ALINE DAL'OLIO GOMES

Influência da eutrofização do ambiente na transferência trófica de ácidos graxos ao longo do ciclo reprodutivo de peixes com diferentes hábitos alimentares

"Influence of the environment eutrophication in the trophic transfer of fatty acids throughout the reproductive cycle of fish with different feeding habits"

Versão corrigida

São Paulo 2014

ALINE DAL'OLIO GOMES

Influência da eutrofização do ambiente na transferência trófica de ácidos graxos ao longo do ciclo reprodutivo de peixes com diferentes hábitos alimentares

"Influence of the environment eutrophication in the trophic transfer of fatty acids throughout the reproductive cycle of fish with different feeding habits"

> Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo para obtenção do título de doutor em Ciências na área de Fisiologia Geral.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Guimarães Moreira Whitton

São Paulo 2014 Gomes, Aline Dal'Olio

Influência da eutrofização do ambiente na transferência trófica de ácidos graxos ao longo do ciclo reprodutivo de peixes com diferentes hábitos alimentares / Aline Dal'Olio Gomes; Orientadora: Profa. Dra. Renata Guimarães Moreira Whitton – São Paulo, 2014. 144 pág.

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

Ácidos graxos; 2. Ciclo reprodutivo; 3. Eutrofização; 4. Peixes; 5. Transferência trófica.
I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Fisiologia.

Comissão Julgadora

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Profa. Dra. Renata G. Moreira Whitton Universidade de São Paulo – Instituto de Biociências

"Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade."

Marie Curie

Aos meus pais por todo o esforço, dedicação e compreensão em todos os momentos desta e de outras caminhadas. Ao meu querido Kadu por todo amor, paciência e companheirismo. Aos meus avós, Genyr Ondei Pina e Américo Dal'Olio (in memorian), que mesmo sem entender sempre torceram muito comigo por esse dia.

Dedico.

Neste espaço, gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos a todos que colaboraram, direta ou indiretamente, para a concretização deste trabalho e de minha formação.

À Profa. Dra. Renata Guimarães Moreira Whitton, de quem me sinto honrada e orgulhosa por ter sido sua aluna durante todos esses anos. Obrigada pela oportunidade, orientação, paciência, por ser tão competente e acima de tudo tão humana, sabendo sempre valorizar o que temos de melhor e nos encorajar a melhorar o que nos falta. Obrigada pela realização desse trabalho, por sempre acreditar que tudo seria possível, confiar em mim, e ainda por compartilhar não apenas o seu conhecimento científico e cultural, mas também vários dos seus momentos. Deixo aqui expressa toda a minha gratidão, admiração e respeito pela orientadora e mulher que é. Será sempre a minha chefe querida. Estendo esse agradecimento ao Ricardo Whitton, quem compartilha das angústias e alegrias conosco.

Ao Carlos Eduardo Tolussi (Kadu), meu companheiro em todos os momentos, quem idealizou e realizou esse trabalho junto comigo e, portanto, partilhamos o prazer de exercer a mais bela das profissões. Parte dessa vitória é sua também e apesar dos atritos, vencemos essa etapa e fizemos um ótimo trabalho juntos. Obrigada por me fazer acreditar que tudo vale a pena, por estar sempre ao meu lado me apoiando e principalmente por nunca me deixar desanimar e desistir, sempre me encorajando diante dos grandes obstáculos, me ajudando a crescer pessoal e profissionalmente. Você é uma pessoa maravilhosa, de quem me orgulho e admiro muito, muito mesmo. Obrigada por todo carinho e pela paciência.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, e à FAPESP, Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (Processos: 2010/50555-0, bolsa de doutorado e 2012/50371-2, auxílio regular), pelo auxílio financeiro ao desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcelo L. M. Pômpeo, do Departamento de Ecologia do IB/USP, por todo o auxílio na elaboração desse estudo e no decorrer dele. Agradeço por abrir as portas do seu laboratório, emprestar materiais e por todas as sugestões. Estendo esse agradecimento a sua aluna Maíra Cortez pela identificação fitoplanctônica e todas as trocas de informações que tivemos. Ao Felipe Spina Avino da Secretaria do Verde e Meio Ambiente, responsável pela Área de Proteção da APA Bororé-Colônia, por todo o apoio e incentivo para a realização desse trabalho, apresentando todas as informações sócio-ambientais do braço Taquacetuba, incluindo o contato com a Associação de Pescadores.

Aos pescadores Evaldo Bizarrias e Milton Nunes Santana pela grande colaboração desde o início desse trabalho nos auxiliando sobre os locais de coleta, a escolha das espécies de estudo, capturando os peixes, coletando água, dividindo conosco um pouco da grande experiência que adquiriram no dia-a-dia da pesca.

Ao Dr. Renato Massaaki Honji pelas análises histológicas, pranchas, discussões sobre esse trabalho e pela grande paciência em me socorrer a todo o momento. Honji, meu amigo querido, espero que essa parceria seja eterna.

À Profa. Dra. Fabiana L. Lo Nostro da Universidade de Buenos Aires pela paciência e dedicação nos auxiliando a desvendar o grande mistério da reprodução do lambari. Sinto-me muito honrada por tê-la em nosso grupo de colaboradores, além da grande amizade que construímos.

Ao Dr. Ricardo Y. Tsukamoto por todas as sugestões relacionadas às análises de água, identificação fitoplanctônica e demais contribuições.

Ao Prof. Luiz Martinelli da ESALQ pelas análises de isótopos estáveis.

À querida amiga Roberta Ferrari Mourão, que se tornou minha "manager" por um tempo. Agradeço imensamente por toda ajuda, ensinamentos em "Molecula**r**", pela persistência em tentar fazer tudo dar certo e, o melhor, me fazer acreditar que seria possível. Mesmo que nada tenha dado certo de verdade, adquiri muito conhecimento e obrigada por isso, além (claro!) de toda a amizade desses anos.

À Profa. Dra. Ana Lúcia Brandimarte pela paciência em dedicar um pouco do seu tempo me auxiliando na identificação do conteúdo estomacal e por compartilhar comigo seu grande conhecimento na área de Ecologia de reservatórios.

Aos queridos Juan Manuel e Renato Nagata por pacientemente me ensinarem a usar e entender diferentes testes estatísticos, como ACP (Análise de Componentes Principais).

Aos professores do Depto. de Fisiologia do IB/USP pelas disciplinas ministradas, conversas, conselhos e ajuda nos mais diferentes quesitos durantes esses quatro anos. Um agradecimento especial aos professores doutores Silvia Cristina Ribeiro, José Guilherme, Fernando Ribeiro, Carlos Navas, Gisele Akemi, Márcio Custódio e Pedro Augusto.

A todos os funcionários do Instituto de Biociências pelos serviços prestados de forma competente, bem-humorada, por toda a ajuda e amizade. Agradeço principalmente à Suzi e Dilma, por deixarem os nossos dias mais produtivos com o seu café, e à Roseli, Gisele e Marcilene, secretarias no Depto. de Fisiologia, e ao Hélder, Érika, Shirlene e Lilian, secretarias do Programa de Pós-Graduação do IB.

Um agradecimento especial ao técnico Vagner Alberto, quem aguentou as minhas chatices e meus pedidos constantes durante todos esses anos, sempre participando das coletas, me auxiliando com o trabalho na bancada, além de ser um "faz-tudo", resolvendo todos os imprevistos do laboratório.

Aos meus queridos amigos do LAMEROA (Amanda Narcizo, Andreone Medrado, Bianca Kida, Bruno Cavalheiro, Cristiéle Ribeiro, Elena Galvanese, Carlos Eduardo Tolussi, Carlos Eduardo Garcia, Gabriela Brambila, Jandyr Rodrigues Filho, Jéssica Teske, Mariana Frias, Paulo Mello, Raísa Abdalla, Renato Honji, Roberta Ferrari, Tiago Gabriel, Thiago Silva, Vanessa Vieira, Walquíria Parreira e anexos, incluindo o nosso mascotinho João), quantas saudades já sinto e sentirei de vocês. Cada um com seu jeito especial, meigo, bruto, engraçado, sério, despojado, reclamão, sem noção e até bêbado, tornaram os meus dias mais leves e divertidos. Com vocês aprendi que a vida é muito mais do que apenas trabalho, é uma miscelânea de compromissos, responsabilidades, desafios, mas que deve ser, sobretudo, regada de bons momentos com amigos! Obrigada por fazerem sempre esses bons momentos superarem as angústias na minha incrível vivência nesse laboratório, o qual não permitiu desânimo nem tristeza! Não posso deixar de agradecer a toda a disposição e solidariedade que sempre tiveram (uns mais que os outros, rs!) em me ajudar nas coletas, em experimentos no laboratório, em prévias, discussões gerais ou sobre esse trabalho. Tenho certeza que a troca de informação que sempre fizemos contribuiu muito para a minha formação. Levarei vocês sempre comigo, minha família LAMEROA.

À grande amiga e parceira que fiz em todos esses anos de laboratório, Cristiéle Ribeiro, uma pessoa guerreira, dedicada, quem com muito esforço e merecimento alcançou o seu maior objetivo e hoje é um exemplo de perseverança e determinação. Aos amigos out-LAMEROA (Di, Lilian, Isabel, Inês, Carla-Skol, Leopoldo, Nathália, Eduardo-Popetar, Marcelo, Eduardo – técnico, Bruno Madio, Diego, Zé, Juan e Antônio) pela amizade, risadas, viagens, companhia, conversas à toa e científicas e por compartilhar todos as angústias e momentos desses 4 anos, incluindo participações em CCP, curso de inverno, disciplinas, bota-foras, qualificações, defesas, comemorações de Tetras, etc.

Não menos importantes, e eu diria imprescindíveis, àqueles que acompanharam todo esse trajeto, mesmo sem entender como, quando e por que:

À minha família que sempre esteve ao meu lado apoiando as minhas escolhas sem nunca criticá-las, mesmo quando no fundo não concordavam com elas. Vocês são o meu suporte, meu porto-seguro, a base que me fez ser o que sou. Aos meus pais e minha irmã obrigada por sempre acreditarem no meu trabalho e por tudo o que me ensinaram, e à toda a família (avós, avô, tias, tios, primos, primas, meu cunhado preferido e meu sobrinho tão querido e lindo) obrigada por tornarem os momentos em família tão felizes e agradáveis e por estarmos sempre juntos, mesmo nos momentos difíceis. Tudo o que eu escrever aqui será pouco para agradecer o que representam na minha vida. Amo todos vocês.

Aos meus queridos amigos de Mogi das Cruzes, Poá, Itaquá, Suzano e extremo da ZL, (rs!: Cristine, Marcus, Fabrício, Gabriel, Claudinha, tia Ilani, Elisa, Bandido, Victor, Alan, Aline, Danissa, Jú Suzuki e Alê), que durante essa fase me proporcionaram tantos momentos de alegrias e descontração. Às minhas queridas amigas de longa data (Carol, Jamile, Fábia, Marcela, Jú, Liz, Jana, Fran e Lisânias), pessoas com quem aprendi e vivi tantos momentos marcantes. Muito obrigada à vocês meninas que sempre foram tão presentes na minha vida e agora mesmo distantes continuam me apoiando, incentivando e torcendo por mim.

> Muito obrigada! Aline Dal'Olio Gomes

Índice Geral

Lista de abreviaçõesi		
Resumo Geraliii		
General abstractiv		
Introdução Geral e Objetivos		
	Introdução geral01	
	Objetivo geral07	
	Objetivos específicos07	
	Áreas de estudo08	
	Espécies modelo10	
	Referências Bibliográficas11	
Capítulo 1 - Caracterização limnológica e composição fitoplanctônica de dois reservatórios com diferentes graus de eutrofização		
	Resumo19	
	Introdução21	
	Materiais e Métodos23	
	Resultados25	
	Discussão	
	Conclusões	
	Referências Bibliográficas	
Capítulo 2 - Transferência trófica de ácidos graxos em um reservatório hipereutrófico tropical: evidência da retenção de ácidos graxos polinsaturados n3 em fêmeas de <i>A. fasciatus</i>		
	Resumo	
	Introdução40	
	Materiais e Métodos41	
	Resultados	
	Discussão	
	Conclusões	
	Referências Bibliográficas65	
	Apêndices72	

apítulo 3 - Transferência trófica de ácidos graxos a peixes carnívoros (<i>Halabaricus</i>) em um reservatório hipereutrófico tropical	Ioplias	
Resumo	92	
Introdução	94	
Materiais e Métodos	95	
Resultados	96	
Discussão	109	
Conclusões	113	
Referências Bibliográficas	113	
Apêndices	118	
Dicussão geral		
Discussão geral	136	
Referências bibliográficas	140	

Lista de abreviações

- ACP Análise de Componentes Principais
- Af Astyanax fasciatus
- ARA ácido araquidônico do inglês "arachidonic acid"
- BFA ácido graxo de cadeia ramificada do inglês "branched fatty acid"
- Bil braço Taquacetuba do reservatório Billings, local hipereutrófico
- C18 18 carbonos (ácidos graxos de cadeia curta)
- C20-22 20-22 carbonos (ácidos graxos de cadeia longa)
- CE conteúdo estomacal
- CETESB Companhia Tecnológica de Saneamento Ambiental
- CG cromatógrafo gasoso
- Cl clorofila a
- COD carbono orgânico dissolvido
- CONAMA Conselho Nacional do Meio Ambiente
- COT carbono orgânico total
- DHA- ácido docosahexaenoico do inglês "docosahexaenoic acid"
- DP desvio padrão
- EFA ácido graxo essencial do inglês "essential fatty acid"
- EMAE Empresa Metropolitana de Águas e Energia
- EPA ácido eicosapentaenoico do inglês "eicosahexaenoic acid"
- FA ácido graxo do inglês "fatty acid"
- Fl fosfolipídio

FT - fósforo total

Hm – Hoplias malabaricus

HUFA - ácidos graxos altamente insaturados do inglês "highly unsaturated fatty acid"

- IET índice do estado trófico
- IGaS índice gastrossomático
- IGS índice gonadossomático
- IHS índice hepatossomático
- IVA índice de proteção da vida aquática
- IVS índice viscerossomático
- Ln logaritmo neperiano
- MUFA ácido graxo monoinsaturado do inglês "monounsaturated fatty acid"

- n3 ômega 3
- n6 ômega 6
- n9 ômega 9
- OD oxigênio dissolvido
- OFA ácido graxo ímpar do inglês "odd fatty acid"
- PN-reservatório de Ponte Nova, local referência
- PUFA ácido graxo polinsaturado do inglês "polyunsaturated fatty acid"
- RMSP Região Metropolitana de São Paulo
- SABESP Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo
- SAISP Serviço de Alerta a Inundações do Estado de São Paulo
- SFA ácido graxo saturado do inglês "saturated fatty acid"
- ST substâncias tóxicas
- TA tecido adiposo
- Tg-triacilglicerol
- T° temperatura
- UI índice de instauração do inglês "unsaturation index"
- VE variáveis essenciais
- δ 13C isótopo de carbono 13
- δ 15N isótopo de nitrogênio 15

Resumo Geral

O objetivo do presente estudo foi investigar como o grau de trofia dos reservatórios interfere na transferência trófica de ácidos graxos (FA) aos peixes teleósteos de hábitos alimentares distintos, relacionando os principais FAs considerados biomarcadores à sua importância em processos bioquímicos. Para isso, fêmeas adultas de Astyanax fasciatus, uma espécie onívora, e Hoplias malabaricus, uma espécie carnívora, foram amostradas durante um ano em dois reservatórios com diferentes graus de trofia na região metropolitana de São Paulo: Ponte Nova, considerado o reservatório referência, e o braco Taquacetuba no reservatório Billings, local hipereutrófico. O perfil de FAs do séston, conteúdo estomacal e dos triacilgliceróis (Tg) e fosfolipídios (Fl) teciduais foram analisados por cromatografia gasosa. Como um reflexo do perfil de FAs do séston, juntamente com o conteúdo estomacal, foi possível observar um predomínio de ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) n6, como C18:2n6 e ARA (ácido araquidônico), e do FA C18:1n9 na maioria dos tecidos analisados das fêmeas de A. fasciatus no reservatório referência, enquanto houve maior porcentagem de HUFAs (ácidos graxos altamente insaturados) n3, principalmente EPA (ácido eicosapentaenoico) e DHA (ácido docosahexaenoico) nos tecidos das fêmeas coletadas no reservatório hipereutrófico, resultando em alterações nas razões n3/n6 e EPA/ARA nesses animais. O mesmo padrão de deposição dos FAs foi observado nos tecidos das fêmeas de H. malabaricus, como resultado do perfil de FAs da sua presa potencial. Contudo, o desbalanço entre as diferentes classes de PUFAs observado entre os reservatórios parece ser menor para essa espécie, não refletindo em alterações na razão EPA/ARA. Deste modo, as alterações ambientais interferiram no perfil de FAs do séston das áreas em questão e, consequentemente, na composição de FAs do alimento disponível para os níveis tróficos superiores. Este fato refletiu em modificações no perfil de FAs teciduais dos peixes dos diferentes ambientes, podendo interferir em uma gama de processos bioquímicos envolvidos com essas moléculas. Contudo, essas alterações parecem ter um efeito menor em espécies carnívoras do que onívoras.

General abstract

The aim of this study was to investigate how the reservoirs eutrophication degree interferes with the trophic transfer of fatty acids (FA) to teleost fish with different feeding habits, relating the major FAs considered biomarkers to their importance in biochemical processes. For this purpose, adult females of Astyanax fasciatus, an omnivorous species, and Hoplias malabaricus, a carnivorous species, were sampled for one year in two reservoirs with different eutrophication degree in the metropolitan region of São Paulo: Ponte Nova, considered a reference reservoir, and the arm Taquacetuba from Billings reservoir, an hypereutrophic site. The FA profile of seston, stomach content and tissue triglycerides (TG) and phospholipids (PL) were analyzed by gas chromatography. As a result of the sestonic FAs profile and of stomach contents, was possible to observe a predominance of n6 polyunsaturated fatty acids (PUFA), such as C18:2n6 and ARA (arachidonic acid), and FA C18:1n9 in most analyzed tissues of A. fasciatus females from reference reservoir, while there was a higher percentage of n3 HUFAs (highly unsaturated fatty acids), especially EPA (eicosapentaenoic acid) and DHA (docosahexaenoic acid) in tissues of females from hypereutrophic reservoir, resulting in changes in the n3/n6 and EPA/ARA ratios in these animals. The same pattern of FAs deposition can be observed in the tissues of *H. malabaricus* females, as a result of the FAs profile of its potential prey, A. fasciatus. However, the imbalance of different classes of PUFAs observed between reservoirs appears to be lower, not resulting in changes in the EPA/ARA ratio in these carnivorous animals. Thus, environmental changes interfered with the FAs profile of seston in the fields, and then in the composition of FAs food available to higher trophic levels. This fact reflected in changes in the FAs profile of tissue Tgs and Fls of fish from different environments, and it can interfere in a range of biochemical processes involved with these molecules. On the other hand, these changes seem to have a lower effect in carnivorous species than omnivorous.

