



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA CELULAR

MIGUEL ÂNGELO DE OLIVEIRA CANTO

**ESTUDO SOBRE O CRESCIMENTO DO TAMBAQUI (*COLOSSOMA
MACROPOMOM*) SUBMETIDO À DIETA SUPLEMENTADA COM
CAMU CAMU (*MYRCIARIA DUBIA*) EM ÁGUA CORRENTE E
AQUECIDA**

ORIXIMINÁ

2018

MIGUEL ÂNGELO DE OLIVEIRA CANTO

**ESTUDO SOBRE O CRESCIMENTO DO TAMBAQUI (*COLOSSOMA
MACROPOMOM*) SUBMETIDO À DIETA SUPLEMENTADA COM
CAMU CAMU (*MYRCIARIA DUBIA*) EM ÁGUA CORRENTE E
AQUECIDA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Neurociências e Biologia Celular – Área de Concentração Biologia Celular – Linha de Pesquisa – Fisiologia de Células e Moléculas.

Banca Avaliadora:

Orientador: Prof. Dr. Domingos Luiz Wanderley Picanço Diniz
Universidade Federal do Oeste do Pará

Avaliador (a): Prof. Dr. Anderson Manoel Herculano Oliveira da Silva
Universidade Federal do Pará

Avaliador (a): Prof. Dr. Carlomagno Pacheco Bahia
Universidade Federal do Pará

Avaliador (a): Prof. Dr. Guilherme Augusto Barros Conde
Universidade Federal do Oeste do Pará

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

C232e Canto, Miguel Ângelo De Oliveira

Estudo sobre o crescimento do Tambaqui (*Colossoma macropomom*) submetido à dieta suplementada com Camu Camu (*Myrciaria dubia*) em água corrente e Aquecida. / Miguel Ângelo De Oliveira Canto. – Santarém, 2018.

44 f.: il.

Inclui bibliografias.

Orientador Prof. Dr. Domingos Luiz Wanderley Picanço Diniz.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular – Área de Concentração Biologia Celular. Santarém, 2018.

1. Fisiologia. 2. *Colossoma macropomom*. 3. Crescimento precoce. I. Diniz, Domingos Luiz Wanderley Picanço, orient. II. Título.

CDD: 23 ed. 571.1

A todos aqueles que junto comigo acreditaram que era possível, e que me incentivaram a trilhar este caminho.

Orientador

Professor Dr. Domingos Luiz Wanderley Picanço Diniz

Co-Orientador

Professor Dr. Claudio Guedes Salgado

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

Ao meu orientador, pai científico, amigo, irmão... Dr. Domingos Luiz Wanderley Picanço Diniz, que não só acreditou no meu potencial como me fez acreditar que era possível aquele passo e também uma caminhada.

A professora Siany Liberal, pelo incentivo e principalmente pela paciência nos momentos finais quando o tempo era nosso maior e principal adversário.

A meu “paizinho” Claudio (*in memoria*), que sempre incentivou deixando claro que tudo que poderia oferecer era acesso a educação, e minha “mãezinha” Edna, meu grande exemplo de perseverança na busca pelo conhecimento.

À minha família, que acredita e apoia todas as minhas investidas na busca pelo aprimoramento pessoal e profissional, em especial minha esposa Iane e Minha filha Iana Clara, pela distância física que algumas vezes são inevitáveis.

As senhoras Valdeana Maximiliano de Jesus e Valdeana Amaral Maximiliano, pelo incentivo e por acreditar no que na época era somente “sonho”.

A Professora Etelvina e a amiga Val que disponibilizaram infraestrutura particular para parte dos experimentos.

Raimundo Tomé e Ieda, que também disponibilizaram infraestrutura e investiram no projeto.

Aos amigos Newton Arnaldo eletricitas que sempre que solicitados estavam prontos a contribuir.

Aos meus amigos pessoais, amigos professores e demais funcionários da rede pública de ensino de Oriximiná pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

Aos parceiros e amigos de laboratório José Delfin Figueiredo Filho e Nelson José da Costa Feijão, grandes parceiros do Laboratório.

Aos alunos do Programa PAI que foram fundamentais em todas as etapas e protocolos experimentais.

Aos acadêmicos do Projeto “Peixe Novo”, pela contribuição nas coletas e processamento de amostras.

Ao Grupo de Pesquisa em Fisiologia Ambiental pela colaboração.

Aos funcionários da UFOPA (Campus Oriximiná) que sempre contribuíram atendendo nossas solicitações.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Desenho esquemático da dinâmica da água servida, apresentado em foco, o sistema de água aquecida, muito embora o outro sistema de água à temperatura ambiente seja similar, porém sem o aparato de aquecimento. Identificados na legenda do desenho aparelhos componentes do sistema por código de cor.	20
Figura 2: Aro do tanque com referência aos fluxos propulsionados por bomba (retângulo cheio inferior) ao gerar um movimento centrífugo.	22
Figura 3: Fluxograma do procedimento de análise do kit Elisa.....	24
Figura 4: Aro do tanque, experimento II, com referência aos fluxos proporcionado pelas bombas (retângulo cheio inferior e superior) ao gerar um movimento centrífugo.....	26
Figura 5: Peso e comprimento padrão associado a temperatura. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni), * entre grupos tratado x controle. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.	28
Figura 6: Peso e comprimento padrão associado conteúdo de proteína. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.	29
Figura 7: Peso e comprimento padrão associado a suplementação com <i>Md</i> . Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.....	29
Figura 8: IGF-1muscular associado ao repouso e exercício. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. + entre grupos tratado x tratado. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.....	30
Figura 9: Peso e comprimento padrão associado ao repouso e exercício. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. + entre grupos tratado x tratado. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.....	30
Figura 10: Percentual de lipídeos no musculo associado a suplementação com <i>Md</i> . Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. + entre grupos tratado x tratado. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.	31
Figura 11: Peso e comprimento padrão associado ao fracionamento da dieta. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. + entre grupos tratado x tratado. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.	33

Figura 12: Peso da ração consumida associado a intensidade do exercício físico. Dados apresentados em média±EPM (n=13). ANOVA 1 via (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância..... 34

Figura 13: Peso e comprimento padrão associado ao fracionamento da dieta, intensidade da atividade física e percentual de proteína. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. + entre grupos tratado x tratado. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância..... 34

Figura 14: Porcentagem de gordura abdominal associado à intensidade do exercício físico e fracionamento da dieta. Dados apresentados em média±EPM (n=13). ANOVA 1 via (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância..... 35

Figura 15: Correlação entre peso, comprimento padrão e gordura abdominal associado ao exercício em ambiente aquecido. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. + entre grupos tratado x tratado. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância. 36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 O TAMBAQUI.....	12
1.2 O HABITAT E OS HÁBITOS ALIMENTARES	13
1.3 CAMU CAMU, UM FRUTO DA DIETA DO TAMBAQUI.....	14
1.4 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA	14
1.5 O CRESCIMENTO À LUZ DA FISIOLOGIA.	15
1.6 FATORES HUMORAIS E CRESCIMENTO EM PEIXES	16
1.6.1 Fator de crescimento insulina símile (IGFs)	16
2 OBJETIVOS	18
2.1 GERAL	18
2.2 ESPECÍFICOS.....	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
EXPERIMENTO I:	19
EXPERIMENTO II	19
3.1 APARELHAMENTO EXPERIMENTAL	19
3.2 ARRAÇOAMENTO.....	21
3.3 CONDICIONAMENTO FÍSICO	22
3.4 CONTROLE DE QUALIDADE DE ÁGUA	23
3.5 BIOMETRIA	23
3.6 ANÁLISE DE IGF-1	23
3.6.1 Princípio do ensaio	23
3.6.2 Procedimentos para o experimento	24
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
3.8 APARELHAMENTO EXPERIMENTAL	25
3.9 ARRAÇOAMENTO.....	25
3.10 CONDICIONAMENTO FÍSICO	26
3.11 BIOMETRIA	27
3.12 CONTROLE DE QUALIDADE DE ÁGUA.	27
3.13 COLETA DE TECIDO.....	27
3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
4 RESULTADOS	28

5	DISCUSSÃO	37
6	CONCLUSÕES	41
7	BIBLIOGRAFIA	42
	ANEXOS	46

RESUMO

Este estudo investigou o crescimento do tambaqui (*Colossoma macropomum*) (*Cm*), um teleósteo caracádeo endêmico da região amazônica, em laboratório. Peixes juvenis foram submetidos à simulação das condições naturais de alimentação, clima e água corrente, correspondentes aos períodos de cheia e seca do ciclo hidrológico Amazônico. Na cheia sua alimentação é predominante de frutos e sementes, o ambiente é ameno ($28\pm 2^\circ\text{C}$) e a correnteza é maior (0,2 a 0,3 m/s). Na seca, a alimentação é à base de proteína animal, não há correnteza e a média da temperatura se eleva ($34\pm 2^\circ\text{C}$). Por conseguinte, o alvo deste estudo foi investigar os efeitos da *Myrciaria dubia* (*Md*) no crescimento do *Cm* nas simulações de seca ou cheia, no que tange a temperatura amena (28°C) ou aquecida (34°C), água parada ou corrente (0,2 ou 0,3m/s), e dieta com maior (45%) ou menor (32%) teor de proteína bruta (PB). Para tal, juvenis de *Cm* foram aclimatados (70 ou 126 dias) em tanques de (310 ou 1000 litros) de acordo com o protocolo experimental. Protocolo I: dieta com oferta diária fracionada (3x/dia) e suplementada com *Md*; proteína bruta a (45 ou 32%); água corrente (0,2 m/s) ou parada a 28 ou 34°C ; análise do conteúdo muscular de IGF-1 e lipídeos totais. protocolo II: oferta única ou fracionada (3x/dia); água parado ou corrente (0,3 m/s), intercalada, (12 horas) ou contínua; quantificação da massa de gordura cavitária. Os resultados estão apresentados em média mais ou menos erro padrão da média e comparada por ANOVA mais pós-teste Bonferrone. Teste de correlação para peso, comprimento ou gordura cavitária *versus* água corrente; nas condições de oferta única ou fracionada foi realizada para verificar inter-relações entre os fenômenos estudados. Uma potencialização da expansão da massa corporal mais não do comprimento ocorreu pela dieta suplementada com *Md* na condição água parada e aquecida. Em contraste similar potencialização ocorreu para água corrente e aquecida na dieta 45% PB. Por sua vez menor performance de crescimento (peso e comprimento) foi observada no grupo submetido a dieta 32% PB. A água corrente igualmente potencializou o acúmulo de gordura cavitária e muscular de lipídeos totais, sugerindo que o esforço natatório demanda acúmulo de energia potencial possivelmente relacionado à preservação do anabolismo proteico, desde que não foi alterado o conteúdo de proteínas no tecido muscular. Por outro lado a oferta única diária de alimento não foi suficiente para manter a performance de crescimento resultante ao nado sustentado (água corrente). Já na oferta fracionada o grupo submetido a água corrente continua apresentou a melhor performance, sugerindo que o nado sustentado em água corrente pode ser um fator determinante para o crescimento do *Cm* se lhe for ofertada dieta com alto teor proteico, ao considerarmos o ambiente aquecido como o mais favorável. Finalmente, o conteúdo aumentado de IGF-1 no musculo confirma participação deste fator de crescimento como via final de regulação humoral da hipertrofia muscular. Hipertrofia esta resultante ao aumento do esforço natatório, e, surpreendentemente, em resposta a dieta suplementada por *Md*.

Palavras-chave: IGF-1; Ambiente aquecido; Crescimento, *Colossoma macropomum*, *Myrciaria dubia*; Nado sustentado.

ABSTRACT

This study investigated the growth of the tambaqui (*Colossoma macropomum*) (*Cm*), an caracid teleost in the Amazon region, in the laboratory. Juvenile fish were submitted to the simulation of the natural conditions of feeding, climate and running water, corresponding to the flood and dry periods of the Amazonian hydrological cycle. In the flood, its diet is predominant of fruits and seeds, the environment is mild ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) and the current is higher (0.2 to 0.3 m/s). In drought, the feed is based on animal protein, there is no current and the average temperature rises ($34 \pm 2^\circ\text{C}$). Therefore, the aim of this study was to investigate the effects of *Myrciaria dubia* (*Md*) on the growth of *Cm* in the drought or flood simulations with respect to the mild (28°C) or heated (34°C), standing or running water (0.2 or 0.3m/s), and diet with higher (45%) or lower (32%) crude protein (CP) content. For this, juveniles of *Cm* were acclimatized (70 or 126 days) in tanks of (310 or 500 liters) according to the experimental protocol. Protocol I: diet with fractioned daily supply (3x/day) and supplemented with *Md*; crude protein (45 or 32%); running water (0.2 m/s) or stopped at 28 or 34°C ; analysis of muscle contents of IGF1 and total lipids. protocol II: single or fractioned offer (3x / day); standing or running water (0.3 m/s), intercalated, (12 hours) or continuous; quantification of the cavity fat mass. The results are presented on average plus or minus the standard error of the mean and compared by ANOVA plus Bonferrone post-test. Correlation test for weight, length or cavity fat versus running water; in the conditions of single or fractional supply was performed to verify interrelations between the phenomena studied. A potentiation of body mass expansion rather than length occurred by the diet supplemented with *Md* in standing and heated water. In contrast similar potentiation occurred for running and heated water in the 45% CP diet. In turn, lower growth performance (weight and length) was observed in the group submitted to a 32% CP diet. The running water also potentiated the accumulation of cavitory and muscular fat of total lipids, suggesting that the swimming effort demands accumulation of potential energy possibly related to the preservation of protein anabolism, since the protein content in the muscle tissue was not altered. On the other hand, the single daily supply of food was not enough to maintain the resulting growth performance to sustained swimming (running water). In the fractioned supply, the group submitted to continuous running water showed the best performance, suggesting that sustained swimming in running water may be a determinant factor for the growth of *Cm* if it is offered a diet with high protein content, considering the warm environment as the most favorable. Finally, the increased IGF-1 content in the muscle confirms the participation of this growth factor as the final pathway of humoral regulation of muscle hypertrophy. Hypertrophy results in increased swimming effort, and, surprisingly, in response to diet supplemented by *Md*.

Keywords: IGF-1; Heated environment; Growth, *Colossoma macropomum*, *Myrciaria dubia*; Sustained swim.

1 INTRODUÇÃO

Este estudo investigou o crescimento do tambaqui (*Colossoma macropomum*), um teleósteo caracídeo endêmico da região amazônica, em condições que simulam seu modo de vida no período de seca dos rios (verão).

Na seca, o Tambaqui (*Cm*) cresce sem a dieta de frutas, pela qual foi apelidado (*macropomum*) e desenvolveu dentição forte capaz de triturar caroços duros e grandes. Com a água distante das matas seu ambiente fica reduzido a pequenas lagoas isoladas, exutórios rasos ou pequenos canais comunicantes (paraná ou furos). Por conseguinte, a densidade de peixes aumenta bem como a base da cadeia alimentar, que está produzindo mais energia por consequência da incidência solar aumentada. Plânctons, moluscos, crustáceos e alguns grãos como arroz silvestre e munguba (*Pachira aquatica*), passam a ser o seu cardápio de verão. A diferença é que ao invés de esperar o alimento cair em sua boca como na cheia, ele tem que caça-lo. Uma tarefa relativamente fácil, pois além de reunir estrutura para tal, está aquecido por uma temperatura ambiente que vai de 30 a 38° C na superfície d'água.

O verão oferece ao Tambaqui jovem as condições ideais para crescer: proteína, calor e atividade muscular. Como evidenciado em nosso trabalho de mestrado, o crescimento de juvenis de *Cm* chegou a ser cerca de 50% maior quando alimentados com dieta hiperproteica (45% PB), condicionada ao nado sustentado (fluxo de 0,2 m/s) e em ambiente aquecido a 34°C.

Neste estudo investigamos a participação do IGF-1 no desenvolvimento de juvenis de *Cm* submetidos a dieta suplementada com frutos antioxidantes, em condições de fluxo e temperatura, similares as condições naturais da espécie.

1.1 O TAMBAQUI

O *Colossoma macropomum* (*Cm*), pertencente à classe Actinopterygii, ordem Characiformes e família Characidae, ocorre naturalmente nas bacias do rio Amazonas e Orinoco (GOMES et al., 2010). É uma espécie reofílica, e talvez por esta característica, de grande capacidade adaptativa, pois visita diferentes ambientes e condições e à medida que explora aprende, se condiciona e diversifica seu acervo de ferramentas adaptativas como no caso da 1) resistência a baixas concentrações de oxigênio dissolvido (<1 mg/l, OD), graças à capacidade de expansão do lábio inferior, o que lhe permite melhor captar e direcionar água

superficial rica em oxigênio para as brânquias (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998; BALDISSEROTTO, 2009); 2) cresce em águas ácidas, pH entre 4 e 6 (ARIDE et al., 2007); 3) e, processa maiores concentrações de amônia (ISMIÑO-ORBE, 1997). No entanto, muito suscetível a diminuições de temperatura. De fato, ao contrário de temperaturas elevadas o *Cm* apresenta grande mortalidade em ambientes frios (<20 °C) o que limita sua biogeografia à Bacia Amazônica (clima tropical quente e úmido).

Essa versatilidade o inclui como um candidato nativo dos mais promissores a produção em cativeiro (KUBITZA, 2004; BALDISSEROTO & GOMES, 2010). Adaptabilidade ao cativeiro, palatabilidade e temperamento dócil são características facilitadoras das preferências aos cultivos estabelecidos em zonas tropicais (BALDISSEROTO & GOMES, 2010). Além de se adaptar a diferentes sistemas de produção, em sua dieta podem ser utilizadas diferentes fontes proteicas e energéticas, alimento industrializado, além do disponível no próprio viveiro (zooplâncton) como fonte de proteína (GOMES & SILVA, 2009).

Em condições naturais o *Cm* percorre um caminho sazonal de crescimento baseado na versatilidade de estratégias adaptativas desenvolvidas como reflexo da disponibilidade de diferentes fontes nutricionais, resultantes das variações físico-químicas do meio ao longo do ciclo hidrológico amazônico (SILVA et al., 2000). Quando o rio enche uma extensa área de terra é alagada e os frutos das árvores podem ser consumidos ao caírem na água. Mais de uma centena de espécies vegetais diferentes podem ser encontradas no estômago do tambaqui, em forma de fruto ou semente (SILVA et al., 2000), compondo uma dieta preponderantemente calórica (cerca de 500 Kcal/100 g): cerca de 35% de carboidratos e 30% de lipídios, ficando o percentual restante ocupado por 20% de fibras e 15% de proteína bruta (PB). O inverso acontece no extremo da seca quando os níveis de proteína podem atingir cerca de 70%, carboidratos 10% e lipídios 20% (SILVA et al., 2000).

