







DOI: <http://dx.doi.org/10.18265/1517-0306a2021id4917>

Capacidade antioxidante e atividade de colinesterases em *Prochilodus argenteus* sob restrição alimentar

Jurandyr Reis Neto ^[1] , Emerson Carlos Soares ^[2] , Jerusa Maria de Oliveira ^[3] ,
Sonia Salgueiro Machado ^[4] , Themis de Jesus Silva ^[5] , Elton Lima Santos ^[6] 

[1] jurandyrengpesca@outlook.com. [2] soaemerson@gmail.com. [3] oliveira.jerusam@gmail.com. [4] salgueiro.sonia355@gmail.com.
[5] themisdasilva@gmail.com. [6] elton@zootecnista.com.br. Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

RESUMO

Objetivou-se avaliar a influência da restrição alimentar na capacidade antioxidante e atividade de colinesterases em formas jovens do curimatã-pacu. Utilizou-se 140 peixes, com $2,85 \pm 0,04g$, distribuídos em 20 caixas em sistema de recirculação, inteiramente ao acaso, com quatro tratamentos e cinco repetições, durante 64 dias. Os tratamentos foram: T1 – alimentação ininterrupta (7A:0R), T2 – alimentação seis dias e um dia de jejum (6A:1R), T3 – alimentação cinco dias e dois dias de restrição (5A:2R) e T4 – alimentação quatro dias e três dias de privação (4A:3R). A alimentação foi oferecida três vezes ao dia (8h, 12h e 16h) com ração comercial. Analisou-se a capacidade antioxidante da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST), a peroxidação lipídica por meio dos níveis de malondialdeído (MDA) e a atividade de acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE). Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5%. A SOD hepática foi maior nos grupos sob restrição, mas não afetou o sistema antioxidante, indicando pouca interferência do jejum. A BuChE revelou maior atividade no cérebro e músculo em 7A:0R. A restrição alimentar em *Prochilodus argenteus* não afetou a capacidade do sistema antioxidante e atividade das colinesterases, podendo ser aplicada sem interferir em aspectos fisiológicos importantes.

Palavras-chave: Espécie nativa. Homeostase. Imunidade. Jejum.

Antioxidant capacity and activity of cholinesterases in Prochilodus argenteus under food restriction

ABSTRACT

*The objective of this study was to evaluate the influence of food restriction on antioxidant capacity and cholinesterase activity in young forms of curimatã-pacu. 140 fish were used, with $2.85 \pm 0.04g$, distributed in 20 boxes in recirculation system, entirely at random, with four treatments and five repetitions, for 64 days. The treatments were: T1 - uninterrupted feeding (7F:0R), T2 - feeding six days and one day of fasting (6F:1R), T3 - feeding five days and two days of restriction (5F:2R) and T4 - feeding four days and three days of deprivation (4F:3R). Feeding was provided three times a day (8 am, 12 pm, and 4 pm) with commercial feed. Antioxidant capacity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione S-transferase (GST), lipid peroxidation through malondialdehyde levels (MDA) and acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE) activity were analyzed. The results were subjected to analysis of variance and Tukey's test at 5%. Liver SOD was higher in the restricted groups, but did not affect the antioxidant system, indicating little interference from fasting. BuChE showed greater activity in the brain and muscle at 7F:0R. Dietary restriction in *Prochilodus argenteus* did not affect capacity of the antioxidant system and cholinesterase activity, and it can be applied without interfering in important physiological aspects.*

Keywords: native species; homeostasis; immunity; fasting.

1 Introdução

Protocolos de restrição alimentar seguidos de realimentação constituem uma alternativa promissora no manejo alimentar de muitas espécies de peixes, e também possibilitam estímulos para um crescimento mais acelerado do organismo (AZODI *et al.*, 2015). Entretanto, mesmo o organismo respondendo zootecnicamente bem a esse fator, as consequências fisiológicas podem se comportar de maneira diferente.

A privação do alimento envolve uma complexidade de alterações e efeitos metabólicos que podem estar associados ao ajuste biológico do animal, e suas consequências podem variar de acordo com a espécie, a idade do peixe (URBINATI *et al.*, 2015), a maturidade sexual, fotoperíodo, a temperatura da água, a duração do período de jejum (OH; NOH; CHO, 2007), a composição da dieta (RODRÍGUEZ; LANDINES, 2011) e o protocolo experimental empregado (RIBEIRO; TSUZUKI, 2010).

Situações de jejum são comumente enfrentadas pela maioria dos teleósteos ao longo do ciclo de vida normal (VAN DIJK; HARDEWING; HOLKER, 2005; NAMRATA; SANJAY; PALLAVI, 2011; ARSLAN *et al.*, 2015; KILLEN *et al.*, 2016) e, conseqüentemente, têm desenvolvido a capacidade de suportar escassez prolongada de alimentos. O gasto de energia pode ser reduzido durante esses períodos, possivelmente pela redução da atividade metabólica, refletida pelo menor consumo de oxigênio (GINGERICH; PHILIPP; SUSKI, 2009).

Juntamente com a rápida expansão da produção aquícola veio o aumento das preocupações com o bem-estar dos peixes e com as práticas de produção eticamente aceitáveis. Isso exigiu uma avaliação científica das consequências fisiológicas, biológicas e comportamentais das práticas de alimentação e restrição alimentar (WAAGBØ *et al.*, 2017). No entanto, estudos sobre alterações bioquímicas e fisiológicas com base na restrição alimentar têm se concentrado principalmente em mamíferos (PASCUAL *et al.*, 2003), sendo importante avaliar possíveis alterações em espécies de peixes com alto valor produtivo sob condições de restrição do alimento.

Um potencial efeito resultante das alterações metabólicas durante o jejum é o aumento do estresse oxidativo, mediante reduções no quantitativo de mitocôndrias, devido à redução do tamanho do fígado. Essas organelas são críticas para o metabolismo, mas também são uma fonte importante de oxidantes

potencialmente tóxicos na forma de espécies reativas, subprodutos do movimento de elétrons através da cadeia respiratória, que suporta a produção de adenosina trifosfato (ATP) (SALIN *et al.*, 2018).

A influência da privação do alimento sobre a atividade de colinesterases em peixes ainda é pouco conhecida, visto que as pesquisas existentes enfatizam a ação de compostos xenobióticos na modulação da atividade dessas enzimas (LEONCINI *et al.*, 2018).

Portanto, casos em que peixes são submetidos a situações de estresse podem prejudicar uma série de processos fisiológicos e, dessa forma, dificultam a homeostase nos animais. Em atividades de cultivos comerciais, a aplicação de manejo alimentar inadequado pode culminar numa redução da taxa de sobrevivência, do ganho de peso e proferir resultados econômicos insatisfatórios (DIAS *et al.*, 2013). Assim, é importante conhecer a atuação fisiológica do organismo em situação de privação do alimento. Dessa forma, objetivou-se avaliar a capacidade antioxidante e de colinesterases em formas jovens do curimatã-pacu (*Prochilodus argenteus*) mantidos em restrição alimentar.

