arrasto em riacho de água clara localizado na cidade de Peruíbe, dentro da Bacia do Rio Preto (Itanhaém/SP). (Foto: Natalia Romano).

3.2. Aclimação e Procedimentos Experimentais

No laboratório, os indivíduos coletados no mesmo dia (Fig. 6) foram transferidos para aquários de vidro de 20 L com a água do riacho de origem, e temperatura semelhante a registrada no riacho durante a coleta. Em aquários diferentes, os animais foram aclimatados a três diferentes regimes térmicos, a saber: 22 °C e 26 °C, temperaturas comumente encontradas na região da sub-bacia (Ferreira 2007; Cancian, 2012; Prefeitura de Itanhaém, 2012) e 30 °C, temperatura estipulada segundo o quadro de extremo climático previsto pelo IPCC 2021 (SSP3-7,0). Assim, os animais foram mantidos na mesma temperatura encontrada no local de coleta,

e no dia seguinte a mesma, foi iniciado o aumento gradual de temperatura, sendo 1 °C por dia, até atingir a temperatura teste desejada em cada aquário. Na sequência, o período de aclimação teve duração de pelo menos 4 dias para *S. macropterus*, *S. barbatus* e *M. acanthurus* e 7 dias para *M. potiuna* e *P. reisi* no regime térmico desejado (Fig. 7).

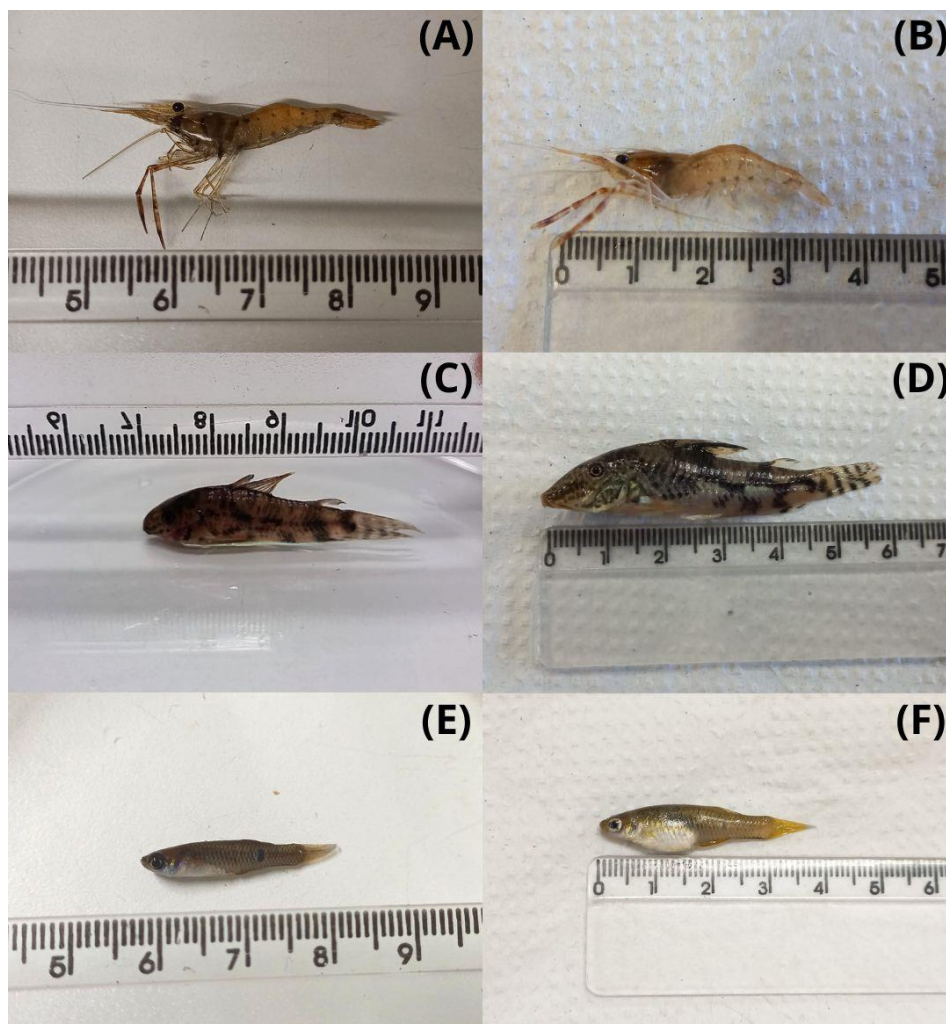


Figura 6. Exemplares de cada espécie utilizada durante os experimentos, sendo *Macrobrachium potiuna* (A), *M. acanthurus* (B), *Scleromystax macropterus* (C), *S. barbatus* (D) e *Phallocherus reisi* de água preta (E) e de água clara (F) (Fotos: Natalia Romano).

A temperatura dos aquários foi mantida nos níveis desejados com aquecedores, sendo monitorada a cada 12 horas e controlada com termostato digital (Modelo TIC17RGTi – Full Gauge), enquanto a temperatura do laboratório foi mantida a 20 °C com ar-condicionado. Os ajustes de temperatura foram realizados duas vezes ao dia, uma pela manhã e outra ao final da tarde, sendo adicionada bolsa térmica congelada para reduzir a temperatura quando necessário. Os aquários continham sistema de filtração externa (mecânica), aeração constante e fotoperíodo 12h:12h (luz:escuro). O pH da água preta foi mantido em $4,5 \pm 0,2$, enquanto o pH da água

clara foi mantido a $6,0 \pm 0,2$, com adição da base KOH ou do ácido HNO_3 quando necessário para ajustes de aumento ou redução, respectivamente. A mensuração e ajuste do pH foi realizada pela manhã através de pHmetro de Bancada com compensação de temperatura (pH0-14 – KASVI), sendo: uma vez ao dia, em dias de alimentação e de descanso e duas vezes ao dia em dias de troca parcial de água (antes e depois da troca). A quantidade de animais por aquário seguiu a proporção de 1 g/ L, considerando a densidade de 1 grama de massa úmida do animal para cada 1 litro de água do aquário. Ao longo da aclimação os animais foram alimentados *ad libitum* com ração comercial extrusada de fundo para peixes (Nutricon) para *Macrobrachium* e *Scleromystax*, e ração comercial floculada (Nutricon) para *P. reisi*, seguindo a ordem: Um dia para alimentação, um dia para troca parcial de água, e um dia de descanso. As trocas parciais de água foram realizadas renovando 2 L a 4 L de água do aquário por água do riacho. A alimentação foi suspensa 24 h antes do início dos testes.

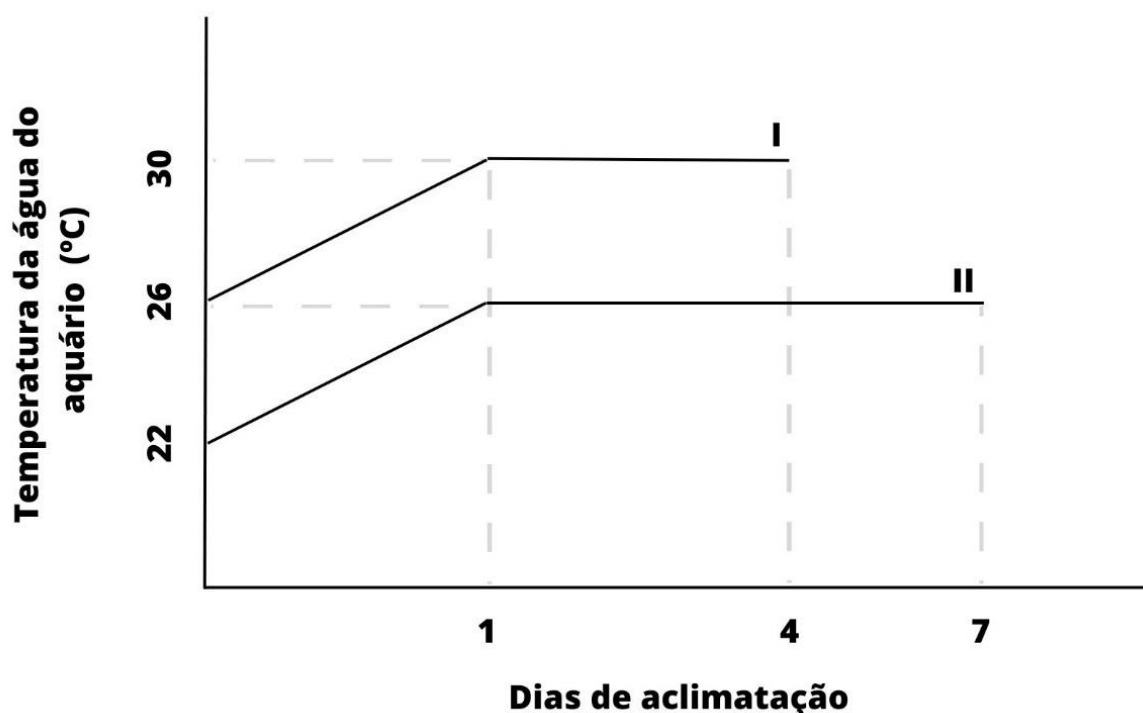


Figura 7. Aumento gradual de temperatura na água durante o período de aclimação aos diferentes regimes térmicos avaliados, sendo 4 dias para *S. macropterus*, *S. barbatus* e *M. acanthurus* à 30 °C (I) e de 7 dias para *S. macropterus*, *S. barbatus* e *M. acanthurus* à 22 °C e 26 °C, e *M. potiuna* e *P. reisi* em todas as temperaturas (II).

Após o período de aclimação, os animais foram transferidos para câmaras respirométricas fechadas individuais com volume de 200 mL para *Scleromystax* (Fig. 8A) e 70 mL para *Macrobrachium* e *P. reisi* (Fig. 8B). Foram utilizados 10 indivíduos de cada espécie,

em cada temperatura testada, separadamente (N=10). Nas câmaras, foi determinado o consumo de oxigênio e foram coletadas amostras para a determinação das taxas de excreção de amônia-N e o fluxo líquido de Na^+ e Cl^- de cada indivíduo, em cada temperatura de aclimação em cada tipo de água testado.

Os animais permaneceram em repouso nas câmaras por 2 horas antes do início do experimento de consumo de oxigênio de rotina, a fim de evitar a influência do manuseio sobre as respostas fisiológicas dos animais. Durante esse período, duas trocas de água de 50% do volume total foram realizadas para evitar o aumento de concentração dos osmólitos a serem testados por meio de excreções decorrentes do estresse do manuseio, sendo a primeira após 1 hora de repouso, e a segunda, ao final das 2 horas. Uma câmara sem animal foi mantida com água nas mesmas condições de temperatura e pH, e trocas de 50%, funcionando como controle.

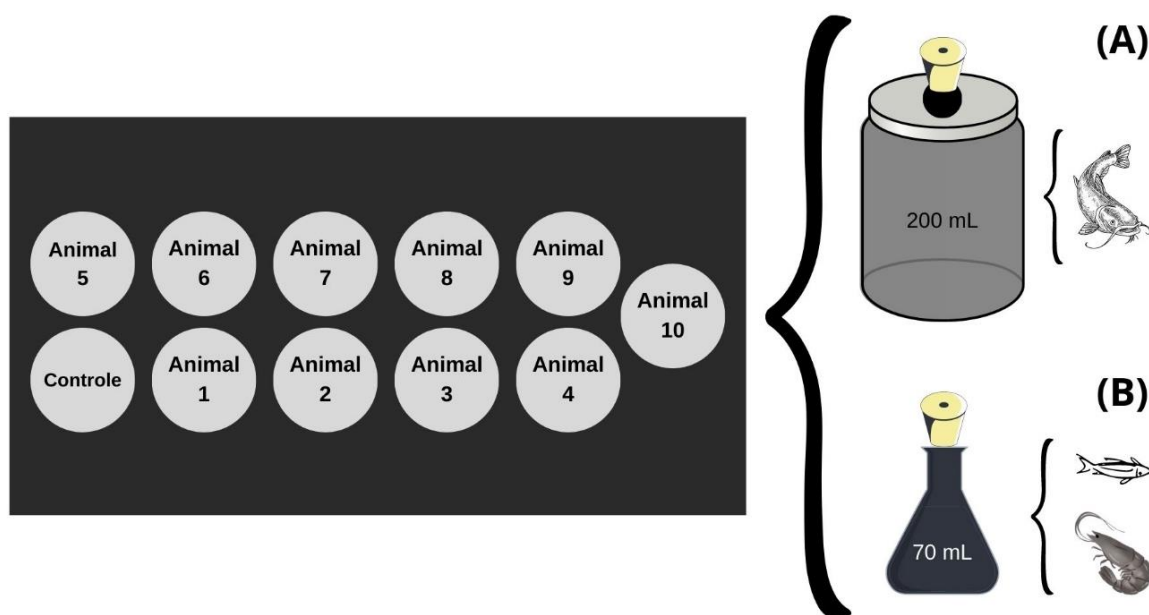


Figura 8. Organização das câmaras durante a determinação da taxa de consumo de oxigênio, com câmaras maiores, de 200 mL, (A) para *Scleromystax* e câmaras menores, de 70 mL, (B) para *Macrobrachium* e *P. reisi*. Todas, inclusive o controle, foram vedadas com rolhas envoltas por Parafilm M®.

Durante as 2h de repouso, as câmaras contaram com aeração individual ininterrupta, mantendo a água com alta concentração de oxigênio dissolvido, evitando uma situação de hipóxia. As câmaras tiveram a temperatura mantida na qual o animal foi previamente aclimatado com aquecedores e termostato digital, utilizando um banho maria no recipiente suporte para as mesmas. Após esse período, a aeração foi interrompida, e duas amostras de água (15 mL e 1 mL) foram retiradas de cada câmara, e a concentração inicial de oxigênio (mgO_2/L) da câmara foi mensurada utilizando um oxímetro de bancada YSI 5100 (Fig. 9). O volume das

câmaras foi preenchido com água do rio na mesma temperatura do teste, e elas foram vedadas com rolhas envoltas por Parafilm M[®] logo após a mensuração. Após 2 h, as câmaras respirométricas foram abertas, a concentração final de oxigênio foi mensurada e, em seguida, duas novas amostra de água (15 mL e 1 mL) foram retiradas. A separação das amostras de água ocorreu da seguinte forma: Tubos falcon com 15 mL foram conservados em geladeira com temperatura à 4 °C, sendo utilizados nas determinações dos íons (Na⁺ e Cl⁻), e microtubos com 1 mL foram imediatamente congelados em freezer a -20 °C, sendo posteriormente utilizados na determinação das concentrações de amônia-N. As concentrações de cada composto foram utilizadas para o cálculo das taxas de excreção de nitrogênio e fluxo líquido iônicos dos animais em cada um dos regimes experimentais. Ao final do período total, de aproximadamente 5 h, os peixes foram eutanasiados em solução 0,2% de tricaínmetanosulfonato (MS-222) e os camarões em baixa temperatura em caixa térmica com gelo para em seguida serem pesados (massa úmida) e medidos.



Figura 9. Oxímetro de bancada YSI 5100 utilizado para a determinação das concentrações de oxigênio nas câmaras (Foto: Héllen Siqueira).

3.3. Técnicas Analíticas e Cálculos

A concentração de Na⁺ das amostras de água dos experimentos foi determinada por meio de espectrofotômetro de absorção atômica (AAAnalyst 800 – Perkin Elmer), enquanto a

concentração de Cl^- foi determinada por meio de ensaio colorimétrico descrito por Zall e colaboradores (1956). Os ensaios para determinação dos níveis de Na^+ e Cl^- nas amostras foram realizados no Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (LEEM/INPA). A determinação da concentração de amônia seguiu o protocolo de Verdouw e colaboradores (1978) e foi realizada na UNESP IB/CLP. As determinações das concentrações de Cl^- e amônia foram realizadas em espectrofotômetro da marca Molecular Devices – VERSA Max (Fig. 10).