1.2 O HABITAT E OS HÁBITOS ALIMENTARES

Leite (2004) afirma que a preferência alimentar deste teleósteo na fase juvenil é por restos vegetais e secundariamente por microcrustáceos, itens alimentares como macrófitas, insetos, algas, moluscos e peixes são consumidos pela espécie, porém, em menor frequência e muitas vezes ingeridos simultaneamente com os alimentos principais. A alimentação da larva de tambaqui consiste em zooplâncton, particularmente copépodos e cladóceros, inserindo mais tardiamente invertebrados maiores, como insetos. Na fase de

juvenil, tendem a predar intensamente invertebrados, incorporando pequenas sementes as dietas (HONDA, 1974).

Os tambaquis adultos na natureza se alimentam preferencialmente de frutos e sementes no período de enchente e cheia dos rios, enquanto na época de vazante e seca, consomem principalmente zooplâncton, razão pela qual seu hábito alimentar é comumente definido como onívoro-oportunista (HONDA, 1974; GOULDING e CARVALHO, 1982).

O regime hidrológico da bacia amazônica tem grande influência no hábito alimentar dos peixes refletindo na sazonalidade da dieta (GOULDING, 1980; FERRETI et al., 1996; WOOTTON, 1999). Durante a enchente, grande quantidade de matéria orgânica, proveniente da vegetação terrestre inundada é utilizada como fonte alimentícia pelos peixes (JUNK, 1980), enquanto na fase de águas baixas a disponibilidade de alimentos torna-se restrita (GOULDING, 1980; LOLIS E ANDRIAN, 1996). É nesta época do ano que se registram as temperaturas mais elevadas no ambiente aquático, fator de grande importância, pois os peixes, sendo animais ectotérmicos, sofrem influência direta da temperatura do ambiente em que vivem.

1.3 CAMU CAMU, UM FRUTO DA DIETA DO TAMBAQUI

O camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) é uma frutadeira nativa de porte arbustivo, encontrado nas margens inundáveis dos rios e lagos da Bacia Amazônica (VILLACHICA, 1996). O fruto de *Myrciaria dubia* é uma baga esférica de superfície lisa e brilhante, coloração Vermelho arroxeada, com dois a quatro centímetros de diâmetro e uma a quatro sementes, apreciado para a confecção de sorvetes, sucos e licores, com grande potencial econômico (VILLACHICA, 1996). Segundo ANDRADE *et al.* (1995), o camu-camu apresenta o mais elevado teor de ácido ascórbico (2.880 mg.100 g⁻¹ de polpa). Sua área de distribuição estende-se da região central do Pará até a Amazônia Peruana (ZANATA, 2007), e além de Brasil e Perú existem populações naturais também em Colômbia e Venezuela (PINEDO, et al., 2001), sendo normalmente encontrada em áreas de inundações como às margens dos rios, lagos, região de várzea e igapó (SILVA, 2001).

1.4 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA

A temperatura pode alterar o estado físico dos lipídeos e, assim, modificar a conformação da membrana fosfolipídica (MOYES e SCHULTE, 2010). As células regulam a

fluidez da membrana controlando a natureza dos lipídeos para obter o grau apropriado de movimento. Assim, várias espécies de animais procuram compensar o efeito do ambiente, modificando o perfil lipídico (MOYES e SCHULTE, 2010). Para muitos teleósteos, (TOCHER, 2003) relata a utilização do aumento na proporção de ácidos graxos insaturados na membrana, como uma estratégia adaptativa importante em relação à diminuição da temperatura.

Segundo (MOYES e SCHULTE 2010), há dois efeitos consideráveis da temperatura sobre a membrana: baixas temperaturas podem promover uma solidificação da membrana, prejudicando o movimento das proteínas; enquanto altas temperaturas podem liquefazer a membrana, comprometendo sua integridade e reduzindo sua permeabilidade. Considerando que o ponto de fusão dos ácidos graxos está relacionado ao número de insaturações, quanto maior esse número, menor será o ponto de fusão.

1.5 O CRESCIMENTO À LUZ DA FISIOLOGIA.

As substâncias que atuam promovendo crescimento compõem uma lista extensa para diferentes categorias ou famílias de substâncias descritas em mamíferos roedores. Estas substâncias atuam de forma integrada a capacidades intrínsecas de crescimento relacionadas a cada tipo de tecido. Os tecidos determinantes do crescimento corporal total são, primordialmente, o tecido muscular estriado esquelético e o tecido ósseo. O crescimento é possível graças à oferta de proteínas, micronutriente fundamental na dieta de peixes, pois a partir dela se obtém os aminoácidos essenciais na construção dos tecidos (OISHI et al., 2010; SANTOS et al., 2010). Estudos anteriores (CANTO, 2015; COSTA, 2015) evidenciaram que temperaturas elevadas melhoram o crescimento e favorecem a atividade reativa do peixe, permitindo um anabolismo mais eficaz para proteínas e lipídios. Diferentes estratégias ou táticas podem ser aplicadas na utilização dos recursos alimentares. A aquisição de determinado item alimentar é precedida por um processo que usualmente envolve procura, detecção, captura, manipulação e ingestão (SCHOENER, 1971; KEENLEYSIDE, 1979; ZAVALA-CAMIN, 1996; WOOTTON, 1999), e estas ações provocam movimentos musculares e esqueléticos desencadeando a produção de substâncias promotoras de crescimento como o hormônio de crescimento e fator insulínico de crescimento.

1.6 FATORES HUMORAIS E CRESCIMENTO EM PEIXES

O eixo somatotrópico é o principal estimulador para o desencadeamento da hipertrofia e hiperplasia muscular (CERDÁ-REVERTER; CANOSA, 2009), e o processo é pouco evidenciado. Tudo se inicia no cérebro, mais precisamente no hipotálamo, que provoca uma cascata de comunicação celular que atinge a hipófise, fígado e músculo e envolve vários sinalizadores celulares como o hormônio do crescimento – GH e os fatores insulínicos de crescimento – IGFs, (CHANG; WONG, 2009). Além de proteínas carreadoras e receptores localizados em tecidos alvo.

1.6.1 Fator de crescimento insulina símile (IGFs)

Os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) são os principais mediadores dos efeitos da promoção do crescimento induzido pelo GH em peixes e outros vertebrados, e podem agir de forma autócrina, parácrina ou endócrina (LE ROITH et al., 2001). O fígado é o principal local para transcrição de IGF em peixes e outros vertebrados, no entanto, o padrão de secreção de GH é influenciado por regimes de alimentação (BOUJARD E LEATHERLAND, 1992), pela temperatura e fotoperíodo (MARCHANT E PETER, 1986), e de desenvolvimento, com picos diferentes de GH entre adultos e juvenis, mostrando que em juvenis aclimatados para fotoperíodos curtos e exposição a baixa temperatura apresentam um pico claro no início do período de escuro (MARCHANT E PETER, 1986; CANOSA E PETER, 2005). Pelo contrário, nos peixes maiores submetidos a fotoperíodos longos a alta temperatura o padrão de secreção de GH apresenta níveis menores, os níveis mais elevados são encontrados no início da manhã (MARCHANT E PETER, 1986). A correlação entre crescimento do organismo e concentração de IGF-1 plasmático é alta. Picha et al. (2008) classificam o IGF-1 plasmático como um biomarcador de crescimento em peixes. A síntese e secreção de IGF-1 pode ser GH-dependente ou GH-independente, em vários estágios da vida e em diferentes tecidos. No início do desenvolvimento, a síntese e secreção de IGF parecem ser, em grande parte, GH-independente (BUTLER; LEROITH, 2001).

Além dos vários hormônios, a disponibilidade de alimento e o estado nutricional do organismo podem influenciar a expressão e atividade do sistema GH/IGF. Os peixes são frequentemente expostos a longos períodos de privação de alimento, e o jejum reduz os níveis de IGF-1. Fatores ambientais como temperatura e fotoperíodo podem influenciar a expressão e a atividade do sistema GH/IGF. Temperaturas mais altas podem aumentar o crescimento dos

peixes e o fotoperíodo pode modular a produção e secreção dos componentes do sistema GH/IGF (GABILLARD et al., 2003). Segundo Taylor e Migaud, 2009. Rápidos aumentos dos níveis circulantes de GH e IGF-1 têm sido relacionados com altas temperaturas e dias longos.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Estudar o crescimento do *Colossoma macropomum* em simulação experimental do ambiente de cheia e seca, dois períodos correspondentes aos extremos climáticos de um ciclo hidrológico amazônico.

2.2 ESPECÍFICOS

1 Estudar a evolução do crescimento (peso e comprimento) relacionado ao acúmulo de IGF-1 e lipídeos totais no músculo de juvenis de *Colossoma macropomum* submetidos à dieta suplementada com polpa de *Myrciaria dubia* (a 5% MS) em ambiente de seca (34°C, 45% PB) ou cheia (28°C, 32%PB) em água corrente (0,2 m/s) ou parada.

2 Estudar a evolução do crescimento (peso e comprimento) relacionado ao acúmulo de gordura cavitária, consumo de alimento e sua conversão por juvenis de *Colossoma macropomum* submetidos à oferta única ou fracionada (3x/3h) em água corrente (0,3 m/s) intervalada (24/6 h) ou contínua.

3 Estudar a relação entre os efeitos da dieta fracionada *versus* peso, comprimento e gordura cavitária.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho ora defendido, foi constituído de dois experimentos executados em tempos distintos no mesmo local e com algumas modificações entre suas metodologias. Para uma melhor compreensão dividiremos os experimentos identificando-os como experimento I e II de acordo com os objetivos 1 e 2 do estudo.

EXPERIMENTO I:

- Estudo da evolução do crescimento (peso e comprimento) relacionado ao acúmulo de IGF-1 e lipídeos totais no músculo de juvenis de *Colossoma macropomum* submetidos à dieta suplementada com polpa de *Myrciaria dubia* (a 5% MS) em ambiente de seca (34°C, 45% PB) ou cheia (28°C, 32%PB) em água corrente (0,2 m/s) ou parada.

EXPERIMENTO II

- Estudo da evolução do crescimento (peso e comprimento) relacionado ao acúmulo de gordura cavitária de juvenis de *Colossoma macropomum* submetidos à oferta única ou fracionada (3x/3h) em água corrente (0,3 m/s) intervalada (24/6 h) ou contínua.

3.1 APARELHAMENTO EXPERIMENTAL

Os experimentos foram desenvolvidos nas instalações do Laboratório de Ecofisiologia Aquática (LEA), no complexo da SEMAGRI – (Secretaria Municipal de Agricultura e Abastecimento), no município de Oriximiná, Pará. Foram utilizados espécimes de *Cm* adquiridos na Estação de Piscicultura Santa Rosa, Santarém-PA em fase juvenil recente. Após período de quarentena, os peixes ($13,24 \pm 0,10$ g; $7,18 \pm 0,08$ cm; n=120) foram distribuídos de forma aleatória em 12 tanques (10 unidades/tanque) de polietileno (tipo bacia) preenchidos com 200 litros de água originária de poço artesiano, a temperatura ambiente ($28,2 \pm 0,01$) ou previamente aquecida em cerca de +6°C ($34,1 \pm 0,02$ °C) além da temperatura ambiente, de acordo com a condição programada.

A água foi aquecida com o uso de uma resistência elétrica de (3200w) instalada no reservatório superior (vide Figura 1) e sua manutenção na temperatura aproximada de 34°C foi possível com o uso de um termostato (300w) instalado em cada tanque. A conservação do

calor foi possível por recondução por bombeamento (bomba submersa) da água dos tanques ao reservatório superior, após passar por filtro biológico. Adição de água limpa ocorreu de forma contínua a 108 l/hora a temperatura ambiente quando era misturada a água aquecida na tubulação de entrada para os tanques.

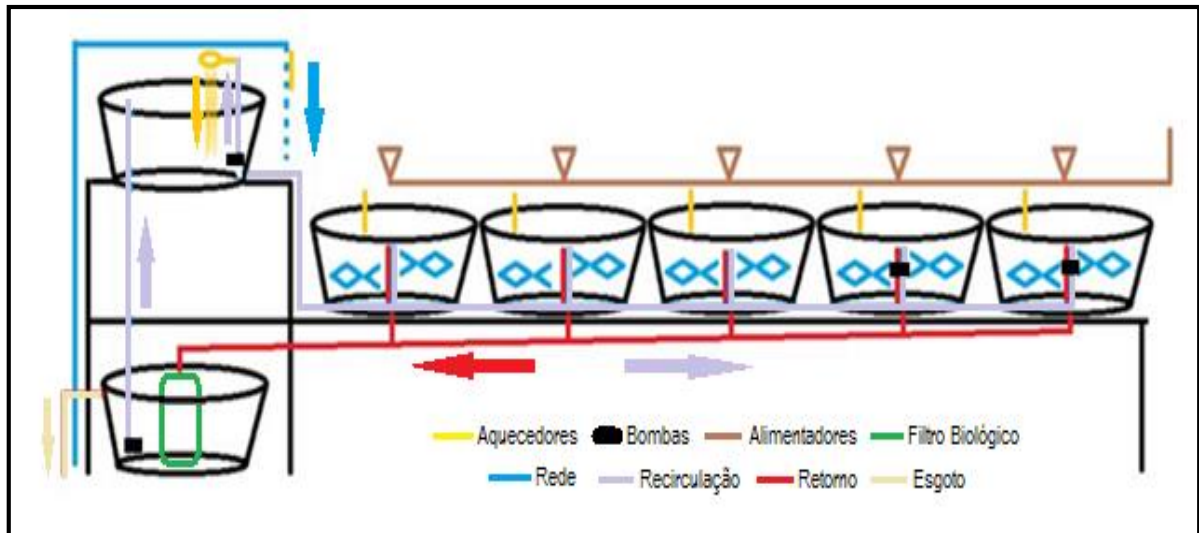


Figura 1: Desenho esquemático da dinâmica da água servida, apresentado em foco, o sistema de água aquecida, muito embora o outro sistema de água à temperatura ambiente seja similar, porém sem o aparato de aquecimento. Identificados na legenda do desenho aparelhos componentes do sistema por código de cor.

Fonte: Autor

O controle do volume dos tanques foi efetuado por um sistema de suspiro que equilibrava a retirada d'água no nível superior de cada tanque com o reservatório de distribuição (superior) de maneira a funcionar como um controlador de nível. O filtro funcionou no interior do tanque inferior (Figura 1). Confeccionado artesanalmente, consistiu de dois baldes plásticos de 20 litros cada, sendo que um foi preenchido parcialmente (15 litros) com brita (6 mm de diâmetro) e o outro com elemento filtrante (manta acrílica). A água era obrigada a passar primeiro pelo elemento filtrante e depois pela brita. Em seguida armazenada no reservatório inferior para posteriormente ser bombeada para o reservatório superior. Este serviço de água era individualizado de forma a atender dois sistemas de fornecimento de água independentes: água a temperatura ambiente (seis viveiros) ou água aquecida (seis viveiros). A renovação da água dos tanques acontecia constantemente a uma taxa de 90 litros por hora com água proveniente do sistema de recirculação. A renovação da água do sistema de recirculação foi programada para ocorrer quinzenalmente após a biometria, com a troca total da água e lavagem de tanques e reservatórios. Um sistema semiautomático foi utilizado para a alimentação simultânea nos viveiros e consistiu de uma

peça tubular única de 5 m de comprimento com copos plásticos nela dispostos de forma a lançar a ração (3% do peso corporal) na região central de cada tanque.

3.2 ARRAÇOAMENTO

A composição nutricional da ração comercial a 45% (Nutripiscis TC 45) e 32% (Nutripiscis TRV32) de proteína bruta (PB) é listada na **Tabela 1**.

Nutripiscis TC 45		Nutripiscis TRV32	
Componentes	Quantidade	Componentes	Quantidade
Umidade	10,0%	Umidade	10,0%
Proteína Bruta	45,0%	Proteína Bruta	32,0%
Extrato Etéreo (mín.)	12,0%	Extrato Etéreo (mín.)	6,0%
Matéria Mineral	14,0%	Matéria Mineral	13,0%
Matéria Fibrosa	5,0%	Matéria Fibrosa	5,5%
Cálcio	25,00 g/kg	Cálcio	25,00 g/kg
Fósforo	10,00 g/kg	Fósforo	6,00 g/kg
Vitamina C	600,0 mg	Vitamina C	300,0 mg

Tabela 1: Composição das rações comerciais utilizadas como controle e base para as misturas.

Fonte: Autor

A oferta de ração a esses teores de PB para o *Cm* foi estabelecida para o *Cm* por outros estudos (KUBITZA, 2009). Foi ofertada além da ração de 32% PB, normalmente utilizada na recria de juvenis acima de 60 dias a ração de 45% PB, considerando a maior demanda metabólica resultante ao aquecimento e ao exercício como para outros peixes submetidos a condições similares (KUMAR, et al, 2013). A ração comercial foi triturada em moedor de cereais e foi misturada a polpa de *Md* na proporção de 1:1, até a obtenção de uma massa pastosa, em seguida extrusada a temperatura ambiente com o auxílio de um moedor de carne manual, o material obtido neste processo foi levado ao desidratador durante 24 horas a temperatura de 45°C, em seguida o material foi submetido a moagem em moedor manual ajustado para granulometria de 2 a 6 mm de acordo com o tamanho dos peixes em tratamento. Para obtenção da ração controle o mesmo procedimento foi executado ao se reidratá-la, pesá-la e desidrata-la novamente. A ração obtida foi acondicionada imediatamente após a seleção granulométrica, em sacos especiais com capacidade de 1 kg, com as seguintes características, sacos confeccionados com plástico dupla face com cor exterior branco e interior preto, fechados com aba adesiva, os sacos são dotados de tampa rosqueada o que facilita o

fracionamento do conteúdo, os sacos com ração foram armazenados em ambiente com temperatura média de 22° C, livre de umidade e protegido da luz.

A ração foi ofertada três vezes ao dia: às 9:00 h, 13:00 h e 17:00 h. As quantidades foram recalculadas a cada quinzena de acordo com o ganho de peso registrado pela biometria e tendo como base 3% da biomassa (peso vivo) e corrigidas até a saciedade aparente com o início de acúmulo detectado no fundo do tanque.