1

1. Introdução Geral

1.1 Estrutura e função dos ácidos graxos

A maioria dos lipídios é composta por ácidos graxos (FA), que são ácidos carboxílicos com cadeias hidrocarbonadas contendo de 4 a 36 átomos de carbono, sendo normalmente encontrados na natureza com cadeias entre 16 e 22 carbonos. Esta cadeia pode ser totalmente saturada (ácidos graxos saturados - SFA), conter uma (ácidos graxos monoinsaturados - MUFA) ou mais insaturações (ácidos graxos polinsaturados - PUFA) (Kakela *et al.*, 1995; Nelson e Cox, 2005). Dentre os PUFAs há ainda outra classe denominada de HUFAs (ácidos graxos altamente insaturações (Tocher, 2003). Uma forma comum e muito utilizada para nomear os FAs é escrever o número de átomos de C que compõem a cadeia, seguido por 2 pontos e então o número de duplas ligações e a posição da primeira dupla ligação, contando a partir do final metil da molécula (Fig. 1). A posição da primeira dupla ligação (n=ômega) no final metil é de fundamental importância biológica (Thomasson, 1962).



Figura 1: Exemplo do tipo de nomenclatura utilizada para nomear os ácidos graxos, sendo baseado no número de carbonos, número de duplas ligações e na posição da primeira dupla ligação (destacadas nos círculos) (Modificado de Schreiner, 2003).

Durante o processo de biossíntese dos FAs, as enzimas que catalisam a adição de uma dupla ligação em sua cadeia são denominadas dessaturases e são encontradas em quase todas as células viventes. As dessaturases são enzimas específicas ao local de atuação na cadeia de hidrocarbonetos, por exemplo, a enzima delta (Δ) 9 insere uma dupla ligação apenas entre os carbonos 9 e 10 da cadeia de ácido graxo (Heinz, 1993). No processo de biossíntese de longas cadeias de ácidos graxos polinsaturados (HUFAs), as diferentes dessaturases atuam juntamente com elongases, enzimas responsáveis pela adição de carbonos aos pares na cadeia, inserindo uma série consecutiva de dessaturações e elongações na molécula (Pereira et al., 2003). Em geral, todos os organismos eucarióticos possuem uma enzima dessaturase que insere uma dupla ligação no carbono 9 de um ácido graxo saturado. A ação desta dessaturase $\Delta 9$ em C16:0 e C18:0 produz C16:1n9 e C18:1n9 respectivamente (Henderson, 1996) (Fig. 2). No entanto, apesar dos animais poderem sintetizar esses MUFAs, eles não possuem as dessaturases $\Delta 12$ e $\Delta 15$, presentes somente em algas e plantas vasculares, que dessaturam C18:1n9 a C18:2n6 (ácido linoléico) e C18:3n3 (ácido α-linolênico), respectivamente (Fig. 2), os primeiros PUFAs da série n6 e n3. Consequentemente, os animais, incluindo os peixes, são incapazes de sintetizar PUFAs de precursores não lipídicos (síntese de novo), assim, os ácidos linoléico e α -linolénico são ácidos graxos essenciais (EFA) e devem ser obtidos diretamente da dieta (Henderson, 1996; Hasting et al., 2001).

Os EFAs podem ser elongados e dessaturados por uma sequência de passos que envolvem a ação de elongases e dessaturases $\Delta 5 e \Delta 6$, produzindo os HUFAs n6 e n3 com 20 e 22 carbonos, como C20:4n6 (ácido araquidônico - ARA) e C20:5n3 (ácido eicosapentaenoico – EPA) e C22:6n3 (ácido docosahexaenoico – DHA) (Fig. 2), que são os HUFAs ativos fisiologicamente (Hasting *et al.*, 2001). É importante notar que os organismos nos ecossistemas aquáticos diferem em sua habilidade de produzir HUFAs e que o grau de síntese desses FAs a partir de PUFAs C18 é dependente da atividade de dessaturases e/ou elongases e, por sua vez, isto pode ser dependente dos HUFAs disponíveis na dieta. De modo geral, os peixes de água doce têm a atividade da $\Delta 5$ e $\Delta 6$ dessaturases funcionais e podem converter os EFAs a HUFAs n6 e n3 (Fig. 2), como ARA, e EPA e DHA, respectivamente (Henderson, 1996).



Figura 2: Padrão de biossíntese de FAs em vertebrados, incluindo peixes, mostrando a participação de enzimas elongases (elo) e dessaturases (Δ). Os SFAs e MUFAs podem ser sintetizados por todos os eucariotos por síntese *de novo*, enquanto os PUFAs C18 n6 e n3 são sintetizados apenas por vegetais (em destaque). Os HUFAs n6 e n3 (sublinhados), importantes fisiologicamente, podem ser sintetizados pelos animais a partir da obtenção dos PUFAs C18 da dieta.

Os lipídios mais simples construídos a partir de ácidos graxos são os triacilgliceróis (Tg), compostos por 3 ácidos graxos unidos por uma ligação éster ao glicerol. Nos vertebrados, os adipócitos armazenam grande quantidade de triacilgliceróis como gotículas de gordura, atuando como a principal fonte de energia metabólica para o crescimento, reprodução e natação. Os SFAs e MUFAs são altamente catabolizados para a produção de energia, enquanto os HUFAs tendem a ser preservados (Tocher, 2003). Outra importante classe de lipídios é a dos fosfolipídios (Fl), nos quais dois ácidos graxos estão unidos em ligação éster ao carbono 1 (C1) e C2 do glicerol e um outro grupo, altamente polar, está ligado por meio de uma ligação fosfodiéster ao C3. Esses compostos são os principais componentes de membranas biológicas e lipoproteínas (Schreiner, 2003). Os HUFAs são importantes componentes dos fosfolipídios, sendo responsáveis pela regulação da fluidez de membrana. Deste modo, a atividade de muitas proteínas é susceptível às mudanças em função da composição dos FAs presentes nos Fls de membrana (Crockett e Hazel, 1997). Else e Wu

(1999) encontraram uma grande correlação entre a composição dos FAs de membrana e a atividade molecular da Na⁺K⁺ATPase investigada no rim e cérebro de mamíferos, aves, répteis e anfíbios. O mecanismo pelo qual a composição lipídica da membrana afeta a atividade enzimática é complexo, e as características físicas da membrana, como o grau de "empacotamento" dos FAs, frações de fosfolipídios presentes, dentre outras características, modulam esta atividade (Turner *et al.*, 2003).

Além de serem importantes constituintes das principais classes de lipídios, os HUFAs n3 e n6 participam de importantes funções biológicas. O DHA é especialmente abundante na retina e cérebro, tendo uma grande importância na estrutura e função das membranas celulares. Juntamente com o EPA, esses FAs participam dos processos reprodutivos influenciando na qualidade dos ovos, desova e sobrevivência larval (Sorbera et al., 2001; Moreira et al., 2003; Schreiner et al., 2005). A deficiência de DHA na dieta das larvas de peixes pode causar prejuízos neurais e visuais no processo ontogenético (Izquierdo et al., 2000). Além disso, os eicosanoides, como prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, são uma classe de moléculas oxigenadas, derivadas de HUFAs com 20 carbonos, como o ARA e EPA, liberados dos fosfolipídios de membrana pela ação da fosfolipase A2. É bem reportado que esses compostos atuam como hormônio local ou moléculas sinalizadoras no controle da inflamação, imunidade (Arts e Kohler, 2009) e reprodução (Wathes et al., 2007). Em geral, as prostaglandinas da série 2 (PG2) produzidas do ARA parecem ser mais potentes na regulação esteroidogênica (Goetz et al., 1989; Wade e Van Der Kraak, 1993a, b; Knight et al., 1995) e na resposta imune (Lall, 2000) do que as PGs da série 3, produzidas a partir do EPA. Adicionalmente, em peixes o ARA é requerido para a síntese do cortisol, um componente importante na resposta de estresse (Ganga et al., 2006). Deste modo, a composição dos Tgs, Fls e a ação dos eicosanoides podem ser diretamente afetadas pela ingestão de HUFAs n6 e n3 na dieta (Henderson, 1996; Tocher, 2003).

1.2 Ácidos graxos na cadeia trófica

A grande diversidade dos ácidos graxos e seus processos bioquímicos têm proporcionado estudos em diversas áreas da pesquisa, estendendo-se desde avaliações nutricionais de dietas às investigações das interações tróficas e estrutura dos ecossistemas (Budge *et al.*, 2006). Ao longo das últimas cinco décadas, os FAs têm se tornado uma ferramenta potencial para delinear relações tróficas, traçando a origem e a trajetória da matéria orgânica no ecossistema (Ackman e Eaton, 1966; Saliot *et al.*, 1991; Parrish *et al.*, 1995; Napolitano *et al.*, 1995; Desvilettes *et al.*, 1997; Napolitano, 1999; Falk-Petersen *et al.*,

2004; Müller – Navarra *et al.*, 2004; Alfaro *et al.*, 2006; Gomes *et al.*, 2010; Gladyshev *et al.*, 2012) além de ser uma técnica poderosa para a avaliação quantitativa das dietas de predadores (Iverson *et al.* 2001; Budge *et al.*, 2002; Iverson *et al.*, 2004).

As algas são a base da cadeia trófica dos ecossistemas aquáticos, sendo essencialmente os únicos organismos que possuem, como já mencionado, as enzimas necessárias à produção de PUFAs n6 e n3 com 18 carbonos, os chamados ácidos graxos essenciais (EFAs). Esses compostos são importantes biomarcadores, pois incluem os FAs que são assimilados pelos animais em sua dieta ao longo de toda a cadeia trófica (Volkman *et al.*, 1998; Napolitano, 1999). As microalgas de água doce, como diatomáceas e clorófitas, apresentam grandes quantidades de PUFAs C16 e PUFAs C18 n3, como C16:4n3 e C18:3n3, respectivamente (Volkman *et al.*, 1989, 1998). Alternativamente, os FAs C18:2n6 e C18:3n3 são também encontrados em elevadas quantidades na maioria das plantas terrestres, podendo também ser usados como biomarcadores desses vegetais (Parrish *et al.*, 2000). Por outro lado, dinoflagelados, criptófitas e diatomáceas são praticamente as únicas fontes de EPA e DHA nos sistemas de água doce (Brett *et al.*, 2009). Outros biomarcadores incluem os FAs ímpares como C15:0 e C17:0, e todos os FAs de cadeia ramificada, que são produzidos primariamente por bactérias (Volkman *et al.*, 1998; Parrish *et al.*, 2000).

Organismos do zooplâncton apresentam grande habilidade em sintetizar ácidos graxos monoinsaturados de cadeia longa, como C20:1 e C22:1 (Parrish et al., 2000), além de possuírem uma grande capacidade de acúmulo e retenção dos FAs EPA e DHA, sendo uma importante ligação entre os níveis tróficos inferiores e superiores (Kainz et al., 2004; Brett et al., 2009; Gladyshev et al., 2011). De modo geral, os produtores primários apresentam um padrão de FAs específico em seus tecidos e estes FAs podem ser transferidos aos organismos de níveis tróficos superiores (Dalsgaard et al., 2003). Considerando que alguns FAs são conservativos e incorporados nos tecidos dos consumidores sem modificações, e outros podem ser transformados bioquimicamente (Arts et al., 2009), a habilidade para utilizar um único FA para traçar a transferência do alimento ao longo da cadeia alimentar é reduzida com o aumento do nível trófico (Iverson, 2009). Assim, a combinação de diferentes FAs ou outras moléculas, como isótopos estáveis, pode servir como biomarcadores de níveis tróficos superiores (Alfaro et al., 2006; Stowasser et al., 2009; Gladyshev et al., 2012). Os isótopos estáveis mostram um enriquecimento da presa ao predador e então indicam a posição relativa de uma espécie dentro da cadeia trófica (Rau et al., 1983), por exemplo, o 815N tende a se acumular e aumentar em cada nível trófico, enquanto o $\delta 13C$ prove informações sobre a fonte de produção primária no ecossistema (Gu e Alexander, 1996).

1.3 Problemática ambiental

Os ecossistemas aquáticos têm sido fortemente afetados por atividades antrópicas, as quais, ao longo do tempo, têm causado consequências deletérias à biota (Linde-Arias *et al.*, 2008). No Brasil, e na maioria dos países em desenvolvimento, a maior parte do esgoto bruto é lançada nos corpos d'água sem nenhum tratamento prévio, e esse grande aporte de matéria orgânica e poluentes têm sido relatado como o principal responsável pela eutrofização de uma grande variedade de ambientes aquáticos (Tundisi, 2003). À medida que as concentrações de nutrientes aumentam na água, há o aumento da produção orgânica do sistema, com elevação da biomassa fitoplanctônica e consequente diminuição da penetração de luz (Esteves, 1998). Nesse estágio, o ecossistema pode produzir mais do que consumir e decompor, com profundas mudanças no metabolismo de todo o sistema e nas concentrações de oxigênio nas camadas superiores, devido à decomposição bacteriana da matéria orgânica no sedimento (Margalef, 1983).

Deste modo, a composição fitoplanctônica e microbiana (Palmer et al., 1994) é influenciada por diversos fatores bióticos e abióticos (Reynolds, 2006) e há muito tempo tem sido utilizada como indicadora da qualidade ambiental (Rawson, 1965; Ferreira e Rocha, 1988; Cavalcanti et al., 1999; Mariani et al., 2006). Alguns grupos de organismos planctônicos possuem tolerâncias específicas para variações de luz, temperatura, nutrientes e fatores biológicos como competição e predação, e o crescimento populacional se dá mais rapidamente para uma ou outra espécie, dependendo da combinação desses fatores no ambiente (Wetzel, 2001). Assim, as alterações em grande escala no ecossistema, como eutrofização, estão frequentemente associadas às alterações na estrutura de comunidades biológicas, o que pode afetar os padrões de fluxo de energia e nutrientes, incluindo os ácidos graxos, ao longo das cadeias alimentares. Em geral é conhecido que o processo de eutrofização resulta em uma diminuição de táxons ricos em EPA e DHA, como diatomáceas, criptófitas e dinoflagelados (Brett e Muller-Navarra, 1997), por táxons pobres nesses HUFAs como clorófitas e principalmente as cianobactérias (Muller-Navara et al., 2004), de modo que disponibilidade de HUFAs n3 diminui ao longo da cadeia trófica, podendo ocasionar prejuízos aos peixes (Arts e Kohler, 2009).

O intenso processo de eutrofização e o consequente *bloom* de cianobactérias presentes em reservatórios da região metropolitana de São Paulo (RMSP), atrelado a sua importância ecológica e social, faz desse ambiente um interessante modelo de estudo para avaliar a transferência trófica de ácidos graxos ao longo da cadeia alimentar. Com base nisso, hipotetiza-se que a diminuição de organismos fitoplanctônicos ricos em HUFAs n3 em reservatórios eutróficos poderá acarretar em deficiência desses FAs ao longo da cadeia trófica, resultando em alterações no perfil desses compostos nos tecidos de peixes ao longo do ano.

2. Objetivo geral

O principal objetivo desse estudo foi investigar como o grau de trofia dos reservatórios interfere na transferência trófica de ácidos graxos aos peixes teleósteos de hábitos alimentares distintos, relacionando os principais FAs considerados biomarcadores à sua importância nos processos bioquímicos.

2.1 Objetivos específicos

1) Relacionar a influência das características físicas, químicas e biológicas da água, com o perfil de FAs do séston de dois reservatórios da RMSP com diferentes graus de trofia;

2) Comparar a transferência trófica dos FAs às fêmeas de *A. fasciatus*, uma espécie onívora, e *H. malabaricus*, uma espécie carnívora, nos diferentes reservatórios;

3) Identificar o nível trófico de ambas as espécies dentro da cadeia respectiva utilizando os isótopos estáveis;

4) Analisar a influência da transferência trófica na composição dos FAs ovarianos ao longo do ciclo reprodutivo nas fêmeas de *A. fasciatus* e *H. malabaricus* nos diferentes reservatórios;

5) Verificar se as alterações no perfil de FAs dos fosfolipídios branquiais correlacionamse com a atividade da bomba de Na⁺K⁺ATPase nas fêmeas de *A. fasciatus* e *H. malabaricus* nos diferentes reservatórios.

A presente tese foi organizada em 3 capítulos, cada um com objetivos, hipóteses e conclusões específicas, estando no formato para possíveis publicações. O capítulo 1 foi organizado para uma melhor compreensão e caracterização dos ambientes de estudo. Os capítulos 2 e 3 possivelmente serão submetidos à *Freshwater Biology*.

A área de estudo compreendeu dois importantes reservatórios da Bacia Hidrográfica do Rio Tietê localizados na RMSP (Fig. 3).



Figura 3: a-b) Mapa da sub-bacia do Tietê, no Estado de São Paulo (Brasil), mostrando a localização das áreas de estudo: c) o reservatório de Ponte Nova (PN), considerado o local referência, e d) o reservatório Billings (BIL), destacando o braço Taquacetuba, considerado o local hipereutrófico.