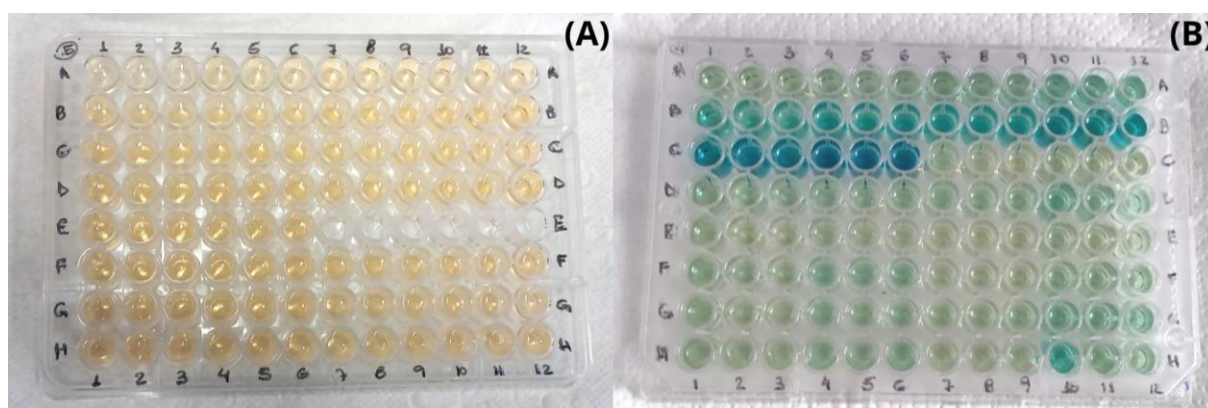


Figura 10. Placas de micropoços com padrões e amostras em determinação de concentrações de Cl^- (A) e amônia (B) (Fotos: Natalia Romano).

As taxas de consumo de oxigênio (MO_2), as taxas de excreção de amônia ($J_{\text{Amm-N}}$) e os fluxos líquidos iônicos ($J_{\text{net}}^{\text{Na}}$ e $J_{\text{net}}^{\text{Cl}}$) foram calculadas individualmente para cada indivíduo, em função do tipo de água de origem e das temperaturas de aclimação. Para tanto, o cálculo da taxa de consumo de oxigênio (MO_2) foi realizado considerando as variações nas concentrações iniciais e finais de oxigênio (mgO_2/L) nas câmaras, relativizadas pelo peso dos animais (g), o volume das câmaras respirométricas (L) e o tempo do intervalo de exposição (h). O mesmo cálculo foi realizado para as taxas de excreção de amônia e fluxo líquidos de íons, a partir da variação da concentração dos elementos na água ($\mu\text{mol}/\text{L}$). Para tanto, foi utilizada a seguinte equação:

$$\text{MO}_2 / J_{\text{Amm-N}} / J_{\text{net}}^{\text{Na}} / J_{\text{net}}^{\text{Cl}} = [(X1 - X2) * V] / (P * T)$$

Onde X1 e X2 são os valores iniciais e finais das medições de oxigênio ou concentração de cada elemento, V corresponde ao volume em litros, P ao peso em gramas e T o tempo em horas correspondentes ao intervalo de exposição.

A partir das taxas de consumo de oxigênio ($\mu\text{MO}_2/\text{g/h}$) e excreção de amônia ($\mu\text{M/g/h}$) foi calculado, individualmente, o coeficiente de nitrogênio (NQ), que representa a quantidade de proteína oxidada pelo metabolismo aeróbico do animal, por meio da equação:

$$\text{NQ} = J_{\text{amm-N}} / M_{\text{O}_2}$$

A partir da premissa do metabolismo aeróbico ser totalmente dependente da oxidação de proteínas, o NQ seria igual a 0,27 (Wood *et al.*, 2017). Deste modo, a porcentagem de proteína (%) foi calculada considerando:

$$\text{Porcentagem de proteína} = (\text{NQ} / 0,27) * 100\%$$

Já o coeficiente de temperatura (Q_{10}), que é a medida da taxa de aumento na velocidade das reações químicas e biológicas em função do aumento de temperatura, foi determinado, posteriormente, de forma padrão utilizando a taxa de consumo de oxigênio determinada nas diferentes temperaturas de aclimação, e diferença entre as médias da temperatura na água durante a aclimação, segundo a equação descrita por Clarke e Johnston (1999):

$$Q_{10} = [M_{\text{O}_2T2} / M_{\text{O}_2T1}]^{T1/T2}$$

Onde M_{O_2T1} e M_{O_2T2} são as taxas de consumo de oxigênio dos animais aclimatados aos regimes térmicos de 22°C e 30°C, e T1 e T2 as médias das temperaturas determinadas nos aquários em cada regime térmico de aclimação.

3.4. Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas no programa SigmaStat 3.5. Todos os dados estão expressos como média $\pm$ erro padrão da média (mean $\pm$ 1 SEM). Em relação aos gêneros *Macrobrachium* e *Scleromystax*, os testes para cada experimento foram feitos por meio de análises de variância de um fator (ANOVA One-Way), sendo a temperatura de aclimação (22 °C, 26 °C e 30 °C), considerada como fator da ANOVA, em cada tipo de água testado. Os testes de *Phalloceros reisi* foram feitos por meio de análises de variância de dois fatores (ANOVA Two-Way), sendo considerados como fatores a temperatura de aclimação (22 °C, 26 °C e 30 °C) e o tipo de água (Preta e Clara). As diferenças entre as médias foram determinadas por meio de teste *a posteriori* de Holm-Sidak. As diferenças estatísticas foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

4. Resultados

O camarão de água preta, *Macrobrachium potiuna*, não apresentou diferenças significativas em função do aumento da temperatura de aclimação em suas taxas de consumo de oxigênio (Fig. 11A). Entretanto, apresentou aumento de duas vezes na taxa de excreção de amônia com o aumento da temperatura de 22 °C para 30 °C, com (-0,562 $\mu\text{M/g/h}$; -1,149 $\mu\text{M/g/h}$; $p = 0,031$; Fig. 11B). O uso de proteínas (Fig. 11C) e o fluxo líquido de Na^+ e Cl^- (Fig. 12) não apresentaram diferenças significativas em função do aumento da temperatura de aclimação. Para essa espécie, o Q_{10} para o consumo de oxigênio foi de 1,48 (Fig. 11A) e para a excreção de amônia foi 2,44 (Fig. 11B) em função do aumento da temperatura de aclimação.

Já o camarão de água clara, *Macrobrachium acanthurus*, apresentou diferenças estatísticas com o aumento da temperatura em todos os parâmetros fisiológicos avaliados, exceto para o fluxo líquido de cloreto (Fig. 14A). O aumento no consumo de oxigênio nessa espécie foi aproximadamente 2,0 e 2,5 vezes maior em 26 °C e em 30 °C, respectivamente, comparados à 22 °C (Fig. 13A). A taxa de excreção de amônia ($p = 0,01$) e o uso de proteínas ($p = 0,047$) foi significativamente maior (cerca de 2 vezes em cada parâmetro) nos animais aclimatados a 30 °C, em relação aos indivíduos mantidos a 22 °C (Figs. 13B e 13C). Além disso, a aclimação ao regime térmico mais elevado (30 °C – -5,851 $\mu\text{M/g/h}$) resultou no aumento significativo do fluxo líquido de sódio em comparação aos animais mantidos a 26 °C (-1,553 $\mu\text{M/g/h}$) – (Fig. 14B). Para a espécie *M. acanthurus* o Q_{10} para o consumo de oxigênio (Fig. 13A) e excreção de amônia (Fig. 13B) foi de 3,27 e 8,66, respectivamente.

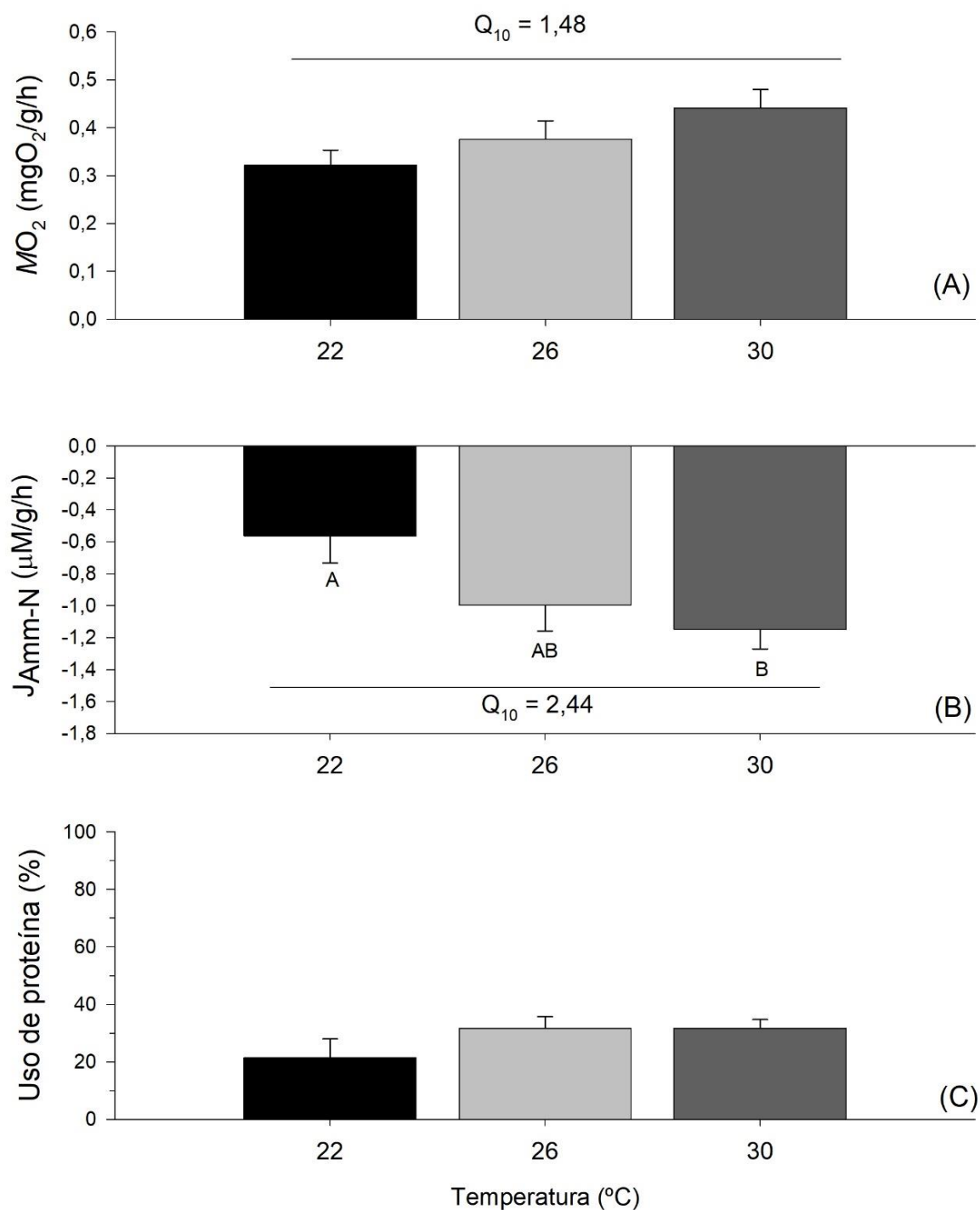


Figura 11. *Macrobrachium potiuna*. Taxa de consumo de oxigênio (A), excreção de amônia (B) e uso de proteínas (C) por exemplares de exemplares aclimatados por 7 dias a três regimes térmicos diferentes em água preta. Letras diferentes representam diferenças estatísticas entre as temperaturas de aclimação em um mesmo tipo de água. Diferenças estatísticas significativas para $p < 0,05$.

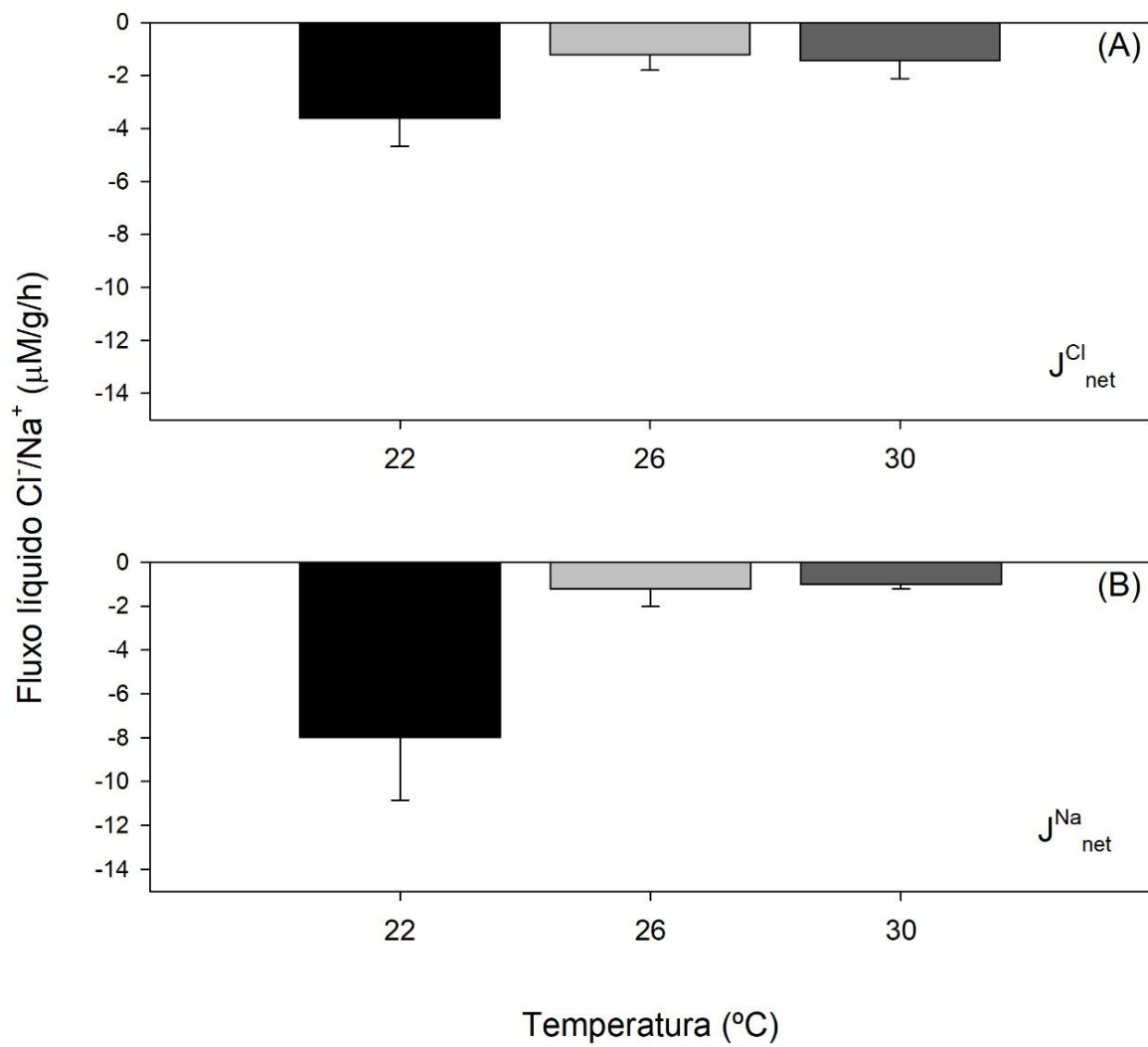


Figura 12. *Macrobrachium potiuna*. Fluxos líquidos de íons cloreto (A) e sódio (B) em exemplares aclimatados por 7 dias a três regimes térmicos diferentes em água preta. Letras diferentes representam diferenças estatísticas entre as temperaturas de aclimação em um mesmo tipo de água. Diferenças estatísticas significativas para $p < 0,05$.