3.3 CONDICIONAMENTO FÍSICO

As atividades de exercício físico (nado forçado) ocorreram em seis tanques, sendo três a temperatura ambiente e três a mais 6°C. Nos tanques destinados as atividades de nado forçado por fluxo foi afixada bomba propulsora à meia altura do volume e tangente à sua curvatura de forma que o jato era impelido a deslocar o volume em rotação centrífuga a partir da parede do tanque ao gerar uma corrente centrífuga. Dois diferentes fluxos foram mensurados: 0,2 e 0,1 m/s no sentido periferia-centro. A faixa onde os peixes permaneceram maior parte do tempo foi a primeira 0,2 m/s, sempre próximos à parede do tanque. À medida que o fluxo era gerado imediatamente nadavam no sentido contrário à corrente (comportamento inato). As bombas eram acionadas três vezes ao dia às 8:00, 12:00 e 16:00 horas e desligadas às 9:00, 13:00 e 17:00 horas por temporizadores pré-programados. A Figura 2 mostra o aro do tanque e faixas virtuais de corrente geradas no sentido periferia centro.

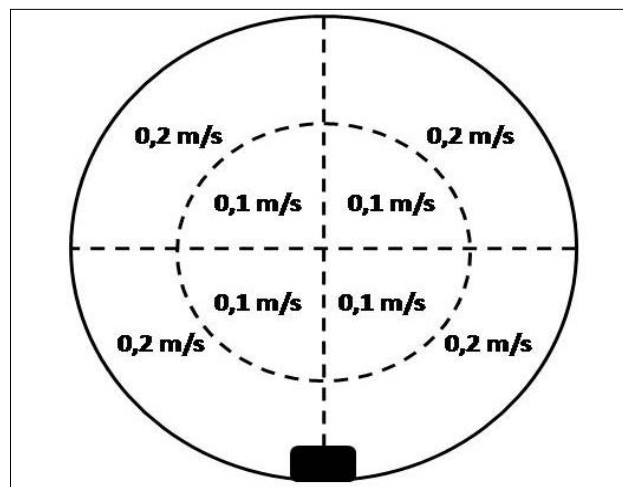


Figura 2: Aro do tanque com referência aos fluxos propulsionados por bomba (retângulo cheio inferior) ao gerar um movimento centrífugo.

Fonte: Autor

3.4 CONTROLE DE QUALIDADE DE ÁGUA

Foi realizada ao longo do experimento análise dos seguintes parâmetros físico-químicos da água: 1) semanalmente se verificou amônia por fotometria (HANNA HI-83200 multiparâmetro portátil); pH (pHmetro portátil HANNA, modelo HI8314), e, 2) diariamente, oxigênio dissolvido (oxímetro portátil HANNA, modelo HL-4196) e temperatura (termômetro portátil HANNA, modelo 93510).

3.5 BIOMETRIA

As biometrias ocorreram a cada 14 dias, os peixes eram capturados, e conduzidos até a sala de biometria acondicionados em recipientes plásticos com capacidade para 20 litros dotados de aeradores e servidos com volume de aproximadamente 15 litros de água do tanque de origem dos peixes, na sala de biometria os peixes eram pesados individualmente com auxílio de uma balança digital METRA modelo 50001KF, dotada de um recipiente plástico com água, após a balança ser tarada o peixe era colocado no recipiente com água e verificada a massa. Com o auxílio de um ictiômetro artesanal era conferida a medida de comprimento padrão.

3.6 ANÁLISE DE IGF-1

Para determinar IGF-1 e GH usamos kits Elisa específicos que foram quantificados em leitor de microplacas.

3.6.1 Princípio do ensaio

Este ensaio emprega a técnica de imunensaio enzimático de inibição competitiva. A placa de microtitulação fornecida no kit é pré-revestida com anticorpo de cabra anti-coelho. Padrões ou amostras são adicionados aos poços da placa de microtitulação com um anticorpo específico para o IGF-1 (HRP). A reação de inibição competitiva é lançado no meio marcado com HRP de IGF-1 e IGF-1 não marcado com o anticorpo. A solução de substrato é adicionada aos poços e a cor desenvolve-se frente à quantidade de IGF-1 na amostra. O desenvolvimento da cor é parado e a intensidade da cor é medido. Este ensaio tem uma elevada sensibilidade e uma excelente especificidade para detecção de IGF-I em peixes independentemente da espécie.

3.6.2 Procedimentos para o experimento

Utilizamos 500mg de tecido que foram lavados com reagente PBS, em seguida macerados em tubo de ensaio de vidro com auxílio de um bastão de vidro em seguida separamos uma porção de aproximadamente 0,05g que foram homogenizados em 500µl de PBS e centrifugados durante 15 minutos a 5000 rpm, em temperatura -5°C. O sobrenadante foi removido e imediatamente armazenado em freezer horizontal e posteriormente transportado em gelo químico para freezer -80°C. Para uma análise. O fluxograma abaixo revela o passo-a-passo do procedimento experimental.

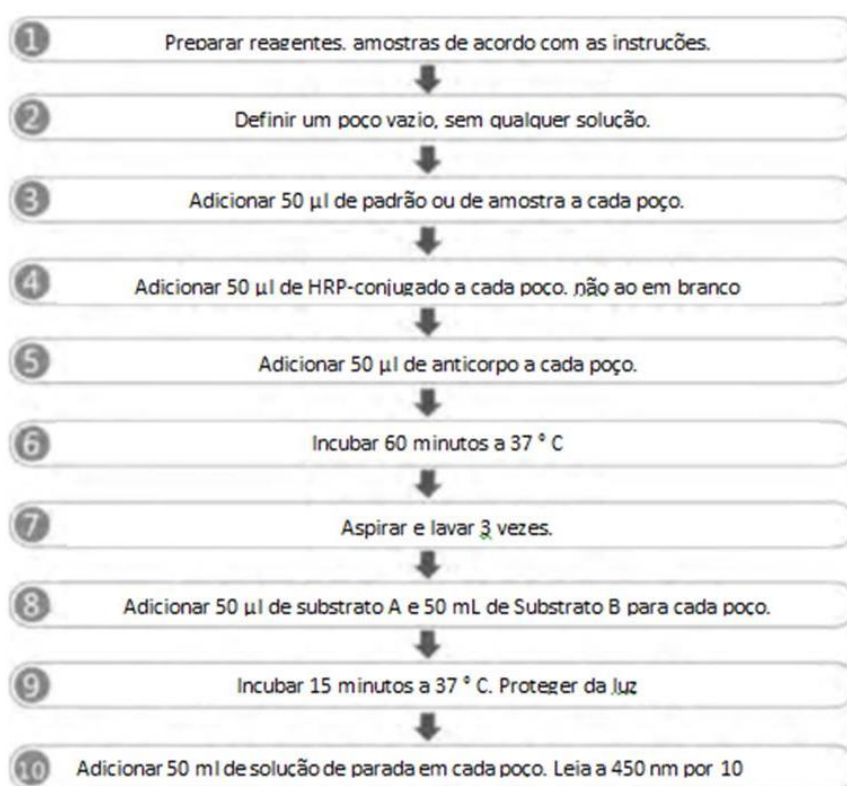


Figura 3: Fluxograma do procedimento de análise do kit Elisa

Fonte: Autor

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média (n=10). A significância estatística das diferenças entre as médias de cada grupo foi estimada por meio da análise de variância (ANOVA) de uma via, assumindo um nível de significância de 5%. O pós-teste de Bonferroni foi usado para situar e confirmar as diferenças entre os grupos.

3.8 APARELHAMENTO EXPERIMENTAL

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Piscicultura da UFOPA (Núcleo Universitário de Oriximiná) localizado nas instalações da Secretaria Municipal de Agricultura de Oriximiná – PA no período de 15 de agosto a 24 de outubro de 2017. Os alevinos foram adquiridos na estação de piscicultura Santa Rosa no município de Santarém. Os mesmos foram mantidos até a fase juvenil em tanques escavados com todos os cuidados inerentes a espécie. Inicialmente os juvenis de tambaqui foram aclimatados em caixas d'água com capacidade de 1000 litros, fabricada em polietileno, a densidade de 12 peixes por caixa, sendo um total de 06 caixas com ou sem fluxo ou ainda fluxo de 4 horas alternado. Cada unidade foi abastecida com água de poço e aeração permanente mantida com aeradores (Boyu Elet/mag Acq-003 50 l/m), as caixas com fluxo induzido foram dotadas de bombas submersas (JATO – 2500). O período de aclimação durou sete dias. Após esse período os peixes foram submetidos ao regime de fotoperíodo de 12 horas com luz e 12 horas escuro. O desenho experimental contou com dois grupos distintos em relação a dieta 1-(alimentado uma única vez ao dia na metade do período de luz) e 2-(alimentação fracionada na ultima metade do período de luz). Em relação ao exercício, cada grupo contou com três unidades diferentes entre si, onde: 1- (Sedentário) a unidade não apresentava fluxo (correnteza) – SED; 2- (Exercício alternado) a unidade contava com fluxo durante 4 horas, sucedido por 4 horas sem fluxo, durante 24 horas – 4X4; 3- (exercício contínuo) a unidade contava com fluxo ininterrupto – EXC. A dieta foi ofertada ad libitum, a ração ofertada foi ração comercial 45% PB. A temperatura das unidades de tratamento foi setada em 34°C, a elevação de temperatura da água das unidades foi obtida com aquecedores (LORENZETTI 4600 W) dotados de termostatos ajustados para 35,5°C, no reservatório superior, com intervalo de operação de 0,5°C. Em relação aos parâmetros físico-químicos da água, foram monitorados os seguintes: temperatura e oxigênio dissolvido (diariamente), pH, amônia total (semanalmente).

3.9 ARRAÇOAMENTO

Em relação a oferta de ração havia dois grupos distintos o grupo de alimentação não fracionada (NF) este grupo as 12 horas recebia ração a cada 20 minutos ate que se observasse sobras de ração já o outro grupo, ração fracionada (F) recebia ração da mesma forma do anterior, repetindo-se a mesma operação 3 horas após o início do procedimento em

mais duas seções de alimentação, perfazendo um total de três episódios de alimentação que ocorriam as 12, 15 e 18 horas.

A composição nutricional da ração comercial a 45% (Nutripiscis TC 45) de proteína bruta (PB) é listada na **Tabela 1**. A oferta de ração a esse teor de proteína para o *Cm* foi estabelecida em função de nosso estudo anterior.

3.10 CONDICIONAMENTO FÍSICO

As atividades de exercício físico (nado forçado ou condicionado) ocorreram em 4 tanques, (2) dois a 24 horas e 2(dois) 12 horas intercaladas em, 4 horas de exercício e 4 horas sedentário. Sendo a temperatura ambiente aumentada em mais 6°C. Nos tanques destinados as atividades de nado forçado por fluxo foi afixada duas bombas propulsora na lateral, uma a meia altura do volume e tangente à sua curvatura de forma que o jato era impelido a deslocar o volume em rotação centrífuga a partir da parede do tanque ao gerar uma corrente centrífuga e a outra também na lateral a 10 centímetros do fundo.

Dois diferentes fluxos foram mensurados: 0,3 e 0,2 m/s no sentido periferia-centro. A faixa onde os peixes permaneceram maior parte do tempo foi a primeira, sempre próximos à parede do tanque. À medida que o fluxo era gerado imediatamente os peixes nadavam no sentido contrário à corrente (comportamento inato). A Figura 4 mostra o aro do tanque e faixas virtuais de corrente geradas no sentido periferia centro.

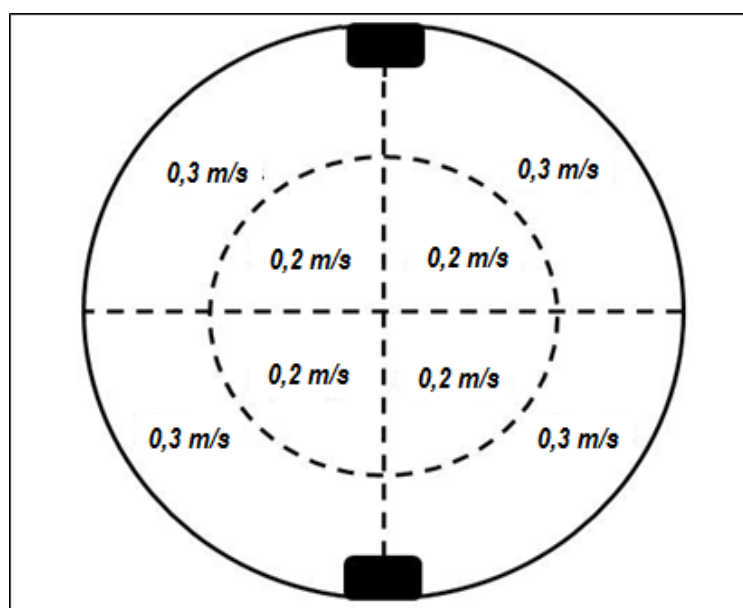


Figura 4: Aro do tanque, experimento II, com referência aos fluxos proporcionado pelas bombas (retângulo cheio inferior e superior) ao gerar um movimento centrífugo.

Fonte: Autor

3.11 BIOMETRIA

Foram realizadas biometrias em intervalos de 14 dias, para tanto os peixes foram capturados com puçás, colocados em baldes plásticos com água. Em seguida, levados a balança digital (NEOBIO 50001KF, com precisão de 0 a 5000g) para verificar o peso. O comprimento padrão e total foram aferidos com ictiômetro artesanal, construído com tubo de PVC de 100 mm e régua transparente de 30 cm. Após cada biometria os peixes foram devolvidos para as suas respectivas unidades de tratamento.

3.12 CONTROLE DE QUALIDADE DE ÁGUA.

O pH foi verificado utilizando peagmetro digital (Hanna HI-8314), amônia com fotômetro multiparâmetros (Hanna HI-83200), oxigênio dissolvido oxímetro (Hanna, HL-9146) e temperatura com termômetro digital (Hanna HI-93510)

3.13 COLETA DE TECIDO

Após o período experimental (70 dias), os peixes foram coletados, eutanasiados por secção medular, em seguida uma parte do musculo epiaxial foi retirada, para análise da concentração de IGF-1 e proteínas e o restante congelado para a análise de lipídeos.

3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados das biometrias foram tabulados no software Microsoft Office Excel versão 2013 onde foram extraídos as médias, Desvio Padrão e Erro Padrão da Média. Para elaboração dos gráficos utilizamos o software GraphPadPrism, versão 5.0. Os dados foram expressos como média±erro padrão da média. A significância estatística das diferenças entre as médias de cada grupo foi estimada por meio da análise de variância (ANOVA) de dois fatores, assumindo um nível de significância de 5%. O teste de Bonferroni foi usado para contraste entre as médias.

4 RESULTADOS

1 Estudar o acúmulo de IGF-1 e lipídeo total nos efeitos da *Md* no crescimento do *Cm* submetido a água corrente em ambiente aquecido.

A evolução do crescimento mostrou proporcionalidade e linearidade entre peso e comprimento para todos os grupos em estudo. Pequenas, mas significativas diferenças ocorreram entre os grupos. Ressaltamos, no entanto, como efeito aditivo mais efetivo, tanto no peso como no comprimento, àquele submetido a 34° C e nado induzido comparado ao grupo 28° C e nado induzido. O crescimento se deu de forma mais rápida nos primeiros 42 dias, a partir do qual exibe uma progressão mais lenta que se mantém até o final do período de observação, independente da condição a que foram submetidos.

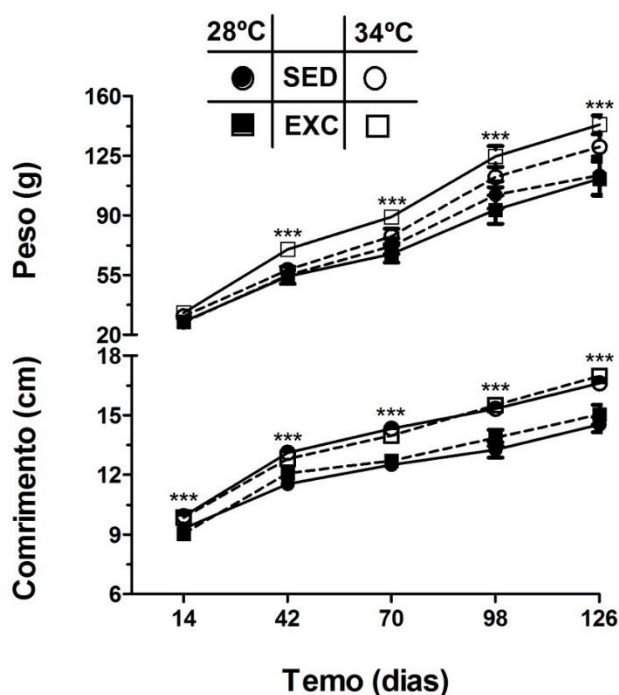


Figura 5: Peso e comprimento padrão associado a temperatura. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni), * entre grupos tratado x controle. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.

Fonte: Autor

A comparação de diferentes teores de proteína na dieta (32 x 45% PB) relacionadas a condição tipo seca mostrou um significativo aumento de peso e comprimento do grupo nado induzido 45% PB comparado ao grupo nado induzido 32% PB ao longo do período de observação.

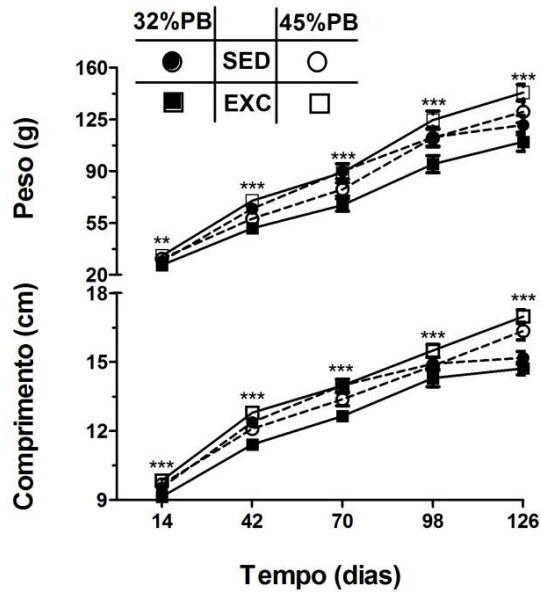


Figura 6: Peso e comprimento padrão associado conteúdo de proteína. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.

Fonte: Autor

Dieta suplementar com polpa de *Md* foi usada neste experimento com objetivo de simular a influencia de frutos com potencial antioxidantes (altos níveis de vitamina C) no crescimento de juvenis de *Cm* correspondente a condição tipo seca. As diferenças aqui observadas foram mais tênues entre os grupos tanto para o peso como para o comprimento ao longo do percurso temporal. A *Md* foi mais efetiva em potencializar crescimento no grupo sedentário em relação aos demais.