2 Metodologia

2.1 Desenho experimental

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Aquicultura e Análises de Água (Laqua) do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), e parte no Laboratório de Enzimologia, localizado no Campus A. C. Simões da UFAL, para análises enzimáticas. Foram utilizados 140 peixes, pesando $2,85 \pm 0,04$ g, oriundos da Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (CODEVASF) que, inicialmente, passaram por um período de aclimatização/adaptação (sete dias) em tanque circular de polietileno com capacidade 1.000 L e, em seguida, foram distribuídos em 20 caixas de poliuretano com capacidade total de água de 130 L, montadas num sistema de recirculação de água, abastecimento individual, com biofiltro (composto de britas, conchas e *bioballs*) e aeração constante.

Diariamente, foram monitoradas as variáveis de qualidade da água (T °C, pH, O.D.), manhã e tarde, dos tanques experimentais através de sonda multiparâmetro digital da marca HANNA® Instruments, modelo 9828 (Woonsocket, EUA), além de amônia e nitrito com uso do fotômetro da marca

HANNA® Instruments, modelo HI 83203 (Bélgica) e kit colorimétrico, a cada dois dias.

O delineamento experimental consistiu em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições cada, constituindo 20 parcelas experimentais, com sete peixes cada. Os tratamentos foram feitos com base no manejo dos dias de restrição alimentar, seguidos ou não da oferta de ração, ou seja, o tratamento 1: alimentação todos os dias (7A:0R) (Controle); o tratamento 2: alimentação durante seis dias e um dia de restrição (6A:1R); o tratamento 3: alimentação durante cinco dias e dois dias de restrição (5A:2R); o tratamento 4: alimentação durante quatro dias e três dias de restrição (4A:3R).

Os peixes foram transferidos para o sistema experimental quando foi observada a captura da ração no tanque de aclimatização e a ausência de mortalidade. No sistema experimental, a ração foi ofertada até a aparente saciedade, distribuída em três refeições diárias (8h, 12h e 16h), de acordo com os tratamentos pré-estabelecidos. Utilizou-se ração extrusada comercial com 45% de proteína bruta e 0,8 a 1,0 mm de diâmetro, composta de ingredientes fundamentais para o desenvolvimento da espécie nessa fase de vida, conforme destaca a Tabela 1. Para não ocorrer influência de restos alimentares e resíduos metabólicos, antes de iniciar cada período de restrição foi realizada a retirada dos restos alimentares e a renovação da água (50%).

Tabela 1 – Composição centesimal da ração comercial® para formas jovens do curimatã-pacu (*Prochilodus argenteus*) conforme informações contidas no rótulo do produto

Parâmetros nutricionais	Valores (g.kg ⁻¹)*
Umidade (máx.)	130,00
Matéria Mineral (máx.)	160,00
Fibra Bruta (máx.)	36,00
Proteína Bruta (mín.)	450,00
Extrato Etéreo (mín.)	90,00
Cálcio (máx.)	30,00
Cálcio (mín.)	20,00
Fósforo (mín.)	10,00

*Premix mineral e vitamínico: vitamina A (mín.) = 14.500,0 UI.Kg⁻¹; vitamina B1 (mín.) = 25,0 mg.Kg⁻¹; vitamina B2 (mín.) = 29,0 mg.Kg⁻¹; vitamina B5 (mín.) = 60,00 mg.Kg⁻¹; vitamina B6 (mín.) = 18,50 mg.Kg⁻¹; vitamina B9 (mín.) = 7,40 mg.Kg⁻¹; vitamina B12 (mín.) = 53,0 mcg.Kg⁻¹; vitamina C (mín.) = 1.500,0 mg.Kg⁻¹; vitamina D3 (mín.) = 3.000,0 UI.Kg⁻¹.

vitamina E (mín.) = 400,0 UI.Kg⁻¹, vitamina K3 (mín.) = 12,30 mg.Kg⁻¹, biotina (mín.) = 0,60 mg.Kg⁻¹, niacina (mín.) = 125,0 mg.Kg⁻¹, colina (mín.) = 900,0mg.Kg⁻¹, metionina (mín.) = 10,0 g.Kg⁻¹, lisina (mín.) = 29,90 g.Kg⁻¹, pectinase (mín.) = 1.400,0 UI.Kg⁻¹, protease (mín.) = 240,0 UI.Kg⁻¹, fitase (mín.) = 105,0 UI.Kg⁻¹, betaglucanase (mín.) = 65,0 UI.Kg⁻¹, xilanase (mín.) = 35,0 UI.Kg⁻¹, celulase (mín.) = 13,0 UI.Kg⁻¹, amilase (mín.) = 11,0 UI.Kg⁻¹, cobre (mín.) = 7,50 mg.Kg⁻¹, cobalto (mín.) = 0,15 mg.Kg⁻¹, sódio (mín.) = 3.430,0 mg.Kg⁻¹, ferro (mín.) = 44,0mg.Kg⁻¹, iodo (mín.) = 1,50 mg.Kg⁻¹, magnésio (mín.) = 95,0 mg.Kg⁻¹, manganês (mín.) = 44,0 mg.Kg⁻¹, selênio (mín.) = 0,45 mg.Kg⁻¹, zinco (mín.) = 90,0 mg.Kg⁻¹.

Fonte: adaptada pelos autores

2.2 Capacidade antioxidante

2.2.1 Preparo dos extratos

Foram coletados tecidos hepático e muscular em nove peixes de cada tratamento, resultando num pool que foi armazenado em papel alumínio em freezer vertical a -18 °C. Fragmentos desses tecidos foram pesados e homogeneizados em tampão fosfato de potássio (1:10-p:v) (pH 7,4) 0,2 M.L⁻¹ com 1 mM.L⁻¹ de ácido etilenodiamino tetra-acético – EDTA, centrifugados a 12.000 rpm por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante resultante foi utilizado para mensurar a atividade das enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione S-transferase (GST).

2.2.2 Atividade da superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi mensurada em leitor de microplacas conforme metodologia de Dieterich et al. (2000), baseado na capacidade desta enzima de catalisar a reação do superóxido (O₂⁻) em peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e, assim, diminuir a razão de auto-oxidação do pirogalol. Em cada microplaca foram adicionadas amostras (extrato de fígado e músculo), tampão fosfato 8,0 (100 mM.L⁻¹), solução de MTT [3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo] (1,25 mM.L⁻¹), ácido pirogálico (0,1 mM.L⁻¹) e dimetilsulfóxido - DMSO (100 mM.L⁻¹). A leitura foi realizada em leitor de microplaca a 570 nm, e os resultados expressos em U SOD mg tecido⁻¹.