O reservatório de Ponte Nova (Fig. 4A), localizado entre os municípios de Salesópolis e Biritiba Mirim no Estado de São Paulo, a 35 Km da nascente do Rio Tietê (Marceniuk e Hilsdorf, 2010) possui uma área de drenagem de 320 Km² e um espelho d'água de 25.7 Km². A barragem foi construída em 1972 com o objetivo de controlar as enchentes e possibilitar condições de navegabilidade ao Rio Tietê, além de permitir a recuperação de várzeas e o abastecimento de água (Schroeder- Araújo, 1980), que ainda é utilizado hoje como parte do Sistema Produtor Alto Tietê, abastecendo 3.3 milhões de pessoas na RMSP (SABESP, 2014). Originalmente, a região da bacia das cabeceiras do Rio Tietê era ocupada por Mata Atlântica, com predominância de Floresta Ombrófila Densa, mata ciliar e várzeas ao longo do curso d'água. Atualmente, a região encontra-se sob forte pressão ambiental devido ao intenso processo de urbanização e atividade agrícola. Contudo, essa região da bacia ainda reúne áreas de mananciais sob proteção ambiental contendo regiões parcialmente preservadas (Marceniuk e Hilsdorf, 2010).



Figura 4: Vista aérea A) do reservatório de Ponte Nova e B) do reservatório Billings. C) Braço Taquacetuba com alto grau de eutrofização em dezembro de 2012.

O reservatório Billings (Figs. 4B e C) está localizado em uma região que abrange os municípios de São Paulo, Santo André, São Bernardo do Campo, Diadema, Ribeirão Pires e Rio Grande da Serra, e foi construído em 1927 para estabelecer o nível de água do Rio das Pedras e assegurar um fluxo contínuo de água para as plantações nas cidades próximas (Mariani et al., 2006). Na década de 40 seu percurso foi alterado para atuar na regulação do fluxo de água do Rio Tietê, o qual chega via Rio Pinheiros. Além disso, é utilizado para a geração de energia elétrica e abastecimento público de água (EMAE, 2002), sendo considerado o segundo maior reservatório de água da RMSP, com uma área de drenagem de 1560 Km² e um espelho d'água de 106.6 Km². O complexo Billings é caracterizado por uma intensa ação antrópica, como lançamentos de esgotos domésticos e efluentes industriais, desmatamento, além da grande ocupação desordenada do solo. O reservatório possui sete braços, apresentando características bióticas e de poluição espacialmente diferenciadas. No presente estudo, as coletas foram realizadas no Braço Taquacetuba (Figs. 3 e 4C), região de grande importância para o abastecimento de água de São Paulo, mas já considerado em estado hipereutrófico, devido às contaminações por metais pesados e constantes florações de cianobactérias (Mariani e Pômpeo, 2008; Moschini-Carlos et al., 2010).

4. Espécies modelo

As duas espécies de peixes eleitas para o presente trabalho possuem biologia reprodutiva e hábito alimentar diferentes: *Astyanax fasciatus* e *Hoplias malabaricus*.

A. fasciatus (Fig. 5) (Characiformes, Characidae), popularmente conhecido como lambari do rabo-vermelho, possui distribuição geográfica por toda a América Central e América do Sul, sendo uma espécie nativa da região do Alto Tietê (Marceniuk e Hilsdorf, 2010). O gênero Astyanax apresenta, aparentemente, pouca diferenciação morfológica, ecológica e comportamental, sugerindo um grupo em especiação recente (Gurgel, 2004). É uma espécie de pequeno porte com comprimento médio entre 10 e 20 cm, possui grande importância como elo na cadeia alimentar devido ao seu hábito alimentar onívoro, com tendência insetívora e zooplanctívora, além da sua participação como forrageiro de espécies carnívoras (Vilella et al., 2002; Gurgel, 2004). Com relação as características reprodutivas, A. fasciatus apresenta desova do tipo total múltipla (Barbieri e Barbieri, 1988; Barbieri et al., 1996; Gurgel, 2004) e realiza curtas migrações durante o período reprodutivo (Godoy, 1959; Gery, 1977), contudo essa espécie possui uma alta plasticidade reprodutiva, podendo apresentar desova do tipo parcelada de acordo com as características do ambiente onde vive (Silva et al., 2010). Deste modo, devido a sua ampla distribuição em águas limpas e poluídas, ao porte pequeno, hábito alimentar onívoro e estratégia reprodutiva com múltiplas desovas durante o ano, este lambari tem sido considerado como uma espécie e sentinela (Schulz e Martins-Júnior, 2000; Alberto et al., 2005; Carrasco-Letelier et al., 2006).



Figura 5: Fêmea adulta de Astyanax fasciatus

A traíra, *H. malabaricus* (Fig. 6) (Characiformes, Erythrinidae), é um teleósteo neotropical com uma ampla distribuição geográfica na América do Sul, ocorrendo em todas as bacias hidrográficas, com exceção da área transandina e dos rios da Patagônia (Fowler, 1950; Godoy, 1975; Oyakawa, 2003). *H. malabaricus* é encontrada preferencialmente em ambientes lênticos, como açudes, lagos, barreiros e riachos (Uieda, 1984; Casatti *et al.*, 2001) e a ampla dispersão da espécie em diferentes locais é devida a sua habilidade em sobreviver em ambientes hipóxicos e tolerar longos períodos de jejum (Paiva, 1974; Baldisseroto, 2002). Adicionalmente, outra importante característica que reflete esses ajustes às condições impostas pelo ambiente é a sua alta plasticidade reprodutiva (Marques *et al.*, 2001). *H. malabaricus* é uma espécie essencialmente carnívora, mais especificamente ictiófaga, preferindo lambaris, piabas e acarás (Vieira e Lopes, 2005). As características descritas para *H. malabaricus* faz desta espécie uma importante bioindicadora de ambientes poluídos (Miranda, 2006; Lins *et al.*, 2010).



Figura 6: Fêmea de Hoplias malabaricus

Referências bibliográficas

- Ackman, R.G.; Eaton, C.A. 1966. Lipids of the fin whale (*Balaenoptera physalus*) from north Atlantic waters. III. Occurrence of eicosenoic and docosenoic fatty acids in the zooplankter *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars) and their effect on whale oil composition. *Canadian Journal Biochemistry*, 44:1561–1566.
- Alberto, A.; Camargo, A.F.M.; Verani, J.R.; Costa, O.F.T.; Fernandes, M.N. 2005. Health variables and gill morphology in the tropical fish *Astyanax fasciatus* from a sewage-contaminate driver. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61:247–255.

- Alfaro, A.C.; Thomas, F.; Sergent, L.; Duzbury, M. 2006. Identification of trophic interactions within in estuarine foodweb (northern New Zealand) using fatty acid biomarkers and stable isotopes. *Estuarines, Coastal and Shelf Science*, 70:271–286.
- Arts, M.T.; Brett, M.T.; Kainz, M.J. 2009. Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer, New York, 380p.
- Arts, M.T.; Kohler, C.C. 2009. Health and condition in fish: the influence of lipids on membrane competency and immune response. *In:* Arts, M.T.; Brett, M.T.; Kainz, M.E. (eds). Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer (Publ.), New York, EUA, p. 237-256.
- Baldisserotto, B. 2002. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. Santa Maria: Ed. UFSM.
- Barbieiri, G.; Hartz, S.; Verani, J.R. 1996. O fator de condição e índice hepatossomático como indicadores do período de desova de Astyanax fasciatus Cuvier, 1819, da Represa do Lobo, São Paulo (Osteichthyes, Characidae). *Iheringia: Serie Zoologia*, 81:97-100.
- Barbieri, G. 1989. Dinâmica da reprodução de *Hoplias malabaricus* (Bloch,1974) (Osteichthyes, Erythrinidae) da Represa do Monjolinho, São Carlos/SP. *Revista Brasileira de Zoologia*, 6:225–233.
- Barbieri, G.; Barbieri, M.C. 1988. Curva de maturação, tamanho de primeira maturação gonadal e fecundidade de Astyanax bimaculatus Linnaeus, 1758 e Astyanax fasciatus, Cuvier, 1819, da Represa do Lobo, Estado de São Paulo (Osteichthyes, Characidae). Revista Ceres, Viçosa, 35(197): 64-77.
- Brett, M. T.; Muller-Navarra, D. C. 1997. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. *Freshwater Biology*, 38:483-499.
- Brett, M.T.; Muller-Navarra, D.C.; Person, J. 2009. Crustacean zooplankton fatty acid composition. *In:* Arts, M.T.; Brett, M.T.; Kainz, M.E. (eds). Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer (Publ.), New York, EUA, p. 115-146.
- Budge, S. M.; Iverson, S. J.; Koopman, H. N. 2006. Studying trophic ecology in marine ecosystems using fatty acids: a primer on analysis and interpretation. *Marine Mammals Science*, 22:759-801.
- Budge, S.M.; Iverson, S.J.; Bowen, W.D.; Ackman, R.G. 2002. Among- and within-species variability in fatty acids signature of marine fish and invertebrates on the Scotian Shelf, Georges Bank and southern Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal Fisheries Aquatic Science*, 59:886-898.
- Carrasco-Letelier, L.; Eguren, G.; Mello, F.T.; Groves, P.A. 2006 .Preliminary field study of hepatic porphyrin profiles of *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characiformes) to define anthropogenic pollution. *Chemosphere*, 62:1245–1252.
- Casatti, L.; Langeani, F.; Castro, R.M.C. 2001. Peixes de riacho do Parque Estadual Morro do Diabo, bacia do alto rio Paraná, SP. *Biota Neotropica*, 1: 1-15.

- Cavalcanti, R.B.; Guadagnin, R.D.V.; Cavalcanti, C.G.B.; Almeida, M.S.D.; Vasconcelos, S.D.S.; Almeida, R.S.D. 1999. Um método prático para análises de algas e amostras de água, baseado em processamento computadorizado de imagens. 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Rio de Janeiro, RJ.
- Crockett, E. L.; Hazel, J. R. 1997. Cholesterol effects physical properties and (Na⁺,K⁺)-ATPase in basolateral membranes of renal and intestinal epithelia from thermally acclimated rainbow trout. *Journal Comparative Physiology B*, 167: 344-351.
- Dalsgaard, J.; St. John, M.; Kattner, G.; Müller-Navarra, D.; Hagen, W. 2003. Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Advances in Marine Biology*, 46: 225-230.
- Desvilettes, C.H.; Bourdier, G.; Amblard, C.H.; Barth, B. 1997. Use of fatty acids for the assessment of zooplankton grazing on bacteria, protozoans and microalgae. *Freshwater Biology*, 38:629–637.
- Else, P. L.; Wu, B. J. 1999. What role for membranes in determining the higher sodium pump molecular activity of mammals compared to ectotherms? *Journal Comparative Physiology B*, 169:296–302.
- Esteves, F.A. 1998. Fundamentos de Limnologia. 2nd ed. Interciências, Rio de Janeiro. 602 p.
- Falk-Petersen, S.; Haug, K.T.; Nilseen, A.; Wold, T.; Dahl, M. 2004. Lipids and trophic linkages in harp Seal (*Phoca groenlandica*) from the eastern Barents Sea *Polar Research*, 23: 43–50.
- Ferreira, C.J.A.; Rocha, A.J.A. 1988. Estudo comparativo de comunidades fitoplanctônicas e o uso de diversidade como discriminador ambiental. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 11: 447-468.
- Fowler, H.W. 1950. Os peixes de água doce do Brasil. Arquivo de Zoologia do Estado de São Paulo, 6: 362-364
- Ganga, R.; Acerete, L.; Montero, D.; Izquierdo, M.S. 2006. Modulation of ACTH induced cortisol release by PUFAs in inter-renal cells from *Sparus aurata*. *Journal of Endocrinology*, 190: 39-45.
- Géry, J. 1977. Characoids of the world. Neptune city, T.F.H. Publications Inc, 672p.
- Gladyshev, M.I.; Sushchik, N.N.; Anishchenko, O.V.; Makhutova, O.N.; Kolmakov, V.I.; Kalachova, G.S.; Kolmakova, A.A.; Dubovskaya, O.P. 2011. Efficiency of transfer of essential polyunsaturated fatty acids versus organic carbon from producers to consumers in a eutrophic reservoir. *Oecologia*, 165(2): 521-531.
- Gladyshev, M.I.; Sushchik, N.N.; Kalachova, G.S.; Makhutova, O.N. 2012. Stable isotope composition of fatty acids in organisms of different trophic levels in the Yenisei River. *Plos One*, 7(3): e34059.

- Godoy, M.P. 1959. Age, growth, sexual maturity, behavior, migration, tagging and transplantation of curimbatá (*Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881) of Mogi Guassú river, São Paulo State, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, São Paulo, 31:447-477.
- Godoy, M.P., 1975. Peixes do Brasil. Subordem characoidei. Bacia do Rio Mogi Guassu. Livro II.
- Goetz, F.W.; Duman, P.; Ranjan, M.; Herman, C. 1989. Prostaglandins F and E synthesis by specific tissue components of the brook trout (*Salvelinus fontinalis*) ovary. *Journal of Experimental Zoology*, 250: 196-205.
- Gomes, A. D.; Correia, T. G.; Moreira, R. G. 2010. Fatty acids as trophic biomarkers in vitellogenic females in an impounded tropical river. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36:699-718.
- Gu, B.H.; Alexander, V. 1996. Stable carbon isotope evidence for atmospheric CO2 uptake by cyanobacterial surface scums in a eutrophic lake. *Applied and Environmental Microbiology*, 62: 1803–1804.
- Gurgel, H.C.B. 2004. Estrutura populacional e época de reprodução de *Astyanas fasciatus* (Curvier) (Characidae, Tetragonopterinae) do Rio Ceará Mirim, Poço Branco, Rio Grande do Norte, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 21(1):131-135.
- Hasting, N.; Agaba, M.; Tocher, D.R.; Leaver, M.J.; Dick, J R.; Sargent, J.R.; Teale, A.J. 2001. A vertebrate fatty acid desaturase with delta 5 and delta 6 activities. *PNAS*, 98(25): 14304-14309.
- Heinz, E. 1993. Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids. In: Moore, T.S. (Ed.). Lipid Metabolism in Plants. CRC Press, Boca Raton, p. 33–89.
- Henderson, R.J. 1996. Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. *Archive Animal Nutrition*, 49:5-22.
- Iverson, S. J.; Field, C.; Bowen, W.D.; Blanchard, D.W. 2004. Quantitative fatty acid signature analysis: A new method of estimating predator diet. *Ecological Monographs*, 74:11–235.
- Iverson, S.J. 2009. Tracing aquatic food webs using fatty acids: from qualitative indicators to quantitative determination. *In*: Arts, M. T.; Brett, M. T. e Kainz, M. J. (Eds). Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer, p. 281-307.
- Iverson, S.J.; McDonald, J.E.; Smith, L.K. 2001. Changes in the diet of free-ranging black bears in years of contrasting food availability revealed through milk fatty acids. *Canadian Journal of Zoology*, 79: 2268–2279.
- Izquierdo, M.S.; Socorro, J.; Arantzamendi, L.; Hernández-Cruz, C.M. 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 22: 97-107.

- Kainz, M.; Arts, M.T.; Mazumder, A. 2004. Essential fatty acids in the planktonic food webs and their ecological role for higher trophic levels. *Limnology Oceanography*, 49(5):1784-1793.
- Kakela, R.; Ackman, R.G.; Hyvarinen, H. 1995. Very long chain polyunsaturated fatty acids in the blubber of ringed seals (*Phoca hispida botnica*) from lake Saimaa, lake Lladoga, the Baltic Sea, and Spitsbergen. *Lipids*, 30(8):319-325.
- Knight, J.; Holland, J.W.; Bowden, L.A.; Halliday, K.; Rowley, A.F.1995. Eicosanoid generating capacities of different tissues from the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Lipids*, 30:451-458.
- Lall, S.P. 2000. Nutrition and health fish. *In:* L.E. Cruz –Suárez; D. Ricque-Marie; M. Tapia-Salazar; M.A Olvera-Novoa e R. Civera-Cerecedo (eds.). Advances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22. Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, Mexico.
- Linde-Airas, A.R.; Inácio, A.F.; Novo, L.A. Albuquerque, C.; Moreira, J.C. 2008. Multibiomarker approach in fish to assess the impact of pollution in a large Brazilian river, Paraiba do Sul. *Environmental Pollution*, 156: 974-979.
- Lins, J.A.P.N.; Kirschnik, P.G.; Queiroz, V.S.; Cirio, S.M. 2010. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. *Revista Acadêmica de Ciências Agrárias Ambientais*, 8: 469–484.
- Marceniuk, A.P.; Hilsdorf, A.W.S. 2010. Peixes das cabeceiras do Rio Tietê e Parque das Neblinas. Ócsso Design, São Paulo, 160p.
- Margalef, R. 1983. Ecología. Omega, Barcelona, 768p.
- Mariani, C.F.; Moschini-Carlos, V.; Brandimarte, A.L.; Nishimura, P.Y.; Tófoli, C.F.; Duran, D.S.; Lourenço, E.M.; Braidotti, J.C.; Almeida, L.P.; Fidalgo, V.H; Pompêo, M.L.M. 2006. Biota and water quality in the Riacho Grande reservoir, Billings Complex (São Paulo, Brazil). Acta Limnologica Brasiliensia, 18(3): 267-280.
- Marques, D.K.S.; Gurgel, H.C.B.; Lucena, I. 2001. Época de reprodução de Hoplias malabaricus Bloch, 1794 (Osteichthyes, Erythrinidae) da barragem do rio Gramame, Alhandra, Paraíba, Brasil. Revista Brasileira de Zoociências, 3: 61-67.
- Miranda, A.L.C. 2006. Bioacumulação de poluentes organopersistentes (POPs) em traíra (*Hoplias malabaricus*) e seus efeitos *in vitro* em células do sistema imune de carpa (*Cyprinus caprio*). Dissertação de Mestrado. Biologia Celular e Molecular Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 66p.
- Moreira, R.G.; Zapata, C.R.O.; Bicudo, J.E.P.W.; Parrish, C.C.; Senhorini, J.A. 2003. Effects of broodstock diet on fatty acid composition of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) eggs and larvae. In: Proceedings of World Aquaculture 2003, Salvador, p. 500.
- Mourente, G.; Tocher, D. R. 1994. In vivo metabolism of [1-¹⁴C]linolenic acid (18:3n3) and [1-¹⁴C]eicosapentaenoic acid (20:5n3) in a marine fish: time-course of the desaturation/elongation pathway. *Biochimica, Biophysica Acta*, 1212: 109-118.