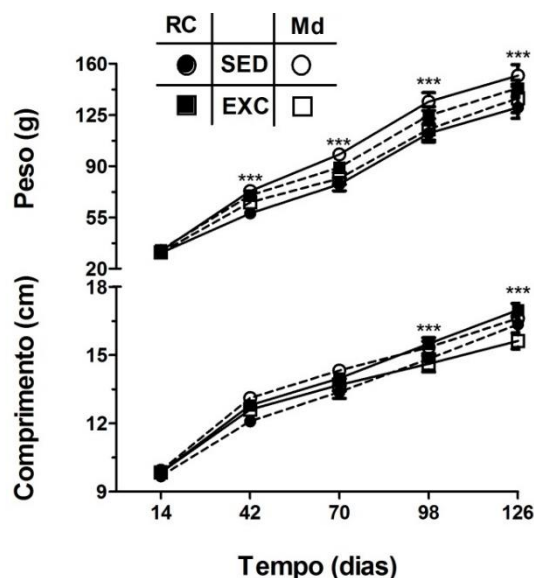


Figura 7: Peso e comprimento padrão associado a suplementação com *Md*. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.

Fonte: Autor

Esta potencialização de crescimento no grupo sedentário foi seguida pelo aumento considerável do conteúdo de IGF-1 favorável a dieta suplementar com *Md*. Entretanto quando associada com exercício a *Md* mostrou níveis menores de conteúdo de IGF-1.

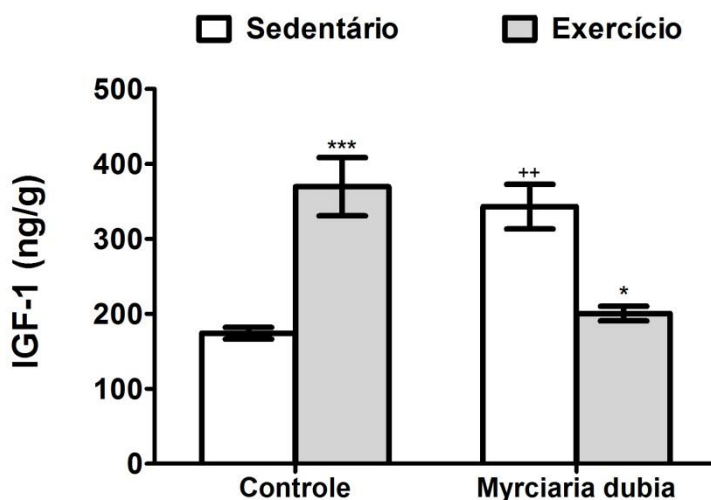


Figura 8: IGF-1 muscular associado ao repouso e exercício. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. + entre grupos tratado x tratado. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.

Fonte: Autor

A dieta com *Md* resultou em maior acúmulo de IGF1 no grupo SED comparado ao grupo EXEb (0,2m/s.1h 3x ao dia). Os níveis de IGF-1 nos peixes alimentados com dietas hiperproteica são significativamente maiores nos peixes submetidos ao exercício físico, no entanto quando suplementada com *Md* os níveis são mais elevados para o grupo sedentário. Este efeito foi relacionado a aumento de peso, mas não de comprimento no grupo sedentário.

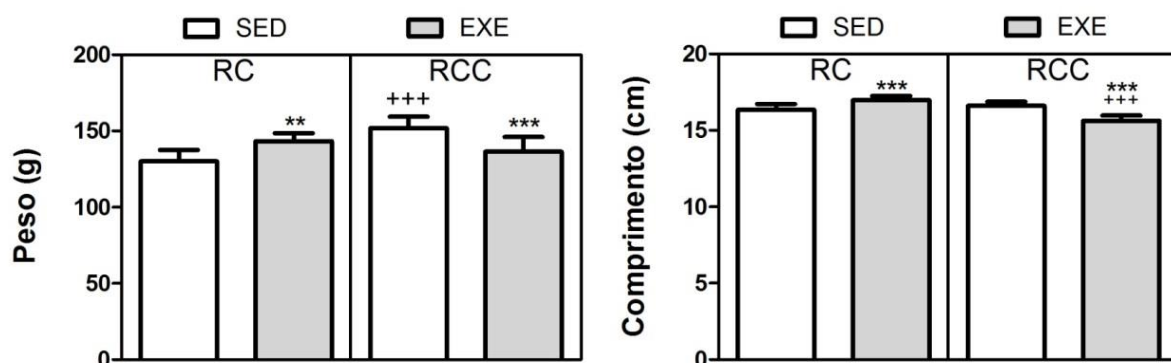


Figura 9: Peso e comprimento padrão associado ao repouso e exercício. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. + entre grupos tratado x tratado. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.

Fonte: Autor

Este aumento de peso relacionado ao maior acúmulo de IGF 1 foi seguido de maior acúmulo de lipídeos no músculo para aumento da temperatura e para aumento do exercício

Muito embora não tenha ocorrido aumento do comprimento adicional ao controle com a dieta de *Md*, ocorreu significativo aumento do comprimento nos animais submetidos ao exercício, confirmando a relação existente com o conteúdo aumentado de IGF 1 neste grupo.

Por sua vez, o aumento do IGF 1 em animais submetidos à dieta com *Md*, reforçou a relação com o conteúdo aumentado de lipídeos no músculo em consonância com o aumento de peso para este grupo.

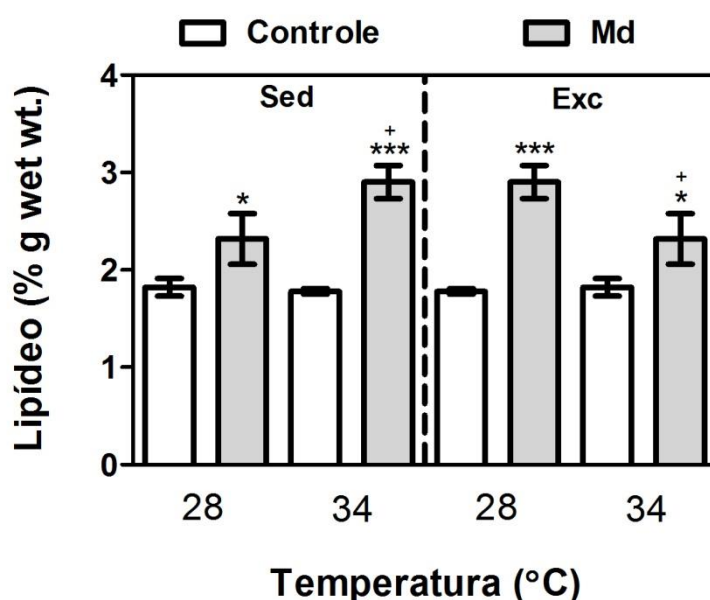


Figura 10: Percentual de lipídeos no músculo associado a suplementação com *Md*. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. + entre grupos tratado x tratado. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.

Fonte: Autor

Estes resultados reforçam a ideia de que o tambaqui pode acumular gordura no músculo como uma reserva de energia metabólica potencial, esta linha de raciocínio nos remete a dois aspectos singulares que caracterizam o crescimento do tambaqui: 1 o aumento considerável do acúmulo de lipídeos resultante a dieta predominantemente de frutas ao final do período chuvoso coincidente ao alagamento das terras baixas (várzeas) e a temperaturas amenas, quando o peixe, tem seu metabolismo energético diminuído o que significa dizer menor anabolismo proteico e maior anabolismo lipídico preponderantemente. Em regra geral estas evidências espelham a oferta predominante de lipídeos na dieta frugívora do peixe. De

fato inúmeras evidências mostraram que o IGF 1 participa do metabolismo tanto lipídico quanto proteico.

Em peixes esta ação do IGF 1 parece depender em grande parte da insulina para ocorrer.

De fato a maioria dos peixes caracídeos apresentam esse perfil metabólico.

Por outro lado, estes peixes são suscetíveis a diminuição da temperatura ambiente no sentido de quanto mais baixa a temperatura ambiente, menor a atividade metabólica. De fato ao longo do período chuvoso são registradas as mais baixas temperaturas da água no ciclo hidrológico dos rios amazônicos. A diminuição desta atividade metabólica tem por consequência, a diminuição do apetite e da atividade física, fazendo com que o peixe permaneça por varias horas em abrigos aguardando o aquecimento da água e a queda dos frutos para sua alimentação. Esta condição, inclusive, favorece sua predação por pescadores habéis com o uso da “gaponga” caroço esférico usado para simular a queda do fruto na água.

Neste período a expectativa de crescimento diminui se considerarmos que a disponibilidade de alimentos ricos em proteína também estará diminuída, desde que presas potenciais estariam protegidas em ambientes de difícil acesso para os peixes maiores. Uma característica, por conseguinte, o *Cm* alcança o pico da cheia com o máximo de acúmulo de gordura do ano a partir do qual é intensamente capturado como um peixe gordo e nesta forma muito apreciado pela população nativa.

Dentre as inúmeras frutas que compõe a dieta do tambaqui, algumas mostraram conter substâncias com atividade antioxidante, particularmente o camu-camu, rico em ácido ascórbico e flavonoides podendo atuar protegendo o musculo e outros tecidos de perdas de suas unidades funcionais. Isto se aplicaria tanto a miócitos quanto a adipócitos particularmente. O fato de o camu camu ter causado maior acúmulo de IGF 1 no musculo pode refletir o aumento proporcional de adipócitos entre os miócitos (marmorização) refletindo uma estreita relação preponderantemente com o anabolismo lipídico. A integridade celular mantida também permite que seu aparato de síntese proteica possa acumular tanto proteína quanto peptídeos sinalizadores garantindo intacto seu conteúdo celular em tipos celulares encontrados no musculo.

2 Estudar o acúmulo de gordura visceral relacionada ao crescimento do Cm submetido a água corrente em ambiente aquecido.

Com o objetivo de estudar o acúmulo de gordura no desenvolvimento de juvenis de *Cm* submetidos à água corrente e ambiente aquecido, submetemos os grupos experimentais, ao longo de 70 dias, a dois diferentes tratamentos: **1** exercício contínuo simulando as condições de verão, exercício fracionado simulando as áreas de refugio e o controle sedentário; **2** fracionamento ou não de alimento simulando a disponibilidade de alimento nos diferentes períodos do ano.

O fracionamento da dieta resultou em maior produtividade para o grupo alimentação fracionada, mostrando um maior ganho tanto no peso quanto no comprimento principalmente para os grupos em que houve maior intensidade no exercício.

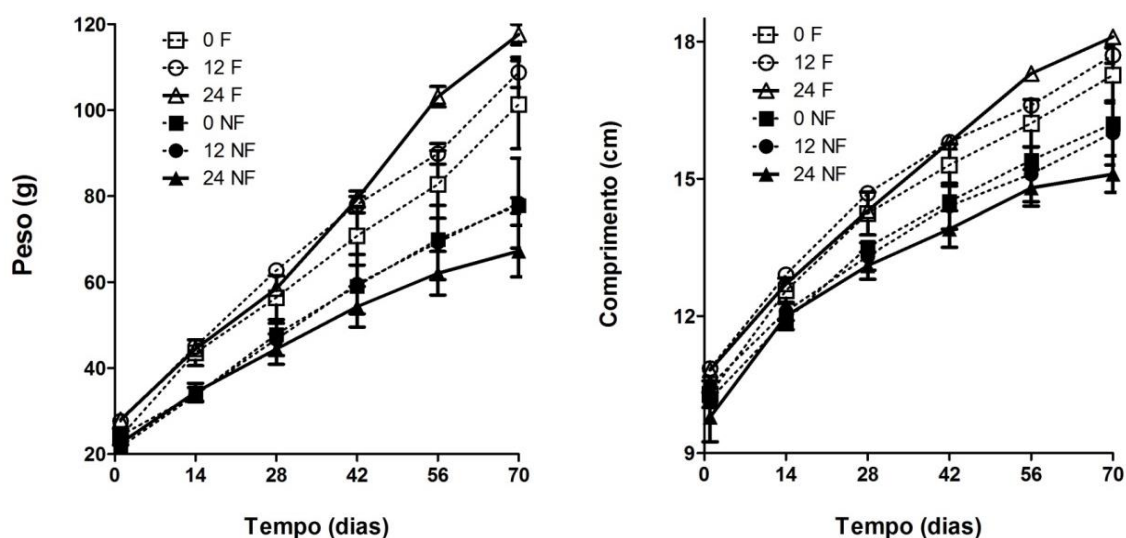


Figura 11: Peso e comprimento padrão associado ao fracionamento da dieta. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. + entre grupos tratado x tratado. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.

Fonte: Autor

Tabela 2. Valores de conversão alimentar para a dieta fracionada ou única diária e nado intercalado (24/6) ou contínuo, ao longo dos 70 dias de experimentação.

Tratamento/Dias	14	28	42	56	70	Final
0F	1	1,5	1,4	1,8	1,4	1,4
12F	1,1	1,1	1,4	2	1,5	1,4
24F	1,4	1,3	1,2	1,4	2,4	1,5
0NF	1	1,5	1,5	2	2,7	1,6
12NF	1,1	1,2	1,2	1,7	1,8	1,4
24NF	1	1,5	1,5	2,0	2,7	1,6

O fracionamento permite um maior consumo de ração evitando possíveis déficits temporais no pool de aminoácidos nos tecidos especializados, estimulando o catabolismo de aminoácidos (LANNA et al., 2005; BOMFIM et al., 2008).

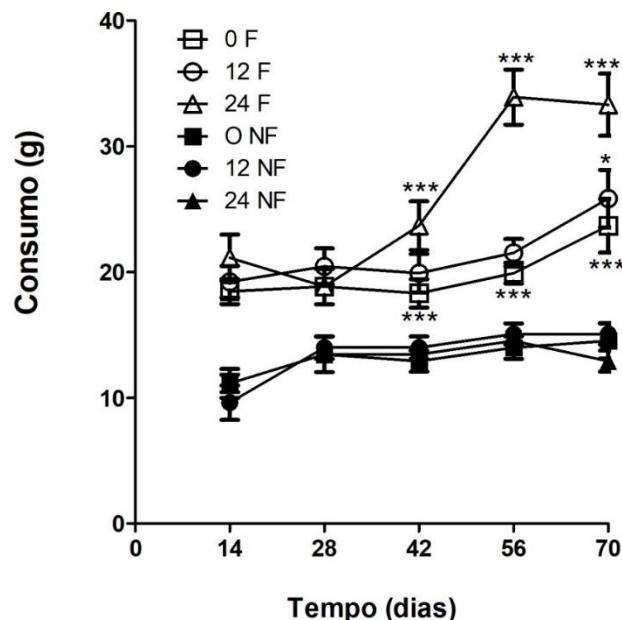


Figura 12: Peso da ração consumida associado a intensidade do exercício físico. Dados apresentados em média±EPM (n=13). ANOVA 1 via (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.

Fonte: Autor

A maior ingestão de alimentos observada anteriormente contribui mantendo a disponibilidade tanto de energia quanto de proteínas, o que contribui com o crescimento efetivo do peixe quando exposto as condições de temperatura aumentada e água corrente, nota-se que nesta configuração é essencial o aporte de proteína, garantido pela ingestão de alimentos hiperproteico, permitindo o desenvolvimento do peixe.

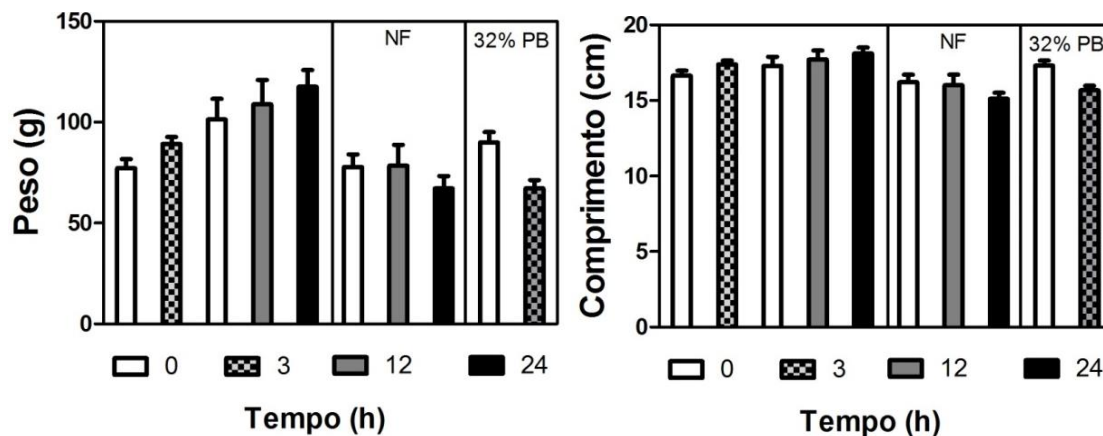


Figura 13: Peso e comprimento padrão associado ao fracionamento da dieta, intensidade da atividade física e percentual de proteína. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre

grupos tratado x controle. + entre grupos tratado x tratado. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.

Fonte: Autor

3 Estudar a relação entre a dieta fracionada e o peso, comprimento e gordura visceral.

O fracionamento da dieta resultou em maior acúmulo de gordura abdominal principalmente nos grupos onde houve maior intensidade no exercício físico, fato similar ao maior ganho de peso e comprimento observado nos resultados relacionados ao crescimento, por outro lado, fato intrigante é o aumento da gordura mesmo quando há maior intensidade de exercício físico. Isso se deve principalmente a necessidade de energia para garantir a carga de movimento a qual o peixe se encontra, caracterizando a necessidade de uma reserva lipídica capaz de suprir tal necessidade, ativando tanto o metabolismo lipídico quanto o metabolismo proteico, completando assim a dualidade metabólica desta espécie que para crescer necessita de energia que garanta o exercício físico necessário para a promoção do crescimento, algo semelhante ocorre na natureza, onde se observa duas fases de crescimento para esta espécie uma fase de preparação (engorda) e uma fase de crescimento, algo muito parecido se observa também no período reprodutivo, onde pelo fato de se tratar de um peixe reofílico há também esta fase preparatória de reserva de energia, para garantir a reprodução.

Em consequência a maior ingestão de alimentos, provocada pelo fracionamento, associada ao aumento da carga física, a qual os peixes foram expostos quando colocados em água corrente, observase um maior acúmulo de gordura na cavidade abdominal, evidenciando que quanto maior a intensidade do exercício físico maior o acúmulo de gordura.