2.2.3 Atividade da catalase (CAT)

A atividade da CAT foi quantificada segundo Hadwan e Abed (2016). Em cada microplaca foram adicionados extratos da amostra (fígado e músculo), tampão fosfato 7,0 (100 mM.L⁻¹), peróxido

de hidrogênio (H_2O_2 , 30 nM.L⁻¹) e molibdato de amônio (10 mM.L⁻¹). Por fim, colocou-se no leitor de microplaca, configurando a 374nm e fez-se a leitura. Os resultados foram expressos em U/KU (unidade por kilo-unidade).

2.2.4 Atividade de glutatona S-transferase (GST)

A atividade da enzima GST foi mensurada de acordo com Habig *et al.* (1976), através da formação do conjugado 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB). Estimou-se a atividade da enzima em uma mistura contendo CDNB 1 mM.L⁻¹ em etanol, glutatona redutase (GSH) 100 mM.L⁻¹, fosfato de potássio (pH 7,0) 100 mM.L⁻¹ e homogeneizado de tecido (fígado e músculo) em tampão fosfato de potássio (1:10-p:v) (pH 7,4) 0,2 M.L⁻¹ com 1 mM.L⁻¹ de ácido etilenodiamino tetra-acético – EDTA, pelo aumento da absorbância ($\lambda = 340$ nm) durante 60s em espectrofotômetro. O coeficiente de extinção molar do CDNB e340 = 9,6 mM⁻¹ cm⁻¹ foi utilizado para os cálculos, e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$.

2.3 Determinação do malondialdeído (MDA)

A concentração de malondialdeído (MDA) foi estimada conforme Wallin *et al.* (1993). Em tubos de 1,5 mL foram pipetados extratos das amostras (fígado e músculo) preparadas em tampão fosfato de potássio (1:10-p:v) (pH 7,4) 0,2 mM.L⁻¹ com 1mM.L⁻¹ de ácido etilenodiamino tetra-acético – EDTA, solução de ácido tricloroacético (10 mM.L⁻¹) / ácido tiobarbitúrico (0,156 $\mu\text{M.L}^{-1}$) / ácido clorídrico (2,5 mM.L⁻¹), formando a solução TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico). Os tubos contendo as diluições foram aquecidos por 40 minutos em banho maria (90°C) e, em seguida, resfriados em gelo durante 3 min. e posteriormente, centrifugados (5 minutos a 2500 rpm e 15°C). A fase superior (600 μL) foi utilizada para quantificar a concentração de MDA em espectrofotômetro ($\lambda = 535\text{nm}$). Os níveis de MDA foram mensurados por intermédio de curva padrão a partir de concentrações conhecidas de 1,1,3,3-tetrametoxipropano – TMPO e os resultados expressos em $\mu\text{M mg tecido}^{-1}$.

2.4 Quantificação proteica

A quantificação proteica foi determinada de acordo com o método de Bradford (1976). A curva de calibração das proteínas foi obtida com base na

albumina de soro bovino (1 mg. mL⁻¹) como padrão, sob concentração de 5 $\mu\text{g}/100\mu\text{L}$ à 55 $\mu\text{g}/100\mu\text{L}$. Em cubetas de 3 mL foram pipetados 2500 μL do reagente de Bradford e 100 μL de solução padrão de albumina, incubando cada amostra por cinco minutos. A leitura de absorbância a 595 nm foi aferida em espectrofotômetro, adicionando 100 μL de água deionizada ao invés de solução padrão para referência. A obtenção desse dado serviu para quantificar a atividade específica da acetilcolinesterase (AChE) e da butirilcolinesterase (BuChE) no encéfalo e tecido muscular das formas jovens do curimatã-pacu.

2.5 Atividade de colinesterases

A atividade de AChE e BuChE foi avaliada em extratos de músculo e cérebro, conforme o método de Ellman *et al.* (1961). Para quantificar a atividade da AChE foi adicionado em cubetas 93 mM.L⁻¹ de tampão fosfato 0,1mol, pH 8,0; 5,5'-ditio-bis-(2-ácido nitrobenzóico) – DTNB (10 mM.L⁻¹) e 10 μL de água deionizada para formar o branco (base). A quantificação da atividade da AChE foi obtida utilizando os mesmos reagentes para o branco, substituindo apenas a água deionizada por quantidade equivalente do substrato reacional iodeto de acetiltiocolina (75 mM.L⁻¹). Para quantificar BuChE foi empregado o mesmo procedimento sendo diferente apenas o substrato reacional (iodeto de butiriltiocolina (42,5 mM.L⁻¹)). As leituras de absorbância foram aferidas a 412nm em espectrofotômetro UV/VIS (Specord 200 Plus) durante 3 minutos. A atividade das colinesterases (AChE e BuChE) foi expressa em $\mu\text{mol}/\text{min.mL}^{-1}$ conforme a equação 1, e sua atividade específica em $\mu\text{mol}/\text{min.mg.proteína}^{-1}$ com base na quantificação proteica dos tecidos.

$$U/mL = \frac{\Delta A/\Delta t}{\epsilon} \times \frac{V}{V_e/D} \quad (1)$$

Onde: **V** é o volume total da mistura reacional ($V = 3$ mL), ϵ é a inclinação da reta, ϵ é o coeficiente de extinção molar do DTNB (14,15 mM⁻¹.cm⁻¹), **V_e** é o volume do extrato enzimático e **D** é a diluição do extrato.

2.6 Análise estatística e comissão de ética em pesquisas com animais

Todos os dados coletados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) e, quando comprovada diferença significativa entre as médias,

analisados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade com uso do programa R Studio® (R STUDIO, 2017).

O projeto está de acordo com os preceitos da comissão de ética no uso de animais (CEUA/UFAL), sendo aprovado sob protocolo nº 02/2018.

3 Resultados e discussão

3.1 Qualidade da água

O uso do sistema de recirculação com biofiltro, aeradores e aquecedores, permitiu manter os parâmetros físico-químicos da água em níveis adequados para espécie e fase ontogenética. A temperatura, o oxigênio dissolvido e o pH são importantes agentes reguladores do sistema e ação metabólica dos peixes, expressando níveis adequados com $27,82 \pm 0,45$ °C, $5,07 \pm 0,15$ mg.L⁻¹ e $7,02 \pm 0,22$, respectivamente. O biofiltro composto de britas, conchas de moluscos e *bioballs*, serviu de substrato para colônias de bactérias que atuam no processo de nitrificação, o que refletiu em níveis aceitáveis de amônia ($0,11 \pm 0,04$ mg.L⁻¹) e nitrito ($0,06 \pm 0,02$ mg.L⁻¹) no sistema.