- Muller Navarra, D.C.; Brett, M.T.; Park, S.; Chandra, S.; Ballantyne, A.P.; Zorita, E.; Goldman, C.R. 2004. Unsaturated fatty acid content in seston and tropho-dynamic coupling in lakes. *Nature*, 427:69-71.
- Napolitano, G.E. 1999. Fatty acids as trophic and chemical markers in freshwater ecosystems. *In*: Arts, M.T.; Wainman, B.C. (eds.). Lipids in freshwater ecosystems. Springer (Publ.), New York, EUA, p. 21-44.
- Napolitano, G.E.; Heras, H.; Stewart, A. 1995. Fatty acid composition of freshwater phytoplankton during a red tide event. *Biochemical Systematics and Ecology*, 23(1): 65-69.
- Nelson, D. L.; Cox, M. M. 2005. Lehninger: Principles of biochemistry. Freeman, New York, EUA, 1119 p.
- Oyakawa, O.T. 2003. Family Erythrinidae, in: Reis, R.E., Kullander, S.O., Ferraris, C.J.Jr., (Eds.). Check list of the freshwater fishes of South and Central America. EDIPUCRS, Porto Alegre, p. 238-240.
- Paiva, M.P. 1974. Crescimento, alimentação e reprodução de traíra *Hoplias malabaricus* (Bloch) no Nordeste Brasileiro. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 32p.
- Palmer, S.E.; Niederlehner, B.R.; Cairns Jr., J. 1994. Assessment of pollution aquatic microbial communities based on DNA hybridization and protozoan identification: preliminary method development and comparison. *Journal of AquaticEcossystem Health*, 3: 35-44.
- Parrish, C.C.; Abrajano, T.A.; Budge, S.M.; Helleur, R.J.; Hudson, E.D.; Pulchan, K.; Ramos, C. 2000. Lipid and phenolic biomarkers in marine ecosystem: analysis and applications. *In:* Wangersky P.J. (eds.). Marine Chemistry. Springer – Verlag, New York, p.193-224.
- Parrish, C.C.; Mckenzie, C.H.; Macdonald, B.A.; Hatfield, E.A. 1995. Seasonal studies of seston lipids in relation to microplankton species composition and scallop growth in South Broad Cove, Newfoundland. *Marine Ecology Progress Series*, 129:151-164.
- Pereira, S. L.; Leonard, A. E.; Mukerji, P. 2003. Recent advances in the study of fatty acid desaturases from animals and lower eukaryotes. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 68:97-106.
- Rau, G.H.; Mearns, A.J.; Young, D.R.; Olson, R.J.; Schafer, H.A.; Kaplan, I.R. 1983. Animal 13C/12C correlates with trophic level in pelagic food webs. *Ecology*, 64(5):1314–1318.
- Rawson, D.D. 1965. Algal indicators of trophic lake types. *Limnological Oceanography*, 1: 18-25.
- Reynolds. C.S. 2006. Ecology of phytoplankton. Cambridge, Cambridge University Press, 535p.
- SABESP. 2014. Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. Complexo metropolitano de distribuição de água. SABESP, São Paulo. Disponível em:

<http://site.sabesp.com.br/interna/Default.aspx?secaoId=36> . Acesso em 14 de maio de 2014.

- Saliot, A.; Laureillard, J.; Scribe, P.; Sicre, M.A. 1991. Evolutionary trends in the lipid biomarker approach for investigating the biogeochemistry of organic matter in the marine environment. *Marine Chemistry*, 36:233–248.
- Schreiner, M. 2003. The incorporation and position of omega-3 fatty acids into egg yolg lipid and sensory attributes of egg yolk from laying hens fed seal Blubber oil. Phd Thesis. Boku Universität, Vienna, 173p.
- Schreiner, M.; Andrade, V.X.L.; Moreira, R.G.; Scorvo-Filho, J.D.; Romagosa, E. 2005. The influence of diet on the fatty acid composition of lipid storage tissues of surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) (Pisces: Teleostei) reared in cages. In: Proc 26th World Congress and Exhibition of the International Society for Fat Research. Praga, 55p.
- Schroeder-Araujo, L.T. 1980. Alimentação dos peixes da represa de Ponte Nova, Alto Tietê. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 88p.
- Schulz, U.H.; Martins-Júnior, H. 2000. Astyanax fasciatus as bioindicator of water pollution of rio Sinos, RS, Brazil. Brazilian Journal of Biology, 61(4): 615-622.
- Silva, J.P.A.; Muelbert, A.E.; Oliveira, E.C.; Fávaro, L.F. 2010. Reproductive tatics used by the lambari *Astyanax aff. fasciatus* in three water supply reservoirs in the same geographic region of the upper Iguaçu River. *Neotropical Ichthyology*, 8(4):885-892.
- Sorbera, L.A.; Astuarino, J.F.; Carrillo, M.; Zanuy, S. 2001. Effects of polyunsaturated fatty acids and prostaglandins on oocytes maturation in a marine teleost, the european sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Biology of Reproduction*, 64:382-389.
- Stowasser, G.; McAllen, R.; Pierce, G.J.; Collins, M.A.; Moffat, C.F.; Priede, I.G.; Pond, W.D. 2009. Trophic position of deep-sea fish – Assessment through fatty acid and stable isotope analyses. *Deep-Sea Research I*, 56: 812-826.
- Thomasson, H.J. 1962. Essential fatty acids. Nature, 194: 973.
- Tocher, D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2): 000-000.
- Tundisi, J.G. 2003. Água no século XXI: enfrentando a escassez. Rima, São Carlos. 247p.
- Turner, N.; Else, P. L.; Hulbert, A. J. 2003. Docosahexaenoic acid (DHA) content of membranes determines molecular activity of the sodium pump: implications for disease states and metabolism. *Naturwissenchaftem*, 90: 521-523.
- Uieda, V.S. 1984, Ocorrência e distribuição dos peixes em um riacho de água doce. *Revista Brasileira de Biologia*, 44(2): 203-213.

- Vieira, V.L.; Lopes, P.R.S. 2005. Aspectos da biologia, reprodução e manejo de traíra (*Hoplias malabaricus*). *In:* Baldisseroto, B. e Gomes, L.C. (Eds). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. UFSM, pp. 287-301.
- Vilella, F.S.; Becker, F.G.; Hartz, S.M. 2002. Diet of *Astyanax* species (Teleostei, Characidae) in an Atlantic Forest River in Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 42(2):223-232.
- Volkman, J.K.; Barret, S.M.; Balckburn, S.I.; Mansour, M.P.; Sikes, E.L.; Gelin, F. 1998. Microalgal biomarkers: a review of recent research developments. *Organic Geochemistry*, 29:1163–1179.
- Volkman, J.K.; Jeffrey, S.W.; Nichols, P.D.; Rogers, G.L.; Garland, C.D. 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *Journal of Experimental Marine Biology*, 128:219-240.
- Wade, M.; Van Der Kraak, G. 1993a. Arachidonic acid and prostaglandin E2 stimulate testosterone production by goldfish testis. *General Comparative and Endocrinology*, 90:109-118.
- Wade, M.G.; Van Der Kraak, G. 1993b. Regulation of prostaglandin E and F production in the goldfish testis. *Journal of Experimental Zoology*, 266: 108–115.
- Wathes, D.C.; Abayasekara, R.E.; Aitken, R.J. 2007. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biology of Reproduction*, 77: 190-201.
- Wetzel, R.G. 2001. Limnology: lake and river ecosystems. 3rd ed. Academic Press, San Diego. 1006p.

Capítulo 1

Caracterização limnológica e composição fitoplanctônica de dois reservatórios com diferentes graus de trofia

^aGomes, Aline Dal; ^aTolussi, Carlos Eduardo; ^bCortez, Maíra; ^bPômpeo, Marcelo; ^aMoreira, Renata Guimarães

^aUniversidade de São Paulo, Instituto de Biociências – Departamento de Fisiologia, São Paulo, SP, Brasil.

^bUniversidade de São Paulo, Instituto de Biociências – Departamento de Ecologia, São Paulo, SP, Brasil.

Resumo

O aumento das atividades humanas impactantes têm levado os ecossistemas aquáticos a níveis cada vez mais altos de poluição, principalmente pelo aumento da disponibilidade de nutrientes e da proliferação de organismos fitoplanctônicos. O objetivo deste estudo foi caracterizar o grau de trofia, qualidade da água e composição fitoplanctônica de dois reservatórios da Bacia Hidrográfica do Rio Tietê expostos a diferentes pressões antrópicas na região metropolitana de São Paulo. Amostragens trimestrais de água e sedimento foram realizadas ao longo do ano de 2012 para análise das seguintes variáveis físicas, químicas e biológicas: temperatura, oxigênio dissolvido, pH, nutrientes, clorofila-a, coliformes fecais, metais, organoclorados e organofosforados e a composição fitoplanctônica. Poucas variáveis excederam os valores estabelecidos pela resolução CONAMA nº 357 no reservatório de Ponte Nova, com exceção dos nutrientes em algumas estações do ano, caracterizando o ambiente como oligotrófico e com água de boa qualidade. Em contraste, altas concentrações de nutrientes e metais foram detectadas no braço Taquacetuba (reservatório Billings), devido ao intenso descarte de esgoto doméstico e industrial, permitindo classificá-lo como hipereutrófico e com água de péssima qualidade. A composição fitoplanctônica presente no braço Taquacetuba do reservatório Billings foi representada por muitos táxons de cianobactérias, incluindo espécies com potencial tóxico, depreciando ainda mais a qualidade da água.

Palavras-chave: eutrofização, metais, nutrientes, qualidade da água, reservatório.

Abstract

The increase in anthropogenic activities has resulted in higher levels of pollution in aquatic ecosystem, mainly by increased nutrient availability and the growth of phytoplankton. The aim of this study was to characterize the trophic state, water quality and phytoplankton composition of two reservoirs of the Tietê River Basin exposed to different anthropogenic pressures in the metropolitan region of São Paulo. Quarterly sampling of water and sediments were carried out during the year of 2012 for analysis of the following physical, chemical and biological variables: temperature, dissolved oxygen, pH, nutrients, chlorophyll-a, fecal coliforms, metals, organochlorines and organophosphates and phytoplankton composition. Few physical and chemical variables exceeded the values established by CONAMA nº 357 in the Ponte Nova reservoir, with the exception of nutrients in some seasons, characterizing this environment as oligotrophic and with good quality water. In contrast, high concentrations of nutrients and metals were detected in the Taquacetuba arm from Billings reservoir, due to intense discharge of industrial and domestic sewage, allowing to classify it as hypereutrophic and with poor quality water. Phytoplankton composition in Taquacetuba arm from Billings reservoir presented many cyanobacteria taxa, including species with toxic potential, depreciating further the water quality.

Key-words: eutrophication, nutrients, metals, reservoirs, water quality.

1. Introdução

A principal preocupação acerca dos recursos naturais, que se tornou questão de debate no século XXI, é a disponibilidade de água doce de razoável qualidade (Wetzel, 2001). Os principais rios, lagos e represas do planeta são importantes reservatórios de água doce, fundamentais para a sobrevivência de todos os organismos, incluindo o homem (Tundisi, 2005). Contudo, o intenso crescimento dos centros urbanos e a expansão das atividades industriais e agrícolas em áreas de mananciais têm levado os ecossistemas aquáticos a níveis cada vez mais altos de poluição, principalmente pelo aumento da disponibilidade de nitrogênio e fósforo e da proliferação de organismos fitoplanctônicos, que acarretam intensos processos de eutrofização artificial (Straskraba e Tundisi, 2000; Tundisi e Matsumura-Tundisi, 2008; Moschini-Carlos *et al.*, 2010).

Nos reservatórios, esse processo de eutrofização tem resultado em desequilíbrios ecológicos com efeitos negativos para a biota, além da intensa degradação da qualidade da água (Moschini-Carlos *et al.*, 2010), tais como diminuição na concentração de oxigênio dissolvido, aumento do fósforo no sedimento, aumento da biomassa de fitoplâncton, zooplâncton, macrófitas e peixes, mudanças nas cadeias alimentares, proliferação de bactérias patogênicas, aumento das florações de cianobactérias, mortalidade dos peixes, produção de odores desagradáveis e consequente elevação dos custos de tratamento de água para o abastecimento (Carmo *et al.*, 2002; Tundisi e Matsumura-Tundisi, 2008).

Deste modo, a distribuição das comunidades aquáticas fica submetida aos ciclos naturais e antrópicos impostos aos reservatórios. Dentre essas comunidades, os organismos fitoplanctônicos são altamente influenciados pelas variações em uma série de fatores abióticos, como temperatura, pH, oxigênio e nutrientes, que podem reagir positiva ou negativamente às suas mudanças (Reynolds, 2006). Devido ao curto tempo de geração das espécies que compõem a comunidade fitoplanctônica, as flutuações espaciais e temporais, principalmente em sua composição e densidade, podem ser eficientes indicadoras das alterações naturais ou antrópicas nesses ecossistemas aquáticos lênticos (Margalef, 1983; Padisák, 1992).

Atualmente, os reservatórios localizados em diferentes regiões metropolitanas do mundo estão submetidos a inúmeras pressões antrópicas. A região metropolitana de São Paulo (RMSP), por exemplo, é composta por 23 reservatórios de abastecimento de água que, além desta função, são utilizados para recreação, pesca, produção de hidroeletricidade e turismo. Esses sistemas estão permanentemente pressionados por impactos como fontes pontuais e difusas de descargas de nutrientes, resíduos sólidos e substâncias tóxicas, degradação das

margens e da zona litoral, desmatamento, sedimentação, poluição atmosférica e extensas ocupações urbanas. Além disso, as constantes florações de cianobactérias (como *Microcystis aeruginosa*) aumentam a toxicidade do sistema devido a produção de cianotoxinas (Tundisi e Matsumura-Tundisi, 2008). Todos esses fatores levaram ao quadro de degradação dos mananciais disponíveis ao abastecimento dos mais de 18 milhões de habitantes da RMSP, incluindo o reservatório Billings que juntamente com o reservatório Guarapiranga formam o segundo maior sistema de água da RMSP, abastecendo 3,7 milhões de pessoas (SABESP, 2014).

Deste modo, informações sobre a estrutura e dinâmica das comunidades biológicas desses ambientes, além da caracterização limnológica básica são absolutamente imprescindíveis quando se busca estratégias para a conservação de reservatórios ou para nortear medidas de recuperação relacionadas com a aplicação que se pretende dar a tais ambientes (Rouf *et al.*, 2008). O objetivo do presente estudo foi caracterizar o grau de trofia, qualidade da água e a composição fitoplanctônica de dois reservatórios do Alto Tietê, de grande importância para o abastecimento de água da RMSP, e que estão sob ação de diferentes atividades antrópicas. Hipotetiza-se que o braço Taquacetuba no reservatório Billings apresentará um alto grau de trofia e qualidade de água depreciada devido a sua localização próxima a grandes centros urbanos, ao contrário do reservatório de Ponte Nova, localizado em uma área preservada.
2.1 Coleta de amostras

As amostras de água superficial (profundidade fixa de \pm 10 cm) e sedimento foram coletadas na região pelágica de ambos os reservatórios, mas especificamente no braço Rio Claro do reservatório de Ponte Nova (PN) localizado próximo à Piscicultura da Barragem de Ponte Nova (23°36'18.64''S; 45°55'43.06''O) e no braço Taquacetuba (Bil) localizado próximo ao corpo central do reservatório Billings (23°48'56.17''S; 46°37'33.29''O). As coletas foram realizadas trimestralmente de janeiro a dezembro (verão, outono, inverno e primavera). No momento da coleta foram medidas a concentração de oxigênio dissolvido (mg/L), o pH e a temperatura da água (°C) utilizando um medidor multiparâmetro portátil (YSI Professional Plus).

2.2 Variáveis físicas, químicas e biológicas da água e do sedimento

As amostras de água e sedimento foram analisadas pelo Laboratório Nova Ambi *Ltda* seguindo "Standard Methods" (21° edição) (Clesceri *et al.*, 1998). As seguintes variáveis foram medidas: carbono orgânico total (mg/L), carbono orgânico dissolvido (mg/L), clorofila*a* (μ g/L), coliformes fecais (NMP/1000 mL) (e), fósforo solúvel (mg/L), fósforo total (mg/L), nitrito (mg/L), cádmio total (mg/L), chumbo total (mg/L), cobre total (mg/L), cromo total (mg/L), mercúrio total (mg/L), níquel total (mg/L), zinco total (mg/L), organofosfatos e organoclorados (μ g/L) nas amostras de água. Adicionalmente, cádmio total (mg/Kg), cobre total (mg/Kg), cromo total (mg/Kg), mercúrio total (mg/Kg), organofosfatos e organoclorados (μ g/L) nas amostras de água. Adicionalmente, cádmio total (mg/Kg), níquel total (mg/Kg), zinco total (mg/Kg), organofosfatos e organoclorados (μ g/Kg), organofosfatos e organoclorados (μ g/Kg), romo total (mg/Kg), níquel total (mg/Kg), zinco total (mg/Kg), organofosfatos e organoclorados (μ g/Kg), romo total (mg/Kg), níquel total (mg/Kg), zinco total (mg/Kg), organofosfatos e organoclorados (μ g/Kg) foram analisados no sedimento.

2.3 Índices de Estado Trófico e de Proteção da Vida Aquática

Para avaliar o grau de trofia, o Índice do Estado Trófico (IET) foi calculado utilizando os dados de colorofila-*a* e fósforo total, de acordo com a equação de Lamparelli (2004): **IET (Cl)**=10x(6-((0.92x0.34x(lnCL))/ln2)

IET (FT)=10x(6-((1.77-0.42x(lnFT))/ln2)

onde:

Cl: concentração de clorofila-a medida à superfície da água em ug/L

FT: concentração de fósforo total medido à superfície da água em ug/L

Ln: logaritmo natural

Os limites foram definidos de acordo com a ponderação entre as duas fórmulas e estão apresentados na tabela 1.

Categoria	Ponderação
Ultraoligotrófico	$IET \le 47$
Oligotrófico	$47 < \mathrm{IET} \leq 52$
Mesotrófico	$52 < IET \le 59$
Eutrófico	$59 < IET \le 63$
Supereutrófico	$63 < IET \le 67$
Hipereutrófico	IET > 67

Tabela 1: Classificação do estado trófico (IET) em reservatórios segundo Lamparelli (2004).