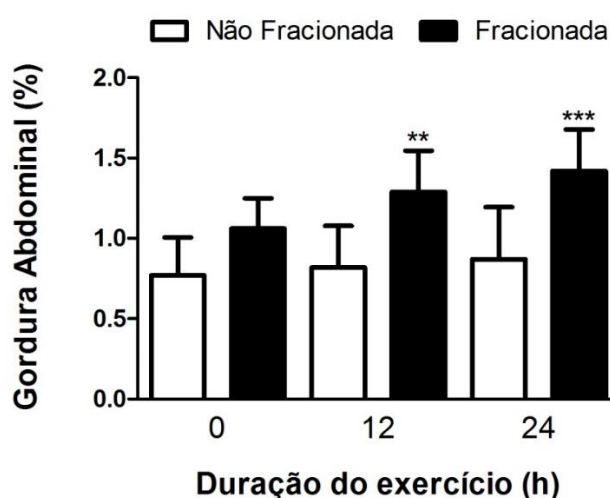


Figura 14: Porcentagem de gordura abdominal associado à intensidade do exercício físico e fracionamento da dieta. Dados apresentados em média±EPM (n=13). ANOVA 1 via (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.

Fonte: Autor

A correlação dos resultados, tanto de peso quanto de comprimento evidencia uma correlação muito forte para o grupo alimentação fracionada, já para o grupo não fracionada se observa uma correlação negativa para ambas as medidas, confirmando assim melhor resultado para o grupo alimentação fracionada.

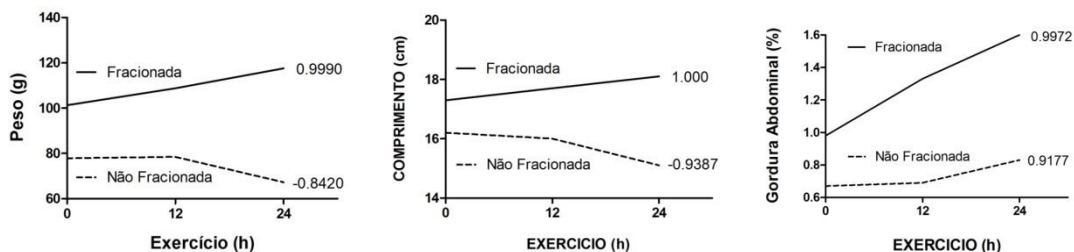


Figura 15: Correlação entre peso, comprimento padrão e gordura abdominal associado ao exercício em ambiente aquecido. Dados apresentados em média±EPM (n=10). ANOVA 2 vias (PT Bonferroni) * entre grupos tratado x controle. + entre grupos tratado x tratado. As repetições dos símbolos consideram diferentes níveis de significância.

Fonte: Autor

A dieta natural da espécie parece também colaborar com esta situação metabólica, pela disponibilidade sazonal de proteínas e carboidratos. Os estudos de SILVA(2003), demonstram que no período de cheia há uma maior disponibilidade de alimentos ricos em carboidratos, acompanhado de temperaturas amenas e a necessidade de pouco dispêndio de energia para encontrar o alimento, permitindo um maior desvio metabólico para o metabolismo lipídico. Já no verão percebemos uma oferta de alimentos hiperproteicos, acompanhados de condições ambientais que apresentam temperaturas mais elevadas e a necessidade de maior dispêndio de energia para a captura do alimento.

5 DISCUSSÃO

Este estudo mostrou que, a *Md*, uma fruta da dieta do *Cm* foi capaz de potencializar o aumento de massa corporal, acúmulo de lipídeos totais e gordura cavitária, efeitos seguidos do aumento de IGF-1 muscular em juvenis de *Cm* submetidos ao ambiente estático e aquecido. O fato da *Md* compor parte da dieta do *Cm* sugere que há uma certa especificidade nestes efeitos principalmente no que tange a participação do IGF-1 como um fator humoral de ação autocrino/paracrino. O fato da *Md* ter potencializado o acúmulo de gordura muscular na condição de repouso e este acúmulo ter diminuído na condição de nado sustentado (contra corrente) denota, por si só, sua contribuição indireta para o crescimento do *Cm* como um arcabouço energético para uso imediato pelo tecido em trabalho. Portanto, além de sua ação antioxidante esperada pelo elevado conteúdo de vitamina C, (ARID et. al. 2018; VILLASANTE et. al. 2016) é de se presumir que a especificidade do efeito possa estar relacionada a ações metabólicas capazes de favorecer a preservação de unidades funcionais ou até na potencialização de vias sinalizadoras intracelulares (MAISTER, 1994). Podemos citar o caso do ácido ascórbico que após ser reduzido a dehidroxiascorbato favorece a redução da glutatona potencializando sua capacidade antioxidante, em nível mitocondrial (MAISTER, 1994) adicionalmente, o fruto *Md* apresenta composição diversificada de minerais e polifenóis, incluindo flavonoides taninos lignanas (AKTER, 2011). Com este acervo de substâncias a *Md* apresenta uma diversificada gama de potenciais ações citoprotetoras (LANGLEY et al. 2015), o que a torna um candidato potencial a mediador metabólico do crescimento tecidual no *Cm*. De fato outros estudos mostraram que a dieta com poupa de *Md* pode resultar em maior acúmulo de massa corporal gordura tecidual e cavitária (ARID et. al. 2018), bem como o trânsito de substratos metabólicos no sangue em direção aos tecidos demandados pela natação extenuante, ao ponto de estender a capacidade de sustentação do esforço físico (ARID et. al. 2018). Esse aumento de massa muscular pode ter ocorrido igualmente por ação dos polifenóis presentes no fruto. Esses polifenóis particularmente as antocianidinas são efetivas em induzir mitogênese e diferenciação de células do músculo de peixes (VILLASANTE et. al. 2016).

Estes achados são sustentados por nossos estudos que vem confirmar as ações metabólicas do fruto da *Md*, como uma ação nutracêutica capaz de promover crescimento como uma resultante da oferta de energia potencial ao músculo estimulado pelo exercício,

garantindo assim a estrutura proteica em construção. Alternativamente, aumentar a oferta de IGF-1 como um regulador final da hipertrofia muscular. Os resultados obtidos por este estudo também confirmam a ação metabólica protetora do anabolismo proteico quando verificou-se manutenção de proteína tecidual nos níveis máximos (UCHOA, 2017). Por outro lado a mistura em massa superior a 30% na ração mostrou-se ineficaz por este fruto apresentar baixo percentual proteico (ARID et. al. 2018), comprometendo assim ações de crescimento que demandem reposição equivalente de aminoácidos. Apesar de ser classicamente conhecido que *Cm* demanda altos níveis de proteína para maior eficácia de crescimento principalmente na fase juvenil recente, este estudo confirmou que a diminuição na oferta de proteína de 45 para 32% foi suficiente para comprometer a eficácia do crescimento quando submetidos a condição de água corrente (nado sustentado). Este déficit é equivalente ao observado na dieta suplementada com *Md*, quando a maior demanda de proteína ocorreu na condição de nado contra a corrente, sugerindo que frutos com baixo teor de proteína ingeridos na cheia resultem em reserva lipídica como uma ação preparatória para o crescimento subsequente que ocorrerá na seca, desde que a grande maioria dos frutos e sementes da dieta do *Cm* se apresentam nesta condição (KUMAR et al., 2013; SILVA et al., 2003a; SILVA et al., 2003b;).

Nossos resultados mostraram adicionalmente que o aumento da temperatura de 28 para 34°C que ocorre a condições naturais do ciclo hidrológico amazônico, resultou em maior crescimento do *Cm* em cerca de 23% sob demanda emanada do esforço muscular por nado contra a corrente. Estes dados experimentais foram recentemente confirmados em estudo a campo pelo grupo, onde as sequências de consumo versus temperatura tendem a se inverter a medida da mudança climática (seca seguida de cheia) evolui. (PICANÇO-DINIZ, 2016): como segue na tabela abaixo:

Tabela 3. Resultados obtidos em estudo desenvolvido no lago Bacabal, Médio Trombetas, Oriximiná, Pará, em viveiros flutuantes superficiais ao longo do ano de 2015 a 2016. Fonte: Projeto “Peixe Novo”, parceria UFOPA/MRN.

	ago	set	out	nov	dez	jan	fev
Consumo (Kg)	1,48	2,18	3,46	3,73	2,86	3,09	3,59
Temperatura (°C)	33,1	33,7	33,8	32,3	31,2	30,5	30,4

Estes dados corroboram resultados obtidos por esta investigação no que concerne ao aumento do peso a partir de uma maior conversão alimentar. É esperado que em animais ectotermos como os peixes em geral, haja uma maior demanda metabólica a partir do aquecimento ambiente, por conseguinte, uma demanda adicional ao calor estaria relacionada a

sua atividade natatória o que representaria nos peixes o principal estímulo para o seu desenvolvimento morfológico. Assim interpretamos que o aumento da temperatura ambiente pode agir como o equivalente a pré-carrega muscular que antecede os movimentos de alavancas nos mamíferos. Em outras palavras o aumento da temperatura corporal serviria como uma preparação para todas as demais atividades fisiológicas.

Por esta razão este estudo apresentou um segundo protocolo experimental todo ele desenvolvido a temperatura de 34°C, onde o objetivo passou a ser uma comparação entre a oferta única ou fracionada de alimento. Neste caso a ideia foi avaliar se o fracionamento da oferta a 34°C seria mais eficiente para acompanhar a demanda metabólica resultante ao esforço contínuo ou intercalado (4 horas), assim simularíamos a condição de seca onde a busca do alimento ocorrerá nos períodos de maior aquecimento da água intercalada pelo êxito de sua predação. O resultado confirmou que a maior eficiência de crescimento ocorreu na condição de nado intercalado, posto que, não houve diferença significativa deste para o nado contínuo.

Estudos com aumento de temperatura mostraram que o crescimento resultante foi proporcional ao aumento da oferta de proteína sendo estes interdependentes, desde que menores taxas de proteína diminuíssem a eficácia do crescimento estimulado pelo aumento de temperatura (SUN and CHEN, 2014).

O aumento da temperatura relacionado a água corrente simulou o esforço natatório que pode ocorrer tanto pelo nado sustentado na cheia como pelo nado relacionado a predação, na seca. Neste último caso, a interrupção entre uma natação e outra intercala um período correspondente a digestão do alimento ou a ausência de disponibilidade do alimento propriamente dito. De uma forma ou de outra, na seca, os intervalos entre refeições, podem ser mais longos e frequentes que na cheia. Considerando que na cheia o peixe permanece na condição de nado sustentado o tempo todo. Como o esperado, o desempenho de crescimento, foi maior na oferta fracionada de alimento em água corrente para natação intercalada (24/6), considerando não haver diferença significativa entre esta e a condição corrente contínua (24 horas). Provavelmente o fato de não ser diferente um grupo do outro possa ter relação com a frequência da oferta do alimento versus o intervalo necessário para sua digestão. Fato é que o cálculo da conversão alimentar nos mostrou que a eficiência em converter consumo em massa é menor no grupo submetido ao esforço contínuo. Significando dizer que os peixes submetidos à corrente contínua consumiram muito mais ração para crescer igual ao grupo submetido à corrente intercalada por 4 h ao longo do dia.

Finalmente a oferta com altas frequências e pequenos volumes, poderia garantir uma melhor performance de crescimento ao grupo exposto a água corrente contínua, tal qual, ocorre para alimentação do Cm na cheia. Neste particular o peixe aguarda nadando contra corrente a queda do fruto ou semente ao longo do dia.

Estes dados nos conduzem a hipótese de que o crescimento mais efetivo ocorrerá no ambiente de seca sob as seguintes condições favoráveis: 1 maior oferta de proteína na dieta; 2 maior temperatura corporal 3 maior atividade física relacionada a necessidade de busca e predação do alimento e 4 maior reserva tecidual de lipídios e carboidratos acumulados na cheia.

Este estudo reúne evidências que conduzem a duas fases distintas relacionadas ao crescimento em um ciclo hidrológico amazônico. De forma indireta o crescimento do Cm ao longo da enchente, ocorreria num ritmo menor, mas principalmente acumulando energia potencial na forma de gordura (carboidratos e lipídeos), para um período de vazante subsequente consumi-la de forma a poupar o anabolismo proteico que garante a hiperplasia/hipertrofia tecidual relativa ao crescimento como um todo.

6 CONCLUSÕES

1 A dieta suplementada com *Md* resultou em maior ganho de massa corporal em juvenis submetidos ao aquecimento ambiente sem correnteza. Um efeito relacionado ao aumento de conteúdo muscular de IGF 1 e lipídeos totais.

2 O crescimento apresentou relação direta com o acúmulo de gordura cavitária e consumo fracionado de alimento, com maior conversão alimentar para o esforço natatório intercalado.

7 BIBLIOGRAFIA

ANDRADE, J. S. et al. Changes in the concentration of total vitamin C during maturation and ripening of camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh) fruits cultivated in the upland of Brazilian central Amazon. In: **International Symposium on Tropical Fruits 370**. 1993. p. 177-180.

ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; GOULDING, Michael. Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. **Tefé: Sociedade Civil Mamirauá**, 1998.

ARIDE, P. H. R. et al. Changes on physiological parameters of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed with diets supplemented with Amazonian fruit Camu camu (*Myrciaria dubia*). **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 2, p. 360-367, 2018.

ARIDE, Paulo Henrique Rocha; ROUBACH, Rodrigo; VAL, Adalberto Luis. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. **Aquaculture Research**, v. 38, n. 6, p. 588-594, 2007.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Editora da UFSM, 2002. 352 p.

BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Editora UFSM, 2010. p. 608,

BOMFIM, M. A. D. Estratégias nutricionais para redução das excreções de nitrogênio e fósforo nos sistemas de produção de peixes no nordeste: sustentabilidade ambiental e aumento da produtividade. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 15, n. 2, p. 122-140, 2014.

BOUJARD, T.; LEATHERLAND, J. F. Circadian rhythms and feeding time in fishes. **Environmental Biology of Fishes**, v. 35, n. 2, p. 109-131, 1992.

BUTLER, A. A.; LEROITH, D. Minireview: tissue-specific versus generalized gene targeting of the *igf1* and *igf1r* genes and their roles in insulin-like growth factor physiology. **Endocrinology**, v. 142, n. 5, p. 1685-1688, 2001.

CANOSA, L. F.; UNNIAPPAN, S.; PETER, R. E. Periprandial changes in growth hormone release in goldfish: role of somatostatin, ghrelin, and gastrin-releasing peptide. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 289, n. 1, p. R125-R133, 2005.

CANTO, M.A.O., **Efeitos da adição do fruto de *Myrciaria dubia* em dieta hiperproteica no crescimento do *Colossoma macropomum* submetido a exercício físico em ambiente aquecido**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Programa de Pós-Graduação em Biociências, Oriximiná, 2015.

CERDÁ-REVERTER, J. M.; CANOSA, L. F. Neuroendocrine systems of the fish brain. **Fish Physiology**, v. 28, p. 3-74, 2009.

CHANG, J. P.; WONG, A. OL. Growth hormone regulation in fish: a multifactorial model with hypothalamic, peripheral and local autocrine/paracrine signals. **Fish physiology**, v. 28, p. 151-195, 2009.

COSTA, N.J.F., **Efeito do Fruto Euterpe oleracea (açai) no Crescimento do Colossoma Macropomum (tambaqui) em Dieta Hiperproteica, Ambiente Aquecido e Exercício Físico Condicionado**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Programa de Pós-Graduação em Biociências, Oriximiná, 2015.

FERRETTI, C. M. L.; DE FÁTIMA ANDRIAN, I.; TORRENTE, G. Dieta de duas espécies de Schizodon (*Characiformes*, anostomidae) na planície de inundação do alto Rio Paraná, e sua relação com aspectos morfológicos. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 23, n. único, p. 171-186, 2018.

GABILLARD, J. C. et al. Effect of temperature on gene expression of the Gh/Igf system during embryonic development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology**, v. 298, n. 2, p. 134-142, 2003.

GOMES, L. C.; SILVA, C. R. Impact of pond management on tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier), production during growth-out phase. **Aquaculture Research**, v. 40, n. 7, p. 825-832, 2009.

GOMES, L.C.; SIMÕES, L.N.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M. 2010 Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B. e GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ª ed. Santa Maria: Editora da UFSM. p.175-204.

GOULDING, M. **The fishes and the forest: explorations in Amazonian natural history**. Univ of California Press, 1980.

GOULDING, M; CARVALHO, M. L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): an important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 1, n. 2, p. 107-133, 1982.

HONDA, E. M. S. Contribuição ao conhecimento da biologia de peixes do Amazonas. II- Alimentação de tambaqui, *Colossoma bidens* (Spix). **Acta Amazonica**, v. 4, n. 2, p. 47-53, 1974.

ISMIÑO-ORBE, R. A. **Excreção e efeito da amônia sobre o crescimento do tambaqui** (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). 1997.

JUNK, W. J. Áreas inundáveis-Um desafio para limnologia. **Acta Amazonica**, v. 10, n. 4, p. 775-795, 1980.

KUBITZA, F. Coletânea de informações aplicadas ao cultivo do tambaqui, do pacu e de outros peixes redondos. **Panorama da Aquicultura**, v. 14, n. 82, p. 27-37, 2004.

KUBITZA, F. Manejo na produção de peixes; parte 06: boas práticas nas despescas, manuseio e classificação dos peixes. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 113, p.14-23, maio/jun. 2009b.

KUMAR, S. et al. Short-term exposure to higher temperature triggers the metabolic enzyme activities and growth of fish *Labeo rohita* fed with high-protein diet. **Aquaculture Nutrition**, v. 19, n. 2, p. 186-198, 2013.

LANNA, E. A. T. et al. Frequência de alimentação em alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) utilizando dietas de baixo teor protéico suplementadas com aminoácidos-resultados preliminares. IN: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 42, 2005, Goiânia. **Anais... Goiânia**, 2005.

LEITE, R. G. A alimentação de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicum* (Pisces, Characidae), em áreas inundadas da Ilha de Marchantaria, Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 4, p. 661-4, 2004.

LE ROITH, D. et al. The somatomedin hypothesis: 2001. **Endocrine reviews**, v. 22, n. 1, p. 53-74, 2001.

LOLIS, A. DE FÁTIMA ANDRIAN, I. Alimentação de *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Siluriformes, pimelodidae) na planície de inundação do alto Rio Paraná, BRASIL. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 23, n. único, p. 187-202, 2018.