Períodos de privação alimentar possibilitam obter maior teor de oxigênio dissolvido na água e menor condutividade elétrica, devido à menor carga orgânica no sistema (SANTOS *et al.*, 2010). A manutenção do oxigênio dissolvido acima de 2mg.L⁻¹ (ARAUCO; COSTA, 2012), com temperatura entre 25 °C e 28 °C e pH próximo à neutralidade possibilita um melhor desenvolvimento de espécies tropicais e a estabilidade físico-química da água. Ao fim do período experimental, os peixes alcançaram peso médio de $7,45 \pm 1,08$ g. Palma *et al.* (2010) revelam que a eficácia do sistema de recirculação fechado contribui para a manutenção dos parâmetros da água em faixas adequadas para a espécie e sem oscilações significativas que possam interferir no seu desempenho e em suas necessidades metabólicas. Dessa forma, a manutenção desses parâmetros em faixas adequadas não gerou interferências no desempenho dos organismos, mas o desempenho dessa espécie em águas verdes costuma ser superior ao seu desempenho em águas claras.

3.2 Capacidade antioxidante e malondialdeído

As defesas antioxidantes nos peixes são influenciadas por diversos fatores, entre eles, o comportamento alimentar e fatores nutricionais (MARTÍNEZ-ÁLVAREZ; MORALES; SANZ, 2005). As enzimas antioxidantes são importantes agentes biomarcadores que decompõem as espécies reativas. Essas enzimas têm papel fundamental no controle, produção e eliminação de espécies reativas que, quando em excesso, podem alterar as funções normais da célula e levar à oxidação das membranas celulares, podendo originar lesões nas mitocôndrias, proteínas, DNA e outros componentes do sistema celular (BATISTA *et al.*, 2014).

A atividade de superóxido dismutase (SOD) no tecido hepático (Tabela 2, na página seguinte) foi maior nos grupos sob restrição alimentar ($p=0,0332$), com destaque para o grupo 5A:2R que expressou aumento de 20,43% na atividade em relação ao grupo 7A:0R (controle). No tecido muscular, a SOD apresentou atividade similar entre os distintos tratamentos ($p=0,7028$) (Tabela 2).

Os peixes normalmente produzem elevados níveis de espécies reativas ao longo da recuperação de qualquer estresse fisiológico (BRAUN *et al.*, 2008). Martinez (2006) descreve que a SOD é comumente utilizada como biomarcador bioquímico com respostas contundentes à contaminação ambiental, porém, a influência dos regimes de restrição/realimentação na capacidade antioxidante em peixes é pouco conhecida. No intestino do robalo europeu, Antonopoulou *et al.* (2013) destacam que ocorreu aumento na atividade de SOD e CAT em regimes de restrição (2A:2R e 1A:3R em meses) quando comparados ao grupo controle durante 4 meses.

A cascata de conversões de compostos metabólicos tóxicos ao organismo em produtos menos tóxicos para as células, contribuem para o aumento em conjunto das enzimas SOD e CAT (REIS, 2015). No entanto, essa tendência nem sempre é observada e parece ser espécie-específica e, neste estudo, apenas a SOD hepática revelou ligeiro aumento nos peixes sob restrição do alimento.

Tabela 2 – Médias e desvio padrão da atividade de enzimas antioxidantes e produto da peroxidação lipídica em formas jovens do curimatã-pacu submetidos ao manejo de restrição alimentar

	Tratamentos					p-valor
	7A:0R	6A:1R	5A:2R	4A:3R	CV (%)	
SOD hepática (U SOD/mg.tecido)	10,87±0,53 ^b	12,45±1,66 ^{ab}	13,66±1,57 ^a	11,41±0,71 ^{ab}	10,12	0,0332*
SOD muscular (U SOD/mg.tecido)	13,82±0,74 ^a	12,95±1,62 ^a	12,90±1,56 ^a	13,03±0,83 ^a	9,52	0,7028 ^{ns}
CAT hepática (U/kU)	7,46±0,89 ^a	7,75±0,92 ^a	7,74±0,42 ^a	6,92±2,12 ^a	16,79	0,8343 ^{ns}
CAT muscular (U/kU)	12,80±6,10 ^a	16,61±8,25 ^a	12,10±2,77 ^a	12,87±1,76 ^a	39,66	0,7359 ^{ns}
GST hepática (µmol/min/g)	1,91±0,22 ^a	1,21±0,30 ^a	1,63±0,06 ^a	1,98±0,48 ^a	18,03	0,0547 ^{ns}
GST muscular (µmol/min/g)	0,88±0,21 ^a	0,65±0,18 ^a	0,60±0,23 ^a	0,78±0,22 ^a	28,88	0,2684 ^{ns}
MDA hepático (µmol/mg.tecido)	27,18±1,98 ^a	21,74±1,91 ^a	25,52±3,73 ^a	22,75±4,03 ^a	12,65	0,1954 ^{ns}
MDA muscular (µmol/mg.tecido)	5,42±0,14 ^a	5,98±0,63 ^a	5,99±0,34 ^a	5,65±0,17 ^a	6,53	0,2599 ^{ns}

SOD – superóxido dismutase, CAT – catalase, GST – glutatona S-transferase, MDA – malondialdeído, CV – coeficiente de variação. Letras iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa (ns), *significativo a 5%. (7A:0R) – sete dias de alimentação sem restrição (Controle); (6A:1R) – seis dias de alimentação e um dia de jejum; (5A:2R) – cinco dias de alimentação e dois dias de privação; (4A:3R) – quatro dias de alimentação e três dias de privação.

Fonte: elaborada pelos autores

A catalase (CAT) não mostrou diferença nos tecidos hepático ($p=0,8343$) e muscular ($p=0,7359$) entre os distintos regimes alimentares (Tabela 2). Furné *et al.* (2009) revelam que a restrição alimentar em truta e esturjão provocou decréscimo nas atividades enzimáticas de CAT, SOD, glutatona peroxidase (GPx) e glutatona reduzida. Entretanto, após período de realimentação houve tendência de recuperação da atividade normal. Morales *et al.* (2004) em pesquisa com *Dentex dentex*, detectaram um aumento de 22% na atividade de CAT do grupo em jejum em relação ao grupo controle. Essa oscilação na atividade, que não foi verificada no presente estudo, constitui uma maneira de mitigar danos oxidativos ocasionados por agentes estressores.

A baixa atividade de CAT nos peixes está ligada à presença de fatores estressantes, que resultam em aumento dos radicais superóxidos (SILVA *et al.*, 2012). A adaptação fisiológica dos peixes em situações de escassez de alimento pode ser um fator estressante que contribui para o desequilíbrio entre espécies reativas e antioxidantes (VASYLKIV *et al.*, 2011). A inalteração na atividade da CAT hepática e muscular, neste estudo, comprova que os curtos períodos de jejum não comprometeram as ações do sistema de defesa antioxidante.

A glutatona S-transferase (GST) exibiu atividade semelhante entre os grupos privados de alimento e controle, tanto no tecido hepático ($p=0,0547$) como no

muscular ($p=0,2684$) (Tabela 2). A GST é comumente empregada em estudos de monitoramento de compostos químicos poluentes, especialmente metais pesados, os quais costumam inibir sua atividade (COGO *et al.*, 2009).