O Índice de Qualidade da água para proteção da Vida Aquática (IVA) (Tab. 2) foi calculado baseado na presença de metais, pH, oxigênio dissolvido e IET, de acordo com as ponderações dadas para cada uma das variáveis divididas em 2 categorias: variáveis essenciais (oxigênio dissolvido, pH e toxicidade) e substâncias tóxicas (metais) (Zagatto *et al.*, 1999):

IVA=((VExST)x1.2)+IET

onde:

VE: valor da maior ponderação do grupo de variáveis essenciais

ST: valor médio das três maiores ponderações do grupo de substâncias tóxicas

IET: valor do índice do estado trófico

Categoria	Ponderação
Ótima	$IVA \le 2.5$
Boa	$2.6 \leq IVA \leq 3.3$
Regular	$3.4 \le IVA \le 4.5$
Ruim	$4.5 \leq IVA \ 6.7$
Péssima	$6.8 \leq IVA$

 Tabela 2: Classificação da qualidade da água para proteção da vida aquática (IVA) segundo Zagatto *et al.*

 (1999).

2.4 Análise qualitativa da composição fitoplanctônica

Amostras de água foram coletadas da superfície com rede de fitoplâncton 20µm e conservadas em formol 4% para a análise qualitativa da comunidade fitoplanctônica. Foram

utilizados microscópio óptico e microscópio óptico invertido Carl Zeiss Axiovert 40C e nanquim para visualização da bainha de mucilagem de algumas cianobactérias. A identificação foi feita baseada em Van den Hoek *et al.* (1997) e a classificação proposta por Komárek e Anagnostidis (1989, 1998, 2005) para cianobactérias.

2.5 Análise dos dados

Os resultados obtidos para ambos os reservatórios foram analisados com base na Resolução CONAMA nº357 (Brasil, 2005) para corpos de água doce classe 1 e 2. Foi calculado o grau de associação entre os fatores abióticos por meio da análise de correlação de Pearson, sendo que valores positivos ou negativos entre (Cohen, 1988):

0.1-0.29: indicam correlação fraca;

0.3-0.40: indicam correlação moderada;

0.5-1.0: indicam correlação forte.

3. Resultados

3.1 Variáveis físicas, químicas e biológicas da água e do sedimento

O reservatório de Ponte Nova apresentou variação temporal da temperatura e oxigênio dissolvido (Tab. 3), com forte correlação negativa entre eles (Tab. 4). O pH apresentou pequenas variações ao longo do ano, se mantendo na faixa da neutralidade. Poucas variáveis apresentaram valores acima do estabelecido pela resolução CONAMA nº357, dentre eles destaca-se altas concentrações de fósforo total e carbono orgânico dissolvido durante o verão (Tab. 3), que apresentaram uma correlação positiva entre si e também com a temperatura (Tab. 4). Durante o inverno, foram também observadas altas concentrações de carbono orgânico total (Tab. 3). Os valores encontrados para IET e IVA permitiram classificar este reservatório como eutrófico e com água de boa qualidade, respectivamente (Tab. 3).

No braço Taquacetuba do reservatório Billings também foi possível observar um padrão temporal da temperatura (Tab. 3), mas sem correlação com a variação anual de oxigênio dissolvido (Tab. 4), que se apresentou alta o ano inteiro. Diferente do reservatório de Ponte Nova, no braço Taquacetuba a maioria das variáveis físicas e químicas analisadas da água e sedimento apresentaram-se em concentrações limítrofes ou acima do permitido pela Resolução CONAMA nº 357, tais como clorofíla-*a*, fósforo total e solúvel, nitrato, cádmio, chumbo, cobre e mercúrio ao longo de todo o ano (Tab. 3). Adicionalmente, foi possível observar no sedimento altos valores de organofosforados, como asuntol, diazinon, disulfoton

e fenclorfos, durante o outono (Tab. 3). Essas alterações resultaram em altos valores de IET e IVA classificando o reservatório como hipereutrófico e com água de péssima qualidade. Adicionalmente, uma forte correlação positiva foi encontrada entre temperatura x pH e carbono orgânico dissolvido, pH x clorofila-*a*, e carbono orgânico dissolvido x pH (Tab. 4). Ao contrário disso, uma forte correlação negativa foi vista para fósforo total x temperatura, clorofila-*a* e pH (Tab. 4).

Variáveis	CONAMA		Ponte	e Nova		Taquacetuba			
		Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
Água									
Temperatura (°C)		21.5	18.8	16.3	23.3	24.0	20.2	17.3	25.5
Oxigênio dissolvido (mg/L)	> 5.0	6.8	8.0	7.7	5.8	7.5	10.0	8.4	9.52
рН	6.0-9.0	6.8	6.9	6.7	6.8	9.0	8.8	7.8	9.4 *
Carbono orgânico total (mg/L)		5.3		16.0	3.4	4.8		22.0	5.0
Carbono orgânico dissolvido (mg/L)		4.3		2.6	3.3	4.4		3.1	4.9
Clorofila-a(ug/L)	10	<10.0	<10.0	<10.0	<10.0	25.6*	28.7 *	17.5*	34.4*
Fósforo solúvel (mg/L)	0.01	0.12*	< 0.05	< 0.05	< 0.05	0.48*	0.1*	< 0.5	0.15*
Fósforo total (mg/L)	0.02	0.07*		< 0.01	< 0.01	0.12*		< 0.01	0.17*
Nitrogênio nitrato (mg/L)	10.0	< 0.1	< 0.03	< 0.03	0.16*	< 0.1	0.07	0.24*	0.17*
Nitrogênio nitrito (mg/L)	1.0	< 0.01	< 0.005	< 0.005	< 0.01	0.02	0.24	< 0.005	0.17
Cádmio total (mg/L)	0.001	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	0.005*	<0.05*	< 0.005
Chumbo total (mg/L)	0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.06*	< 0.1	< 0.01
Cobre total (mg/L)	0.009	< 0.005	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.005	0.01*	< 0.1	< 0.01
Cromo total (mg/L)	0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.01	< 0.01	< 0.01
Mercúrio total (mg/L)	0.0002	< 0.0002	< 0.0002	< 0.0002	< 0.0002	< 0.0002	0.0002	0.27*	0.002*
Níquel total (mg/L)	0.025	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.01	0.01	0.11*	< 0.01
Zinco total (mg/L)	0.18	0.03	0.02	< 0.02	0.04	0.03	0.02	<0.2	0.04
IET		63.62	62.35	62.35	62.35	69.01	68.74	67.52	70.79
IVA		3.2	3.2	5.6	3.2	7.6	12.2 - 14.8	11.2-14.8	12.2-14.8
Sedimento									
Diazinon (ug/Kg)		<50.0	<50.0	<50.0	<50.0	<50.0	230.0	<50.0	<50.0
Disulfoton (ug/Kg)		<50.0	<50.0	<50.0	<50.0	<50.0	90.0	<50.0	<50.0
Coumaphos (ug/Kg)		<50.0	<50.0	<50.0	<50.0	<50.0	310.0	<50.0	<50.0
Cádmio total (mg/ Kg)	0.6	< 0.5	< 0.5	< 0.5	1.17*	5.65*	0.5	0.7*	5.13*
Chumbo total (mg/ Kg)	35.0	15.2	<1.0	29.1	29.2	85.1 *	13.4	101.0*	99.2 *
Cobre total (mg/ Kg)	35.5	<5.0	<5.0	11.1	9.33	184.0*	29.5	271.0*	184.0*
Cromo total (mg/ Kg)	37.3	<5.0	<5.0	32.9	9.40	85.1*	10.7	272.0*	76.2*
Mercúrio total (mg/ Kg)	0.17	< 0.5	< 0.05	< 0.05	0.054	0.93*	0.62*	0.24*	0.69*
Zinco total (mg/ Kg)	123.0	6.88	11.7	44.5	51.4	381.0 *	77.5	600.0 *	445.0*

Tabela 3: Análise da concentração das variáveis físicas, químicas e biológicas de amostras de água e sedimento coletados no reservatório de Ponte Nova e no braço Taquacetuba do reservatório Billings ao longo do ano.

* Símbolos representam variáveis que excederam os valores permitidos pela Resolução CONAMA nº 357 para águas doces de classe 1 e 2. – Valores não encontrados. IET: Índice do Estado Trófico. IVA: Índice de qualidade de água para proteção da vida aquática (Índice de Vida Aquática).

Variáveis		Р	Ponte Nova Taquacetuba							
	OD	pН	СОТ	COD	FT	OD	pН	СОТ	COD	FT
T°	-0.881	0.332	-0.779	0.636	0.331	-0.02	0.943	-0.768	0.946	-0.782
pН	0.123		-0.85	0.408	0.000	0.253		-0.913	0.797	-0.92
Cl	0.123	1	-0.85	0.408	0.000	0.55	0.942	-0.845	0.664	-0.849
FT	-0.184	0.000	-0.19	0.881		0.28	0.92	0.999	-0.539	

Tabela 4: Coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis abióticas e bióticas no reservatório de Ponte

 Nova e no braço Taquacetuba do reservatório Billings ao longo do ano.

Cl: clorofila-*a* ; COD: carbono orgânico dissolvido; COT: carbono orgânico total; FT: fósforo total; OD: oxigênio dissolvido; T°: temperatura. Correlações fortes destacadas em vermelho (Cohen, 1988).

3.2 Comunidade fitoplanctônica

No total foram identificados 55 táxons representantes da comunidade fitoplanctônica, distribuídos entre as classes: Cyanophyceae (16 táxons), Chlorophyceae (15 táxons), Zygnemaphyceae (2 táxons), Dinophyceae (5 táxons), Euglenophyceae (8 táxons); Bacillariophyceae (7 táxons), Cryptophyceae (1 táxon) e Chrysophyceae (1 táxon) (Tab. 5). Podemos observar que a Classe Chlorophyceae apresentou o maior número de táxons principalmente no reservatório de Ponte Nova. A Classe Dinophyceae (dinoflagelados), neste mesmo reservatório, foi principalmente representada por *Peridinium* sp. e *Ceratium furcoides* ao longo de todo o ano. Contudo, a classe Cyanophyceae apresentou o maior número de táxons representantes no braço Taquacetuba do reservatório Billings ao longo de todas as estações (Tab. 5). *Ceratium furcoides* foi também o principal representante da Classe Dinophyceae encontrado no braço Taquacetuba em todas as estações do ano. Durante o verão podemos notar o maior número de táxons encontrados no braço Taquacetuba do reservatório Billings (Tab. 5).

Tánan]	Ponte Nov	a	Taquacetuba				
	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera	
Cyanophyceae									
Anabaena sp.		Х		Х	Х	Х	Х	Х	
Anabaena circinalis					Х	Х	Х	Х	
Anabaena planctonica							Х	Х	
Anabaena spiroides					Х	Х	Х	Х	
Aphanocapsa sp.					Х				
Aphanothece sp.					Х				
Chrococcus sp.					Х				
Cylindrospermopsis sp.						Х	Х	Х	
Cylindrospermopsis raciborskii							Х	Х	
<i>Microcystis</i> sp.			Х	Х	Х	Х	Х	Х	
Microcystis aeruginosa					Х	Х	Х	Х	
Oscillatoria sp.	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	

Tabela 5: Táxons de fitoplâncton ocorrentes nas amostras de água coletadas no reservatório de Ponte Nova e no braço Taquacetuba do reservatório Billings ao longo do ano.

Pseudoanabaena spp.	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	
Pseudoanabaena galeata					Х		Х	Х
Raphidiopsis sp.					Х			
Snowella sp.					Х			
Chlorophyceae								
Actinastrum sp.		Х	Х	Х	Х			
Coelastrum microporum					Х			
<i>Coelastrum</i> sp					Х			
Cosmarium sp.	Х	Х	Х	Х	Х			
Desmodesmus sp.	Х	Х		Х	Х	Х	Х	Х
Desmodesmus quadricauda						Х		
Dictyosphaerium sp.	Х	Х	Х			Х	Х	
<i>Eudorina</i> sp.					Х			
Golenkinia sp.	Х							
Kirchneriella sp.		Х	Х	Х				
Pediastrum duplex			Х	Х	Х			Х
Parapediastrum tetras					Х			
Scenedesmus arcuatus			Х	Х	Х			
Scenedesmus javanensis					Х			
Volvulina sp.	Х							
Zygnemaphyceae								
Staurastrum spp.	Х	Х	Х	Х	Х		Х	Х
Staurodesmus spp.		Х	Х	Х	Х			Х
Dinophyceae								
Ceratium furcoides		Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х
Gymnodinium sp.	Х				Х			
Peridinium sp.	X	Х	Х	Х	X		Х	Х
Peridinium gatunense					Х			
Peridinium umbonatum					Х			
Euglenophyceae								
Euglena sp.					Х			
Phacus sp.					Х			
Phacus tortus					X			
Trachelomonas sp.	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х
Trachelomonas armata							X	X
Trachelomonas hispida							X	X
Trachelomonas raciborskii		Х	Х	Х	Х		Х	Х
Trachelomonas volvocinopsis			X		X		X	X
Bacillariophyceae								
Aulacoseira granulata	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х
Aulacoseira sp.	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х
<i>Cvclotella</i> sp.			Х		Х		Х	Х
Naviculla sp.			Х	Х		Х		
<i>Nitzschia</i> sp.			Х	Х				
Surirella sp.	Х							
Svnedra sp.	X							
Chryptophyceae	-							
Cryptomonas spp.					X			
Chrysophyceae								
Mallomonas sp.	Х							
Total de táxons	16	16	20	20	40	16	24	20

_

4. Discussão

Os reservatórios estudados apresentaram graus de trofia, qualidade da água e composição fitoplanctônica claramente diferenciados, devido principalmente as concentrações de nutrientes e metais que foram mais elevadas no braço Taquacetuba do reservatório Billings, sendo classificado como hipereutrófico e com água de péssima qualidade, enquanto o reservatório de Ponte Nova, considerado oligotrófico, apresentou água de boa qualidade.

Poucas variáveis físicas e químicas excederam os valores estabelecidos pela Resolução CONAMA nº357 (Brasil, 2005) no reservatório de Ponte Nova, com exceção dos nutrientes, como fósforo total, carbono orgânico dissolvido e nitrogênio, que apresentaram valores altos, principalmente no verão e na primavera. Esses períodos mais quentes do ano coincidiram com a estação chuvosa (SAISP, 2013), que pode ter contribuído para um maior aporte de matéria orgânica ao reservatório, aumentando assim a carga de nutrientes. Ao contrário disso, maiores valores de carbono orgânico total foram encontrados durante o inverno, o que pode indicar uma maior concentração de matéria orgânica decorrente da época de seca (SAISP, 2013). Segundo Toledo *et al.* (1981) e Monteiro-Júniro (2006), as águas do reservatório de Ponte Nova são ricas em nutrientes e esse enriquecimento pode, inclusive, provocar proliferações excessivas de algas em algumas ocasiões, o que corrobora a ocorrência de cianobactérias encontradas no reservatório de Ponte Nova. Os dados de carbono orgânico total e dissolvido podem ser considerados representantes do aporte de matéria orgânica (Tundisi e Matsumura-Tundisi, 2008).

Adicionalmente, apesar dos dados de clorofila-*a* serem baixos, o aumento do fósforo total, principalmente no verão, permitiu caracterizar o reservatório de Ponte Nova como eutrófico, diferentemente dos estudos prévios apresentados para esse reservatório, que o classificaram como oligotrófico (Maier e Takino, 1985; Carvalho, 2003; Monteiro-Júnior, 2006). Sant'Anna *et al.* (2007) avaliaram algumas variáveis de qualidade da água em 6 reservatórios da Bacia do Tietê entre 1997 e 2003, e observaram que apenas o reservatório de Ponte Nova apresentou baixas concentrações de fósforo e nitrogênio total em comparação aos reservatórios Billings, Guarapiranga, Taiaçupeba, Pirapora e Jundiaí, sendo considerado oligotrófico. No presente trabalho, essas diferenças entre os reservatórios ainda é muito clara, e é importante mencionar que em todas as outras estações, os dados obtidos para fósforo total e solúvel se apresentaram abaixo do limite de detecção do método, o que pode ter interferido no cálculo do IET, resultando em uma superestimação desse índice. Baseado nos dados de literaturas anteriores, já apresentadas para esse reservatório, e também nas outras variáveis

obtidas no presente estudo, o reservatório de Ponte Nova pode ser considerado como oligotrófico.

De modo geral, o excessivo despejo de esgoto no reservatório Billings tem resultado em aumento das concentrações de fósforo e nitrogênio na água ao longo de todo o ano, o que favorece o crescimento das algas, permitindo um intenso processo de eutrofização artificial (Carpenter, 2005). No presente trabalho foram encontrados altos valores de carbono orgânico total e dissolvido, similares à matéria orgânica (Tundisi e Matsumura-Tundisi, 2008), que juntamente com fósforo total e clorofila-a confirmam o intenso processo de eutrofização deste ambiente no braco Taquacetuba. Os dados de pH, juntamente com a clorofila-a refletem a atividade dos organismos fotossintetizantes, uma vez que a retirada do CO₂ da água altera a alcalinidade, resultando em aumento de pH (Calijuri et al., 1999, Wetzel, 2001). No presente trabalho, os valores de pH correlacionaram-se positivamente com as concentrações de clorofila-a e carbono orgânico dissolvido ao longo do ano e juntamente com o predomínio de cianobactérias encontrado (Cortez, 2013), corroboram mais uma vez os estudos prévios sobre o intenso processo de eutrofização no braços Taquacetuba (Padial et al., 2009; Cortez, 2013). Assim, os altos valores de fósforo total e clorofila-a neste reservatório resultaram em um alto IET, caracterizando o ambiente como hipereutrófico ao longo de todo o ano. Moschini-Carlos et al. (2010) avaliaram as condições limnológicas do braço Taquacetuba e encontraram que os valores de clorofila-a e fósforo total, principalmente no período da seca (Julho) excederam muitos os limites permitidos pela Resolução CONAMA nº 357 (Brasil, 2005), podendo ser categorizado como água Classe IV. Valores altos de oxigênio dissolvido observados neste reservatório, devem-se ao bloom de algas, principalmente cianobactérias, e indicam também o estado de eutrofização do corpo d'água, que pode ser favorecido pelas cargas poluidoras afluentes ao reservatório, através do bombeamento das águas do Rio Pinheiros para controle das cheias (CETESB, 2012).