MARCHANT, Tracy A.; PETER, Richard E. Seasonal variations in body growth rates and circulating levels of growth hormone in the goldfish, *Carassius auratus*. **Journal of Experimental Zoology**, v. 237, n. 2, p. 231-239, 1986.

MEISTER A., ANDERSON M. Glutathione. **Annu Rev Biochem**. 1983; 52:711–60.

MOYES, C. D.; SCHULTE, P. M. Princípios de Fisiologia Animal. 2ª. **Artmed**. 756p, 2010.

PICANÇO-DINIZ DLW. **Relatório anual do projeto Peixe Novo. Programa de piscicultura, setor de comunidades, empresa Mineração Rio do Norte**, 2016.

PICHA, M. E. et al. Endocrine biomarkers of growth and applications to aquaculture: a minireview of growth hormone, insulin-like growth factor (IGF)-I, and IGF-binding proteins as potential growth indicators in fish. **North American Journal of Aquaculture**, v. 70, n. 2, p. 196-211, 2008.

SANTANA, S. R. et al. Uso do camu-camu (*Myrciaria dubia* (kunth) mcvaugh) entre os pescadores do município de Presidente Médici, Rondônia, Brasil. **Flovet-Boletim do Grupo de Pesquisa da Flora, Vegetação e Etnobotânica**, v. 1, n. 8, 2016.

SCHOENER, T.W. Theory of feeding strategies. **Annu. Rev. Ecol Syst.**, Palo Alto, v. 11, p. 369-404, 1971.

SILVA, J. A. M.; PEREIRA-FILHO, M.; DE OLIVEIRA-PEREIRA, M. I. Seasonal variation of nutrients and energy in tambaqui's (*Colossoma Macropomum* Cuvier, 1818) natural food. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 60, n. 4, p. 599-605, 2000.

SILVA, J. A. M.; FILHO, M. P.; DE OLIVEIRA-PEREIRA, M. I. Frutos e Sementes Consumidos pelo Tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) Incorporados em

Rações. Digestibilidade e Velocidade de Trânsito pelo Trato Gastrointestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6 SUPPL 2, p. 1815-1824, 2003.

SILVA, J. A. M.; PEREIRA-FILHO, M.; DE OLIVEIRA-PEREIRAJ, M. I. Valor nutricional e energético de espécies vegetais importantes na alimentação do Tabaqui. **Acta Amazonica**, v. 33, n. 4, p. 687-700, 2003.

SILVA, M. L. da et al. Avaliação da produção de mudas de camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh) por meio do método de estacas de diferentes diâmetros submetidas a concentrações do ácido naftaleno acético-ANA. 2001.

SUN, L.; CHEN, H.. Effects of water temperature and fish size on growth and bioenergetics of cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, v. 426, p. 172-180, 2014.

TAYLOR, J.; MIGAUD, Herve. Timing and duration of constant light affects rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth during autumn–spring grow-out in freshwater. **Aquaculture research**, v. 40, n. 13, p. 1551-1558, 2009.

TOCHER, D. R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Reviews in fisheries science**, v. 11, n. 2, p. 107-184, 2003.

VILLACHICA, L. et al. **El cultivo del camu camu (*Myrciaria dubia* HBK Mc Vaugh) en la Amazonía Peruana**. Tratado de Cooperación Amazonia, Secretaria Pro-Tempore, 1996.

VILLASANTE, A. et al. Effect of anthocyanidins on myogenic differentiation in induced and non-induced primary myoblasts from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 196, p. 102-108, 2016.

WOOTTON, R.J. Ecology of teleost fish. **The Netherlands: Kluwer Academic Publishers**, 1999. 386 p.

ZANATTA, C.F.; MERCADANTE, A.Z. Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu–camu (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, v. 101, p. 1543–1549, 2007.

ZAVALA-CAMIN, L.A. Introdução aos estudos sobre alimentação natural em peixes. Maringá: **EDUEM**, 1996. 129 p.

ANEXOS

Table format: XY		X	A			B			C			D	
	X Title		RC SED 28			RC 28 EXE			RC SED 34			RC 34 EX	
		X	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD
1	Title	14	27.08	0.90	10	27.62	1.39	10	30.82	0.92	10	32.84	1.25
2	Title	42	54.87	4.99	10	54.23	3.89	10	57.86	2.27	10	70.05	2.63
3	Title	70	71.87	4.55	10	67.37	4.99	10	77.72	4.44	10	89.16	3.50
4	Title	98	102.00	7.99	10	93.39	8.34	10	112.49	5.93	10	124.55	6.10
5	Title	126	113.41	11.21	10	111.58	9.93	10	130.10	7.44	10	143.18	5.46

	E			F			G			H			
E	RC SED 28			RC 28 EXE			RC 34 EXE			RC 34 SED			
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N
1	10	9.03	0.11	10	9.30	0.13	10	9.85	0.12	10	9.92	0.11	10
2	10	12.07	0.16	10	11.54	0.23	10	12.80	0.17	10	13.11	0.14	10
3	10	12.71	0.30	10	12.51	0.27	10	13.98	0.22	10	14.32	0.20	10
4	10	13.86	0.41	10	13.26	0.39	10	15.50	0.26	10	15.33	0.27	10
5	10	15.03	0.50	10	14.53	0.38	10	16.97	0.29	10	16.61	0.26	10

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	1A PESO COMP 2			
2					
3	Two-way ANOVA				
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	0.98	< 0.0001		
7	Column Factor	7.46	< 0.0001		
8	Row Factor	90.26	< 0.0001		
9					
10	Source of Variation	P value summary	Significant?		
11	Interaction	***	Yes		
12	Column Factor	***	Yes		
13	Row Factor	***	Yes		
14					
15	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
16	Interaction	4	5.397	1.349	17.10
17	Column Factor	1	40.96	40.96	519.0
18	Row Factor	4	495.4	123.9	1569
19	Residual	90	7.103	0.07892	
20					
21	Number of missing values	0			
22					
23	Bonferroni posttests				
24					
25	RC SED 28 vs RC 34 EXE				
26	Row Factor	RC SED 28	RC 34 EXE	Difference	95% CI of diff.
27	14.00	9.030	9.850	0.8200	0.4894 to 1.151
28	42.00	12.07	12.80	0.7300	0.3994 to 1.061
29	70.00	12.71	13.98	1.270	0.9394 to 1.601
30	98.00	13.86	15.50	1.640	1.309 to 1.971
31	126.0	15.03	16.97	1.940	1.609 to 2.271
32					
33	Row Factor	Difference	t	P value	Summary
34	14.00	0.8200	6.527	P<0.001	***
35	42.00	0.7300	5.811	P<0.001	***
36	70.00	1.270	10.11	P<0.001	***
37	98.00	1.640	13.05	P<0.001	***
38	126.0	1.940	15.44	P<0.001	***

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	1A PESO COMP 2			
2					
3	Two-way ANOVA				
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	1.84	< 0.0001		
7	Column Factor	8.34	< 0.0001		
8	Row Factor	87.82	< 0.0001		
9					
10	Source of Variation	P value summary	Significant?		
11	Interaction	***	Yes		
12	Column Factor	***	Yes		
13	Row Factor	***	Yes		
14					
15	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
16	Interaction	4	2460	615.0	20.65
17	Column Factor	1	11149	11149	374.3
18	Row Factor	4	117468	29367	985.9
19	Residual	90	2681	29.79	
20					
21	Number of missing values	0			
22					
23	Bonferroni posttests				
24					
25	RC 28 EXE vs RC 34 EXE				
26	Row Factor	RC 28 EXE	RC 34 EXE	Difference	95% CI of diff.
27	14.00	27.62	32.84	5.220	-1.203 to 11.64
28	42.00	54.23	70.05	15.82	9.397 to 22.24
29	70.00	67.37	89.16	21.79	15.37 to 28.21
30	98.00	93.39	124.6	31.16	24.74 to 37.58
31	126.0	111.6	143.2	31.60	25.18 to 38.02
32					
33	Row Factor	Difference	t	P value	Summary
34	14.00	5.220	2.139	P > 0.05	ns
35	42.00	15.82	6.481	P<0.001	***
36	70.00	21.79	8.927	P<0.001	***
37	98.00	31.16	12.77	P<0.001	***
38	126.0	31.60	12.95	P<0.001	***

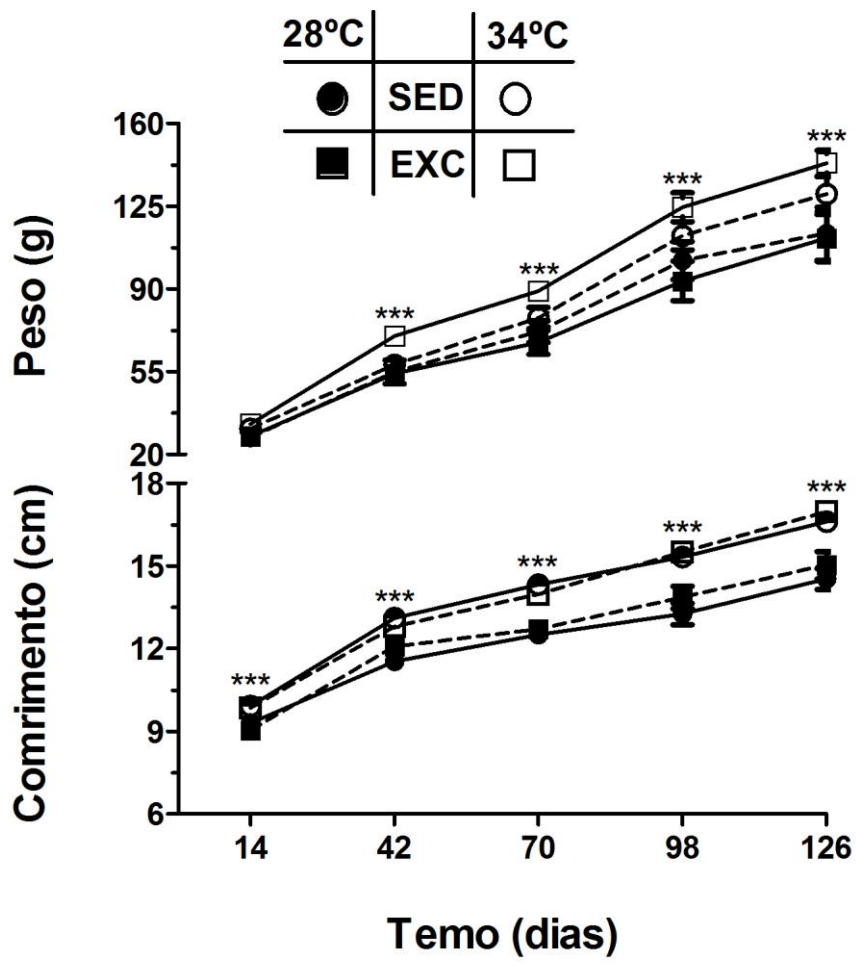


Table format: XY		X	A			B			C			D	
		X Title	32% 34 SED			32% 34 EXC			RC SED 34			RC 34 EX	
		X	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD
1	Title	14	29.07	0.79	10	26.58	1.06	10	30.82	0.92	10	32.84	1.25
2	Title	42	64.64	2.64	10	51.43	2.69	10	57.86	2.27	10	70.05	2.63
3	Title	70	89.93	5.11	10	67.16	4.11	10	77.72	4.44	10	89.16	3.50
4	Title	98	112.88	6.01	10	94.81	5.78	10	112.49	5.93	10	124.55	6.10
5	Title	126	121.22	6.49	10	109.97	6.48	10	130.10	7.44	10	143.18	5.46

	E			F			G			H			
	E	32% 34 SED		32% 34 EXC		RC 34 EXE			RC SED 34				
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N
1	10	9.54	0.12	10	9.14	0.16	10	9.85	0.12	10	9.68	0.12	10
2	10	12.38	0.19	10	11.42	0.17	10	12.80	0.17	10	12.09	0.15	10
3	10	13.98	0.28	10	12.65	0.25	10	13.98	0.22	10	13.37	0.28	10
4	10	14.92	0.28	10	14.30	0.38	10	15.50	0.26	10	14.82	0.23	10
5	10	15.17	0.28	10	14.72	0.28	10	16.97	0.29	10	16.34	0.39	10

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	3A PESO COMP 4			
2					
3	Two-way ANOVA				
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	1.65	< 0.0001		
7	Column Factor	8.94	< 0.0001		
8	Row Factor	88.16	< 0.0001		
9					
10	Source of Variation	P value summary	Significant?		
11	Interaction	***	Yes		
12	Column Factor	***	Yes		
13	Row Factor	***	Yes		
14					
15	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
16	Interaction	4	2224	555.9	29.51
17	Column Factor	1	12063	12063	640.3
18	Row Factor	4	118976	29744	1579
19	Residual	90	1696	18.84	
20					
21	Number of missing values	0			
22					
23	Bonferroni posttests				
24					
25	32% 34 EXC vs RC 34 EX				
26	Row Factor	32% 34 EXC	RC 34 EXE	Difference	95% CI of
27	14.00	26.58	32.84	6.260	1.152 to 11.368
28	42.00	51.43	70.05	18.62	13.51 to 23.73
29	70.00	67.16	89.16	22.00	16.89 to 27.11
30	98.00	94.81	124.6	29.74	24.63 to 34.85
31	126.0	110.0	143.2	33.21	28.10 to 38.32
32					
33	Row Factor	Difference	t	P value	Summary
34	14.00	6.260	3.225	P<0.01	**
35	42.00	18.62	9.592	P<0.001	***
36	70.00	22.00	11.33	P<0.001	***
37	98.00	29.74	15.32	P<0.001	***
38	126.0	33.21	17.11	P<0.001	***

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	3A PESO COMP			
2					
3	Two-way ANOVA				
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	1.12	< 0.0001		
7	Column Factor	8.51	< 0.0001		
8	Row Factor	89.42	< 0.0001		
9					
10	Source of Variation	P value summary	Significant?		
11	Interaction	***	Yes		
12	Column Factor	***	Yes		
13	Row Factor	***	Yes		
14					
15	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
16	Interaction	4	6.203	1.551	26.59
17	Column Factor	1	47.20	47.20	809.3
18	Row Factor	4	495.8	124.0	2126
19	Residual	90	5.249	0.05832	
20					
21	Number of missing values	0			
22					
23	Bonferroni posttests				
24					
25	32% 34 EXC vs RC 34 E)				
26	Row Factor	32% 34 EXC	RC 34 EXE	Difference	95% CI of diff.
27	14.00	9.140	9.850	0.7100	0.4258 to 0.9942
28	42.00	11.42	12.80	1.380	1.096 to 1.664
29	70.00	12.65	13.98	1.330	1.046 to 1.614
30	98.00	14.30	15.50	1.200	0.9158 to 1.484
31	126.0	14.72	16.97	2.250	1.966 to 2.534
32					
33	Row Factor	Difference	t	P value	Summary
34	14.00	0.7100	6.574	P<0.001	***
35	42.00	1.380	12.78	P<0.001	***
36	70.00	1.330	12.31	P<0.001	***
37	98.00	1.200	11.11	P<0.001	***
38	126.0	2.250	20.83	P<0.001	***

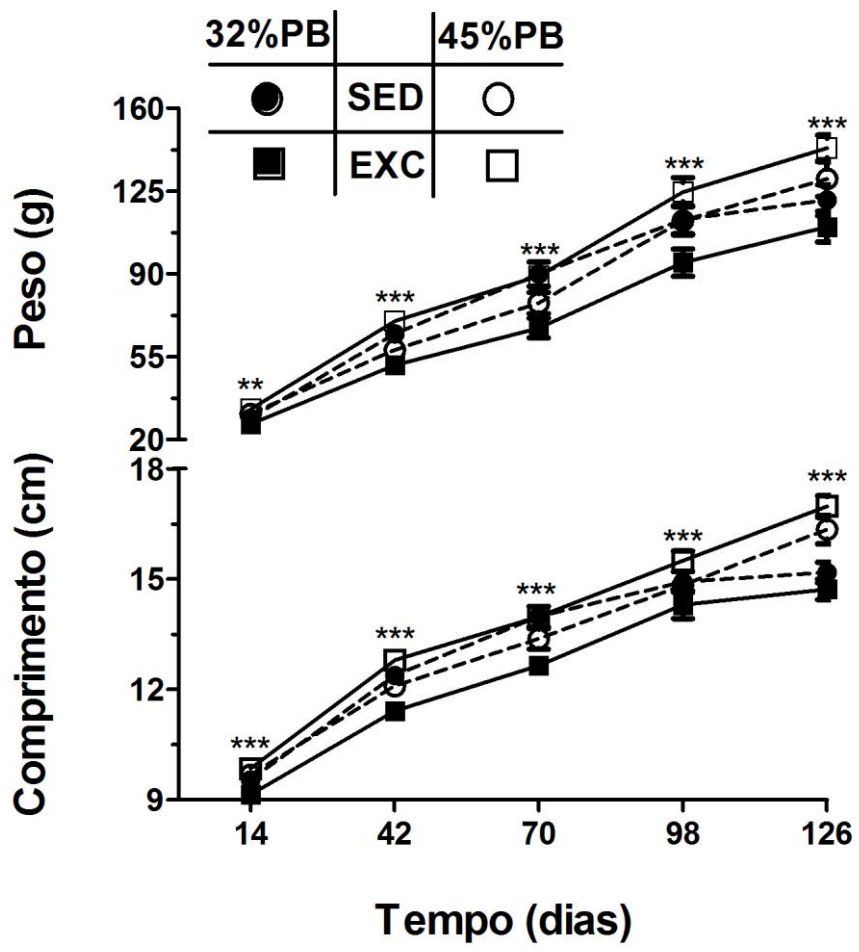


Table format: XY		X	A			B			C			D	
	X Title		RC SED 34			RC 34 EXE			RCC 34 SED			RCC 34 E	
		X	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD
1	Title	14	30.82	0.92	10	32.84	1.25	10	32.10	0.82	10	31.06	1.38
2	Title	42	57.86	2.27	10	70.05	2.63	10	73.08	2.57	10	65.35	3.19
3	Title	70	77.72	4.44	10	89.16	3.50	10	98.14	3.80	10	81.62	4.06
4	Title	98	112.49	5.93	10	124.55	6.10	10	134.08	6.10	10	115.23	7.29
5	Title	126	130.10	7.44	10	143.18	5.46	10	151.89	7.47	10	136.37	9.71