Canabarro e Toledo (2010) indicam uma possível influência de agentes contaminantes em áreas de criação de *Oreochromis niloticus*, onde os fígados analisados apresentaram decréscimos na atividade de GST. Desse modo, o nível de contaminação do meio proferiu estresse oxidativo no organismo, expresso na variação da atividade de GST. Neste estudo, a oscilação quantitativa do alimento não foi suficiente para gerar situação de desequilíbrio na atividade da referida enzima.

Os níveis de MDA não mostraram diferença no fígado ($p=0,1954$) e músculo ($p=0,2599$) dos diferentes grupos experimentais (Tabela 2). Pascual *et al.* (2003) analisaram os níveis de MDA nos fígados de *Sparus aurata*, com o intuito de ratificar que condições de jejum ocasionam estresse oxidativo. Esse dado foi observado nos maiores tempos (dias) de jejum, nos quais os níveis de MDA sofreram acréscimos. Entretanto, esse aumento não ocasionou oscilações na atividade específica de enzimas antioxidantes como SOD e CAT. Assim, os dados de MDA da presente pesquisa revelam que a privação alimentar não gerou estresse oxidativo.

É importante conhecer e compreender os mecanismos celulares e as estratégias para reduzir o estresse oriundo dos regimes de restrição/realimentação, em sistemas de cultivo e ambiente natural (ANTONOPOULOU *et al.*, 2013). Vários agentes antioxidantes que contribuem para a capacidade antioxidante de um peixe são oriundos da sua alimentação, especialmente antioxidantes lipossolúveis, uma vez que não podem ser sintetizados novamente pelos animais. Dessa forma, é esperado que peixes com diferentes regimes alimentares lidem com o estresse oxidativo de maneiras distintas (BIRNIE-GAUVIN *et al.*, 2017).

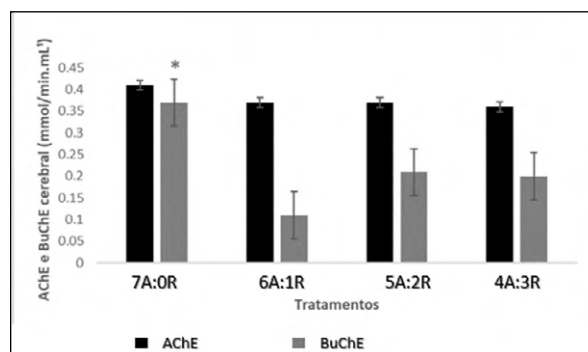
Nos últimos anos, o termo “estresse oxidativo alimentar” foi utilizado para descrever um desequilíbrio entre componentes pró-oxidantes e antioxidantes como resultado de uma oferta insuficiente de nutrientes, culminando numa remoção ineficaz de espécies reativas (FENG *et al.*, 2011). Mas, em situações de privação de alimentos, é natural que o organismo reduza seu metabolismo basal, protegendo as reservas energéticas e, possivelmente, isso resulta em aumento nos níveis de espécies reativas, exigindo uma maior ação das defesas antioxidantes. Isso não ocorreu no presente estudo para maioria das enzimas e tecidos analisados, indicando baixa severidade do regime alimentar nos animais estudados.

3.3 Atividade de colinesterases

A atividade normal de acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE) é fundamental para que o organismo possa localizar presas, escapar de predadores e serve, também, como orientação para a identificação de itens alimentares (GOLOMBIESKI *et al.*, 2008). Pesquisas referentes à inibição ou aumento na atividade dessas enzimas, frente a períodos de restrição do alimento em teleosteos, ainda estão sendo desenvolvidas.

A atividade cerebral de acetilcolinesterase (AChE) (Figura 1) e sua atividade específica (Figura 2) no mesmo tecido não foram influenciadas pela adoção do regime de restrição alimentar nos diferentes grupos. Entretanto, a butirilcolinesterase (BuChE) expressou maior atividade cerebral no grupo 7A:0R, com aumento de 64,52% e 69,23% em relação ao grupo 6A:1R, na atividade (Figura 1) e atividade específica (Figura 2), respectivamente.

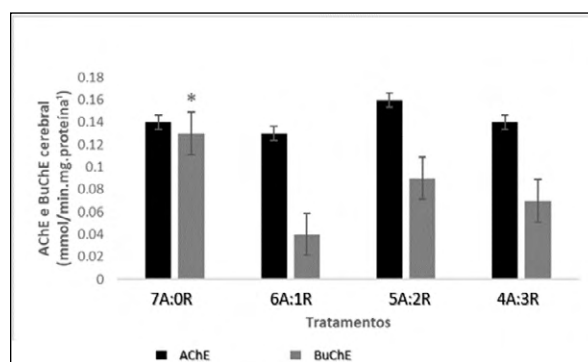
Figura 1 – Atividade de acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE) no encéfalo de formas jovens do curimatã-pacu sob regimes de restrição alimentar



(7A:0R) – sete dias de alimentação sem restrição (Controle); (6A:1R) – seis dias de alimentação e um dia de jejum; (5A:2R) – cinco dias de alimentação e dois dias de privação; (4A:3R) – quatro dias de alimentação e três dias de privação. (* p<0,05).

Fonte: elaborada pelos autores

Figura 2 – Atividade específica de acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE) no encéfalo de formas jovens do curimatã-pacu sob regimes de restrição alimentar



(7A:0R) – sete dias de alimentação sem restrição (Controle); (6A:1R) – seis dias de alimentação e um dia de jejum; (5A:2R) – cinco dias de alimentação e dois dias de privação; (4A:3R) – quatro dias de alimentação e três dias de privação. (* p<0,05).

Fonte: elaborada pelos autores

Comparativamente, mesmo não expressando diferença entre os distintos grupos avaliados neste estudo, a atividade cerebral da AChE foi superior à de BuChE. Leoncini (2016) cita que a BuChE exibe, normalmente, maior atividade no fígado, intestino, coração, pulmão e rim, enquanto que, a AChE é mais concentrada no encéfalo e músculos.

Os dados da presente pesquisa suscitam que, até mesmo os organismos do grupo 4A:3R com maior tempo de jejum, não diferiram sua atividade cerebral da AChE do grupo controle, presumindo

que essa estratégia de manejo alimentar não causa danos neurais e musculares. Como a BuChE participa ativamente no metabolismo lipídico (hidrólise de ésteres de colina e lipogênese hepática) (MILANO *et al.*, 2013), o menor teor do extrato etéreo expresso na composição corpórea dos grupos de restrição (dados não publicados), pode ter contribuído para a redução significativa de sua atividade.

A atividade das colinesterases do tecido muscular se comportou de maneira similar à apresentada no tecido cerebral, onde AChE não revelou diferenças em sua atividade (Figura 3) e atividade específica (Figura 4), ao passo que a BuChE exibiu maior atividade no grupo controle (7A:0R) com 26,67% de aumento em relação ao grupo 6A:1R (Figura 3), mas sua atividade específica foi similar entre 7A:0R e 4A:3R, com aumento de 28,57% se comparados aos grupos 6A:1R e 5A:2R (Figura 4).