Segundo a CETESB (2012) o reservatório Billings, mais especificamente o braço Taquacetuba, é classificado como classe 0 dos corpos hídricos de água doce (Brasil, 2005). Contudo, a presença de altos teores de metais, no outono e no inverno (como Cd, Cu, Hg, Ni e Pb), nutrientes (como nitrogênio e fósforo) e clorofila-*a* ao longo do ano encontrados no presente trabalho contradizem essa categorização e permitiram classificar a qualidade da água, baseada no IVA, como péssima. Estudos realizados neste reservatório entre 1997 e 2012 apresentaram amostras de água contendo níveis de Cd, Cu, Hg, Mn e Pb acima dos limites estipulados pelo CONAMA (Muniz, 2004; Sampaio, 2007; CETESB 2001 a 2008; SABESP, 2008; Moschini-Carlos *et al.*, 2010; Oliveira, 2012), sendo que o braço Taquacetuba foi

considerado uma das regiões que apresentou as maiores concentrações desses metais potencialmente tóxicos na água e em muitas espécies de peixes (Oliveira, 2012).

De modo geral, a consequência primária dessas modificações na qualidade da água está na quebra do equilíbrio entre a produção primária de matéria orgânica, consumo e decomposição, resultando em modificações na dominância e abundância das espécies (Tundisi, 2003). Assim, os organismos fitoplanctônicos podem ser usados como indicadores de alterações químicas e físicas do ecossistema. Foi identificada a ocorrência de cianobactérias (principalmente *Anabaena* sp. e *Microcystis aeruginosa*) no braço Taquacetuba do reservatório Billings durante todo o ano. Essas algas são comumente encontradas em reservatórios tropicais eutróficos (Mariani *et al.*, 2006) e a sua predominância foi pontuada pela CETESB (2004) como indicadora da diminuição da qualidade de água no Complexo Billings. Florações de *Microcystis aeruginosa* também foram identificadas por Cortez (2013) no braço Taquacetuba no verão de 2012, mesmo período de coleta do presente trabalho. Esta alga é potencialmente tóxica e pode causar sérios prejuízos à saúde humana e aos peixes (Tsukamoto e Takahashi, 2007).

A espécie *Ceratium furcoides* teve também grande ocorrência nas análises da água do braço Taquacetuba no reservatório Billings, contudo pouco se sabe sobre sua ecologia nesses ambientes tropicais. Desde 2007 esse dinoflagelado vem sendo frequentemente encontrado no reservatório Billings (CETESB, 2008; Matsumura-Tundisi *et al.*, 2010) e Matsumura-Tundisi *et al.* (2010) constataram as frequentes florações de cianobactérias com a ocorrência de *C. furcoides*, mas ainda há pouco conhecimento sobre essa relação. Um estudo realizado por Cortez (2013), já mencionado, identificou um biovolume elevado de *C. furcoides* no braço Taquacetuba, com maior representatividade no inverno, além do predomínio de cianobactérias.

A classe Chlorophyceae foi o grupo mais representativo, com maiores números de táxons, principalmente nas amostras de água coletadas no braço Taquacetuba do reservatório Billings durante o verão e em todas as estações do ano no reservatório de Ponte Nova. Van Den Hoek (1997) afirmou que esta classe é a mais frequente na comunidade fitoplanctônica de água doce habitando preferencialmente lagos mesotróficos e eutróficos. Em Dynophyceae (dinoflagelados), o gênero *Peridinium* foi observado nas amostras de água coletadas no reservatório de Ponte Nova ao longo de todo o ano. Este gênero é considerado extremamente tolerante às alterações nas variáveis químicas e ao alto conteúdo de matéria orgânica no ambiente (Wetzel, 2001), e segundo Oda e Bicudo (2006) populações deste dinoflagelado podem ser utilizadas como indicadoras de oligotrofia.

De modo geral, de acordo com as análises físicas, químicas e biológicas, incluindo IET e IVA, o braço Taquacetuba (reservatório Billings) pode ser considerado hipereutrófico e com água de péssima qualidade. Por outro lado, poucas variáveis excederam os valores estabelecidos pela resolução CONAMA nº 357 no reservatório de Ponte Nova, caracterizando o ambiente como oligotrófico e com água de boa qualidade.

Referências Bibliográficas

- Brasil. Resolução CONAMA nº 357, de 17 março de 2005. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília (DF).
- Calijuri, M.C.; Deberdt, G.L.; Minoti, R.T.A. 1999. A produtividade primária pelo fitoplâncton na represa de Salto Grande. *In:* Henry, R. (ed.) Ecologia de reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais. Botucatu, p. 21-38.
- Carmo, C.E.; Henry, R.; Bicudo, D.C.; Bicudo, C.E.M. 2002. A degradação nos reservatórios do PEFI. *In:* Bicudo, D.C.; Forti, M.C.; Bicudo, C.E.M. (eds). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): uma unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo, p. 273-296.
- Carpenter, S.R. 2005. Eutrophication of aquatic ecosystems: stability and soil phosphorus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102:10002-10005.
- Carvalho, M.C. 2003. Comunidade fitoplanctônica como instrumento de biomonitoramento de reservatórios do Estado de São Paulo. Tese de doutorado. Departamento de Saúde Ambiental da Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 167p.
- CETESB. 2001. Relatório da qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2000. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, 214p.
- CETESB. 2002. Relatório da qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2001. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, 227p.
- CETESB. 2003. Relatório da qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2002. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, 279p.
- CETESB. 2004. Relatório da qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2003. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, 273p.

- CETESB. 2005. Relatório da qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2004. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, 307p.
- CETESB. 2006. Relatório da qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2005. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, 488p.
- CETESB. 2007. Relatório da qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2006. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, 327p.
- CETESB. 2008. Relatório da qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2007. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, 537p.
- CETESB. 2012. Relatório da qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2011. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, 342p.
- CETESB. 2013. Relatório da qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2012. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, 370p.
- Clesceri, L.S.; Greenberg, G.E.; Eaton, A. 1998 Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th edn. American Public Health Association, Washington (DC).
- Cohen, J. 1988. Statistical power analysis for the behavioral sciences. Hillsdale, NJ, Erlbaum.
- Cortez, T.M. 2013. Aspectos ecológicos e sua relação com o polimorfismo genético e a taxonomia convencional de cianobactérias da represa Billings. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências, Departamento de Ecologia de Ecossistemas Terrestres e Aquático, Universidade de São Paulo, São Paulo, 60p.
- EMAE. 2002. Empresa Metropolitana de Águas e Energia S.A. Disponível em: <<u>http://www.emae.sp.gov.br></u>. Acesso: 26 de setembro de 2011.
- Esteves, F.A.; Panosso, R. 2011. Fósforo. *In:* Esteves, F.A. (ed.). Fundamentos de limnologia 3ºed. Rio de Janeiro, Interciência, 826p.
- Jureidini, P.; Chinez, S.J.; Agudo, E.G. 1983. Medições da produção primária em três reservatórios do Estado de São Paulo. *Ciência e Cultura*, 35(9): 1341-1346.
- Komarék, J.; Anagnostidis, K. 1989. Modern approach to the classification system of cyanophytes 4 Nostocales. *Algological Studies*, 56: 247-345.
- Komarék, J.; Anagnostidis, K. 1998. Cyanoprokaryota I. Teil Chroococcales. *In:* . Ettl, H.; Gärtner, G.; Heynig, H.; Mollenhauer, D. (eds). Süswasserflora von Mitteleuropa. Stuttgard: Gustav, p. 1-548.

- Komarék, J.; Anagnostidis, K. 2005. Cyanoprokaryota II. Teil Oscillatoriales. *In:* Büdel, B.; Krienitz, L.; Gärtner, G.; Schagerl, M. (eds.). Süswasserflora von Mitteleuropa. Elsevier Gmbh: Munchen, v. 19, p. 1-759.
- Lamparelli, M.C. 2004. Graus de trofia em corpos d'água do Estado de São Paulo: avaliação dos métodos de monitoramento. Tese de doutorado. Instituto de Biociências, Departamento de Ecologia de Ecossistemas Terrestres e Aquáticos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 235p.
- Maier, M.H.; Takino, M. 1985. Limnologia de reservatório do sudeste do Estado de São Paulo, Brasil IV. Nutrientes e clorofila-a. *Boletim do Instituto de Pesca*, 12(1): 11-43.
- Margalef, R. 1983. Ecología. Omega, Barcelona, 768p.
- Mariani, C.F.; Moschini-Carlos, V.; Brandimarte, A.L.; Nishimura, P.Y.; Tófoli, C.F.; Duran, D.S.; Lourenço, E.M.; Braidotti, J.C.; Almeida, L.P.; Fidalgo, V.H; Pompêo, M.L.M. 2006. Biota and water quality in the Riacho Grande reservoir, Billings Complex (São Paulo, Brazil). Acta Limnologica Brasiliensia, 18(3): 267-280.
- Mariani, C.F.; Pômpeo, M.L.M. 2008. Potentially bioavailable metals in sediment from a tropical polymictic environment Rio Grande Reservoir, Brazil. *Journal Soils and Sediment*, 8:248-288.
- Matsumura-Tundisi, T.; Tundisi, J.G.; Luzia, A.P; Degani, R.M. 2010. Occurence of *Ceratium furcoides* (Lenvander) Langhans 1925 bloom at the Billings reservoir, São Paulo State, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 70(3): 825-829.
- Monteiro-Júnior, A.J. 2006. Caracterização limnológica e compartimentalização do reservatório de Ponte Nova, Alto Tietê, SP uma contribuição ao seu manejo. Tese de doutorado. Instituto de Biociências, Departamento de Ecologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 96p.
- Moschini-Carlos, V.M; Freitas, L.G.; Pômpeo, M. 2010. Limnological evaluation of water in the Rio Grande and Taquacetuba branches of the Billings Complex (São Paulo, Brazil) and the management implications. *Ambi-água*, Taubaté, 5(3): 47-59.
- Muniz, T.P. 2004. Avaliação do risco ecológico em ambientes hídricos do Estado de São Paulo. Dissertação de mestrado. Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 79p.
- Oda, A.C.R.; Bicudo, C.E.M. 2006. Ecology of *Peridinium gatunense* and *Peridinium umbonatum* (Dinophyceae) in a shallow, tropical, oligotrophic reservoir (IAG Pond), São Paulo, southeast Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 18(2): 165-180.
- Oliveira, T.A. 2012. Metais presentes na água e em tecidos de peixes da represa Billings: uma avaliação temporal. Dissertação de mestrado. Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 215p.

- Padial, P.R.; Pômpeo, M.; Moschini-Carlos, V. 2009. Heterogeneidade espacial e temporal da qualidade da água no reservatório de Rio das Pedras (Complexo Billings, São Paulo). *Ambi-Água, Taubaté*, 4(3): 35-53.
- Padisák, J. 1992. Seasonal succession of phytoplankton in a large shallow lake (Balaton, Hungary) a dynamic approach to ecological memory, its possible role and mechanisms. *Journal of Ecology*, 80: 217-230.
- Reynolds, C.S. 2006. The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge, 535p.
- Rouf, A.J.M.A.; Ambak, M.A.; Shamsudin, L.; Phang, S.; Ho, S.C, 2008. Temporal changes in the peryphitic algal communities in a drowded tropical forest reservoir in Malaysia: Lake Kenyer. *Lakes and Reservoir*, 13: 271-287.
- SABESP. 2008. Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. Diagnóstico hidrogeológico da região metropolitana de São Paulo, Relatório final. Convênio SABESP/CEPAS IGc USP. São Paulo. SABESP, Glossário geral de O que fazemos/captação de água/Represa Billings. São Paulo, SP. Disponível em: http://www.sabesp.com.br/CalandraWeb/CalandraRedirect/?temp=4&proj=sabesp&pub=1&docid=1A79663C3EE06D832571AE006ED94B#. Acesso em: 01 de julho de 2013.
- SABESP. 2014. Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. Complexo metropolitano de distribuição de água. SABESP, São Paulo. Disponível em: http://site.sabesp.com.br/interna/Default.aspx?secaoId=36 . Acesso em 14 de maio de 2014.
- SAISP. 2013. Sistema de Alerta e Inundações de São Paulo. Índice de Pluviométrico de 2012. Disponível em: <u>http://www.saisp.br/estaticos/sitenovo/produtos.xmlt</u>. Acesso: 02 de abril de 2014.
- Sampaio, S.A. 2007. Quantificação de metais em águas e sedimentos do reservatório Billings por fluorescência de raios x com reflexão total e radiação Síncroton (SR-TXRF). Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Sant'Anna, C.; Melcher, S.S.; Carvalho, M.C.; Gemelgo, M.P.; Azevedo, M.T.P. 2007. Planktic cyanobacteria from upper Tietê basin reservoirs, SP, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, 30(1): 1-17.
- Straskraba, M.; Tundisi, J.G. 2000. Gerenciamento da qualidade da água de represas: São Carlos [S.l.]. ILEC IIE, v.9, 280p.
- Toledo Jr, A.P.; Chinez, S.J.; Agudo, E.G. 1981. Estudo da eutrofização no reservatório de Ponte Nova. XI Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Fortaleza, CE.
- Tsukamoto, R.Y.; Takahashi, N.S. 2007. Cianobactérias + Civilização: problemas para a saúde, a aquicultura e a natureza Parte 2. *Panorama da Aquicultura*, set/out, 24-33.

Tundisi, J.G. 2003. Água no século XXI: enfrentando a escassez. Rima, São Carlos. 247p.

- Tundisi, J.G. 2005. Gerenciamento integrado de bacias hidrográficas e reservatórios: estudos de casos e perspectivas. *In:* Nogueira, M.G.; Henry, R.; Jorcin, A. (eds). Ecologia de reservatórios: impactos potenciais, ações de manejo e sistemas em cascata. Rima, São Carlos.
- Tundisi, J.G; Matsumura-Tundisi, T. 2008. Limnologia. Oficina de Textos, São Paulo, 631p.
- Van den Hoek, C.; Mann, D.G.; Jahns, H.M. 1997. Algae Introduction to phycology. [S.l.]: Cambridge University Press, 627 p.
- Wetzel, R.G. 2001. Limnology: lake and river ecosystems. 3rd ed. Academic Press, San Diego. 1006p.
- Xavier, M.B.; Monteiro-Júnior, A.J.; Fujiara, P. 1985. Limnologia de reservatório do sudeste do Estado de São Paulo, Brasil VII. Fitoplâncton. *Boletim do Instituto de Pesca*, 12(1): 145-186.
- Zagatto, P.A.; Lorenzetti, M.L.; Lamparelli, M.C.; Salvador, M.E.P.; Menegon, J.; Bertoletti, E. 1999. Aperfeiçoamento de um índice de qualidade de águas. Acta Limnologica Brasiliensia. 11: 111–126.

Transferência trófica de ácidos graxos em reservatórios tropicais: evidência da retenção de ácidos graxos polinsaturados n3 em fêmeas de *Astyanax fasciatus*

^aGomes, Aline Dal'Olio; ^aTolussi, Carlos Eduardo; ^aHonji, Renato Massaaki; ^bLo Nostro,

Fabiana Laura; ^cMartinelli, Luiz Antônio; ^aMoreira, Renata Guimarães

^aUniversidade de São Paulo, Instituto de Biociências – Departamento de Fisiologia, São Paulo, SP, Brasil.

^bUniversidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Buenos Aires, Argentina.

^cUniversidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, SP, Brasil.

Resumo

Os ácidos graxos (FA) podem ser usados como biomarcadores tróficos em ambientes eutróficos de água doce. Neste estudo, foi comparado o perfil de FAs do séston, conteúdo estomacal e dos tecidos das fêmeas de Astyanax fasciatus amostradas ao longo do ciclo reprodutivo no reservatório de Ponte Nova (local referência) e no braço Taquacetuba do reservatório Billings (ambiente hipereutrófico). A atividade da bomba de Na⁺K⁺ATPase branquial e o perfil de isótopos estáveis muscular também foram quantificados. Como um resultado do perfil de FAs do séston, juntamente com o conteúdo estomacal, foi possível observar um predomínio de ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) n6 e do FA C18:1n9 na maioria dos tecidos analisados das fêmeas do reservatório referência, enquanto houve maior porcentagem de PUFAs n3 nos tecidos das fêmeas coletadas no reservatório hipereutrófico, resultando em alterações nas razões n3/n6 e EPA/ARA nesses animais. Adicionalmente, Na⁺K⁺ATPase apresentou uma atividade mais elevada nas brânquias das fêmeas do reservatório hipereutrófico, evidenciando alterações na atividade metabólica deste primeiro órgão de contato com o meio externo em condições mais eutrofizadas, contudo nenhuma correlação foi observada com o perfil de DHA nos fosfolipídios (Fl) branquiais. Com relação aos isótopos estáveis, valores de δ15N foram maiores também para os animais no ambiente hipereutófico, indicando que a poluição pode ser uma fonte significante de variabilidade isotópica espacial.

Palavras-chave: ácidos graxos, eutrofização, isótopos estáveis, Na⁺K⁺ATPase, peixes, transferência trófica.

Capítulo 2

Abstract

Fatty acids (FA) can be used as trophic biomarkers for eutrophic freshwater environments. In this study we compared the profile of FAs of seston, stomach contents and tissues of *Astyanax fasciatus* females sampled in the Ponte Nova Reservoir (reference environment) and in the Taquacetuba arm from Billings Reservoir (hypereutrophic environment) by gas chromatography. The activity of Na⁺K⁺ATPase pump in gills and muscle stable isotope profile was also quantified. Seston FAs profile, stomach contents, were rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA) n6 and of FA C18:1n9, as well as most tissues analyzed in females from the reference reservoir, while there was a higher percentage of n3 PUFAs in the tissues of females collected in the hypereutrophic reservoir, resulting in changes in the n3/n6 and EPA/ARA ratios. Additionally, Na⁺K⁺ATPase showed a higher activity in the gills of the females sampled in the hypereutrophic reservoir, showing changes in metabolic activity of this organ, that is the first contact of the body with the external environment, but there was no correlation with the DHA of gill phospholipids. In relation to stable isotopes, values for δ 15N were higher in animals of the hypereutrophic reservoir, indicating that the pollution can be a significant source of isotopic spatial variability.