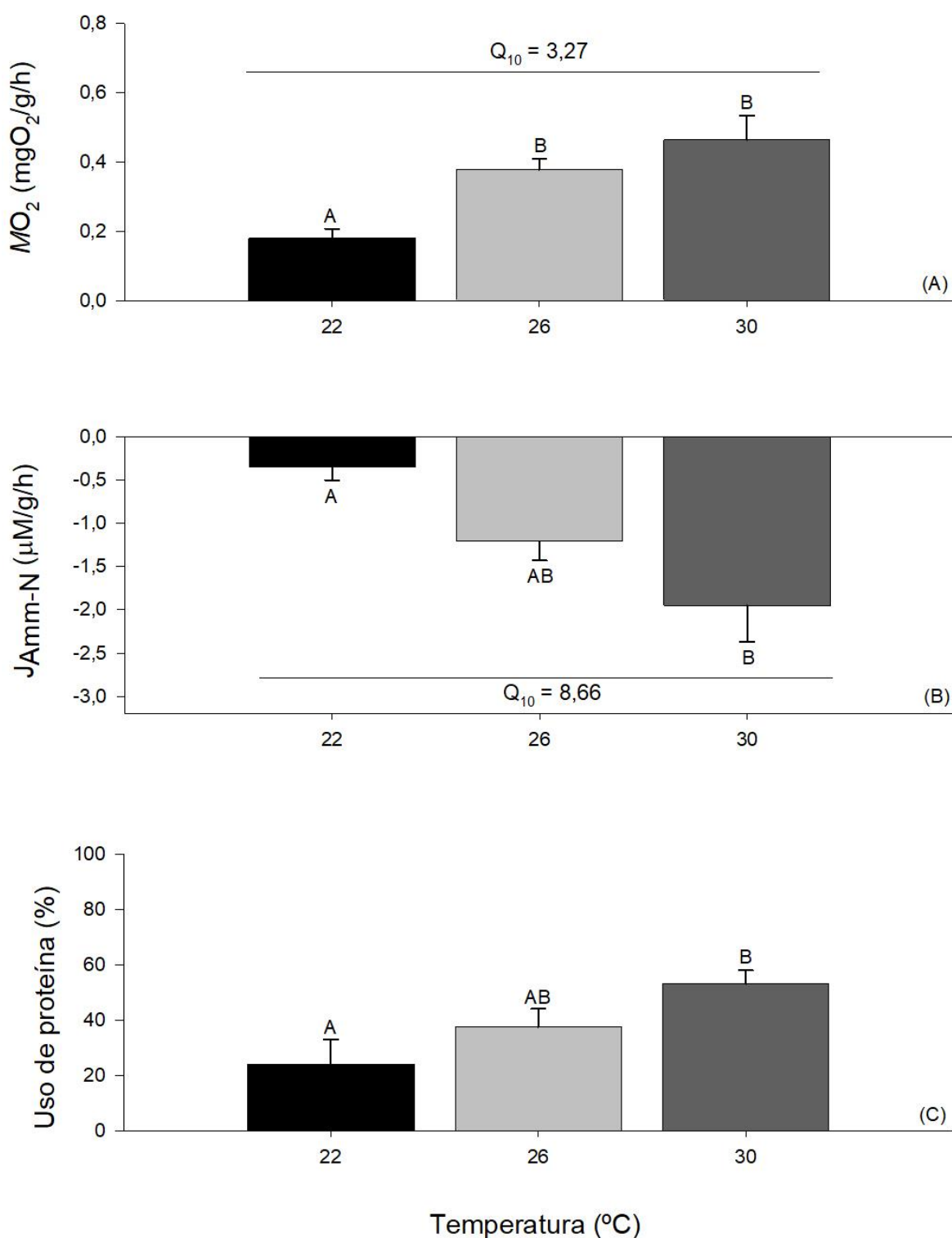


Figura 13. *Macrobrachium acanthurus*. Taxa de consumo de oxigênio (A), excreção de amônia (B) e uso de proteínas (C) por exemplares de exemplares aclimatados por 4 a 7 dias a três regimes térmicos diferentes em água clara. Letras diferentes representam diferenças estatísticas entre as temperaturas de aclimação em um mesmo tipo de água. Diferenças estatísticas significativas para $p < 0,05$.

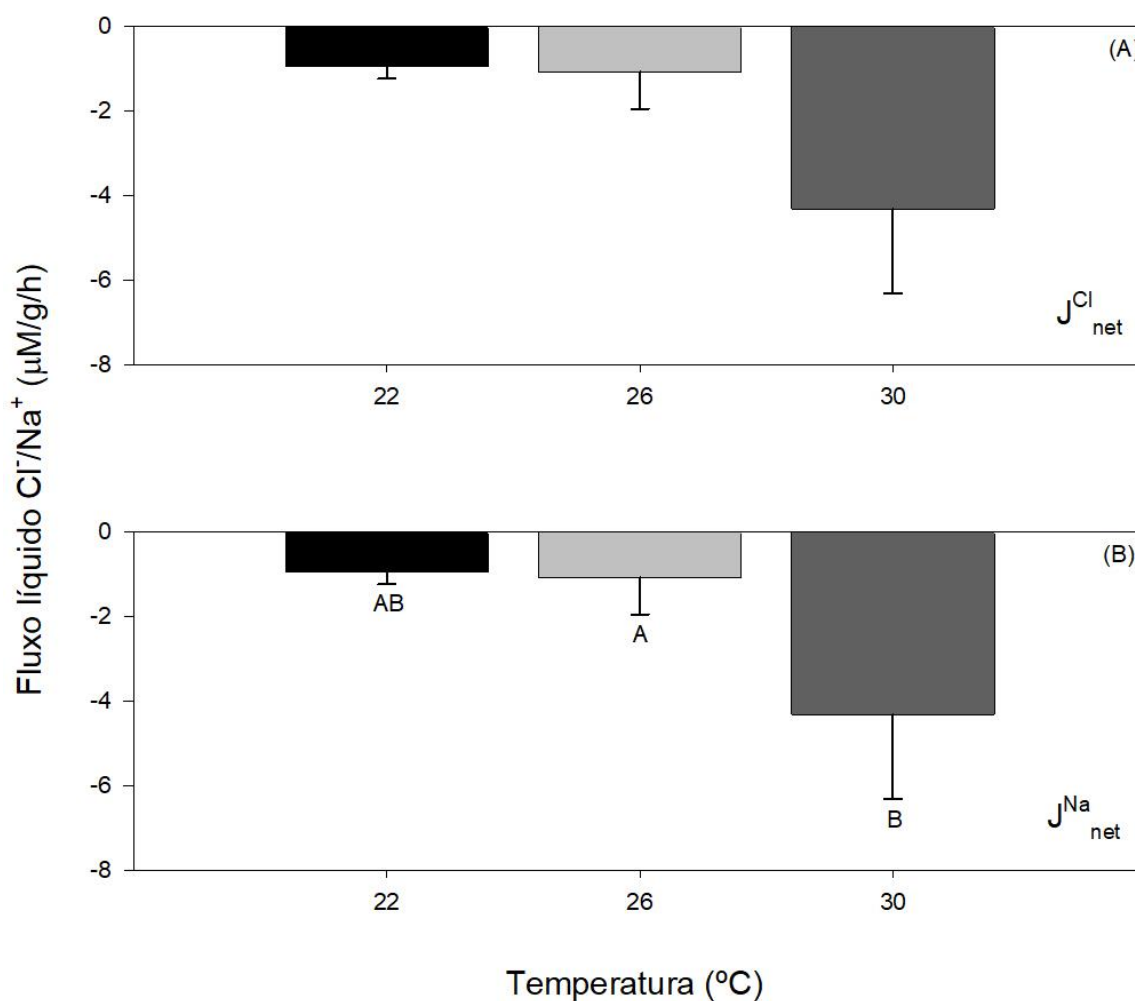


Figura 14. *Macrobrachium acanthurus*. Fluxos líquidos de íons cloreto (A) e sódio (B) em exemplares aclimatados por 4 a 7 dias a três regimes térmicos diferentes em água clara. Letras diferentes representam diferenças estatísticas entre as temperaturas de aclimação em um mesmo tipo de água. Diferenças estatísticas significativas para $p < 0,05$.

O aumento da temperatura da água não resultou em alterações dos parâmetros fisiológicos avaliados nos indivíduos da espécie *Scleromystax macropterus* coletados em água preta (Figs. 15 e 16). A espécie apresentou valores de Q_{10} igual a 1,65 para consumo de oxigênio (Fig. 10A) e 2,47 para excreção de amônia (Fig. 15B). A taxa de consumo de oxigênio (Fig. 17A), taxa de excreção de amônia (Fig. 17B) dos peixes da espécie *Scleromystax barbatus* coletados em água clara não demonstraram diferenças significativas entre os regimes térmicos avaliados. Os indivíduos dessa espécie aumento de de cerca de 2 vezes no uso de proteínas em 26 °C, quando comparados aos animais mantidos a 22 °C ($p = 0,00531$; Fig. 17C). Não foram observadas diferenças significativas no fluxo líquido de Na^+ e Cl^- (Fig. 18). Para *S. barbatus*, o aumento da temperatura de aclimação resultou em valores de Q_{10} para consumo de oxigênio (Fig. 17A) e para excreção de amônia (Fig. 17B) de 0,95 e 1,59, respectivamente.

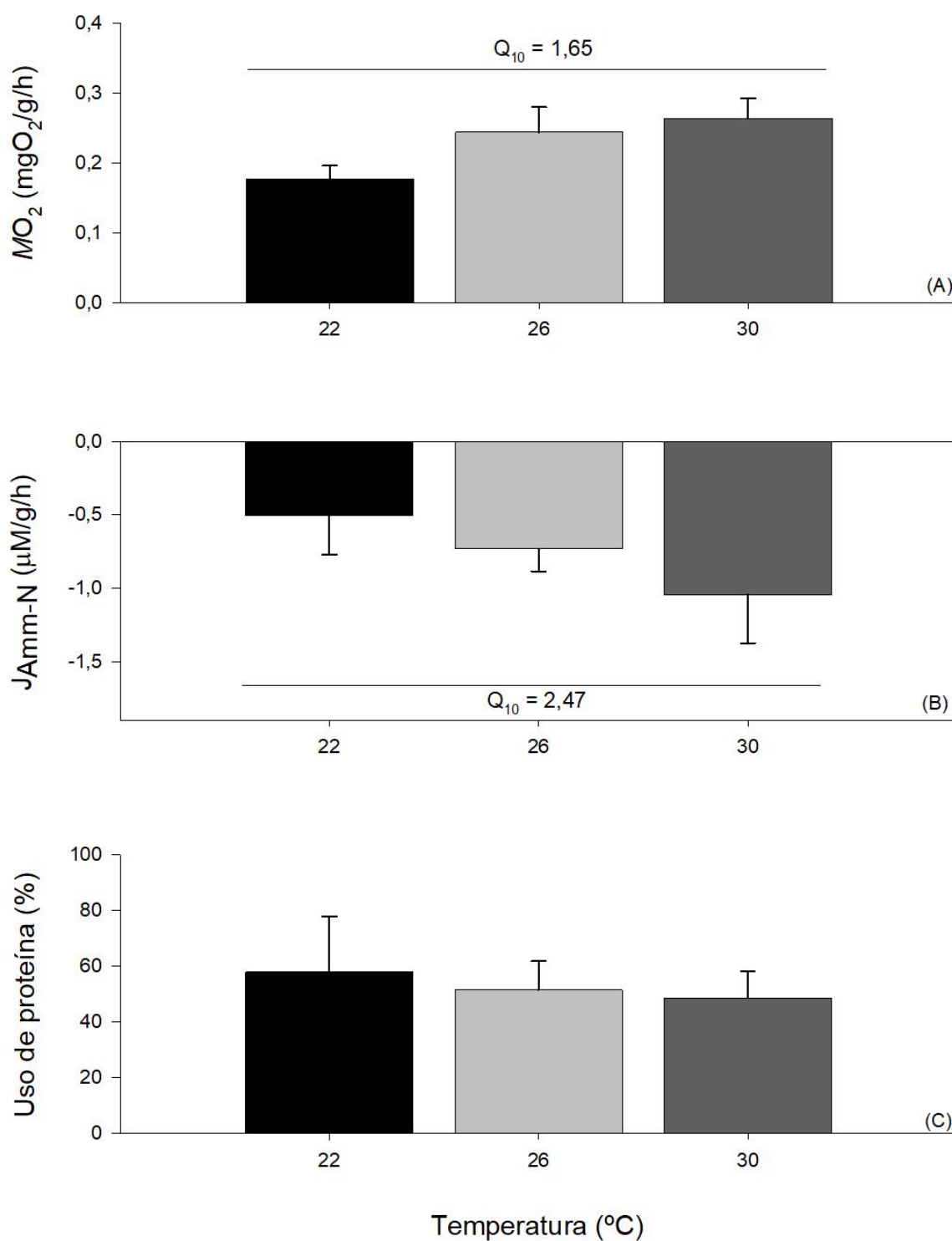


Figura 15. *Scleromystax macropterus*. Taxa de consumo de oxigênio (A), excreção de amônia (B) e uso de proteínas (C) por exemplares de exemplares aclimatados por 4 a 7 dias a três regimes térmicos diferentes em água preta. Diferenças estatísticas significativas para $p < 0,05$.

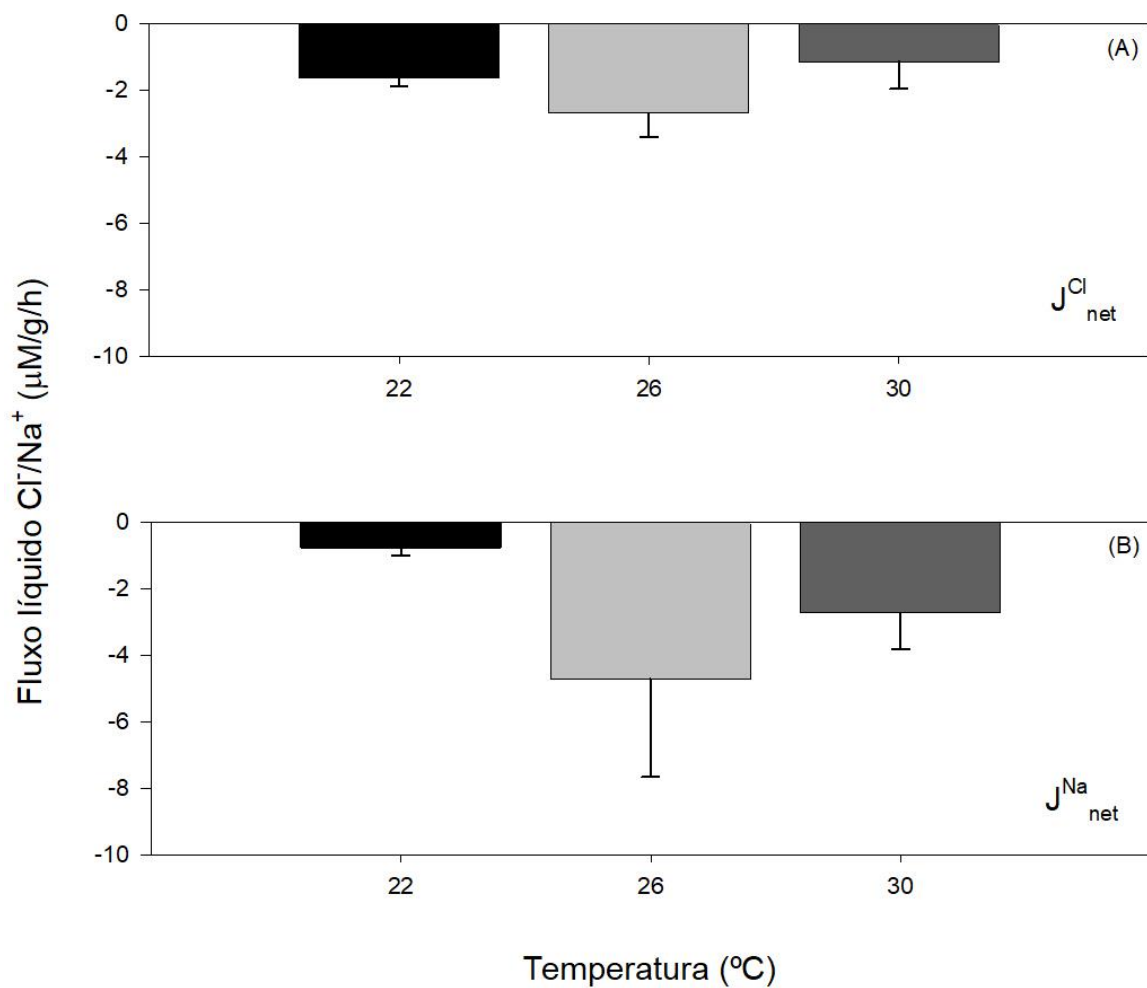


Figura 16. *Scleromystax macropterus* Fluxos líquidos de íons cloreto (A) e sódio (B) em exemplares aclimatados por 4 a 7 dias a três regimes térmicos diferentes em água preta. Diferenças estatísticas significativas para $p < 0,05$.