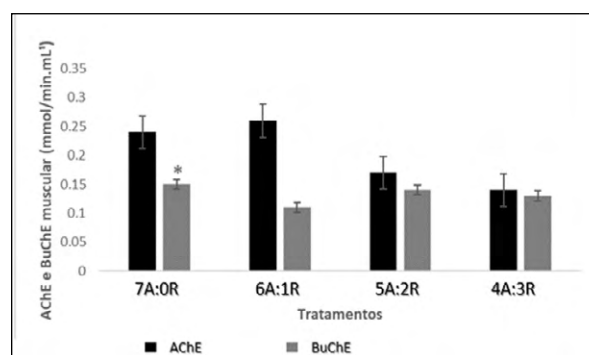
O músculo tem a vantagem da fácil obtenção de uma grande quantidade material, no entanto, ele não possui somente AChE, mas também BuChE, a qual apresenta, em média, 50% de homologia com a AChE, e infere-se que atua preservando a acetilcolinesterase dos agentes anticolinesterásicos (GUILOSKI *et al.*, 2010) que, mesmo em situações de estresse ocasionadas pelo jejum, pode contribuir para a constância na atividade da AChE.

A inibição da AChE promove o acúmulo de acetilcolina nas sinapses neuromusculares e sinapses nervosas, resultando em anormalidades como o excesso de atividade dos tecidos musculares. Essa atividade excessiva no peixe incide em alterações comportamentais, como hiperatividade e anorexia, bem como efeitos fisiológicos, como asfixia, que pode resultar em morte. Já o aumento na atividade da AChE que resulta em diminuição na quantidade de acetilcolina, pode ser um indicador de neurodegeneração como resultado da perda de função nos receptores de acetilcolina (SEN; KARAYTUG, 2017). Assim, a inexistência de interferência na atividade cerebral e muscular da AChE frente a períodos de restrição alimentar empregados nesse estudo, indica que não ocorreram consequências adversas no sistema neuromuscular. Ghazala *et al.* (2016) frizam que a resposta dos biomarcadores enzimáticos nos peixes é dependente das espécies, estágio de vida, grau de poluição e diferenças de sexo.

As rações comerciais destinadas à atividade aquícola têm altas concentrações de proteínas e estimulantes de crescimento, como o cobre e o zinco

em sua composição, mas que, em concentrações superiores a 0,05 mg.L⁻¹, devido ao acúmulo ocasionado por manejo alimentar inadequado, são tóxicos para muitas espécies (ALENCAR; SANDES; SILVA, 2018). Desse modo, estratégias de restrição/realimentação também podem ser uma maneira de mitigar a carga de contaminantes no ambiente de cultivo e preservar a atividade normal das colinesterases.

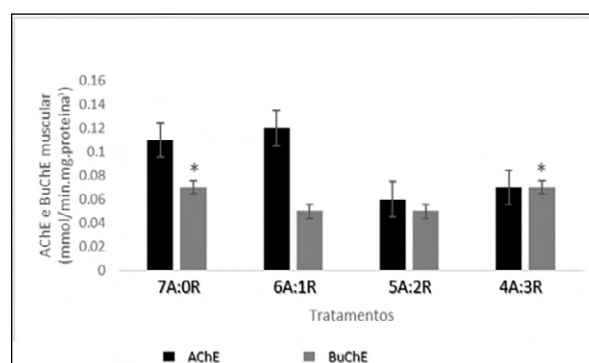
Figura 3 – Atividade de acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE) no tecido muscular de formas jovens do curimatã-pacu sob regimes de restrição alimentar



(7A:0R) – sete dias de alimentação sem restrição (Controle); (6A:1R) – seis dias de alimentação e um dia de jejum; (5A:2R) – cinco dias de alimentação e dois dias de privação; (4A:3R) – quatro dias de alimentação e três dias de privação. (* p<0,05).

Fonte: elaborada pelos autores

Figura 4 – Atividade específica de acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE) no tecido muscular de formas jovens do curimatã-pacu sob regimes de restrição alimentar



(7A:0R) – sete dias de alimentação sem restrição (Controle); (6A:1R) – seis dias de alimentação e um dia de jejum; (5A:2R) – cinco dias de alimentação e dois dias de privação; (4A:3R) – quatro dias de alimentação e três dias de privação. (* p<0,05).

Fonte: elaborada pelos autores

4 Conclusão

A restrição alimentar em formas jovens do *Prochilodus argenteus* não afetou a capacidade antioxidante e a atividade das colinesterases, podendo ser aplicada como meio para reduzir carga orgânica do sistema e custos de produção.

AGRADECIMENTOS

Ao acordo CAPES/FAPEAL pela concessão da bolsa de mestrado ao primeiro autor e a Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba pela doação dos peixes.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, F. V. D.; SANDES, I. M. F.; SILVA, K. C. C. Uso de biomarcadores enzimáticos e genotóxicos para diagnóstico da qualidade da água do lago Itaparica-PE. **Revista Rios Saúde**, v. 1, n. 5, p. 49-60, 2018. Disponível em: <http://www.fasete.edu.br/revistariossaude>. Acesso em: 15 jul. 2019.

ANTONOPOULOU, E.; KENTEPOZIDOU, E.; FEIDANTISIS, K.; ROUFIDOU, C.; DESPOTI, S.; CHATZIFOTIS, S. Starvation and re-feeding affect Hsp expression, MAPK activation and antioxidant enzymes activity of European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 165, n. 1, p. 79-88, 2013. DOI: 10.1016/j.cbpa.2013.02.019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23462223/>. Acesso em: 22 nov. 2019.

ARAUCO, L. R. R.; COSTA, V. B. Restrição alimentar no desempenho produtivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Comunicata Scientiae**, v. 3, n. 2, p. 134-138, 2012. Disponível em: comunicatascientiae.com.br. Acesso em: 15 jun. 2019.

ARSLAN, G.; SAHIN, T.; HISAR, O.; HISAR, S. A. Effects of low temperature and starvation on plasma cortisol, triiodothyronine, thyroxine, thyroid-stimulating hormone and prolactin levels of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). **Marine Science and Technology Bulletin**, v. 4, n. 2, p. 5-9, 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/325456000>. Acesso em: 26 jun. 2019.

AZODI, M.; EBRAHIMI, E.; FARHADIAN, O.; MAHBOOBI-SOOFIANI, N.; MORSHEDI, V. Compensatory growth response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walbaum following short

starvation periods. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 33, n. 4, p. 928-933, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00343-015-4228-1>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00343-015-4228-1>. Acesso em: 11 mai. 2019.

BATISTA, M. T. O.; RODRIGUES JUNIOR, E.; FEIJÓ-OLIVEIRA, M.; RIBEIRO, A. C.; RODRIGUES, E.; SUDA, C. N. K.; VANI, G.S. Tissue levels of the antioxidant enzymes superoxide dismutase and catalase in fish *Astyanax bimaculatus* from the Una River Basin. **Revista Ambiente e Água**, v. 9, n. 4, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1473>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/ambiagua/v9n4/v9n4a06.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2019.