Key-words: eutrophication, fatty acids, fish, Na⁺K⁺ATPase, stable isotope, reproductive cycle, trophic transfer.

1. Introdução

O conceito do uso de ácidos graxos (FA) como biomarcadores tróficos em ecossistemas aquáticos baseia-se na observação de que diferentes produtores primários, como diatomáceas, dinoflagelados, cianobactérias e bactérias, geralmente possuem um perfil de FA específico, que pode ser transferido aos consumidores sem nenhuma alteração (Shin *et al.*, 2008). Ácidos graxos ímpares (OFA) e de cadeia ramificada (BFA), por exemplo, são considerados biomarcadores de bactérias (Volkman *et al.*, 1998; Parrish *et al.*, 2000). Algas verdes produzem grande quantidade de C18:3n3 (ácido α -linolênico) e C18:2n6 (ácido linoleico), no entanto, valores maiores que 2.5% de C18:2n6 podem ser utilizados como um biomarcador adequado de matéria orgânica terrestre (Parrish *et al.*, 2000). Os FAs C20:5n3 (ácido eicosapentaenoico, EPA) e C22:6 n3 (ácido docosahexaenoico, DHA), são produzidos quase exclusivamente por diatomáceas, criptofíceas e dinoflagelados (Ahlgren *et al.*, 1992; Dalsgaard *et al.*, 2003; Brett *et al.*, 2009).

Nos ecossistemas aquáticos de água doce, os ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) C18:3n3 e C18:2n6 são considerados essenciais, pois ao contrário dos vegetais, os animais não podem sintetizá-los "*de novo*", sendo obrigatoriamente obtidos através da transferência trófica (Arts *et al.*, 2001; Copeman *et al.*, 2002; Bell e Tocher 2009). Após a incorporação desses FAs nos tecidos, os animais podem bioconverter o C18:3n3 em EPA e DHA e o C18:2n6 em C20:4n6 (ácido araquidônico, ARA). Entre essas moléculas, EPA, DHA e ARA são fisiologicamente importantes com efeitos no crescimento, reprodução, sistema imune e sobrevivência de peixes e invertebrados (Sargent *et al.*, 1999; Arts *et al.*, 2001). Contudo, a longo prazo, as modificações ambientais decorrentes de atividades antrópicas, podem alterar a composição fitoplanctônica e da matéria orgânica no ambiente, interferindo na transferência dos ácidos graxos aos animais.

Estudos realizados nos Grandes Lagos, no Canadá, têm demonstrado que as populações do anfípoda *Diporeia*, ricas em lipídios, declinaram em muitas áreas devido a introdução de bivalves invasivos (Nalepa *et al.*, 2006). As diporéias são ricas em EPA e DHA e a sua diminuição no ambiente teve forte efeito na disponibilidade de HUFAs n3 aos peixes (Arts e Kohler, 2009). Os processos de eutrofização também resultam em grandes alterações na comunidade biológica. Müller-Navarra *et al.* (2004) evidenciaram, em lagos eutróficos na Califórnia, uma substituição de táxons ricos em HUFAs n3 (EPA e DHA), como diatomáceas, criptófitas e dinoflagelados, por táxons pobres nestes FAs, como clorófitas e cianobactérias. As alterações decorridas dessas perturbações têm potencial para afetar a fluidez das

membranas celulares e a síntese de eicosanoides nos peixes (Hebert *et al.*, 2008; Arts e Kohler, 2009), interferindo em muitos processos bioquímicos.

No Brasil, a ocorrência do processo de eutrofização em corpos d'água tem crescido muito desde a década de 90 (Sant'anna e Azevedo, 2000) e são bem conhecidas as alterações nas comunidades biológicas, incluindo bloom de cianobactérias, diminuição da biodiversidade fitoplanctônica, excessivo crescimento de macrófitas, aumento da biomassa de zooplâncton e peixes (Pômpeo et al., 2005). Contudo, ainda são poucos os estudos que avaliam o efeito do processo de eutrofização nas interações tróficas que são, na sua maioria, de rios e estuários (Cole et al., 2004; Abreu et al., 2006; Garcia et al., 2007; Gladyshev et al., 2011). O objetivo do nosso estudo foi verificar se o processo de eutrofização em reservatórios da Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) tem influência na composição de FAs do séston e na transferência trófica desses FAs às fêmeas do teleósteo Astyanax fasciatus ao longo do ano. Nós hipotetizamos que a composição de FAs do séston do reservatório hipereutrófico será pobre em EPA e DHA, devido ao predomínio de cianobactérias. Deste modo, a transferência trófica aos peixes será deficiente, acarretando em alterações na composição dos FAs dos lipídios de reserva e dos fosfolipídios de membrana, podendo até mesmo interferir na atuação das bombas de Na⁺K⁺ATPase. Além disso, o perfil de isótopos estáveis, juntamente com os FAs, será utilizado para determinar o nível trófico dos animais dentro da respectiva cadeia alimentar.

2. Materiais e Métodos

2.1 Caracterização da área de estudo

A área de estudo compreendeu os dois reservatórios descritos no capítulo 1, sendo o reservatório de Ponte Nova (PN) considerado como o local referência e o braço Taquacetuba, no reservatório Billings (Bil), considerado como o local hipereutrófico.

2.2 Captura dos animais e coleta de amostras

Fêmeas adultas de *A. fasciatus*, uma espécie onívora, foram capturadas nos trechos previamente determinados do reservatório de Ponte Nova (PN - local referência) e no braço Taquacetuba do reservatório Billings (Bil - hipereutrófico), descritos no capítulo 1, utilizandose vara de pesca e rede de espera. As coletas foram realizadas mensalmente de janeiro a dezembro de 2012 (em média 6 indivíduos/coleta/ambiente) agrupadas entre as quatro estações do ano (verão, outono, inverno e primavera), totalizando, em média, um n amostral de 12 indivíduos/estação/ambiente. Os procedimentos de coleta (Fig. 1) dos tecidos foram realizados em campo no mesmo dia da captura dos animais. Primeiramente as fêmeas foram anestesiadas com 1 g de benzocaína previamente diluída em 10 mL de etanol e eutanasiadas por secção da medula espinhal na altura do opérculo, os dados morfométricos e ponderais foram registrados e após dissecção, os órgãos da cavidade abdominal, ovários, fígado e estômago foram pesados para o cálculo dos índices viscerossomático (IVS), gonadossomático (IGS), hepatossomático (IHS) e gastrossomático (IGaS), respectivamente, seguindo o cálculo abaixo:

Índice: [(massa do órgão/massa corpórea)x100]

Amostras de fígado, ovários, musculatura epaxial branca, filamentos branquiais, tecido adiposo e conteúdo estomacal foram coletadas e mantidas em freezer –80°C. Para confirmar o estádio de maturação gonadal, amostras do terço médio dos ovários foram removidas, fixadas em solução de Bouin acético por 24 horas e então transferidas ao etanol (70° GL).

2.3 Coleta de séston

No momento da captura dos animais, amostras de água foram coletadas, em triplicata, utilizando uma rede de plâncton de 20 µm e, em seguida congeladas. No laboratório as amostras foram descongeladas, filtradas em filtro Millipore 0.221 µm com bomba à vácuo e submetidas aos procedimentos para identificação dos ácidos graxos, detalhado nos itens abaixo. O uso da de rede de plâncton de 20 µm nos impossibilitou de fazer uma análise mais específica dos ácidos graxos bacterianos presentes no séston.

2.4 Análises histológicas

Para confirmação do estádio de maturação gonadal, os ovários foram desidratados por meio de uma exposição a concentrações crescentes de etanol, diafanizados em solução de xilol (*dimethylbenzene*) e infiltrados em Paraplast[®] (Erv-Plast, Erviegas Instrumental Cirúrgico Ltda) de acordo com os procedimentos histológicos rotineiros (Behmer *et al.*, 1976). Cortes seriados com 5 μm foram realizados com micrótomo (Leica – RM/2255, equipado com lâminas descartáveis) e montados em lâminas com polilisina (*Poly-Lysine Solution – Sigma Diagnostics INS, St. Louis M.O. USA*) e corados com hematoxilina-eosina (Behmer *et al.*, 1976) e/ou ácido periódico de Schiff (PAS) + hematoxilina férrica + *Metanil Yellow* (Quintero-Hunter *et al.*, 1991). Em seguida, o material foi novamente desidratado, diafanizado e montado com lamínula e goma Damar. Os cortes preparados foram analisados e documentados, utilizando-se um sistema computadorizado de captura de imagens (microscópio de luz transmitida – *Leica DM 1000;* câmera fotográfica – *Leica DFC 295;* e programa de captura de imagem – *Leica Application Suíte Professional, LAS V3.6*).



Figura 1: Procedimentos de coleta. **A)** Registro do comprimento corpóreo. **B)** Registro da massa corpórea. **C)** Vista da cavidade abdominal interna de *A. fasciatus* para retirada dos órgãos, destacando os ovários. **D)** Retirada de uma amostra do músculo. **E)** Coleta de filamentos branquiais. **F)** Estômago repleto de conteúdo estomacal.

2.5 Análises bioquímicas

2.5.1 Ácidos graxos

Os lipídios totais das amostras de séston, conteúdo estomacal e dos tecidos foram extraídos com clorofórmio: metanol: água (2:1:0.5) de acordo com o método de Folch *et al.* (1957) adaptado por Parrish (1999) para organismos aquáticos. O extrato lipídico tecidual foi

separado em lipídios neutros (triacilgliceróis) e lipídios polares (fosfolipídios) usando uma coluna de sílica ativada (Yang, 1995). A metilação de cada fração foi feita com cloreto de acetila (5% de HCl em metanol) (Christie, 2003), e a composição de FAs foi determinada como metil ésteres utilizando um Cromatógrafo Gasoso (CG) Varian modelo 3900 equipado com um ionizador de chama (FID) e auto-injetor. Os FAs foram analisados em uma coluna capilar CP Wax 52 CB, 0.25 µm de espessura, 0.25 mm de diâmetro interno e 30 m de comprimento. O hidrogênio foi utilizado como gás carreador a uma velocidade linear de 22 cm/s. O programa de temperatura foi: 170°C durante 1 minuto, seguido de uma rampa de 2.5°C /minuto até 240°C, e um tempo de espera final de 5 minutos, totalizando 31 minutos de corrida. No injetor e no detector de ionização de chama (FID), as temperaturas foram 250 e 260°C, respectivamente. Os FAs foram identificados por comparação ao tempo de retenção, usando um padrão de metil ésteres conhecido (FAME) (Supelco, 37 *components*; Sigma–Aldrich; Mixture, Me93, Larodan and Qualmix, PUFA *fish* M, Menhaden Oil, Larodan).

Os principais FAs específicos e as razões de FAs biomarcadores encontrados no presente estudo foram identificados por comparação com os dados da literatura (Tab. 1).

Tabela 1: Ácidos graxos e razões de ácidos graxos utilizados como biomarcadores em diferentes fontes alimentares. Os biomarcadores (expressos como razões) indicam a importância relativa de uma fonte alimentar em relação à outra.

Fonte	Biomarcadores
Cianobactérias ^a	↓ PUFAs C18 e C20-
	22
Algas verdes ^b	C18:2n6
-	C18:3n3
Diatomáceas ^c	C16:2n4 e C16:4n1
	C20:5n3
	C16:1/C16:0 > 1.6
	C16/C18 > 2
	C20:5n3/C22:6n3 > 1
Dinoflagelados ^c	C22:6n3
	C20:5n3/C22:6n3 < 1
Zooplâncton ^{c, d}	C18:1n9
_	C20:1
	C22:1
Plantas Terrestres ^e	C18:2n6
Muller-Navarra <i>et al.</i> (2004); ^b Napolitano (1999); ^c Parrish et al. (2000); ^d Falk-Petersen et al. (2

O índice de insaturação (UI) dos fosfolipídios foi calculado pela porcentagem total de cada classe de ácido graxo multiplicado pelo número de duplas ligações respectivo (Johnson *et al.*, 2008; McCue *et al.*, 2009):

II= (ΣSFA x 0) + (ΣMUFA x 1) + (ΣPUFA x 2) + (ΣPUFA x 3) + (ΣPUFA x 4) + (ΣPUFA x 5) + (ΣPUFA x 6).

2.5.2 Atividade da Bomba de $Na^+K^+ATPase$

Os filamentos branquiais foram homogeneizados em tampão SEI (Sacarose 300 mM; EDTA 0.1 mM, Imidazol 30 mM e β -mercaptoetanol 0.035% em pH 7.4) 20x (p.v-¹) e centrifugados a 7800 g por 15 minutos à 4°C. O sobrenadante foi retirado e utilizado para a realização do ensaio da atividade da enzima Na⁺K⁺ATPase segundo Quabius *et al.* (1997). O ensaio consistiu em quantificar a diferença entre a taxa de liberação de fosfato a partir de ATP das amostras incubadas em tampão (NaCl 100 mM, MgCl 8mM, Imidazol 30 mM, EDTA 0.1 mM, ATP 3 mM em pH 7.6) na ausência (contendo KCl:13 mM) e na presença de ouabaína (2.5 mM). Uma solução de fosfato de 0.65 mM (Sigma) foi utilizada como padrão e as amostras foram analisadas em triplicata a 620 nm em uma leitora de microplacas. A concentração de proteínas do sobrenadante foi determinada de acordo com Lowry *et al.* (1951) e a atividade da enzima expressa como Pi.mg.proteína⁻¹.h⁻¹.

2.6 Análise de isótopos estáveis

Amostras de músculo branco foram liofilizadas e aproximadamente 1mg do tecido seco foi colocado dentro de uma cápsula de estanho e queimado por combustão a 1800°C em um Espectrômetro de Massa de Razão Isotópica (IR-MS) ThermoQuest-Finnigan, Delta Plus (Finnigan-MAT, San Jose, CA) com um analisador elementar (Modelo 1110; Carlo Erba, Milão, Itália). O CO₂ (g) e N₂ (g) resultantes foram analisados pela razão entre os isótopos estáveis do carbono e nitrogênio, respectivamente, seguindo padrões internacionais reconhecidos. A concentração de isótopos estáveis foi expressa em δ como parte por milhão (‰) baseado em um padrão de referência, de acordo com o seguinte cálculo:

 $\delta X = [(R_{amostra}/R_{padrão})-1]x1000, onde:$

X é $^{13}\mathrm{C}$ ou $^{15}\mathrm{N}$

R é correspondente a razão ${}^{13}C/{}^{12}C$ ou ${}^{15}N/{}^{14}N$

 δ é a proporção de luz emitida pelo isótopo na amostra

2.7 Análise dos dados

A composição dos FAs do séston, conteúdo estomacal e tecidos, a atividade da bomba de Na⁺K⁺ATPase branquial e o perfil de isótopos estáveis muscular, foram comparados entre os ambientes ao longo do ano utilizando-se teste de Análise de Variância *two-way* ANOVA

no programa Sigma Stat 3.0. Testes de normalidade e homogeneidade de variância foram aplicados e, quando cumpriam os requerimentos de uma análise paramétrica, os resultados foram comparados seguidos do teste de Student-Newmann-Keuls (SNK). Para os dados que não cumpriram esses requerimentos, o teste Kruskal-Wallis foi aplicado (Zar, 1999). Como análise ordenatória foi utilizada a Análise de Componentes Principais (ACP) pelo programa Primer 6, que ordenou as unidades amostrais em função do perfil de FAs teciduais nos diferentes ambientes. Scatter plots foram empregados para avaliar os padrões de variação isotópica entre os locais de amostragem utilizando o programa Sigma Plot. O grau de associação entre o perfil de FAs branquiais e a atividade da bomba de Na⁺K⁺ATPse foi calculado por meio da análise de correlação de Pearson, sendo que valores positivos ou negativos entre (Cohen, 1988):

0.1-0.29: indicam correlação fraca;

0.3-0.40: indicam correlação moderada;

0.5-1.0: indicam correlação forte.

3. Resultados

3.1 Dados morfométricos, ponderais e análises histológicas

As fêmeas de *A. fasciatus* coletadas no local de referência (PN) apresentaram uma maior massa corpórea e comprimento total na estação de outono do que os animais amostrados nesse mesmo ambiente nas outras estações (P<0.001), e também às fêmeas coletadas no reservatório hipereutrófico (Bil) neste mesmo período (P<0.001) (Tab. 2). Os índices GS e VS das fêmeas do local de referência (PN) diferiram significativamente ao longo do ano, apresentando valores menores nas estações de outono e inverno em comparação ao verão e a primavera para o IGS e o oposto para IVS (P<0.001, Tab. 2). Nas fêmeas do reservatório hipereutrófico, o IGS se manteve alto ao longo de todo o ano, sem nenhuma diferença estatística entre as estações (P>0.05). Assim, durante o inverno o índice nesses animais foi mais alto do que no local de referência, contudo na primavera observamos o contrário (P=0.003, P=0.023, respectivamente) (Tab. 2). IHS foi maior para as fêmeas do local de referência (PN) em comparação ao reservatório hipereutrófico (Bil) na primavera (P=0.016, Tab. 2). IGaS não mostrou nenhuma diferença entre os ambientes, contudo no reservatório hipereutrófico (Bil) podemos observar um aumento deste índice durante o outono em relação ao verão e a primavera (P=0.001, P=0.009, respectivamente) (Tab. 2).

Apesar da variação morfológica dos ovários ao longo do ano (Figs. 2 a, c, e, g), as análises histológicas evidenciaram o predomínio de oócitos vitelogênicos em todas as estações do ano (Figs. 2 b, d, f, h), classificados em estádio de maturação avançada ao longo do ciclo reprodutivo para as fêmeas de *A. fasciatus* em ambos os reservatórios.