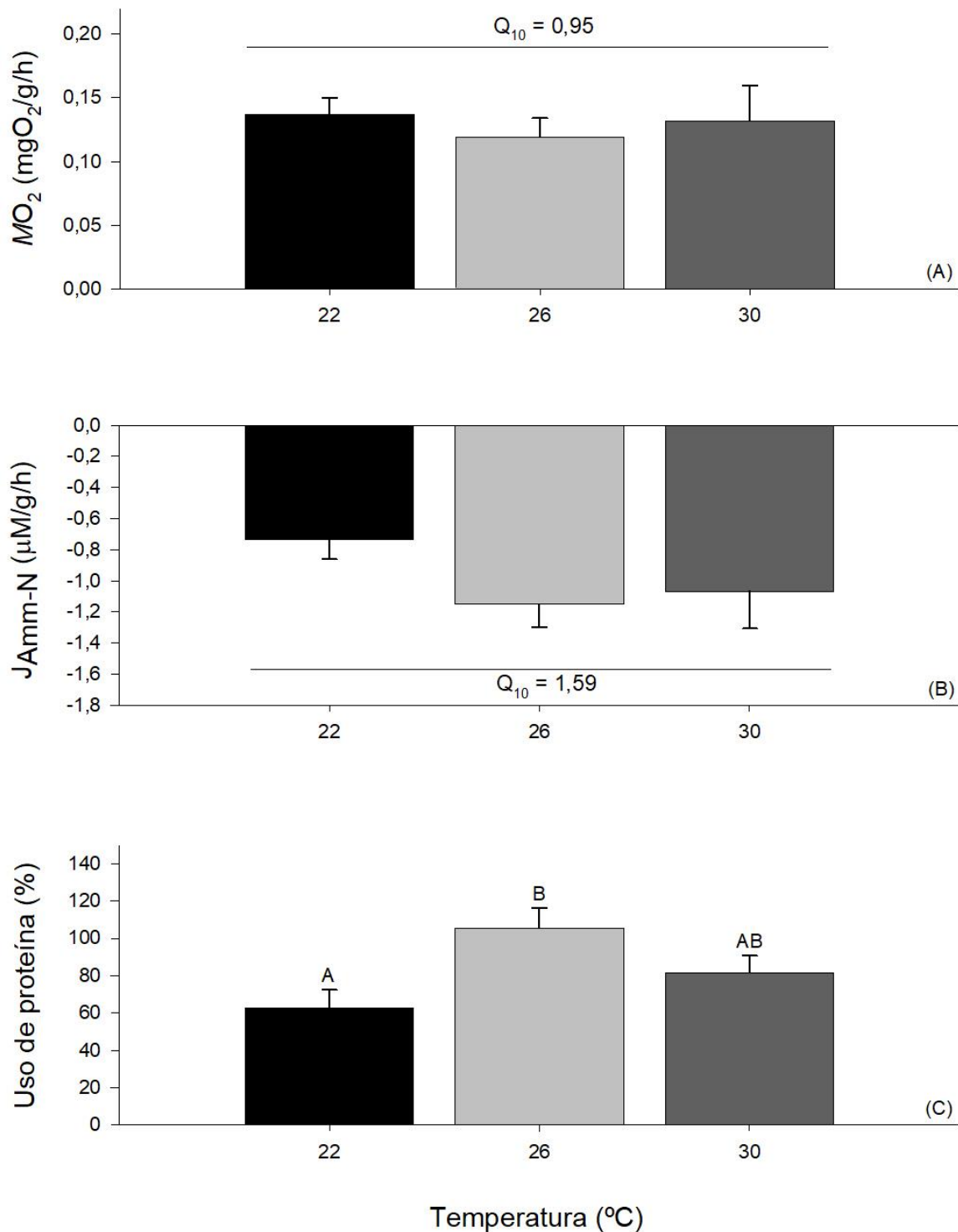


Figura 17. *Scleromystax barbatus*. Taxa de consumo de oxigênio (A), excreção de amônia (B) e uso de proteínas (C) por exemplares de exemplares aclimatados por 5 a 7 dias a três regimes térmicos diferentes em água clara. Letras diferentes representam diferenças estatísticas entre as temperaturas de aclimação em um mesmo tipo de água. Diferenças estatísticas significativas para $p < 0,05$.

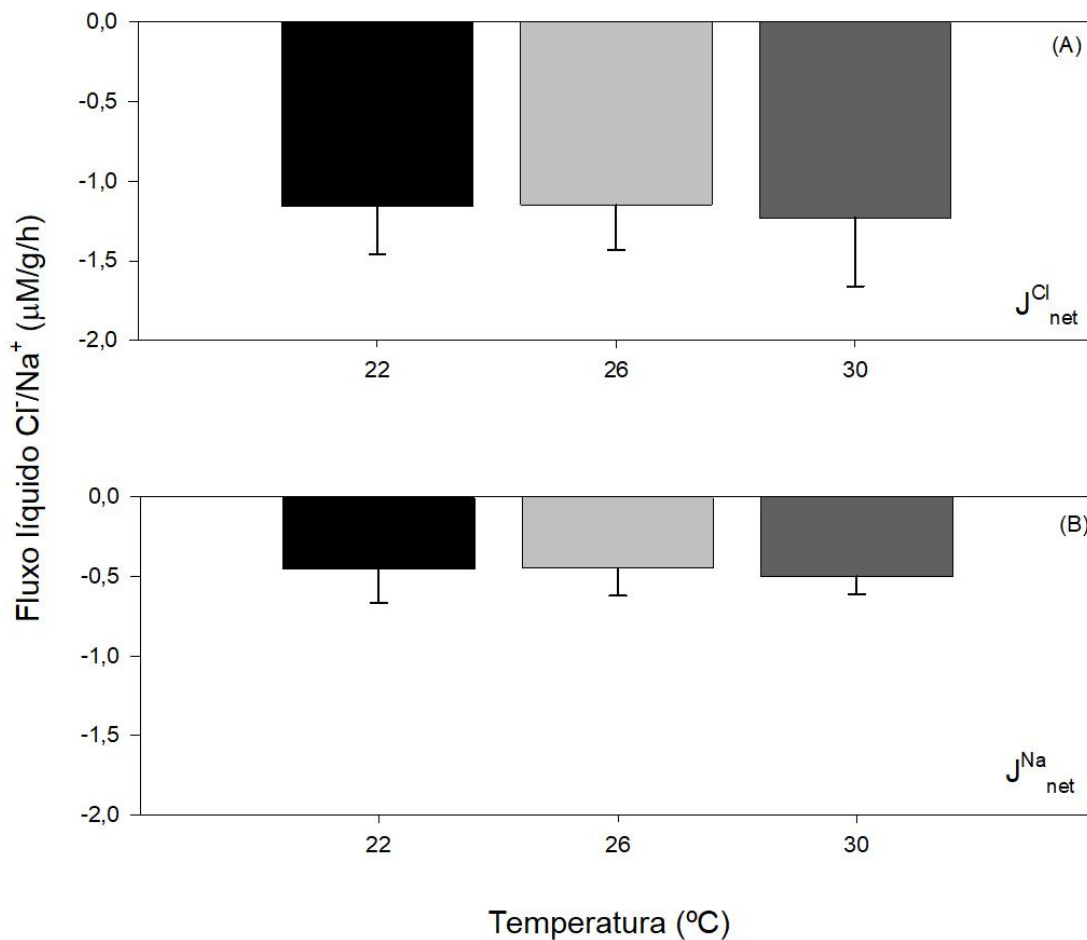


Figura 18. *Scleromystax barbatus*. Fluxos líquidos de íons cloreto (A) e sódio (B) em exemplares aclimatados por 4 a 7 dias a três regimes térmicos diferentes em água clara. Diferenças estatísticas significativas para $p < 0,05$.

Os indivíduos da espécie *Phalloceros reisi* coletados em água preta não apresentaram diferenças estatísticas em nenhum dos parâmetros fisiológicos avaliados, em função do aumento da temperatura de aclimação (Figs. 19 e 20). Já nos indivíduos da espécie *Phalloceros reisi* coletados em água clara, a taxa de consumo de oxigênio foi significativamente mais elevada em 26 °C, em comparação as duas outras temperaturas testadas (2,9 vezes e 1,4 vezes, respectivamente). Além disso, o MO_2 dos peixes aclimatados a 30 °C foi significativamente maior em relação aos animais mantidos a 22 °C (Fig. 19A). As respostas do consumo de oxigênio de *P. reisi* também foram influenciadas pelo tipo de água, onde os peixes de águas claras apresentaram MO_2 estatisticamente reduzidas, quando comparados aos animais de águas pretas, nas temperaturas de 22 °C (3 vezes, $p = 0,017$; Fig. 19A) e 30 °C (1,5 vezes, $p = 0,05$; Fig. 19A).

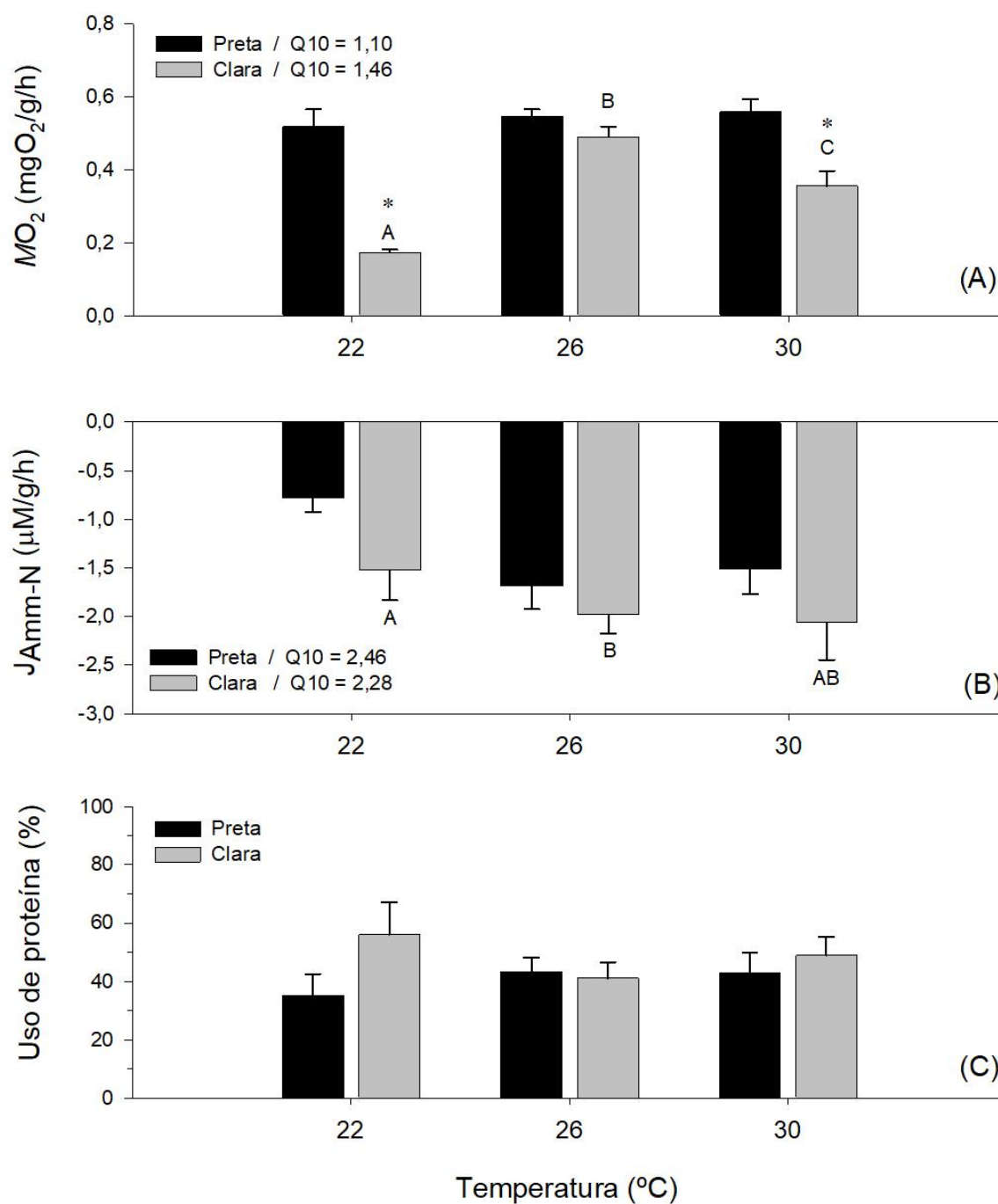


Figura 19. *Phalloceros reisi*. Taxa de consumo de oxigênio (A), excreção de amônia (B) e uso de proteínas (C) por exemplares de exemplares aclimatados por 7 dias a três regimes térmicos diferentes em água preta e clara. Letras diferentes representam diferenças estatísticas entre as temperaturas de aclimação em um mesmo tipo de água. (*) asteriscos representam diferentes entre os tipos de água em uma mesma temperatura. Diferenças estatísticas significativas para $p < 0,05$.

A taxa de excreção de amônia foi estatisticamente aumentada nos peixes de água clara aclimatados a 26 °C, quando comparados aos animais mantidos a 22 °C ($p = 0,00743$; Fig. 19B). A taxa de excreção de excreção de amônia em peixes de água preta não demonstrou ser influenciada pelo aumento de temperatura. Os indivíduos de *Phalloceros reisi* de água preta apresentaram Q_{10} para o consumo de oxigênio igual 1,10 (Fig. 19A) e igual 2,46 para excreção de amônia (Fig. 19B) em função do aumento de temperatura (22 °C a 30 °C), enquanto a mesma espécie em água clara demonstrou valores de 1,46 e 2,28 para as mesmas medidas, respectivamente (Figs. 19A e 19B). O uso de proteínas (Fig. 19C) e os fluxos líquidos de Na^+ e Cl^- (Fig. 20) não foram influenciados pelo aumento da temperatura de aclimação em *P. reisi* para os dois tipos de água.