BIRNIE-GALVIN, K.; COSTANTINI, D.; COOKE, S. J.; WILLMORE, W. G. A comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: a review. **Fish and Fisheries**, p. 1-15, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/faf.12215>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/faf.12215>. Acesso em: 19 jan. 2020.

BRADFORD, M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0003269776905273>. Acesso em: 12 mai. 2019.

BRAUN, N.; LIMA, R. L.; FLORA, F. D.; LANG, M. É.; BAUERMANN, L. F.; LORO, V. L.; BALDISSEROTTO, B. Lipid peroxidation and superoxide dismutase activity in silver catfish (*Rhamdia quelen*) juveniles exposed to different dissolved oxygen levels. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 811-814, 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/284193413>. Acesso em: 8 maio 2019.

CANABARRO, L.; TOLEDO, M. T. Estudo do estresse oxidativo em fígados de peixes *Oreochromis niloticus* capturados em ambientes artificiais na região de Sorocaba SP. **Revista Eletrônica de Biologia**, v.1, n. 4, p. 31-57, 2010. Disponível em: <https://revistas.pucsp.br/reb/article/view/1570/2505>. Acesso em 21 set. 2019.

COGO, A. J. D.; SIQUEIRA, A. F.; RAMOS, A. C.; CRUZ, Z. M. A.; SILVA, A. G. Utilização de enzimas do estresse oxidativo como bioindicadoras de impactos ambientais. **Natureza Online**, v. 7, n. 1, p. 37-42, 2009. Disponível em: http://naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/08_CogoAJDetal_3742.pdf. Acesso em: 14 nov. 2018.

DIAS, C. A. G. M.; FAGUNDES, D. S.; GOUVEIA JUNIOR, A.; SILANES, M. D. M. L.; OLIVEIRA, J. C. S. Luz, metionina e estresse oxidativo na piscicultura. **Biota Amazônica**, v. 3, n. 3, p. 169-176, 2013. Disponível em: <https://www2.unifap.br/oiapoque/files/2014/07/Artigo-03.pdf>. Acesso em: 6 mai. 2019.

DIETERICH, S.; BIELIGK, U.; BEULICH, K.; HASENFUSS, M. D. G.; PRESTLE, J. Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart. **Circulation**, 4-11; v. 101, n. 1, p. 33-9, 2000. DOI: 10.1161/01.cir.101.1.33. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10618301/>. Acesso em: 11 nov. 2018.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES JR, V.; FEATHERSTONE, M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295261901459>. Acesso em: 12 nov. 2018.

FENG, G.; SHI, X.; HUANG, X.; ZHUANG, P. Oxidative Stress and Antioxidant Defenses after Long-term Fasting in Blood of Chinese Sturgeon (*Acipenser sinensis*). **Procedia Environmental Sciences** v. 8, p. 469-475, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2011.10.074>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878029611007109>. Acesso em: 19 set. 2019.

FURNÉ, M.; GARCÍA-GALLEGO, M.; HIDALGO, M. C.; MORALES, A. E.; DOMEZAIN, A.; SANZ, A. Oxidative stress parameters during starvation and refeeding periods in Adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture nutrition** v. 15, p. 587-595, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2008.00626.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2095.2008.00626.x>. Acesso em: 12 mar. 2019.

GHAZALA, G.; MAHBOOB, S.; AL-GHANIM, K. A.; SULTANA, S.; SULTANA, T.; AL-MISNED, F.; AHMED, L.; SHAHID, T.; AHMAD, Z. A study on chronic effect of profenofos on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities and protein contents in various tissues in major carps. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 13, n. 3, p. 54-59, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ajtcam.v13i3.7>. Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/ajtcam/article/view/132103>. Acesso em: 16 fev. 2020.

GINGERICH, A. J.; PHILIPP, D. P.; SUSKI, C. D. Effects of nutritional status on metabolic rate, exercise and recovery in a freshwater fish. **Journal of Comparative**

Physiology B, 14 p., 2009. DOI: 10.1007/s00360-009-0419-4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19936760/>. Acesso em: 9 dez. 2019.

GOLOMBIESKI, J. I.; MARCHESAN, E.; CAMARGO, E. R.; SALBEGO, J.; BAUMART, J. S.; LORO, V. L.; MACHADO, S. L. O.; ZANELLA, R.; BALDISSEROTTO, B. Acetylcholinesterase enzyme activity in carp brain and muscle after acute exposure to diafuran. **Scientia Agricola**, v. 65, n. 4, p. 340-345, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162008000400003>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/sa/v65n4/03.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2019.

GUILOSKI, I. C.; SILVA, E. G.; NISHIKAWA, C. M.; ASSIS, H. C. S.. Atividade da colinesterase em cérebro e músculo de *Corydoras paleatus* (Pisces, Teleostei) expostos ao carbaril. **Revista Acadêmica – Ciência Animal**, v. 8, n. 4, p. 461-468, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.7213/cienciaanimal.v8i4.11012>. Disponível em: <https://periodicos.pucpr.br/index.php/cienciaanimal/article/view/11012>. Acesso em: 6 out. 2019.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione s-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 249, n. 22, p. 7130-7139, 1976. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4436300/>. Acesso em: 16 nov. 2018.

HADWAN, M. H.; ABED, H. N. Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity. **Data in Brief**, v. 6, p. 194-199, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dib.2015.12.012>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352340915003777>. Acesso em: 15 jan. 2020.

KILLEN, S. S.; FU, C.; WU, K.; WANG, Y. X.; FU, S. J. The relationship between metabolic rate and sociability is altered by food deprivation. **Functional Ecology**, 8 p., 2016. DOI: 10.1111/1365-2435.12634. Disponível em: <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/1365-2435.12634>. Acesso em: 16 jan. 2020.

LEONCINI, G. O. **Purificação parcial de colinesterase de *Prochilodus brevis* para emprego biotecnológico**. 2016. 105 f. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2016. Disponível em: <http://www.repositorio.ufal.br/handle/riufal/1451>. Acesso em: 22 dez. 2019.

LEONCINI, G. O.; SILVA, E. G.; MACHADO, S. S.; ABREU, F. C. Acetylcholinesterase from Curimatã Fish Brain (*Prochilodus Brevis*) as Potential Biocatalyst for Voltammetric Biosensor Construction. **Biomedical**

– **Journal of Scientific & Technical Research**, v. 8, n. 3, 2018. DOI: 10.26717/BJSTR.2018.08.001655. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/327424990>. Acesso em: 10 jan. 2020.

MARTINEZ, C. B. R. **Parâmetros bioquímicos de peixes para avaliação da qualidade da água**. Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Estadual de Londrina. 19 p., 2006. Disponível em: <http://www.uel.br/laboratorios/lefa/Par%C3%A2metros%20bioqu%C3%ADmicos>. Acesso em: 15 set. 2018.

MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, R. M.; MORALES, A. E.; SANZ, A. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 15, p. 75–88, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11160-005-7846-4>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11160-005-7846-4>. Acesso em: 15 out. 2019.

MILANO, G. E.; LEITE, N.; CHAVES, T. J.; MILANO, G. E.; SOUZA, R. L. L.; ALLE, L. F. Atividade da butirilcolinesterase e fatores de risco cardiovascular em adolescentes obesos submetidos a um programa de exercícios físicos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 57, n. 7, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0004-27302013000700006>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/abem/v57n7/06.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2020.

MORALES, A. E.; PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; HIDALGO, M. C.; ABELLÁN, E.; CARDENETE, G. Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 139, n. 1-3, p. 153–161, 2004. DOI: 10.1016/j.cca.2004.10.008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15556078/>. Acesso em: 3 nov. 2019.

NAMRATA, S.; SANJAY, N.; PALLAVI, C. Effect of Starvation on the Biochemical Composition of Freshwater Fish *Channa punctatus*. **Recent Research in Science and Technology**, v. 3, n. 9, p. 17-19, 2011. Disponível em: <https://updatepublishing.com/journal/index.php/rrst/article/view/775>. Acesso em: 12 dez. 2019.

OH, S.Y.; NOH, C. H.; CHO, S. H. Effect of restricted feeding regimes on compensatory growth and body composition of red sea bream, *Pagrus major*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 38, n. 3, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2007.00116.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1749-7345.2007.00116.x>. Acesso em: 26 out. 2018.

PALMA, E. H.; TAKAHASHI, L. S.; DIAS, L. T. S.; GIMBO, R. Y.; KOJIMA, J. T.; NICODEMO, D. Estratégia alimentar com ciclos de restrição e realimentação no desempenho produtivo de juvenis de tilápia do Nilo da linhagem GIFT. **Ciência Rural**, v. 40, n. 2, p. 421-426, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782010000200026>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cr/v40n2/a465cr1348.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2018.

PASCUAL, P.; PEDRAJAS, J. R.; TORIBIO, F.; LÓPEZ-BAREA, J.; PEINADO, J. Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*). **Chemico-Biological Interactions**, v. 145, p. 191-199, 2003. DOI: 10.1016/s0009-2797(03)00002-4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12686495/>. Acesso em: 22 out. 2018.

R CORE TEAM. R STUDIO. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2017. Disponível em: <https://www.r-project.org/>. Acesso em: 25 nov. 2019.

REIS, S. M. **Transporte de juvenis de carpa ornamental (KOI), *Cyprinus carpio*: efeito do óleo de hortelã e do tempo de jejum**. 2015. 30 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/7193>. Acesso em: 16 dez. 2018.

RIBEIRO, F. F.; TSUZUKI, M. Y. Compensatory growth responses in juvenile fat snook, *Centropomus parallelus* Poey, following food deprivation. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 9, p. 226-233, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02507.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2109.2010.02507.x>. Acesso em: 25 abr. 2019.

RODRÍGUEZ, L.; LANDINES, M. A. Evaluación de la restricción alimenticia sobre el desempeño productivo y fisiológico em juveniles de cachama blanca, *Piaractus brachypomus*, em condiciones de laboratorio. **Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 141-155, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmvz/v58n3/v58n3a02.pdf>. Acesso em: 21 ago. 2019.

SALIN, K.; VILLASEVIL, E. M.; ANDERSON, G. J.; AUER, S. K.; SELMAN, C.; HARTLEY, R. C.; MULLEN, W.; CHINOPOULOS, C.; METCALFE, N. B. Fasting fish risk oxidative stress: decreased mitochondrial metabolic requirements in fasting animals carry an oxidative cost. **Journal of Experimental**

Biology, p. 1-9, 2018. DOI: 10.1111/1365-2435.13125. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6175143/>. Acesso em: 20 mar. 2020.

SANTOS, L.; PEREIRA FILHO, M.; SOBREIRA, C.; ITUASSÚ, D.; FONSECA, F. A. L. Exigência proteica de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após privação alimentar. **Acta Amazônica**, v. 40, n. 3, p. 597-604, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0044-59672010000300021>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/aa/v40n3/21.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2019.

SEN, G.; KARAYTUG, S. Effects of Lead and Selenium Interaction on Acetylcholinesterase Activity in Brain and Accumulation of Metal in Tissues of *Oreochromis niloticus* (L., 1758). **NEsciences – Natural and Engineering Sciences**, v. 2, n. 2, p. 21-32, 2017. DOI: 10.28978/nesciences.328857. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/323248017>. Acesso em: 15 fev. 2020.

SILVA, E. M. P.; MELO, M. P.; OLIVEIRA, R. H. F.; PUGINE, S. M. P. Atividade da catalase e da lactato desidrogenase em tilápias submetidas a estresse de confinamento: efeito da cor do ambiente. **Ciência Rural**, v. 42, n. 5, p. 894-899, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000500022>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cr/v42n5/a14912cr5347.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2019.

URBINATI, E. C., OCHOA, A. I. S.; CAMARGO, A. C. S.; CARVALHO, E. G.; SOUZA, V. L.; GONÇALVES, F. D. **Manejo alimentar e reprodução em peixes**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, 14 p., 2015. Disponível em: <https://www.passeidireto.com/arquivo/61706143/manejo-alimentar-e-reproducao-em-peixes/4>. Acesso em: 15 dez. 2019.

VAN DIJK, P. L. M.; HARDEWING, I.; HÖLKER, F. Energy reserves during food deprivation and compensatory growth in juvenile roach: the importance of season and temperature. **Journal of Fish Biology**, v. 66, p. 167-181, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2005.00590.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.0022-1112.2005.00590.x>. Acesso em: 28 nov. 2018.

VASYLKIV, O. Y.; KUBRAK, O. I.; STOREY, K. B.; LUSHCHAK, V. I. Catalase activity as a potential vital biomarker of fish intoxication by the herbicide aminotriazole. **Pesticide Biochemistry and Physiology** v. 101, p. 1-5, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.05.005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048357511000952>. Acesso em: 30 jun. 2019.

WAAGBØ, R.; JØRGENSEN, S. M.; TIMMERHAUS, G.; BRECK, O.; OLSVIK, P. A. Short-term starvation at low temperature prior to harvest does not impact the health and acute stress response of adult Atlantic salmon. **PeerJ**, p. 1-22, 2017. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.3273>. Disponível em: <https://peerj.com/articles/3273/>. Acesso em: 12 fev. 2020.

WALLIN, B.; ROSEGREN, B.; SHERTZER, H. G.; CAMEYO, G. Lipoprotein oxidation and measurement of TBARS formation in a single microtiter plate: its use for evaluation of antioxidants. **Analytical Biochemistry**, v. 208, n. 1, p. 10-15, 1993. DOI: 10.1006/abio.1993.1002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8434778/>. Acesso em: 20 dez. 2018.