	E			F			G			H			
XE	RCC 34 EXE			RC SED 34			RC 34 EXE			RCC 34 SED			
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N
1	10	9.84	0.17	10	9.68	0.12	10	9.85	0.12	10	9.92	0.11	10
2	10	12.60	0.23	10	12.09	0.15	10	12.80	0.17	10	13.11	0.14	10
3	10	13.69	0.27	10	13.37	0.28	10	13.98	0.22	10	14.32	0.20	10
4	10	14.61	0.35	10	14.82	0.23	10	15.50	0.26	10	15.33	0.27	10
5	10	15.62	0.36	10	16.34	0.39	10	16.97	0.29	10	16.61	0.26	10

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	2A PESO COM R			
2					
3	Two-way ANOVA				
4					
5	Source of Variation	% of total variatio	P value		
6	Interaction	1.22	< 0.0001		
7	Column Factor	1.48	< 0.0001		
8	Row Factor	96.14	< 0.0001		
9					
10	Source of Variation	P value summary	Significant?		
11	Interaction	***	Yes		
12	Column Factor	***	Yes		
13	Row Factor	***	Yes		
14					
15	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
16	Interaction	4	6.186	1.547	23.79
17	Column Factor	1	7.508	7.508	115.5
18	Row Factor	4	486.6	121.7	1871
19	Residual	90	5.852	0.06502	
20					
21	Number of missing value	0			
22					
23	Bonferroni posttests				
24					
25	RCC 34 EXE vs RC 34 E				
26	Row Factor	RCC 34 EXE	RC 34 EXE	Difference	95% CI of diff.
27	14.00	9.840	9.850	0.01000	-0.2901 to 0.3101
28	42.00	12.60	12.80	0.2000	-0.1001 to 0.5001
29	70.00	13.69	13.98	0.2900	-0.01009 to 0.5901
30	98.00	14.61	15.50	0.8900	0.5899 to 1.190
31	126.0	15.62	16.97	1.350	1.050 to 1.650
32					
33	Row Factor	Difference	t	P value	Summary
34	14.00	0.01000	0.08769	P > 0.05	ns
35	42.00	0.2000	1.754	P > 0.05	ns
36	70.00	0.2900	2.543	P > 0.05	ns
37	98.00	0.8900	7.805	P<0.001	***
38	126.0	1.350	11.84	P<0.001	***

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	2A PESO COM F			
2					
3	Two-way ANOVA				
4					
5	Source of Variation	% of total variatio	P value		
6	Interaction	0.91	< 0.0001		
7	Column Factor	3.91	< 0.0001		
8	Row Factor	93.91	< 0.0001		
9					
10	Source of Variation	P value summary	Significant?		
11	Interaction	***	Yes		
12	Column Factor	***	Yes		
13	Row Factor	***	Yes		
14					
15	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
16	Interaction	4	1508	377.0	16.32
17	Column Factor	1	6448	6448	279.2
18	Row Factor	4	154823	38706	1676
19	Residual	90	2079	23.10	
20					
21	Number of missing value	0			
22					
23	Bonferroni posttests				
24					
25	RC SED 34 vs RCC 34 S				
26	Row Factor	RC SED 34	RCC 34 SED	Difference	95% CI of diff.
27	14.00	30.82	32.10	1.280	-4.376 to 6.936
28	42.00	57.86	73.08	15.22	9.564 to 20.88
29	70.00	77.72	98.14	20.42	14.76 to 26.08
30	98.00	112.5	134.1	21.59	15.93 to 27.25
31	126.0	130.1	151.9	21.79	16.13 to 27.45
32					
33	Row Factor	Difference	t	P value	Summary
34	14.00	1.280	0.5956	P > 0.05	ns
35	42.00	15.22	7.082	P<0.001	***
36	70.00	20.42	9.501	P<0.001	***
37	98.00	21.59	10.05	P<0.001	***
38	126.0	21.79	10.14	P<0.001	***

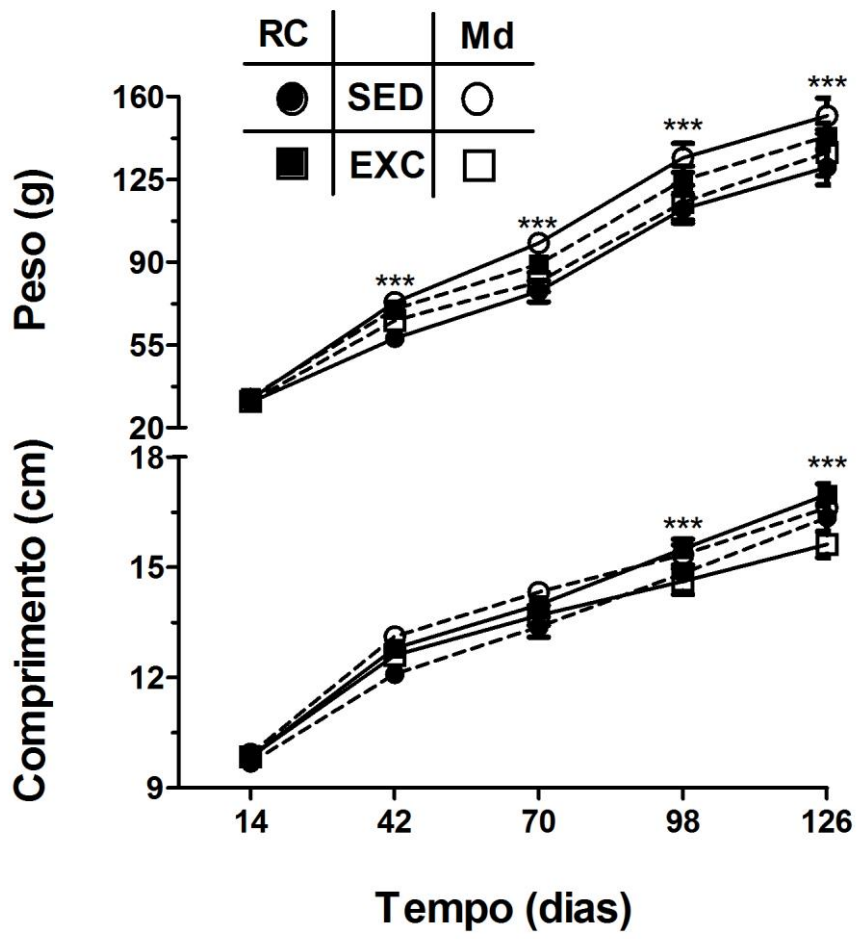


Table format: Grouped		A			B		
		Sedentário			Exercício		
		Mean	SD	N	Mean	SD	N
1	Controle	174.00	7.959	6	369.60	38.780	6
2	Myrciaria dubia	342.90	29.630	4	200.30	9.646	4

1way ANOVA						
1	Table Analyzed	1 D dados brutos				
2						
3	One-way analysis of variance					
4	P value	< 0.0001				
5	P value summary	***				
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes				
7	Number of groups	4				
8	F	14.13				
9	R square	0.7259				
10						
11	ANOVA Table	SS	df	MS		
12	Treatment (between columns)	155368	3	51789		
13	Residual (within columns)	58659	16	3666		
14	Total	214028	19			
15						
16	Bonferroni's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	t	Significant? P < 0.05?	Summary	95% CI of diff
17	sed rc vs exc rc	-195.6	5.594	Yes	***	-300.7 to -90.39
18	sed rc vs sed rcc	-168.8	4.319	Yes	**	-286.4 to -51.25
19	sed rc vs exc rcc	-26.26	0.6720	No	ns	-143.8 to 91.31
20	exc rc vs sed rcc	26.73	0.6838	No	ns	-90.85 to 144.3
21	exc rc vs exc rcc	169.3	4.331	Yes	**	51.71 to 286.9
22	sed rcc vs exc rcc	142.6	3.330	Yes	*	13.76 to 271.4

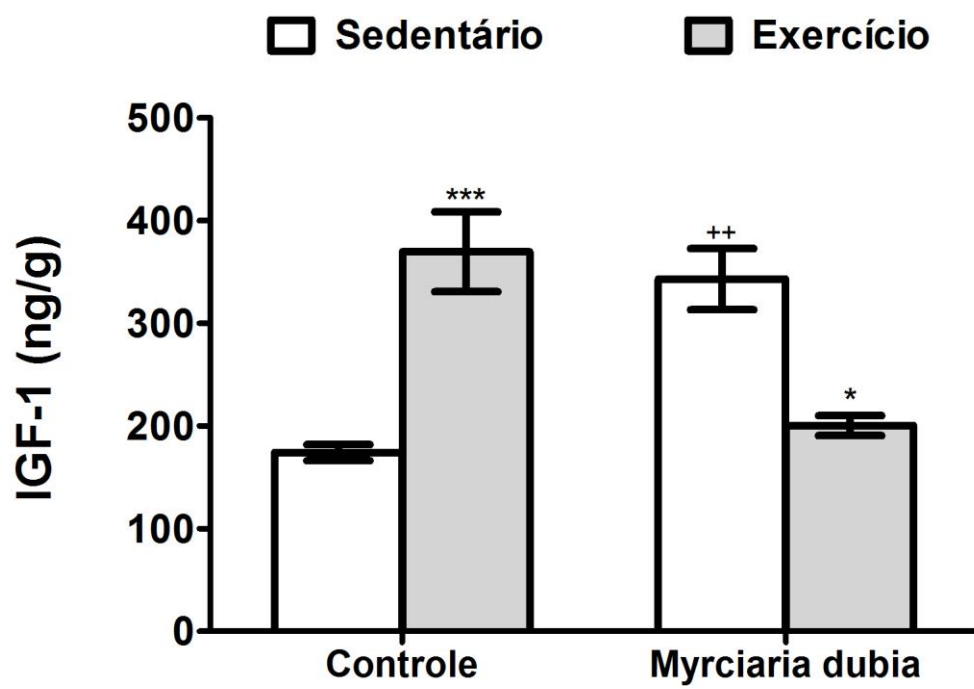
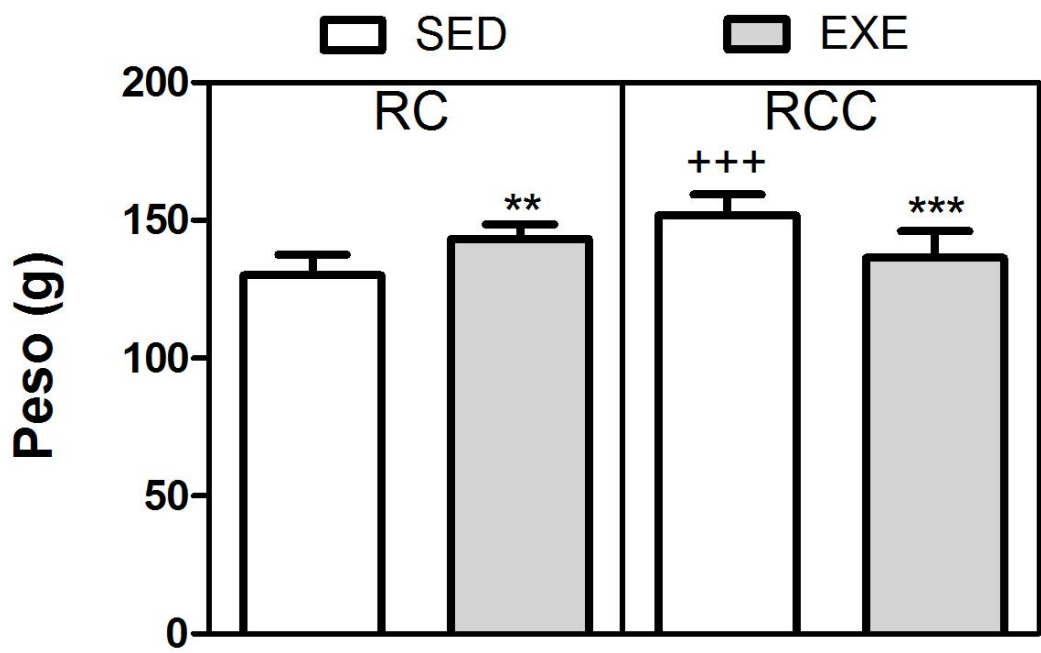


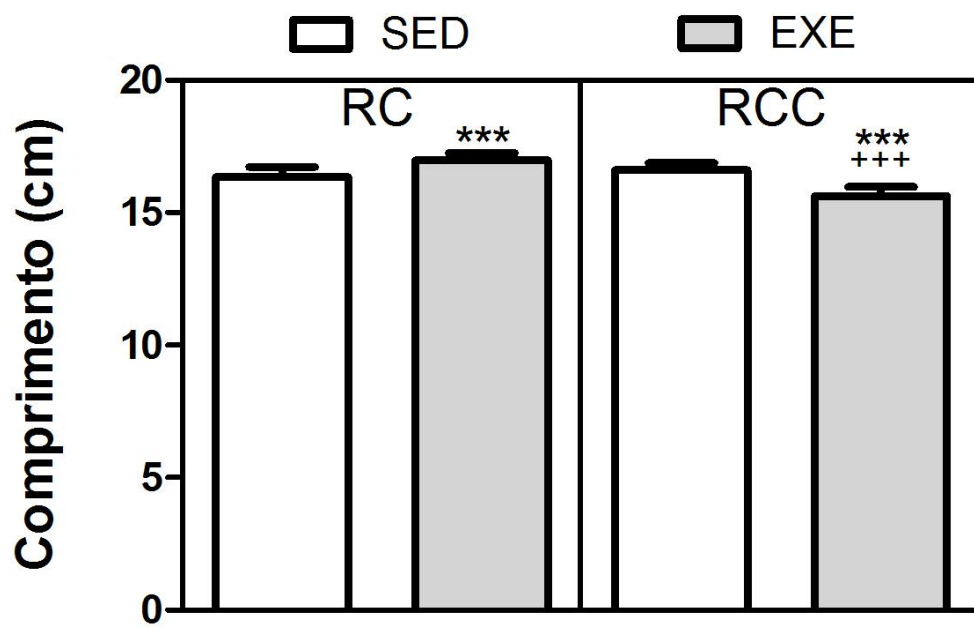
Table format: Grouped		A			B			C			D		
		RC SED 34			RC 34 EXE			RCC 34 SED			RCC 34 EXE		
		Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N
1	Title	130.10	7.44	10	143.18	5.46	10	151.89	7.47	10	136.37	9.71	10

1way ANOVA						
1	Table Analyzed	Peso Msc				
2						
3	One-way analysis of variance					
4	P value	< 0.0001				
5	P value summary	***				
6	Are means signif. different? (F	Yes				
7	Number of groups	4				
8	F	14.85				
9	R square	0.5531				
10						
11	Bartlett's test for equal variance					
12	Bartlett's statistic (corrected)	2.758				
13	P value	0.4304				
14	P value summary	ns				
15	Do the variances differ signif.	No				
16						
17	ANOVA Table	SS	df	MS		
18	Treatment (between columns)	2621	3	873.6		
19	Residual (within columns)	2117	36	58.81		
20	Total	4738	39			
21						
22	Bonferroni's Multiple Comparisons	Mean Diff.	t	Significant? P < 0.05?	Summary	95% CI of diff
23	RC SED 34 vs RC 34 EXE	-13.08	3.814	Yes	**	-22.66 to -3.505
24	RC SED 34 vs RCC 34 SED	-21.79	6.353	Yes	***	-31.37 to -12.21
25	RC SED 34 vs RCC 34 EXE	-6.270	1.828	No	ns	-15.85 to 3.305
26	RC 34 EXE vs RCC 34 SED	-8.710	2.540	No	ns	-18.29 to 0.8654
27	RC 34 EXE vs RCC 34 EXE	6.810	1.986	No	ns	-2.765 to 16.39
28	RCC 34 SED vs RCC 34 EXE	15.52	4.525	Yes	***	5.945 to 25.10



		A			B			C			D		
		RC SED 34			RC 34 EXE			RCC 34 SED			RCC 34 EXE		
		Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N
1	Title	16.34	0.39	10	16.97	0.29	10	16.61	0.26	10	15.62	0.36	10

1way ANOVA						
1	Table Analyzed	Comprime				
2						
3	One-way analysis of variance					
4	P value	< 0.0001				
5	P value summary	***				
6	Are means signif. different?	Yes				
7	Number of groups	4				
8	F	30.15				
9	R square	0.7153				
10						
11	Bartlett's test for equal varian					
12	Bartlett's statistic (corrected)	1.779				
13	P value	0.6194				
14	P value summary	ns				
15	Do the variances differ signi	No				
16						
17	ANOVA Table	SS	df	MS		
18	Treatment (between column	9.801	3	3.267		
19	Residual (within columns)	3.901	36	0.108		
20	Total	13.70	39			
21						
22	Bonferroni's Multiple Compar	Mean Diff.	t	Signif	Summary	95% CI of diff
23	RC SED 34 vs RC 34 EXE	-0.6300	4.280	Yes	***	-1.041 to -0.2190
24	RC SED 34 vs RCC 34 SED	-0.2700	1.834	No	ns	-0.6810 to 0.1410
25	RC SED 34 vs RCC 34 EXE	0.7200	4.891	Yes	***	0.3090 to 1.1310
26	RC 34 EXE vs RCC 34 SED	0.3600	2.446	No	ns	-0.05100 to 0.77100
27	RC 34 EXE vs RCC 34 EXE	1.350	9.171	Yes	***	0.9390 to 1.7610
28	RCC 34 SED vs RCC 34 EXE	0.9900	6.725	Yes	***	0.5790 to 1.4010



		X	A			B			C			
		X Title	SED F			4X4 F			EXC F			
		X	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean
1	Titl	1	24.03	1.91	12	27.67	1.03	12	27.97	1.26	12	21.70
2	Titl	14	43.58	2.99	12	44.98	2.78	12	44.47	2.78	12	33.66
3	Titl	28	56.38	5.12	12	62.74	4.71	12	58.48	4.04	12	47.83
4	Titl	42	70.70	6.74	12	78.02	6.60	12	79.35	6.30	12	59.11
5	Titl	56	82.73	7.86	12	89.87	8.33	12	103.14	8.25	12	69.94
6	Titl	70	101.28	10.22	12	108.79	12.14	12	117.59	8.20	12	77.82

	D		E			F		
	SED NF		4X4 NF			EXC NF		
	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N
1	0.76	12	24.32	0.66	12	22.57	1.10	12
2	1.88	12	33.84	1.68	12	34.41	2.08	12
3	3.08	12	46.68	3.77	12	44.44	3.52	12
4	4.10	12	59.55	6.90	12	54.28	4.71	12
5	4.91	12	69.22	8.63	12	62.08	5.06	12
6	6.19	12	78.40	10.46	12	67.24	6.01	12