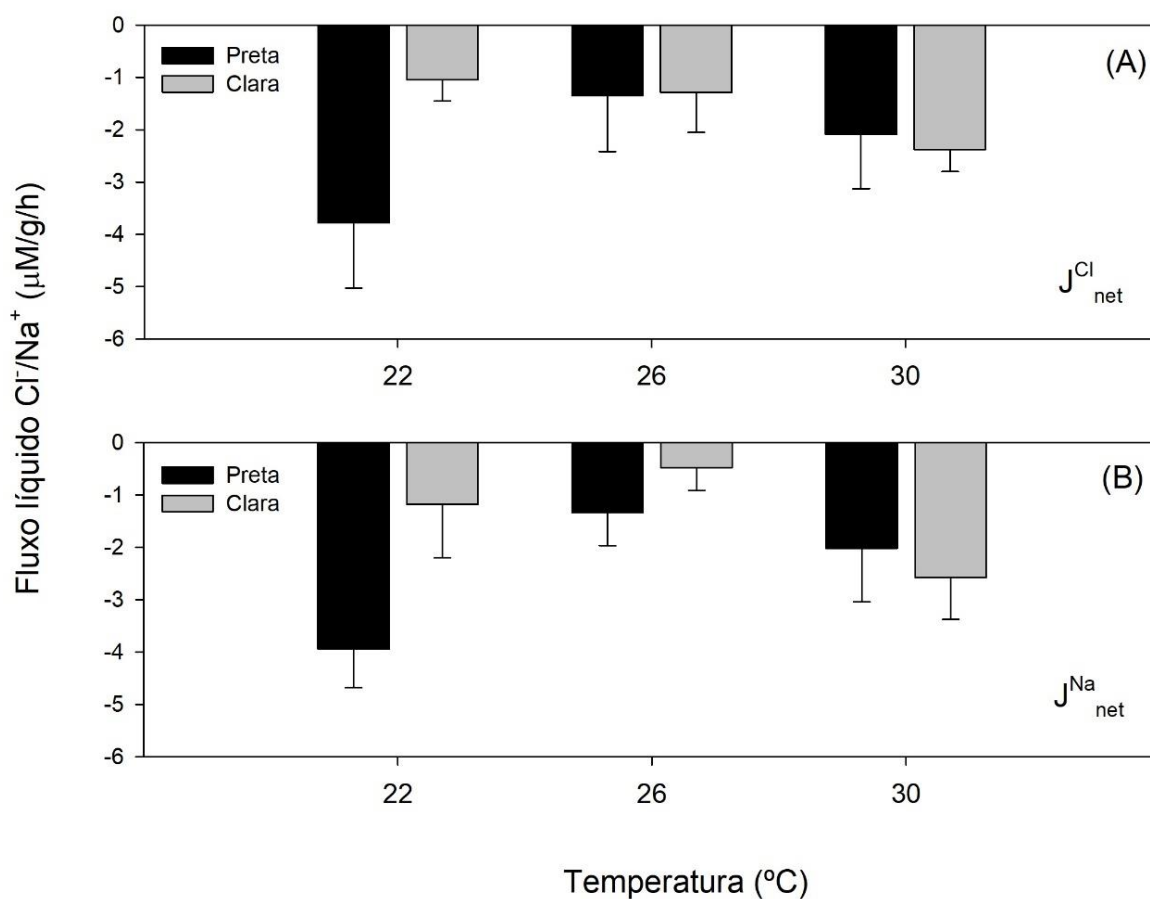


Figura 20. *Phalloceros reisi*. Fluxos líquidos de íons cloreto (A) e sódio (B) em exemplares de exemplares aclimatados por 7 dias a três regimes térmicos diferentes em água preta e clara. Diferenças estatísticas significativas para $p < 0,05$.

5. Discussão

5.1. Efeito da Temperatura de Aclimação sobre o Metabolismo de Rotina

O consumo de oxigênio de um indivíduo é uma das formas de avaliar a energia que ele utiliza para manter seu metabolismo (Clausen, 1936). Em situações de estresse térmico, a tomada de oxigênio é intensificada para manter o funcionamento da respiração mitocondrial e, consequentemente, gerar mais ATP por meio de fosforilação oxidativa, suprimindo a demanda do organismo por energia (Moyes e Schulte, 2009; Willmer *et al.*, 2009; Norin e Metcalfe, 2019). Assim, em cenários de maiores temperaturas ambientais, há aceleração da síntese de proteínas e perdas iônicas difusivas através das membranas, afetando assim a taxa metabólica basal do animal e exigindo maior produção de energia do organismo, gerando um ciclo entre produção e gasto energético (Clarke e Fraser, 2004; Little *et al.*, 2020). Além disso, temperaturas muito altas reduzem a quantidade de oxigênio disponível, tornando a água hipóxica, proporcionando um desafio duplo ao animal (Ern *et al.*, 2020). As espécies apresentam uma faixa de temperatura onde o desempenho do seu organismo é máximo chamada tolerância térmica, podendo ter grande variação ou não, mas sempre determinando sua sobrevivência, funcionamento do metabolismo e distribuição (Cereja, 2020). Sendo o metabolismo (e por consequência, a demanda pelo oxigênio) diretamente relacionado com a temperatura, a tolerância térmica está relacionada à obtenção de oxigênio para manter as funções vitais do indivíduo, proposto pela hipótese de tolerância térmica limitada pela capacidade de oxigênio (OCLTT) (Portner, 2010; Schulte, 2015).

O aumento do consumo de oxigênio em função do aumento da temperatura foi observado no presente estudo para o camarão *M. acanthurus* de água clara com o aumento de 8 °C de temperatura. Ao mesmo tempo, a espécie de camarão presente em água preta, *M. potiuna*, não teve o MO_2 afetado pelo aumento da temperatura da água. Considerando o Q_{10} de cada espécie, *M. acanthurus* apresentou um valor quase 2 vezes maior que *M. potiuna*, o que demonstra maior responsividade do metabolismo de rotina na espécie de água clara em relação ao aumento de temperatura dentro da faixa testada. Essa resposta pode ser considerada espécie-específica, mas sugere que decápodos de águas claras são mais sensíveis e podem ser mais afetados por alterações de regimes térmicos, como ocorre nas emergências climáticas. Visando um panorama mais completo, estudos futuros devem considerar fatores como tipo de habitat, distribuição geográfica e estações do ano.

O mesmo vem sendo documentadas ao longo dos anos em diferentes crustáceos: *Caridina nilótica* (Roux, 1833), *Cherax tenuimanus* (Smith, 1912) e *Sudanonautes floweri* (de Man, 1901) (Hart, 1980; Villarreal, 1990; Inyang e Nwankwo, 2004). Também foi observado no gênero *Macrobrachium*, em pós larvas (28 °C e 33 °C) e adultos (25 °C e 30 °C) de *M. rosenbergii* (de Man, 1879); *M. americanum* (Bate, 1868) a 24 °C e 32 °C; *M. tenellum* (Smith, 1871) a 20 °C e a 29 °C; a 23 °C e a 32 °C) e *M. acanthurus* () a 20 °C, 25 °C, 30 °C e 35 °C (Niu e colaboradores, 2003; Manush *et al.*, 2004; García-Guerrero *et al.*, 2022; Hernández-Sandoval *et al.*, 2018; Gasca-Levy *et al.*, 1991).

A faixa ótima do gênero também varia, como para *M. rosenbergii* entre 29 °C e 31 °C e *M. americanum* e *M. tenellum* a 26 °C, sendo todas as espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais, demonstrando variação entre os platôs dentro desse grupo (Cheng e Chen, 2000; Mattos e Oshiro, 2009; García-Guerrero *et al.*, 2022; Hernández-Sandoval *et al.*, 2018). Díaz e colaboradores (2002) determinaram que 29 °C é a temperatura ideal para a espécie *M. acanthurus* realizar suas funções fisiológicas, de crescimento e de reprodução. Deste modo, apesar do aumento do consumo de oxigênio nos indivíduos de *M. acanthurus* aclimatados nas maiores temperaturas em nosso trabalho, estudos futuros que relacionem o consumo com as funções testadas por Díaz e colaboradores permitirão compreender qual temperatura pode gerar um quadro de hipóxia.

O aumento de temperatura não resultou em efeitos na MO_2 das espécies *S. macropterus* e *S. barbatus*, possivelmente em função da respiração bimodal. Alguns peixes da família Callichthyidae conseguem obter oxigênio da água e do ar (Fernandes e Moron, 2020), adaptação chamada de respiração bimodal. Esses animais usam esse mecanismo em casos de aumento da demanda de oxigenação por algum estresse ou exercício, ou se o esforço para obter oxigênio exigir alto gasto energético (Kramer e McClure, 1980). Isso possibilita que esses organismos habitem regiões de água doce com pouco oxigênio dissolvido, como é o caso da *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842), com alterações morfológicas em suas brânquias que permitem as duas formas de tomada de oxigênio (Plaul *et al.*, 2021). Pineda e colaboradores (2020) observaram que o aumento de temperatura (25 °C para 30 °C) estimula a respiração aérea de *Corydoras aeneus* (Gill, 1858), sendo inversamente proporcional em relação à disponibilidade de oxigênio no ambiente.

Por outro lado, a espécie *P. reisi* de água clara apresentou maior consumo de oxigênio a 26 °C em comparação com o consumo a 22 °C, embora os indivíduos da mesma espécie em

água preta não tenham apresentado diferenças significativas. Apesar da respiração bimodal presente em Callichthyidae, o efeito estimulatório do aumento da temperatura sobre o metabolismo de rotina de peixes teleósteos tem sido descrito em diferentes gêneros: *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758); *Labeo rohita* (Hamilton, 1822); *Lates calcarifer* (Bloch, 1790) e para o poeciliidae *Limia melanonotata* (Nichols e Myers, 1923) testado a 25 °C e a 30 °C (Mwangangi e Mutungi, 1994; Das *et al.*, 2005; Glencross e Felsing, 2006; Haney e Walsh, 2003).

Peixes da família Poeciliidae possuem melhor estabelecimento em ambientes com temperaturas naturalmente mais altas, como regiões tropicais (Tuckett *et al.*, 2021). Diversas espécies desse grupo apresentam amplas janelas térmicas, podendo ser chamados de euritermos. *Poecilia sphenops*, *P. reticulata*, *Xiphophorus helleri* e *X. maculatus* apresentam tolerância térmica entre 10 °C e 35 °C (Hernández, 2002; Yanar *et al.*, 2023). Embora muitos estudos visem compreender a família Poeciliidae, a plasticidade térmica do gênero *Phalloceros* ainda é pouco estudado. É possível que ótimo térmico para *Phalloceros reisi* esteja dentro da faixa de temperatura testada em nosso trabalho, mas é possível que seu organismo atinja limite térmico quando se aproxima de 30 °C, considerando a redução do consumo de oxigênio nos animais em água clara nessa temperatura em comparação aos peixes mantidos a 26 °C. Resultados com o padrão de queda no consumo de oxigênio em temperaturas mais altas foi observado por Saint-Paul (1983) em tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816), um vez que a espécie é adaptada a viver em ambientes com regimes térmicos mais elevados, como as regiões tropicais. Assim, é possível considerar outra hipótese, onde os indivíduos de *P. reisi* presente em água clara estaria adaptado à temperatura mais alta testada, sendo capaz de consumir menos oxigênio para manter seu organismo.

Os peixes da espécie *P. reisi* de água preta consumiram mais oxigênio que os presente em água clara, principalmente nas temperaturas mais extremas. É possível que os indivíduos de água preta não apresentem uma expressão gênica em suas membranas branquiais suficiente para evitar que a acidez afete a permeabilidade desses animais. Araújo e colaboradores (2017) observaram o contrário para a sardinha *Triportheus albus* (Cope, 1872), espécie que habita o Rio Negro (água preta) e o Rio Tapajós (água clara). Indivíduos em água preta apresentaram menor MO_2 do que os indivíduos de água clara, sendo proposta uma menor permeabilidade branquial decorrente de modulação genética, reduzindo o efeito da acidez dos corpos de água preta onde são encontrados. Desse modo, é possível que a espécie *P. reisi*, distribuída entre os diferentes corpos d'água da Bacia do Rio Preto, não expresse os genes para tal modulação,

estando expostos à acidez natural do meio, considerando que os corpos de água preta da região de estudo possuem pH entre 3,2 e 4,5 (Gonçalves e Braga, 2012). O efeito do ambiente ácido na taxa de consumo de oxigênio ainda não foi completamente descrito para água doce, mas foi descrita para larvas do peixe olho-de-boi *Seriola lalandi* (Cuvier e Valenciennes, 1833), espécie pelágica marinha (Laubenstein *et al.*, 2018). Quando consideramos o Q_{10} da espécie em função do consumo de oxigênio em ambas as águas, podemos observar esse provável efeito da acidez no MO_2 , mesmo que de forma sutil.

5.2. Efeito da Temperatura sobre a Excreção de Amônia e Metabolismo de Proteínas

O camarão de água clara *M. acanthurus* apresenta maior excreção de amônia e maior uso de proteínas em função do aumento de temperatura. Mecanismo comum para ectotérmicos, esse resultado era esperado considerando o estímulo do organismo para a geração de ATP, visando suprir a demanda energética causada pelo estresse térmico. Resultados semelhantes foram observados para *M. rosenbergii* (Chen e Kou, 1996a; Schmitt e Uglow, 1996), para outros crustáceos (Chen e Nan, 1993; Chen e Lai, 1993), e para teleósteos (Leung *et al.*, 1999; Frisk *et al.*, 2013).

Ao aumentar a taxa metabólica e acelerar a síntese proteica mediante o aumento da temperatura, os organismos aquáticos ectotérmicos têm como consequência a maior produção de excretas nitrogenadas (Wood, 2001; Chew *et al.*, 2005; Wood *et al.*, 2017). Dentre os tipos de excretas, a amônia dispõe de menor gasto energético, representando a principal forma para decápodes e peixes, independente da forma (iônica - NH_4^+ ou molecular - NH_3 (Regnault, 1987; Houlihan *et al.*, 1991; Chen e Kou, 1996b; Frick e Wright, 2002; Uliano *et al.*, 2010). A amônia é o produto final do catabolismo de aminoácidos e proteínas, levando ao seu aumento no fluído extracelular e sendo sua excreção natural, evitando atingir concentrações tóxicas que tendem a desencadear distúrbios nas funções cerebrais por alterar a ionoregulação celular (Wright, 1995; Bucking, 2017). Ela se origina principalmente da desaminação que enzimas específicas realizam na glutamina, no glutamato, na serina e na asparagina, e também em reações com purinas e pirimidinas (Weihrauch *et al.*, 2004).

A espécie de água clara *M. acanthurus* apresentou maiores MO_2 e J_{Amm} com o aumento de temperatura, o que demonstra a relação entre a alta excreção e a demanda respiratória desses animais em situações com maior faixa térmica. Isso ocorre, pois, ao intensificar a captação de oxigênio visando maior geração de energia, o organismo terá como consequência aumento na

concentração de excretas nitrogenadas da atividade do metabolismo aeróbico. Outros crustáceos apresentam resultados semelhantes em situações similares: *M. rosenbergii*; *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez Farfante, 1967) e *Hemigrapsus takanoi* (Asakura e Watanabe, 2005 (Chen e Kou, 1996a; Lemos *et al.*, 2001; Shinji *et al.*, 2009).

O camarão de água preta *M. potiuna* não demonstrou aumento significativo de MO_2 à 30 °C ($p = 0,085$). No entanto, é possível notar um leve aumento na sua respiração acompanhando a intensificação da excreção de amônia. Assim, podemos considerar que a espécie tende a acompanhar o aumento de funções metabólicas em maiores temperaturas. A maior responsividade da excreção ao aumento de temperatura de *M. acanthurus* quando comparado a *M. potiuna* é demonstrada através do Q_{10} para a excreção de amônia, onde o valor para o camarão de água clara foi 8,66, enquanto o de água preta foi 2,44.

De modo semelhante, peixe *S. barbatus* apresentou maior uso de proteínas entre as duas temperaturas mais baixas, mas sem alterações significativas em seu MO_2 ($p = 0,1$) e J_{Amm} ($p = 0,48$), o que podemos explicar pela maior demanda proteica de peixes em temperaturas mais altas (Wright e Anderson, 2001).

P. reisi presente em água clara apresentou maior MO_2 e maior J_{Amm} em função do aumento de temperatura, demonstrando que o aumento da tomada de oxigênio está fortemente relacionada com uma maior produção de excretas nitrogenadas. Como esperado, esse resultado corrobora a literatura para teleósteos: *O. mossambicus* (Peters, 1852); *O. niloticus*; *Miichthys miiuy* (Basilewsky, 1855); *Silurus meridionalis* (Chen, 1977) e *C. macropomum* (Kutty, 1972; Alsop *et al.*, 1999; Zheng *et al.*, 2008; Luo e Xie, 2009; Wood *et al.*, 2017).

5.3. Respostas Ionoregulatórias ao Aumento de Temperatura

O fluxo líquido de Na^+ de *M. acanthurus* aumento entre as duas temperaturas mais altas, possivelmente em decorrência do aumento da captação de oxigênio em função do estresse térmico, que torna o epitélio da membrana mais permeável e facilita o extravasamento de íons Na^+ e Cl^- , o que é chamado de compromisso osmo-respiratório (Gonzalez e McDonald, 1992). Uma membrana mais permeável implica em maiores perdas iônicas difusivas e maior gasto de ATP para manter a tomada ativa de íons através dos trocadores apicais dos ionócitos, sendo esse 'compromisso' um balanço entre a tentativa de ganho energético para maximizar a captura de oxigênio e a perda de energia para manter a ionoregulação (Moyson *et al.*, 2015).

Observações de aumento de fluxo líquido de íons Na^+ como consequência do aumento de temperatura foram estudados em teleósteos, como: *Metynnis hypsauchen* (Müller e Troschel, 1844) do Rio Negro a 26 °C e a 33 °C; *Danio rerio* (Hamilton, 1822) a 15 °C, 25 °C e 35 °C; e *O. mykiss* à 13 °C e 18 °C, presente em regiões temperadas (Baldisserotto e Val, 2002; Onukwufor e Wood, 2020a; Onukwufor e Wood, 2020b). O mesmo foi observado em espécies de caracíformes *Hyphessobrycon melazonatus* (Durbin, 1908) e *Pyrhulina brevis* (Steindachner, 1876) e no ciclídeo *Apistogramma agassizii* (Steindachner, 1875) quando testados em situações climáticas atuais e extremas (4,5 °C a mais) na região amazônica (Campos *et al.*, 2019).

O fluxo de íons de sódio só ocorre no camarão de água clara, ao mesmo tempo em que nenhuma espécie de água preta demonstrou aumento do $J_{\text{Net}}^{\text{Na}}$ e do $J_{\text{Net}}^{\text{Cl}}$. Dessa forma, há a possibilidade de que o COD presente na água preta ter agido de forma protetiva em relação às perdas iônicas nesses animais, enquanto os de água clara ficaram mais expostos ao aumento de temperatura. O COD se liga ao epitélio branquial, gerando hiperpolarização, o que altera o funcionamento dos transportadores, reduzindo a permeabilidade da membrana aos íons sódio e cloreto ao estimular a atividade da NKA (Wood *et al.*, 2011). Ele pode ainda reduzir a permeabilidade paracelular, de modo semelhante à ação do íon Ca^{2+} quando abundante na água, evitando as perdas de íons nessas regiões (Morris *et al.*, 2021). Entretanto, para determinar a ação do COD nas brânquias, é necessário realizar análises das amostras de água das coletas, além de experimentos focados na marcação do material orgânico.

6. Conclusão

O aumento de temperatura foi determinante em todos os parâmetros avaliados durante o trabalho, exceto no fluxo líquido de cloreto, principalmente para *M. acanthurus* e *P. reisi* em água clara. O camarão de água preta, *M. potiuna*, apresentou aumento da excreção nitrogenada em função da temperatura, enquanto o camarão de água clara demonstrou maior responsividade ao aumento de temperatura, havendo aumento do seu MO_2 , J_{Amm} , uso de proteínas e $J_{\text{Net}}^{\text{Na}}$. Os peixes do gênero *Scleromystax* não demonstraram alterações em seu metabolismo e ionoregulação em função da temperatura, exceto pelo aumento do uso de proteínas de *S. barbatus* presentes em água clara, sendo possível que sua respiração bimodal tenha suprido as necessidades energéticas ao longo do experimento. Os indivíduos da espécie *Phallocceros reisi* presentes em água clara também demonstraram maior responsividade em seu MO_2 , J_{Amm} e uso de proteínas ao ser exposta a regimes térmicos mais altos, sendo o consumo de oxigênio da

espécie maior em água preta, ambiente mais ácido. O trabalho permite uma maior compreensão do efeito que o aumento de temperatura exerce nas respostas metabólicas e ionoregulatórias de espécies encontradas nos diferentes tipos de água da bacia do Rio Preto, abrindo espaço para maiores investigações sobre aspectos dessa fauna endêmica e da presença do COD em alguns corpos d'água.

7. Referências

- Alfonso, S., Gesto, M., & Sadoul, B. (2021). Temperature increase and its effects on fish stress physiology in the context of global warming. *Journal of Fish Biology*, 98(6), 1496-1508.
- Almeida, R. D. S. (2020). Influência do uso e cobertura do solo sobre a ictiofauna de riachos das cabeceiras do Alto Rio Paranapanema. 88f. Tese (Doutorado em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis) - Centro de Ciências e Tecnologia para Sustentabilidade, Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba. 2020.
- Almeida, R. S., Valente, R. D. O. A., & Cetra, M. (2022). The effect of hierarchical environmental structure and catchment-scale land cover on fish assemblage composition in streams from the Brazilian south-eastern rain forest. *Hydrobiologia*, 849(20), 4485-4497.
- Alsop, D. H., Kieffer, J. D., & Wood, C. M. (1999). The effects of temperature and swimming speed on instantaneous fuel use and nitrogenous waste excretion of the Nile tilapia. *Physiological and Biochemical Zoology*, 72(4), 474-483.
- Angilletta Jr, M. J., Niewiarowski, P. H., & Navas, C. A. (2002). The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of thermal Biology*, 27(4), 249-268.
- Antunes, L. D. S., & Oshiro, L. M. Y. (2004). Aspectos reprodutivos do camarão de água doce *Macrobrachium potiuna* (Müller)(Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) na serra do Piloto, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista brasileira de Zoologia*, 21, 261-266.
- Araújo, J. D., Ghelfi, A., & Val, A. L. (2017). *Triportheus albus* Cope, 1872 in the blackwater, clearwater, and whitewater of the Amazon: A case of phenotypic plasticity?. *Frontiers in genetics*, 8, 114.
- Baldisserotto, B., & Val, A. L. (2002). Ion fluxes of *Metynnis hypsauchen*, a teleost from the Rio Negro, Amazon, exposed to an increase of temperature. *Brazilian Journal of Biology*, 62(4B), 749-752.
- Beitinger, T.L., Bennett, W.A., & Mccauley, R.W.(2000). Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. *Environ. Biol. Fishes* 58, 237–275.

- Bonar, P. T., & Casey, J. R. (2008). Plasma membrane $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchangers: Structure, mechanism and physiology. *Channels*, 2(5), 337-345.
- Bond-Buckup, G., & Buckup, L. (1989). Os Palaemonidae de águas continentais do Brasil meridional (Crustacea, Decapoda). *Revista brasileira de Biologia*, 49(4), 883-896.
- Breitburg, D., Levin, L. A., Oschlies, A., Grégoire, M., Chavez, F. P., Conley, D. J., ... & Zhang, J. (2018). Declining oxygen in the global ocean and coastal waters. *Science*, 359(6371).
- Brett, J. R. (1971). Energetic Responses of Salmon to Temperature. A Study of Some Thermal Relations in the Physiology and Freshwater Ecology of Sockeye Salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Zoólogo americano*, 11(1), 99-113.
- Britto, M. R., & Reis, R. E. (2005). A new *Scleromystax* species (Siluriformes: Callichthyidae) from coastal rivers of southern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 3, 481-488.
- Britto, M. R., Fukakusa, C. K., & Malabarba, L. R. (2016). New species of *Scleromystax* (Günther, 1864) (Siluriformes: Callichthyidae)-extending the meridional distribution of genera endemic to the Atlantic Forest. *Neotropical Ichthyology*, 14.
- Bucking, C. (2017). A broader look at ammonia production, excretion, and transport in fish: a review of impacts of feeding and the environment. *Journal of Comparative Physiology B*, 187(1), 1-18.
- Cachola, C. S, Andrade, A. C. A. C., Lopes, L. S., Santos, E. M., & Peyerl, D. (2022). O papel das políticas públicas na redução das emissões veiculares de gases de efeito estufa no estado de São Paulo. *Desenvolvimento e Meio Ambiente*, 59.
- Camargo, A. F. M. & Cancian, L. F. (2016). Ecologia da bacia do rio Itanhaém: Características limnológicas e uso do solo. In Moraes, M. E. B & Lorandi, R. *Métodos e técnicas de pesquisa em bacias hidrográficas*. Ilhéus, BA: Editus, 197-218.
- Campos, D. F. D., Jesus, T. F., Kochhann, D., Heinrichs-Caldas, W., Coelho, M. M., & Almeida-Val, V. M. F. (2017). Metabolic rate and thermal tolerance in two congeneric Amazon fishes: *Paracheirodon axelrodi* Schultz, 1956 and *Paracheirodon simulans* Géry, 1963 (Characidae). *Hydrobiologia*, 789(1), 133-142.

- Campos, D. F. D., Val, A. L., & Almeida-Val, V. M. F. (2018). The influence of lifestyle and swimming behavior on metabolic rate and thermal tolerance of twelve Amazon forest stream fish species. *Journal of thermal biology*, 72, 148-154.
- Campos, D. F., Braz-Mota, S., Val, A. L., & Almeida-Val, V. M. F. (2019). Predicting thermal sensitivity of three Amazon fishes exposed to climate change scenarios. *Ecological Indicators*, 101, 533-540.
- Cancian, L. F. (2012). Modelagem de distribuição geográfica potencial de macrófitas aquáticas em bacias hidrográficas. 90f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal)) – Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro, 2012
- Cereja, R. (2020). Critical thermal maxima in aquatic ectotherms. *Ecological Indicators*, 119, 106856.
- Cetra, M., Ferreira, F. C., & Carmassi, A. L. (2009). Caracterização das assembléias de peixes de riachos de cabeceira no período chuvoso na bacia do rio Cachoeira (SE da Bahia, NE do Brasil). *Biota Neotropica*, 9, 107-115.
- Cetra, M., Petrere Júnior, M., & Barrella, W. (2017). Relative influences of environmental and spatial factors on stream fish assemblages in Brazilian Atlantic rainforest. *Fisheries Management and Ecology*, 24(2), 139-145.
- Chauí-Berlink, J. G., Monteiro, L. H. A., Navas, C.A. & Bicudo, J.E. (2002). Temperature effects on energy metabolism: A dynamic system analysis. *Proc. R. Soc. Lond. B* 269: 15-19.
- Chen, J. C., & Kou, T. T. (1996a). Effects of temperature on oxygen consumption and nitrogenous excretion of juvenile *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 145(1-4), 295-303.
- Chen, J. C., & Kou, C. T. (1996b). Nitrogenous excretion in *Macrobrachium rosenbergii* at different pH levels. *Aquaculture*, 144(1-3), 155-164.

- Chen, J. C., & Lai, S. H. (1993). Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicus* Bate. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 165(2), 161-170.
- Chen, J. C., & Nan, F. H. (1993). Changes of oxygen consumption and ammonia-N excretion by *Penaeus chinensis* Osbeck at different temperature and salinity levels. *Journal of Crustacean Biology*, 13(4), 706-712.
- Cheng, W., & Chen, J. C. (2000). Effects of pH, temperature and salinity on immune parameters of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish & Shellfish Immunology*, 10(4), 387-391.
- Chew, S. F., Wilson, J. M., Ip, Y. K., & Randall, D. J. (2005). Nitrogen excretion and defense against ammonia toxicity. *Fish physiology*, 21, 307-395.
- Chuang, H. J., Chiu, L., Yan, J. J., Chang, C. Y., Tang, Y. H., Chou, M. Y., Yu, H. T., & Hwang, P. P. (2023). Responses of medaka (*Oryzias latipes*) ammonia production and excretion to overcome acidified environments. *Journal of Hazardous Materials*, 445, 130539.
- Clarke, A., & Johnston, N. M. (1999). Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. *Journal of animal ecology*, 68(5), 893-905.
- Clarke, A., & Fraser, K. P. P. (2004). Why does metabolism scale with temperature? *Functional ecology*, 18(2), 243-251.
- Clausen, R. G. (1936). Oxygen consumption in fresh water fishes. *Ecology*, 17(2), 216-226.
- Correa, A. R. (2020). Estudo das características limnológicas da água no Parque Estadual do Aguapeí e em canais fluviais em sua zona de amortecimento. 125f. Dissertação (Mestrado em Geografia) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Presidente Prudente, 2020.
- Cruz, B. R. F. D. (2020). Dieta natural de espécies do gênero *Macrobrachium* (Crustacea, Decapoda) com ocorrência no Cerrado. 50f. Dissertação (Mestre em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.

- Das, T., Pal, A. K., Chakraborty, S. K., Manush, S. M., Sahu, N. P., & Mukherjee, S. C. (2005). Thermal tolerance, growth and oxygen consumption of *Labeo rohita* fry (Hamilton, 1822) acclimated to four temperatures. *Journal of Thermal Biology*, 30(5), 378-383.
- Díaz, F., Sierra, E., Re, A. D., & Rodríguez, L. (2002). Behavioural thermoregulation and critical thermal limits of *Macrobrachium acanthurus* (Wiegman). *Journal of Thermal Biology*, 27(5), 423-428.
- Dissanayake, A., Clough, R., Spicer, J. I., & Jones, M. B. (2010). Effects of hypercapnia on acid–base balance and osmo-/iono-regulation in prawns (Decapoda: Palaemonidae). *Aquatic Biology*, 11(1), 27-36.
- Duarte, R. M., Smith, D. S., Val, A. L., & Wood, C. M. (2016). Dissolved organic carbon from the upper Rio Negro protects zebrafish (*Danio rerio*) against ionoregulatory disturbances caused by low pH exposure. *Scientific Reports*, 6(1), 1-10.
- Duarte, R. M., Wood, C. M., Val, A. L., & Smith, D. S. (2018). Physiological protective action of dissolved organic carbon on ion regulation and nitrogenous waste excretion of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to low pH in ion-poor water. *Journal of Comparative Physiology B*, 188(5), 793-807.
- Emmerson, W. D. (1990). The effect of temperature and season on the aerial oxygen consumption of *Uca urvillei* (H. Milne Edwards)(Decapoda: Ocypodidae). *Journal of thermal biology*, 15(1), 41-46.
- Ern, R., Chung, D., Frieder, C. A., Madsen, N., & Speers-Roesch, B. (2020). Oxygen-dependence of upper thermal limits in crustaceans from different thermal habitats. *Journal of Thermal Biology*, 93, 102732.
- Evans, D. H., Piermarini, P. M., & Choe, K. P. (2005). The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological reviews*, 85(1), 97-177.
- Evans, D. H. (2008). Teleost fish osmoregulation: what have we learned since August Krogh, Homer Smith, and Ancel Keys. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 295(2), R704-R713.

- Felisberto, M. L. G. (2020). Estrutura da comunidade de peixes em riachos costeiros de águas pretas da Mata Atlântica no Sudeste do Brasil. 67f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura e Pesca) – Instituto de Pesca, São Paulo, 2020.
- Fernandes, M. N., & Moron, S. E. (2020). Breathing and respiratory adaptations. In *Biology and physiology of freshwater Neotropical fish* (pp. 217-250). Academic Press.
- Ferreira, F. C. (2007). Ictiofauna de riachos na planície costeira da bacia do rio Itanhaém, litoral sul de São Paulo. 126f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2007.
- Ferreira, F. C., & Petrere, M. (2009). The fish zonation of the Itanhaém river basin in the Atlantic Forest of southeast Brazil. *Hydrobiologia*, 636(1), 11-34.
- Ferreira, F. C., Silva, A. T., Gonçalves, C. S. & Petrere, M. (2014). Disentangling the influences of habitat structure and limnological predictors on stream fish communities of a coastal basin, southeastern Brazil. *Neotrop. Ichthyol.* 12(1), 177–186.
- Ficke, A. D., Myrick, C. A., & Hansen, L. J. (2007). Potential impacts of global climate change on freshwater fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 17(4), 581-613.
- Freire, C. A., Rios, L. D. P., Giaretta, E. P., & Castellano, G. C. (2017). Oxygen consumption remains stable while ammonia excretion is reduced upon short time exposure to high salinity in *Macrobrachium acanthurus* (Caridae: Palaemonidae), a recent freshwater colonizer. *Zoologia* (Curitiba), 34.
- Freitas, I. S., Sales, A. L. L. B., & Nunes, C. A. R. (2022). Nutrição e alimentação de camarões do gênero *Macrobrachium* (Bate, 1868) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Revista Sertão Sustentável*, 4(1), 17-28.
- Frick, N. T., & Wright, P. A. (2002). Nitrogen metabolism and excretion in the mangrove killifish *Rivulus marmoratus* I. The influence of environmental salinity and external ammonia. *Journal of Experimental Biology*, 205(1), 79-89.
- Frisk, M., Steffensen, J. F., & Skov, P. V. (2013). The effects of temperature on specific dynamic action and ammonia excretion in pikeperch (*Sander lucioperca*). *Aquaculture*, 404, 65-70.