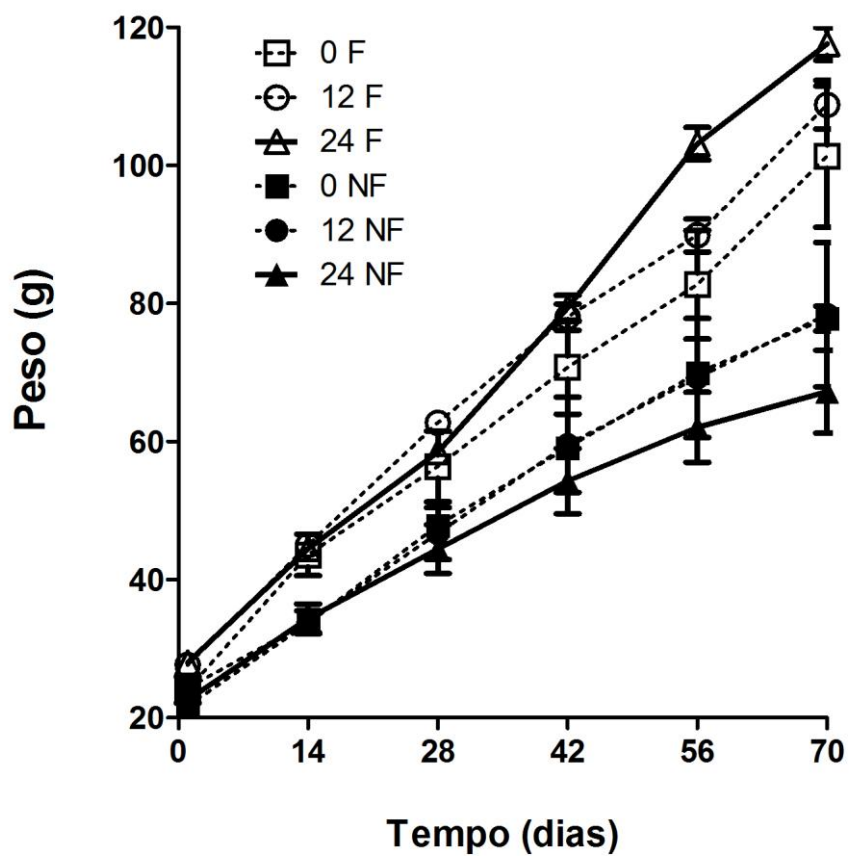


Table format: XY		X	A			B			C			D		
		X Title	SED 3A			4X4 3A			EXC 3A			SED 1A		
		X	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N
1	Title	1	10.29	0.29	12	10.85	0.17	12	10.82	0.19	12	10.18	0.14	12
2	Title	14	12.55	0.28	12	12.90	0.28	12	12.70	0.30	12	11.90	0.20	12
3	Title	28	14.24	0.47	12	14.68	0.31	12	14.30	0.30	12	13.50	0.30	12
4	Title	42	15.30	0.46	12	15.80	0.40	12	15.80	0.40	12	14.50	0.40	12
5	Title	56	16.21	0.52	12	16.60	0.50	12	17.30	0.40	12	15.40	0.40	12
6	Title	70	17.26	0.60	12	17.70	0.60	12	18.10	0.40	12	16.20	0.50	12

	E			F		
	4X4 1A			EXC 1A		
	Mean	SD	N	Mean	SD	N
1	10.48	0.12	12	9.79	0.54	12
2	12.10	0.20	12	12.00	0.30	12
3	13.30	0.30	12	13.10	0.30	12
4	14.40	0.50	12	13.90	0.40	12
5	15.10	0.60	12	14.80	0.40	12
6	16.00	0.70	12	15.10	0.40	12

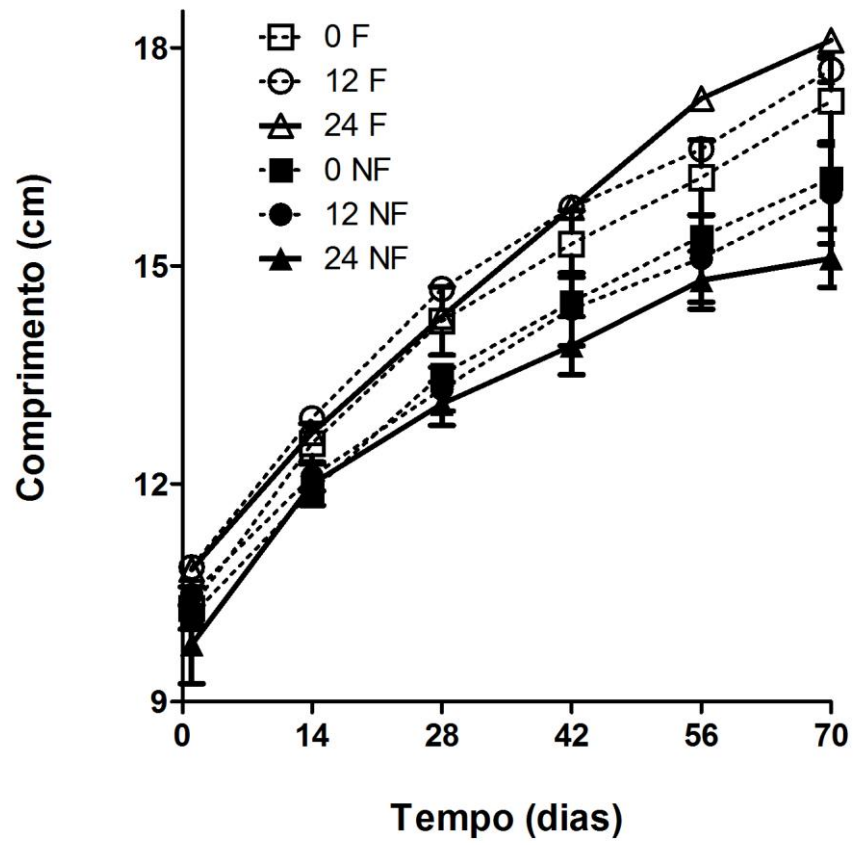
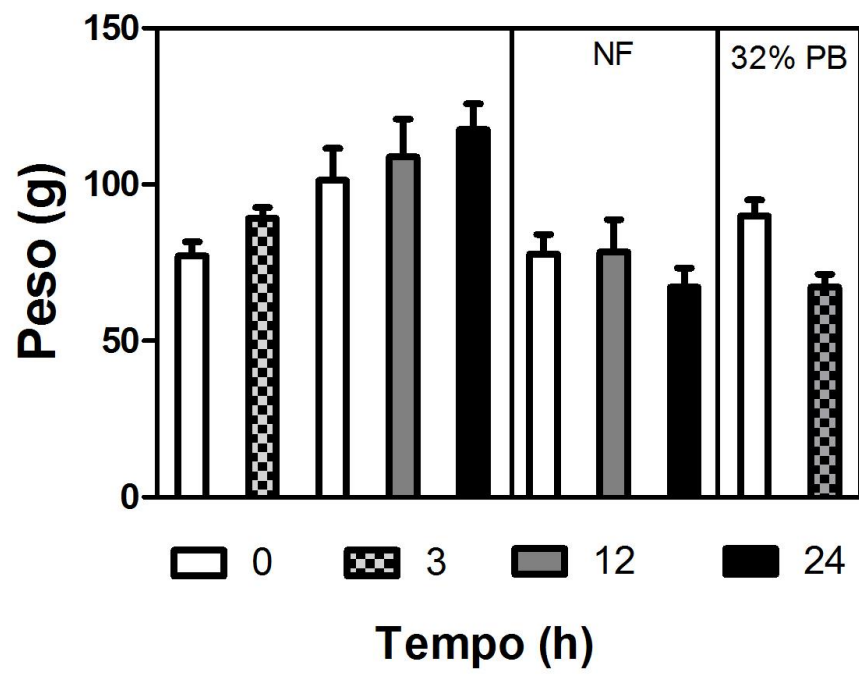


Table format: Grouped		A			B			C			D			
		0			3			0			12			
		Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean
1	Title	77.22	4.44	10	89.16	3.50	10	101.28	10.22	12	108.79	12.14	12	117.59

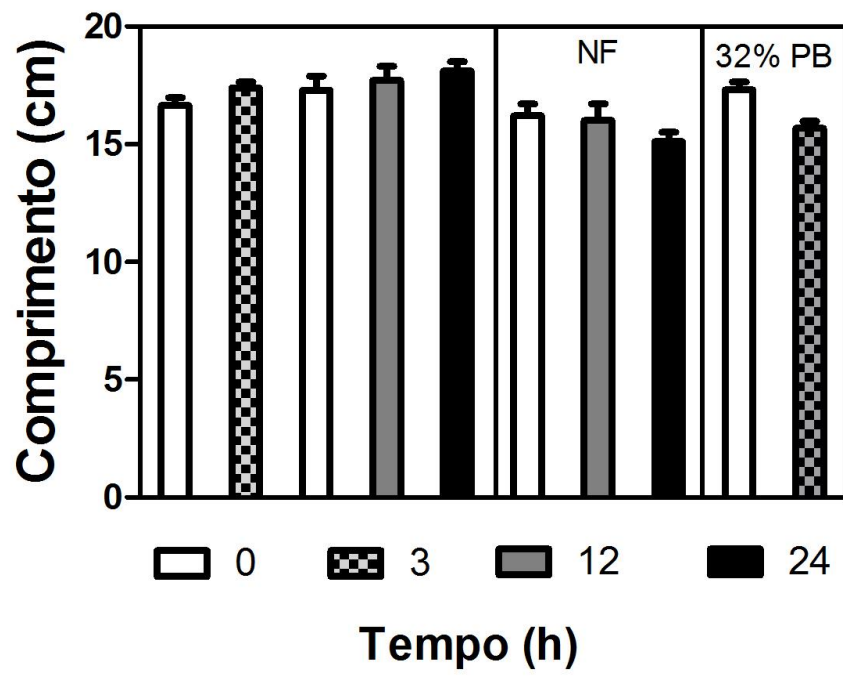
	E		F			G			H			I		
	24		0			12			24			0		
	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
1	8.20	12	77.82	6.19	12	78.40	10.46	12	67.24	6.01	12	89.93	5.11	10

J			
3			
	Mean	SEM	N
1	67.16	4.11	10

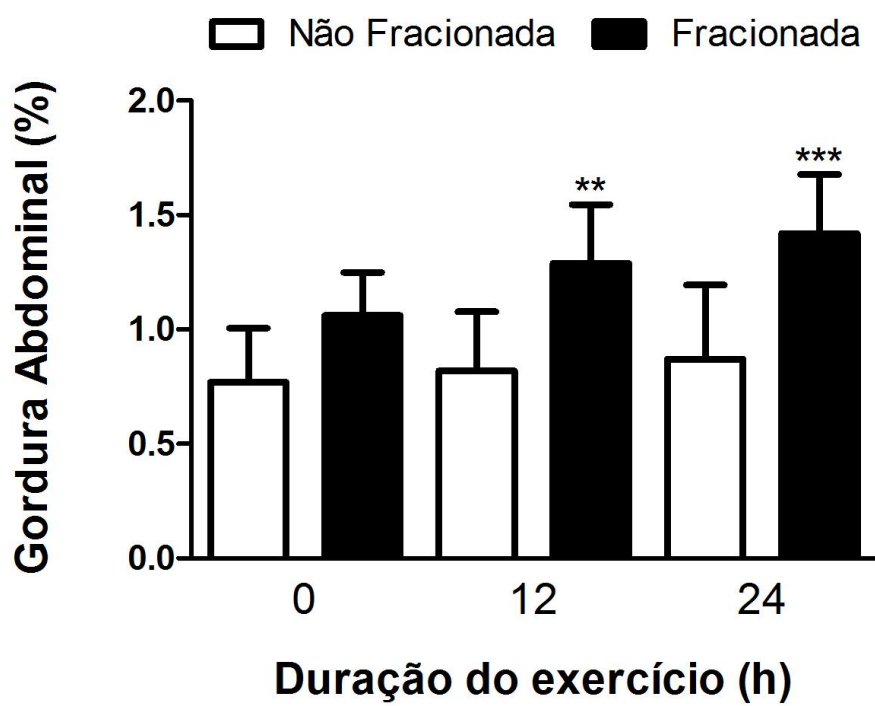


		A			B			C			D			E		
		0			3			0			12			24		
		Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
1	Title	16.65	0.32	10	17.40	0.24	10	17.30	0.60	12	17.70	0.60	12	18.10	0.40	12

	F			G			H			I			J		
	0			12			24			0			3		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
1	16.20	0.50	12	16.00	0.70	12	15.10	0.40	12	17.31	0.34	10	15.67	0.30	10

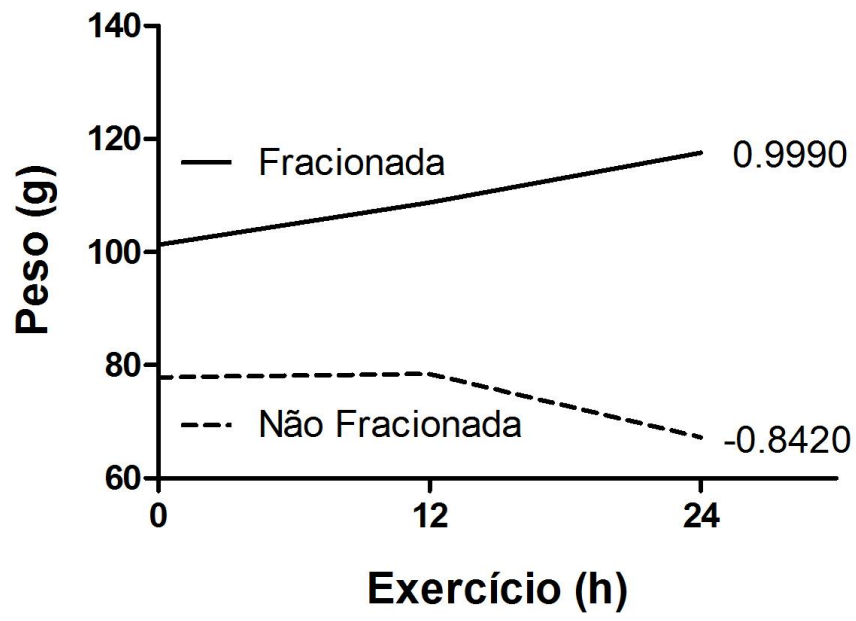


	A	B	C	D	E	F
	0	0	12	12	24	24
	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	0.8	1.0	0.4	1.0	5.6*	1.1*
2	1.1	0.4*	1.1	0.8*	0.8	0.9*
3	0.4	1.4	1.3*	1.3	0.7	1.9
4	0.7	1.1	1.4*	1.6	1.4	1.5
5	0.9	1.2	0.8	1.4	1.0	1.8
6	1.4*	1.1	0.9	1.2	1.6*	1.5
7	0.5	1.0	0.4	1.5	1.0	1.3
8	0.9	1.0	0.9	1.6	0.7	1.2
9	0.9	1.2	1.2	1.0	0.5	1.4
10	1.0	0.7	0.8	0.7*	0.6	1.2
11	0.5	0.5*	0.9	0.9	1.4	1.2
12	1.3*	0.9	0.8	1.4	0.6	1.2



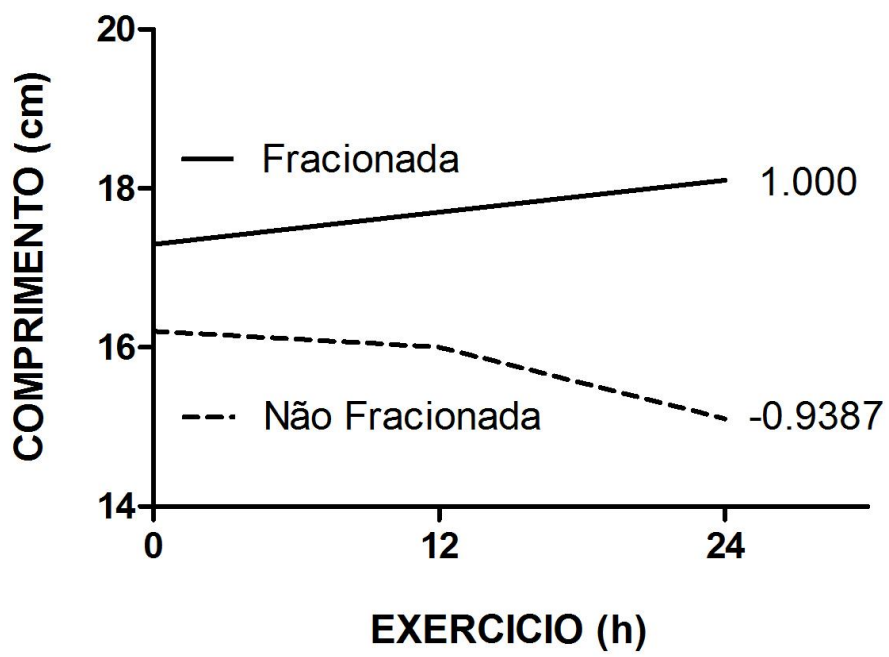
		X	A	B
		X Title	NF(g)	N(g)
		X	Y	Y
1	Title	0	77.82	101.28
2	Title	12	78.40	108.79
3	Title	24	67.24	117.59

Correlation		A	B
		NF(g)	F(g)
		Y	Y
1	Number of XY Pairs	3	3
2	Pearson r	-0.8420	0.9990
3	P value (two-tailed)	0.3627	0.0291
4	P value summary	ns	*
5	Is the correlation significant? (alpha=0.05)	No	Yes
6	R square	0.7090	0.9979



		X	A	B
		X Title	NF(g)	N(g)
		X	Y	Y
1	Title	0	16.20	17.30
2	Title	12	16.00	17.70
3	Title	24	15.10	18.10

Correlation		A	B
		NF(g)	F(g)
		Y	Y
1	Number of XY Pairs	3	3
2	Pearson r	-0.9387	1.000
3	P value (two-tailed)	0.2242	< 0.0001
4	P value summary	ns	***
5	Is the correlation significant? (alpha=0.05)	No	Yes
6	R square	0.8811	1.000



		X	A	B
		X Title	Não Fracionada	Fracionada
		X	Y	Y
1	Title	0	0.67	0.98
2	Title	12	0.69	1.33
3	Title	24	0.83	1.60

Correlation		A	B
		Não Fracionada	F(g)
		Y	Y
1	Number of XY Pairs	3	3
2	Pearson r	0.9177	0.9972
3	P value (two-tailed)	0.2601	0.0473
4	P value summary	ns	*
5	Is the correlation significant? (alpha=0.05)	No	Yes
6	R square	0.8421	0.9945