Fundação SOS Mata Atlântica. 2021. A Mata Atlântica é a floresta mais devastada do Brasil. São Paulo. Seção: Causas. Disponível em: <https://www.sosma.org.br/causas/mata-atlantica/>. Acesso em 8 de Abril de 2023.

García-Guerrero, M. U., Becerril-Morales, F., Vega-Villasante, F., & Espinosa-Chaurand, L. D. (2013). Los langostinos del género *Macrobrachium* con importancia económica y pesquera en América Latina: conocimiento actual, rol ecológico y conservación. *Latin american journal of aquatic research*, 41(4), 651-675.

García-Guerrero, M., Avilés-Espinoza, N., Lizarraga-Sanchez, G., Herrera-Rodríguez, G., Valdez-Martínez, D., & Hernández-Sandoval, P. (2022). Maximum critical temperature and oxygen consumption during thermoregulation in *Macrobrachium americanum* (Bate, 1868) adult prawns. *Latin american journal of aquatic research*, 50(2), 301-309.

Gasca-Levy, J. F. E., Martinez-Palacios, C. A., & Ross, L. G. (1991). The respiratory requirements of *Macrobrachium acanthurus* (Weigman) at different temperatures and salinities. *Aquaculture*, 93(2), 191-197.

Geller, I. V., Garcia, D. A., Yabu, M. H., Pereira, A. D., Ferraz, J. D., Fernandes, A. G., Magalhães, A. L. B., & Orsi, M. L. (2020). Aquarismo no Brasil: do simples ao complexo e o descarte de espécies não nativas. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ictiologia*, 131, 33-52.

Glencross, B. D., & Felsing, M. (2006). Influence of fish size and water temperature on the metabolic demand for oxygen by barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch), in freshwater. *Aquaculture Research*, 37(11), 1055-1062.

Gonçalves, C. D. S., & Braga, F. M. D. S. (2012). Changes in ichthyofauna composition along a gradient from clearwaters to blackwaters in coastal streams of Atlantic forest (southeastern Brazil) in relation to environmental variables. *Neotropical Ichthyology*, 10(3), 675-684.

Gonçalves, C., & Pérez-Mayorga, M. A. (2016). Peixes de riachos da Estação Ecológica Juréia-Itatins: estrutura e conservação. *Unisanta BioScience*, 5(1), 42-55.

Gonzalez, R. J., & McDonald, D. G. (1992). The relationship between oxygen consumption and ion loss in a freshwater fish. *Journal of Experimental Biology*, 163(1), 317-332.

- Gonzalez, R. J., Wilson, R. W., & Wood, C. M. (2005). Ionoregulation in tropical fishes from ion-poor, acidic blackwaters. *Fish Physiology*, 21, 397-442.
- Griffith, M. B. (2017). Toxicological perspective on the osmoregulation and ionoregulation physiology of major ions by freshwater animals: teleost fish, Crustacea, aquatic insects, and Mollusca. *Environmental toxicology and chemistry*, 36(3), 576-600.
- Haney, D. C., & Walsh, S. J. (2003). Influence of salinity and temperature on the physiology of *Limia melanonotata* (Cyprinodontiforme: Poeciliidae): a search for abiotic factors limiting insular distribution in Hispaniola. *Caribbean Journal of Science*, 39(3), 327-337.
- Hart, R. C. (1980). Oxygen consumption in *Caridina nilotica* (Decapoda: Atyidae) in relation to temperature and size. *Freshwater Biology*, 10(3), 215-222.
- Hasler, C. T., Jeffrey, J. D., Schneider, E. V., Hannan, K. D., Tix, J. A., & Suski, C. D. (2018). Biological consequences of weak acidification caused by elevated carbon dioxide in freshwater ecosystems. *Hydrobiologia*, 806, 1-12.
- Helm, K. P., Bindoff, N. L., & Church, J. A. (2011). Observed decreases in oxygen content of the global ocean. *Geophysical Research Letters*, 38(23).
- Hernández, M. (2002). Temperature tolerance polygon of *Poecilia sphenops* Valenciennes (Pisces: poeciliidae). *Journal of Thermal Biology*, 27(1), 1-5.
- Hernández-Sandoval, P., Peraza Gómez, V., Bacasegua-Villegas, I., Armenta-Valenzuela, E., Martínez-Valenzuela, C., Alanis-Escalante, J., López-Sánchez, K., & García-Guerrero, M. (2018). Termorregulación, termotolerancia y tasa metabólica de adultos de *Macrobrachium tenellum*. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 5(14), 353-363.
- Houlihan, D. F., Livingstone, D. R., Lee, R. F., & Houlihan, D. F. (1991). Protein turnover in ectotherms and its relationships to energetics. *Advances in Comparative and Environmental Physiology*: Volume 7, 1-43.
- Inyang, N. M., & Nwankwo, E. L. (2004). Effects of temperature and pH on the oxygen consumption Rate of *Sudanonautes* (Convexonautes aubryi) *floweri* (de man)(crustacea: decapoda). *Animal Research International*, 1(1), 16-22.

- IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*). (2014). Synthesis Report: Summary for Policymakers, 36 p.
- IPT (Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo) & Prefeitura Municipal De Itanhaém. (2012). Atlas ambiental do município de Itanhaém. São Paulo: Imprensa Oficial, 92p.
- Jeremias, G., Barbosa, J., Marques, S. M., Asselman, J., Gonçalves, F. J., & Pereira, J. L. (2018). Synthesizing the role of epigenetics in the response and adaptation of species to climate change in freshwater ecosystems. *Molecular Ecology*, 27(13), 2790-2806.
- Jesus, T. A. C., & Ferracioli, L. (2022). Física em um Museu de Biologia: Um Estudo das Mudanças Climáticas Através de Variáveis Hidrológicas da Mata Atlântica. *Revista do Professor de Física*, 6(Especial), 46-51.
- Kramer, D. L., & McClure, M. (1980). Aerial respiration in the catfish, *Corydoras aeneus* (Callichthyidae). *Canadian Journal of Zoology*, 58(11), 1984-1991.
- Kutty, M. N. (1972). Respiratory quotient and ammonia excretion in *Tilapia mossambica*. *Marine biology*, 16(2), 126-133.
- Lampis, A., Torres, P. H. C., Jacobi, P. R., & Leone, A. L. (2020). A produção de riscos e desastres na América Latina em um contexto de emergência climática. *O Social em Questão*, 23(48), 75-96.
- Larsen, E. H., Deaton, L. E., Onken, H., O'Donnell, M., Grosell, M., Dantzler, W. H., & Weihrauch, D. (2011). Osmoregulation and excretion. *Comprehensive physiology*, 4(2), 405-573.
- Laubenstein, T. D., Rummer, J. L., Nicol, S., Parsons, D. M., Pether, S. M., Pope, S., Smith, N., & Munday, P. L. (2018). Correlated effects of ocean acidification and warming on behavioral and metabolic traits of a large pelagic fish. *Diversity*, 10(2), 35.
- Leite, V. P., Debone, D., & Miraglia, S. G. E. K. (2020). Emissões de gases de efeito estufa no estado de São Paulo: análise do setor de transportes e impactos na saúde. *VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde*, 32(3), 143-153.

- Leung, K. M. Y., Chu, J. C. W., & Wu, R. S. S. (1999). Effects of body weight, water temperature and ration size on ammonia excretion by the areolated grouper (*Epinephelus areolatus*) and mangrove snapper (*Lutjanus argentimaculatus*). *Aquaculture*, 170(3-4), 215-227.
- Lima, F. C., & Britto, M. R. (2020). A new *Corydoras* (Ostariophysi: Siluriformes: Callichthyidae) with an unusual sexual dimorphism from the rio Jurueña basin, Brazil. Article ZOOTAXA. *Zootaxa*, 4742(3), 518-530.
- Little, A. G., Loughland, I., & Seebacher, F. (2020). What do warming waters mean for fish physiology and fisheries? *Journal of Fish Biology*, 97(2), 328-340.
- Lemos, D., Phan, V. N., & Alvarez, G. (2001). Growth, oxygen consumption, ammonia-N excretion, biochemical composition and energy content of *Farfantepenaeus paulensis* Pérez-Farfante (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) early postlarvae in different salinities. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 261(1), 55-74.
- Leone, F. A., Lucena, M. N., Garçon, D. P., Pinto, M. R., & McNamara, J. C. (2017). Gill ion transport ATPases and ammonia excretion in aquatic crustaceans. In Acid-base balance and nitrogen excretion in invertebrates (pp. 61-107). *Springer, Cham*.
- Lobão, V. L., & Fernandes, W. M. (1988). Redescrição de *Macrobrachium birai*, Lobão, Melo & Fernandes e de *Macrobrachium potiuna*, Melo, Lobão & Fernandes (Crustacea, Decapoda), Palaemonídeos da região sul do Estado de São Paulo, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 15(1), 89-97.
- Lough, J. (2007). Climate and Climate Change on the Great Barrier Reef. In: Climate Change and the Great Barrier Reef, eds. Johnson J. E. and Marshall P. A. Great Barrier Reef Marine Park Authority and Australian Greenhouse Office, Australia.
- Lucinda, P. H. F. (2008). Systematics and biogeography of the genus *Phalloceros* Eigenmann, 1907 (Cyprinodontiformes: Poeciliidae: Poeciliinae), with the description of twenty-one new species. *Neotropical Ichthyology*, 6, 113-158.
- Luo, Y., & Xie, X. (2009). The effect of temperature on post-feeding ammonia excretion and oxygen consumption in the southern catfish. *Journal of Comparative Physiology B*, 179(6), 681-689.

- Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H., & Vinagre, C. (2012). Thermal tolerance and potential climate change impact in marine and estuarine organisms. *J. Sea Res.* 70, 32–41.
- Maia, G. M. G. (2014). Identificação molecular de espécies da Subfamília Corydoradinae (Siluriformes: Callichthyidae). 59 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2014.
- Mainardi, P. H., & Bidoia, E. D. (2020). Poluentes industriais: Conceitos e tendências de tratamento. *Revista de ciências agroambientais*. v.18, n.2.
- Malek, M. C. (2022). "Severe Hypoxia Up-regulates Gluconeogenesis in Daphnia". *Undergraduate Honors Theses*. 692.
- Manush, S. M., Pal, A. K., Chatterjee, N., Das, T., & Mukherjee, S. C. (2004). Thermal tolerance and oxygen consumption of *Macrobrachium rosenbergii* acclimated to three temperatures. *Journal of Thermal Biology*, 29(1), 15-19.
- Marques, L. (2022). O Antropoceno como aceleração do aquecimento global. *Liinc em Revista*, 18(1), e5968-e5968.
- Masson-Delmotte, V. P., Zhai, P., Pirani, S. L., Connors, C., Péan, S., Berger, N., Chen, Y., Goldfarb, L., Gomis, M. I., Robin Matthews, J. B., Huang, M., Yelekçi, O., Yu, R., Zhou, B., Lonnoy, E., Maycock, T. K., Waterfield, T., Leitzell, K., Caud, N. (2021). IPCC, 2021: Summary for policymakers. in: Climate change 2021: The physical science basis. contribution of working group I to the sixth assessment report of the intergovernmental panel on climate change.
- Mattos, L. A. D., & Oshiro, L. M. Y. (2009). Estrutura populacional de *Macrobrachium potiuna* (Crustacea, Palaemonidae) no Rio do Moinho, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. *Biota Neotropica*, 9, 81-86.
- Mauro, N. A., & Moore, G. W. (1987). Effects of environmental pH on ammonia excretion, blood pH, and oxygen uptake in fresh water crustaceans. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 87(1), 1-3
- McDonald, M. D., Smith, C. P., & Walsh, P. J. (2006). The physiology and evolution of urea transport in fishes. *The Journal of membrane biology*, 212(2), 93-107.

- Mckenzie, D., Geffroy, B., & Farrell, A. (2021). Effects of global warming on fishes and fisheries. *Journal of Fish Biology*, 98(6), 1489-1492.
- Melendez, R. L. G. (2021). Diversidad de Crustáceos del Género *Macrobrachium* en dos Afluentes del Área de Concesión para Conservación Cuenca Alta Río Itaya, Loreto-Perú. 2019.
- Meneses, W. D. P. (2022). Tamanho não é documento: uma análise morfométrica no gonopódio do peixe *Phalloceros harpagos*. 63f. Dissertação (Mestrado em Zoologia Animal) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília. 2022.
- Messina, S., Costantini, D., & Eens, M. (2023). Impacts of rising temperatures and water acidification on the oxidative status and immune system of aquatic ectothermic vertebrates: A meta-analysis. *Science of The Total Environment*, 161580.
- Meyer, N., Welp, G. & Amelung, W. (2018). The temperature sensitivity (Q10) of soil respiration: Controlling factors and spatial prediction at regional scale based on environmental soil classes. *Global Biogeochemical Cycles*, 32, 306– 323.
- Moraes, M. B. (2012). Biologia reprodutiva de populações de peixes em riachos da bacia do rio Itanhaém, litoral sul do estado de São Paulo. 121f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro. 2012.
- Moreira, A. T., dos Santos, E. C., Nobrega, G. T., Regina, S., & de Carvalho, B. (2022). O impacto da ação antrópica no meio ambiente: aquecimento global. *Revista Educação em Foco*, (14), 22-27.
- Morris, C., Val, A. L., Brauner, C. J., & Wood, C. M. (2021). The physiology of fish in acidic waters rich in dissolved organic carbon, with specific reference to the Amazon basin: ionoregulation, acid–base regulation, ammonia excretion, and metal toxicity. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 335(9-10), 843-863.
- Moyes, C. D., & Schulte, P. M. (2009). Princípios de fisiologia animal. *Artmed Editora*.
- Moyson, S., Liew, H. J., Diricx, M., Sinha, A. K., Blust, R., & De Boeck, G. (2015). The combined effect of hypoxia and nutritional status on metabolic and ionoregulatory responses

- of common carp (*Cyprinus carpio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 179, 133-143.
- Müller, Y. M. R., & Carpes, S. (1991). *Macrobrachium potiuna* (Müller): aspectos do ciclo reprodutivo e sua relação com parâmetros ambientais (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Revista brasileira de Zoologia*, 8, 23-30.
- Mundim, K. C., Baraldi, S., Machado, H. G., & Vieira, F. M. (2020). Temperature coefficient (Q10) and its applications in biological systems: Beyond the Arrhenius theory. *Ecological Modelling*, 431, 109127.
- Mwangangi, D. M., & Mutungi, G. (1994). The effects of temperature acclimation on the oxygen consumption and enzyme activity of red and white muscle fibres isolated from the tropical freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Journal of fish biology*, 44(6), 1033-1043.
- Myers, N., Mittermeier, RA, Mittermeier, CG, Da Fonseca, GA, & Kent, J. (2000). Hotspots de biodiversidade para as prioridades de conservação. *Nature*, 403 (6772), 853-858.
- Nações Unidas no Brasil. 2023. Sobre o nosso trabalho para alcançar os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável no Brasil. Brasília. Seção: Sobre o nosso trabalho para alcançar os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável no Brasil. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em 12 de Abril de 2023.
- Niu, C., Lee, D., Goshima, S., & Nakao, S. (2003). Effects of temperature on food consumption, growth and oxygen consumption of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man 1879) postlarvae. *Aquaculture Research*, 34(6), 501-506.
- Norin, T., & Metcalfe, N. B. (2019). Ecological and evolutionary consequences of metabolic rate plasticity in response to environmental change. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 374(1768), 20180180.
- Oliveira, S. P., & Oliveira, G. B. (2022). Capitalismo e meio ambiente: Uma equação possível?. *Revista Observatorio de las Ciencias Sociales en Iberoamérica*, ISSN: 2660-5554, v. 3, n. 18, p.141-156.

- Onukwufor, J. O., & Wood, C. M. (2020a). Osmorespiratory compromise in zebrafish (*Danio rerio*): Effects of hypoxia and acute thermal stress on oxygen consumption, diffusive water flux, and sodium net loss rates. *Zebrafish*, 17(6), 400-411.
- Onukwufor, J. O., & Wood, C. M. (2020b). Reverse translation: effects of acclimation temperature and acute temperature challenges on oxygen consumption, diffusive water flux, net sodium loss rates, Q 10 values and mass scaling coefficients in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Comparative Physiology B*, 190(2), 205-217.
- Parmesan, C., Morecroft, M. D., Trisurat, Y., Adrian, R., Anshari, G. Z., Arneth, A., Gao, Q., Gonzalez, P., Harris, R., Price, J., Stevens, N., & Talukdarr, G. H. (2022) Terrestrial and Freshwater Ecosystems and Their Services. In: Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. *Cambridge University Press*, Cambridge, UK and New York, NY, USA, pp. 197–377.
- Pereira, J. A. R. (2002). Geração de resíduos industriais e controle ambiental. Centro Tecnológico da Universidade Federal do Pará. Pará.
- Pessini, L., & Sganzerla, A. (2016). Evolução histórica e política das principais conferências mundiais da ONU sobre o clima e meio ambiente. *Revista Iberoamericana de Bioética*, (1), 1-14.
- Pileggi, L. G., & Mantelatto, F. L. (2012). Taxonomic revision of doubtful Brazilian freshwater shrimp species of genus *Macrobrachium* (Decapoda, Palaemonidae). *Iheringia. Série Zoologia*, 102(4), 426-437.
- Pineda, M., Aragao, I., McKenzie, D. J., & Killen, S. S. (2020). Social dynamics obscure the effect of temperature on air breathing in *Corydoras* catfish. *Journal of Experimental Biology*, 223(21).
- Pinto, L. P., Bedê, L., Paese, A., Fonseca, M., Paglia, A., & Lamas, I. (2006). Mata Atlântica Brasileira: os desafios para conservação da biodiversidade de um hotspot mundial. *Biologia da conservação: essências*. São Carlos: *RiMa*, 91-118.

- Paul, S. E., Díaz, A. O., & Barbeito, C. G. (2021). Gill morphology and morphometry of the facultative air-breathing armoured catfish, *Corydoras paleatus*, in relation on aquatic respiration. *Journal of Fish Biology*, 99(4), 1318-1327.
- Pörtner, H. (2001). Climate change and temperature-dependent biogeography: Oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften*, 88(4), 137-146.
- Pörtner, H. O., & Farrell, A. P. (2008). Ecology: *Physiology Climate Change Sci*, 322, 690-692.
- Pörtner, H. O. (2010). Oxygen-and capacity-limitation of thermal tolerance: a matrix for integrating climate-related stressor effects in marine ecosystems. *Journal of Experimental Biology*, 213(6), 881-893.
- Pörtner, H. O., Roberts, Tignor, M., Poloczanska, E. S., Mintenbeck, K., Alegría, A., Craig, M., Langsdorf, S., Löschke, S., Möller, V., Okem, A., & Rama, B. (2022). Climate change 2022: Impacts, adaptation and vulnerability (p. 3056). Geneva, Switzerland: IPCC.
- Prefeitura de Itanhaém. 2012. Atlas ambiental do município de Itanhaém. Itanhaém. Seção: Capítulo 2 - Meio Físico. Disponível em: <https://www.itanhaem.sp.gov.br/atlasambiental/conteudo/Atlas-Ambiental-Capitulo-2.pdf>. Acesso em 01 de Junho de 2023.
- Regnault, M. (1987). Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacea. *Biological reviews*, 62(1), 1-24.
- Richards, J. G. (2011). Physiological, behavioral and biochemical adaptations of intertidal fishes to hypoxia. *Journal of Experimental Biology*, 214(2), 191-199.
- Rosa, G. M., Silva, F. R., & Flach, K. A. (2021). Educação Ambiental na educação escolar e a Responsabilidade Social: desafios e possibilidades nas questões ambientais. *Revista Brasileira de Educação Ambiental (RevBEA)*, 16(5), 411-430.
- Rosa, G. M., Santos, C. E., Sartor, D., Seben, D., & Lazzaretti, G. (2022). Ações antrópicas e o advento das Ciências Ambientais. *Revista Brasileira de Educação Ambiental (RevBEA)*, 17(1), 180-197.

- Rosa, R., Paula, J. R., Sampaio, E., Pimentel, M., Lopes, A. R., Baptista, M., Guerreiro, M., Santos, C., Campos, D. F., Almeida-Vaz, V. M. F., Calado, R., Diniz, M. & Repolho, T. (2016). Neuro-oxidative damage and aerobic potential loss of sharks under elevated CO₂ and warming. *Marine biology*, 163(5), 119.
- Rocha, S. S. D., & Bueno, S. L. D. S. (2004). Crustáceos decápodes de água doce com ocorrência no Vale do Ribeira de Iguape e rios costeiros adjacentes, São Paulo, Brasil. *Revista brasileira de Zoologia*, 21, 1001-1010.
- Sadauskas-Henrique, H., Wood, C. M., Souza-Bastos, L. R., Duarte, R. M., Smith, D. S., & Val, A. L. (2019). Does dissolved organic carbon from Amazon black water (Brazil) help a native species, the tambaqui *Colossoma macropomum* to maintain ionic homeostasis in acidic water?. *Journal of fish biology*, 94(4), 595-605.
- Saint-Paul, U. (1983). Investigations of the respiration of the neotropical fish. *Colossoma macropomum* (Serrasalminae: the influence of weight and temperature on the routine oxygen consumption. *Amazoniana* 7: 433–443.
- Sampaio, E., Lopes, A. R., Francisco, S., Paula, J. R., Pimentel, M., Maulvault, A. L., Repolho, T., Grilo, T. F., Pousão-Ferreira, P., Marques, A., & Rosa, R. (2018). Ocean acidification dampens physiological stress response to warming and contamination in a commercially-important fish (*Argyrosomus regius*). *Science of The Total Environment*, 618, 388-398.
- Santos, P. F. D. (2019). Serviços ecossistêmicos hídricos na mata atlântica do sudeste brasileiro em cenários de conversão de uso e cobertura do solo e de mudanças climáticas. 135f. Tese (Doutorado em Planejamento Energético) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.
- Schulte, P. M. (2015). The effects of temperature on aerobic metabolism: towards a mechanistic understanding of the responses of ectotherms to a changing environment. *The Journal of experimental biology*, 218(12), 1856-1866.
- Schmitt, A. C., & Uglow, R. F. (1996). Effects of temperature change rate on nitrogen effluxes of *Macrobrachium rosenbergii* (DeMan). *Aquaculture*, 140(4), 373-381.
- Shinji, J., Strüssmann, C. A., Wilder, M. N., & Watanabe, S. (2009). Short-term responses of the adults of the common Japanese intertidal crab, *Hemigrapsus takanoi* (Decapoda:

- Brachyura: Grapsoidea) at different salinities: osmoregulation, oxygen consumption, and ammonia excretion. *Journal of Crustacean Biology*, 29(2), 269-272.
- Silva, R. W. C., & Paula, B. L. (2009). Causa do aquecimento global: antropogênica versus natural. *Terræ Didactica*, 5(1), 42-49.
- Siqueira Neto, M., Piccolo, M. D. C., Costa Junior, C., Cerri, C. C., & Bernoux, M. (2011). Emissão de gases do efeito estufa em diferentes usos da terra no bioma Cerrado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 35, 63-76.
- Sodré, C. F. L., Silva, Y. J. A., & Monteiro, I. P. (2016). Acidificação dos Oceanos: fenômeno, consequências e necessidades de uma governança ambiental global. *Revista Científica do Centro de Estudos em Desenvolvimento Sustentável da UNB*, 1(4).
- Souza, G. R. S. (2019). A Ictiofauna de um Riacho Costeiro em Cananeia – SP: Composição, História Natural e seu Uso na Implementação de Atividade de Turismo Sustentável. 101f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade de Ambientes Costeiros) - Instituto de Biociências do Campus do Litoral Paulista, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São Vicente. 2019.
- Thomaz, A. T., Carvalho, T. P., Malabarba, L. R., & Knowles, L. L. (2019). Geographic distributions, phenotypes, and phylogenetic relationships of *Phalloceros* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae): Insights about diversification among sympatric species pools. *Molecular phylogenetics and Evolution*, 132, 265-274.
- Ticiani, D., Keppeler Jr, R., Onghero Jr, O., Farias, E. R., Schweitzer, J. A., & Gossen, M. A. (2022). Ictiofauna da área de influência de condomínio industrial localizado em fragmento de Mata Atlântica, no litoral norte de Santa Catarina, Brasil. *Revista Acta Ambiental Catarinense*, 19(1), 01-18.
- Tuckett, Q. M., Lawson, K. M., Lipscomb, T. N., Hill, J. E., Daniel, W. M., & Siders, Z. A. (2021). Non-native poeciliids in hot water: the role of thermal springs in facilitating invasion of tropical species. *Hydrobiologia*, 848, 4731-4745.
- Uliano, E., Cataldi, M., Carella, F., Migliaccio, O., Iaccarino, D., & Agnisola, C. (2010). Effects of acute changes in salinity and temperature on routine metabolism and nitrogen excretion

- in gambusia (*Gambusia affinis*) and zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 157(3), 283-290.
- Vasquez, V. L. (2021). Mudanças climáticas e cobertura florestal para primatas endêmicos da Mata Atlântica. 54f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2021.
- Verdouw, H., Van Echteld, C. J. A., & Dekkers, E. M. J. (1978). Determinação de amônia com base na formação de indofenol com salicilato de sódio. *WaterResearch*, 12(6), 399-402.
- Vega-Villasante, F., García-Guerrero, M. U., Cortés-Jacinto, E., Yamasaki-Granados, S., Montoya-Martínez, C. E., Vargas-Ceballos, Olimpia Chong-Carrillo, O., Rubio-Padilla, M. A., Guzmán-Arroyo, M., Carrillo-Farnés, O. V., Espinosa-Chaurand, L. D. & Nolasco-Soria, H. G. (2014). Los camarones de agua dulce del género *Macrobrachium*: Biología, ecología y explotación. Temas sobre investigaciones costeras. Universidad de Guadalajara, Jalisco, 273-315.
- Vera-Alcaraz, H. S. (2013). Relações filogenéticas das espécies da família Callichthyidae:(Ostariophysi, Siluriformes). 380f. Tese (Doutorado em Zoologia) – Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2013.
- Viana, G. F. S., & Ramos-Porto, M. (1998). Contribuição ao estudo dos camarões do gênero *Macrobrachium* Bate, 1868 no Brasil (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). Cad. Ômega, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Sér. Ci. Aquát., Recife, n. 4, p. 17-38, 1998.
- Villarreal, H. (1990). Effect of temperature on oxygen consumption and heart rate of the Australian crayfish *Cherax tenuimanus* (Smith). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 95(1), 189-193.
- Vinagre, C., Mendonça, V., Cereja, R., Abreu-Afonso, F., Dias, M., Mizrahi, D., & Flores, A. A. (2018). Ecological traps in shallow coastal waters — Potential effect of heat-waves in tropical and temperate organisms. *PloSone*, 13(2), e0192700.
- Weihrauch, D., Morris, S., & Towle, D. W. (2004). Ammonia excretion in aquatic and terrestrial crabs. *Journal of Experimental Biology*, 207(26), 4491-4504.

- Weihrauch, D., Wilkie, M. P., & Walsh, P. J. (2009). Ammonia and urea transporters in gills of fish and aquatic crustaceans. *Journal of experimental biology*, 212(11), 1716-1730.
- Weihrauch, D., & O'Donnell, M. (2017). Acid-Base Balance and Nitrogen Excretion in Invertebrates. *Springer International Publishing*, 10, 978-3.
- Weihrauch, D., & Allen, G. J. (2018). Ammonia excretion in aquatic invertebrates: New insights and questions. *Journal of Experimental Biology*, 221(2), jeb169219.
- Wilkie, M. P. (2002). Ammonia excretion and urea handling by fish gills: present understanding and future research challenges. *Journal of experimental zoology*, 293(3), 284-301.
- Willmer, P., Stone, G., & Johnston, I. (2009). Environmental physiology of animals. *John Wiley & Sons*.
- Wolff, L. L.; Donatti, L. (2016). Estudo do comportamento do peixe de água doce Pphalloceros harpagos (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) submetido à alteração artificial do pH. *Luminária, União da Vitória*, v.18, n. 1, p. 10-21.
- Wood, C. M. (2001). Influence of feeding, exercise, and temperature on nitrogen metabolism and excretion. *Fish physiology*, 20, 201-238.
- Wood, C. M., Matsuo, A. Y., Wilson, R. W., Gonzalez, R. J., Patrick, M. L., Playle, R. C., & Luis Val, A. (2003). Protection by natural blackwater against disturbances in ion fluxes caused by low pH exposure in freshwater stingrays endemic to the Rio Negro. *Physiological and Biochemical Zoology*, 76(1), 12-27.
- Wood, C. M., Al-Reasi, H. A., & Smith, D. S. (2011). The two faces of DOC. *Aquatic Toxicology*, 105(3-4), 3-8.
- Wood, C. M., de Souza Netto, J. G., Wilson, J. M., Duarte, R. M., & Val, A. L. (2017). Nitrogen metabolism in tambaqui (*Colossoma macropomum*), a neotropical model teleost: Hypoxia, temperature, exercise, feeding, fasting, and high environmental ammonia. *Journal of Comparative Physiology B*, 187(1), 135-151.
- Woodward, G., Perkins, D. M., & Brown, L. E. (2010). Climate change and freshwater ecosystems: impacts across multiple levels of organization. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1549), 2093-2106.

- Wright, P. A. (1995). Nitrogen excretion: three end products, many physiological roles. *The Journal of experimental biology*, 198(2), 273-281.
- Wright, P., & Anderson, P. M. (2001). Nitrogen excretion. (*Fish Physiology*).
- Wright, P. A., & Wood, C. M. (2012). Seven things fish know about ammonia and we don't. *Respiratory physiology & neurobiology*, 184(3), 231-240.
- Yanar, M., Evliyaoğlu, E., & Tekelioğlu, B. K. (2023). Sex Differences in Thermal Tolerance of Nine Ornamental Fish Species from the *Poeciliidae*, *Cichlidae* and *Cyprinidae* Family. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23(6).
- Zall, D. M., Fisher, D., & Garner, M. Q. (1956). Photometric determination of chlorides in water. *Analytical Chemistry*, 28(11), 1665-1668.
- Zandonà, E., Kajin, M., Buckup, P. A., Amaral, J. R., Souto-Santos, I. C., & Reznick, D. N. (2021). Mode of maternal provisioning in the fish genus *Phalloceros*: a variation on the theme of matrotrophy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 134(4), 867-878.
- Zheng, Z., Jin, C., Li, M., Bai, P., & Dong, S. (2008). Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia excretion of juvenile miiuy croaker, *Miichthys miiuy* (Basilewsky). *Aquaculture International*, 16, 581-589.