Ambiente	Estação	n	Estádio de maturação	Massa corpórea (g)	Comprimento total (cm)	IGS (%)	IHS (%)	IVS (%)	IGaS (%)
	Verão	11		14.1 ± 4.69^{a}	10.3 ± 1.18^{ab}	11.1 ± 4.69^{a}	0.9 ± 0.35	3.4 ± 1.32^{a}	1.4 ± 0.64
Ponte Nova	Outono	12	Maturação	$17.8 \pm 3.43^{b*}$	10.6 ± 0.64^{a} *	6.9 ± 2.89^{b}	1.1 ± 0.27	5.0 ± 0.96^{b}	2.0 ± 1.13
	Inverno	6	avançada	$12.7\pm4.32^{\rm a}$	10.0 ± 0.97^{b}	$6.2 \pm 2.65^{b*}$	1.1 ± 0.45	$5.0 \pm 2.23^{b*}$	1.8 ± 0.76
	Primavera	12		$12.0\pm2.69^{\text{a}}$	$9.7\pm0.67^b \textbf{*}$	$13.3 \pm 4.35^{a}*$	$1.0 \pm 0.73^{*}$	4.3 ± 2.80^{ab}	1.7 ± 0.96
	Verão	11		14.4 ± 2.56	10.1 ± 0.52	11.0 ± 4.82	0.7 ± 0.24^{a}	3.4 ± 1.23	1.2 ± 0.70^{a}
Taquacetuba (Billings)	Outono	12	Maturação	$13.4 \pm 2.75 **$	9.7 ± 0.49 **	8.8 ± 3.01	1.1 ± 0.64^{b}	4.6 ± 2.33	2.1 ± 1.31^{b}
	Inverno	6	avançada	15.0 ± 2.99	10.3 ± 0.77	$10.7 \pm 3.07 **$	$1.2\pm0.99^{\text{b}}$	$3.3 \pm 1.99 **$	1.4 ± 0.40^{ab}
	Primavera	12		13.7 ± 2.83	$10.2 \pm 0.80 **$	$10.7 \pm 4.90 **$	$0.7 \pm 0.27^{a} **$	4.1 ± 1.43	1.4 ± 0.61^a

Tabela 2: Parâmetros morfométricos e ponderais das fêmeas de A. fasciatus coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ano (Média ± DP).

*Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, P < 0.05). ^{ab}Letras diferentes representam diferenças estatísticas no mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, P < 0.05). IGS: Índice gonadossomático; IHS: Índice hepatossomático; IVS: Índive viscerossomático; IGaS: Índice gastrossomático.



Figura 2: Análises macroscópicas e microscópicas dos ovários de *A. fasciatus* coletados nos reservatórios referência - PN (a-d) e hipereutrófico - Bil (e-h) nas estações de verão e inverno. **A e E)** Ovários grandes e bem vascularizados de fêmeas coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) no verão, respectivamente. **C e G)** Ovários menores, flácidos e com pouca vascularização de fêmeas coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) no verão, reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) no inverno, respectivamente. **B e F)** Presença de muitos oócitos grandes e vitelogênicos (asterisco) e poucos oócitos perinucleolares, caracterizando o estádio de maturação avançada das fêmeas coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) no verão, respectivamente (Barra=75µm). **D e H)** Presença de muitos oócitos grandes e vitelogênicos (asterisco) e poucos oócitos grandes e vitelogênicos (Bil) no verão, respectivamente (Barra=75µm). **D e H)** Presença de muitos oócitos grandes e vitelogênicos (asterisco) e poucos oócitos perinucleolares, caracterizando o estádio de maturação avançada das fêmeas coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) no inverno, respectivamente (Barra=75µm). **D e H)** Presença de muitos oócitos grandes e vitelogênicos (asterisco) e poucos oócitos perinucleolares, caracterizando o estádio de maturação avançada das fêmeas coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) no inverno, respectivamente (Barra=75µm nas figuras b, d, f, h). Coloração H-E. n = 5 animais/estação/ambiente.

3.2 Perfil de ácidos graxos

3.2.1 Séston e conteúdo estomacal

A caracterização dos ambientes foi predominantemente baseada em diferenças de ácidos monoinsaturados (MUFA) e PUFAs n3. O FA C18:1n9 foi o principal MUFA encontrado nas amostras de séston do reservatório referência ao longo do ano, apresentando valores mais altos durante o inverno e a primavera (PN) (P=0.001), que foram muito maiores do que no reservatório hipereutrófico (Bil) (P=0.009 e P=0.001, respectivamente) (Fig. 3A, Apêndice 1). Altas porcentagens de PUFAs, principalmente n3, encontradas nas amostras de séston do local de referência (PN) durante o verão (P<0.001) contribuíram para as diferenças observadas entre os ambientes nessa mesma estação (P<0.001. Apêndice 1). Contudo, nas demais estações houve um aumento de PUFAs n3 no séston do reservatório hipereutrófico, sendo estatisticamente maior do que no reservatório referência (PN) (P<0.001, Apêndice 1). Em ambos os casos, a composição de PUFAs foi dominada por FAs de cadeia longa (C20-22: HUFA) n3, como o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosahexaenoico (DHA) (Fig. 3B). PUFAs n3 de cadeia curta (C18) também apresentaram altas porcentagens nas amostras de séston do reservatório hipereutrófico (Bil) em comparação ao referência (PN) (P<0.001, Fig. 3A, Apêndice 1). Os PUFAs C16 constituíram a menor classe em ambos os reservatórios, com porcentagens maiores nas amostras de séston do reservatório referência (PN) do que no hipereutrófico (Bil) ao longo do ano (P<0.001, Apêndice 1).

As diferenças encontradas nas amostras de conteúdo estomacal também foram predominantemente devido às alterações na composição de ácidos graxos ímpares (OFA), MUFAs e PUFAs. Os ácidos graxos bacterianos, neste caso ímpares (OFA) como C17:0, apresentaram maiores porcentagens nas amostras de conteúdo estomacal das fêmeas do reservatório hipereutrófico (Bil) em comparação ao local de referência (PN), ao longo de todo o ano (P=0.001, Apêndice 2). MUFAs apresentaram valores mais altos durante o inverno e a primavera no reservatório referência (PN) (P<0.01), sendo significativamente maiores do que o valor encontrado nas amostras de conteúdo estomacal das fêmeas do reservatório hipereutrófico (Bil) nas mesmas estações (P=0.002, P<0.001, respectivamente, Apêndice 2). Essa diferença se deu principalmente devido aos altos valores de C18:1n9 encontrados durante todo o ano (Fig. 3C). Contudo, a composição de MUFAs se apresentou diferente entre os ambientes, sendo que o C16:1n7 e C18:1n7 apresentaram valores significativamente mais altos nas amostras do reservatório hipereutrófico (Bil) em comparação ao referência (PN) (P<0.05, Apêndice 2). Os PUFAs do conteúdo estomacal também apresentaram diferenças marcantes em sua composição entre os ambientes, sendo que as amostras do reservatório

referência (PN) apresentaram porcentagens mais altas de PUFAs n6, principalmente C18 como C18:2n6 (P<0.05), enquanto as amostras do reservatório hipereutrófico (Bil) continham significativamente valores maiores de PUFAs n3, como C18:3n3 e EPA (P<0.05, Figs. 3D e E, Apêndice 2).



Figura 3: Perfil de FAs das amostras de **A-B**) séston, **C-D**) conteúdo estomacal (CE) e **E-F**) tecido adiposo (TA) das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatório referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ciclo reprodutivo. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, P < 0.05). ^{ab}Letras diferentes representam diferenças estatísticas no mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, P < 0.05).

3.2.2 Perfil de ácidos graxos teciduais

O perfil de ácidos graxos dos triacilgliceróis (Tg) e fosfolipídios (Fl) teciduais das fêmeas refletiu a composição encontrada nas amostras de séston e conteúdo estomacal, principalmente com relação aos MUFAs e PUFAs. Deste modo, as fêmeas do local de referência (PN) apresentaram porcentagens significativamente mais altas de MUFAs, principalmente C18:1n9, nos Tgs de todos os tecidos analisados, incluindo o tecido adiposo, em todas as estações do ano em comparação as fêmeas do reservatório hipereutrófico (Bil) (P<0.05, Figs. 3E, 4A-6A, Apêndices 3, 4, 6 e 8). Nos Fls teciduais essa diferença também foi observada (P<0.05, Figs. 4C-6C, Apêndices 5, 7 e 9). Contudo, os FAs C16:1n7 e C18:1n7 apresentaram porcentagens significativamente maiores nos Tgs teciduais das fêmeas do reservatório hipereutrófico (Bil) em comparação às fêmeas do local referência (PN) (P<0.05, Apêndices 3, 4, 6 e 8). A composição de PUFAs teciduais diferiu entre os ambientes, sendo que maiores porcentagens de PUFAs n6 foram encontradas no tecido adiposo e nos Tgs e Fls de todos os tecidos analisados das fêmeas coletadas no reservatório referência (PN), enquanto no reservatório hipereutrófico (Bil) foram encontrados valores significativamente maiores de PUFAs n3 (P<0.05, Apêndices 3-10). O perfil de FAs do tecido adiposo e dos Tgs teciduais dos animais no reservatório referência foi caracterizado por PUFAs n6 predominantemente com 18C, como C18:2n6 (Figs. 3E, 4A-6A, Apêndices 3, 4, 6 e 8) enquanto nos Fls encontramos também a presença de altos valores de ácido araquidônico (ARA) (P<0.05, Figs. 4C-D, 6C-D, Apêndices 5, 7 e 9). Já nos tecidos dos animais do reservatório hipereutrófico, tanto nos Tgs quanto nos Fls, os principais FAs foram C18:3n3, EPA e DHA, assim como no tecido adiposo (P<0.05, Figs. 3-6).

Para avaliar as principais tendências de variação no perfil de FAs teciduais entre os reservatórios foi realizada uma análise de componentes principais (ACP). Os dois primeiros eixos de ordenação resumiram conjuntamente 88.9% da variabilidade dos dados, mostrando separação entre os ambientes e os tecidos analisados baseada predominantemente nos FAs C18:1n9, C18:2n6, C18:3n3, ARA e DHA (Fig. 7). As unidades amostrais referentes ao tecido adiposo (TA) das fêmeas do reservatório referência e hipereutrófico estão associadas a porcentagens mais altas de C18:1n9 e C18:2n6, e C18:3n3, respectivamente, ordenadas no eixo 2 (Fig. 7). Por outro lado, as unidades amostrais do perfil de FAs dos Fls ovarianos (GP) estão associadas basicamente aos FAs DHA e ARA para as fêmeas de ambos os reservatórios (Fig. 7). Independente das diferenças observadas entre os ambientes, os FAs ARA, EPA e DHA apresentaram valores mais elevados durante o verão e a primavera nos Fls ovarianos das fêmeas do local de referência em comparação as outras estações (P<0.05, Fig. 6D) e, durante o inverno e a primavera nos Fls hepáticos e ovarianos das fêmeas do reservatório hipereutrófico (P<0.05, Figs. 4D e 6D), corroborando os dados observados na ACP.



Figura 4: Perfil de FAs dos **A-B**) triacilgliceróis (Tg) e **C-D**) fosfolipídios (Fl) hepáticos das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ciclo reprodutivo. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, P < 0.05). * Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas no mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, P < 0.05).

O perfil de FAs dos Fls branquiais apresentou uma composição diferente do que foi observado para os outros tecidos em ambos os reservatórios, sendo importante destacar um grande aumento de PUFAs totais, decorrentes dos FA n3, como DHA, e uma diminuição de SFAs e MUFA, principalmente C16:0 e C18:1n9, nas fêmeas de ambos os reservatórios coletadas na primavera em comparação as outras estações (P<0.05, Fig. 8A-B, Apêndice 10).



Figura 5: Perfil de FAs dos **A-B**) triacilgliceróis (Tg) e **C-D**) fosfolipídios (Fl) musculares das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ciclo reprodutivo. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, P < 0.05). ^{ab}Letras diferentes representam diferenças estatísticas no mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, P < 0.05).

A composição de PUFAs teciduais apresentada refletiu em maiores razões n3/n6, EPA/ARA, DHA/ARA nos Tgs e Fls de todos os tecidos analisados, bem como no tecido adiposo, das fêmeas do reservatório hipereutrófico (Bil) em relação ao local de referência (PN) (P < 0.05, Apêndices 3-10). A razão C20-22/C18 n3 apresentou valores altos, principalmente nos Fls, sendo significativamente maiores no figado e ovário das fêmeas do local de referência em relação ao reservatório hipereutrófico (Apêndices 3-10). A razão C20-22/C18 n6 apresentou valores < 1 em todos os Tgs teciduais e > 1 nos Fls teciduais das fêmeas de ambos os reservatórios (Apêndices 3-10). Mesmo havendo uma porcentagem muito elevada de DHA nos fosfolipídios teciduais das fêmeas no reservatório hipereutrófico, não houve nenhuma diferença estatística para o índice de insaturação entre os ambientes (P > 0.003, Apêndices 5, 7, 9 e 10).



Figura 6: Perfil de FAs dos **A-B**) triacilgliceróis (Tg) e **C-D**) fosfolipídios (Fl) ovariano das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ciclo reprodutivo. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, P < 0.05). ^{ab}Letras diferentes representam diferenças estatísticas no mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, P < 0.05).



Figura 7: Ordenação de ACP dos ácidos graxos do tecido adiposo e dos Fls ovarianos fêmeas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo das estações do ano.



Figura 8: Perfil de FAs dos **A-B**) fosfolipídios (Fl) branquiais das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ciclo reprodutivo. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, P < 0.05). ^{ab}Letras diferentes representam diferenças estatísticas no mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, P < 0.05).

3.3 Bomba de Na⁺K⁺ATPase

A atividade da bomba de Na⁺K⁺ATPase branquial não apresentou nenhuma diferença estatística ao longo do ano nas fêmeas de *A. fasciatus* coletadas no reservatório referência. Por outro lado, durante o inverno foi observado um aumento da atividade da bomba nas brânquias das fêmeas no reservatório hipereutrófico em comparação ao verão (P=0.005, Fig.9), sendo muito mais elevada do que nos animais coletados no reservatório de referência (P=0.032, Fig. 9). A análise de Pearson feita entre a atividade da bomba Na⁺K⁺ATPase branquial e a porcentagem de DHA presente nos Fls branquiais, mostrou uma moderada correlação positiva para as fêmeas de *A. fasciatus* no reservatório referência (r=0.425) e fraca no reservatório hipereutrófico (r=0.166). A mesma análise foi aplicada com relação a porcentagem de C18:1n9 nos Fls branquiais e nenhuma correlação foi observada para os animais de ambos os ambientes.



Figura 9: Atividade da bomba de Na⁺K⁺ATPase nas brânquias das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ano (Média \pm EPM). ^{*}Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, *P*<0.05). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro do mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, *P*<0.05). n= 12 animais/estação/ambiente.

3.4 Isótopos estáveis

Nenhuma diferença temporal foi encontrada para os valores de $\delta 15N$ e $\delta 13C$ no músculo das fêmeas de ambos os reservatórios. $\delta 13C$ também não apresentou diferenças entre os ambientes, contudo os animais do reservatório hipereutrófico apresentaram um valor mais alto de $\delta 15N$ no músculo do que os animais no local de referência (*P*<0.001, Fig. 10A). Esses dados indicam que os peixes de ambos os reservatórios apresentam a mesma fonte de obtenção do carbono ($\delta 13C$), contudo parecem estar em níveis tróficos diferentes ($\delta 15N$) (Fig. 10B).



Figura 10: **A)** Valores de $\delta 15$ N e $\delta 13$ C no músculo das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ano. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes (ANOVA, *P*<0.05). **B)** Plot de $\delta 15$ N e $\delta 13$ C para os peixes do reservatório referência (PN) e hipereutrófico (Bil). As fontes de carbono assimiladas pelos consumidores são indicadas pela posição no eixo-x, o nível trófico é indicado pela posição no eixo-y. n= 6 animais/estação/ambiente.
4.1 Morfologia e índices

As táticas reprodutivas dependem da interação entre o ambiente e as respostas genéticas, fisiológicas, comportamentais e ecológicas de cada indivíduo para manifestar a estratégia reprodutiva (Potts e Wootton, 1984). A. fasciatus é conhecido em seu ambiente natural por apresentar desovas múltiplas em um período reprodutivo definido (Barbieri et al., 1996; Mora-Jamett et al., 1997; Gurgel, 2004; Hirt et al., 2011), contudo no presente estudo as fêmeas em ambos os reservatórios parecem ter uma desova do tipo parcelada, confirmada pela presença predominante de oócitos vitelogênicos ao longo de todo o ano, mesmo quando os animais do reservatório referência (PN) apresentaram valores baixos de IGS. Muitos estudos têm demonstrado a alta plasticidade reprodutiva do lambari, alterando as táticas reprodutivas de acordo com as características do ambiente, sendo que as fêmeas em ambientes represados e/ou poluídos parecem exibir desova do tipo parcelada (Giamas et al., 2004; Silva et al., 2010; Prado et al., 2011). Adicionalmente, os índices HS e VS podem ser considerados importantes indicadores no processo reprodutivo, estando relacionados ao aporte de substratos energéticos (Sayer et al., 1995). Apesar de haver algumas diferenças espaciais e temporais para esses índices no presente estudo, não podemos atribuí-las somente aos processos reprodutivos, uma vez que o tipo de desova parcelada, atrelado à alta e constante disponibilidade de alimento no ambiente e as características da qualidade da água, exerce muita influência na utilização das reservas energéticas pelos animais.

4.2 Ácidos graxos

Alterações temporais e espaciais na composição de FAs são geralmente relacionadas a uma influência combinada de fatores ambientais, como luz, nutrientes, temperatura (Mayzaud *et al.*, 1989), sucessão de espécies (Hayakawa *et al.*, 1996) e o próprio estado fisiológico dos organismos fitoplanctônicos (Kattner *et al.*, 1983). Sabe-se que as cianobactérias prevalecem em ambientes eutróficos e são consideradas como alimento de baixa qualidade, devido à baixa produção de HUFAs, principalmente n3 e à alta produção de SFAs e PUFAs C18, como C18:2n6 e C18:3n3 (Lundsted e Brett, 1991; Xu e Burns, 1991; Chen e Folt, 1993; Stutzman, 1995; Muller-Navarra *et al.*, 2004). Contudo, como visto no capítulo 1, com o predomínio de cianobactérias também foi observado uma alta prevalência de dinoflagelados no reservatório hipereutrófico (Cortez, 2013), o que contribuiu para os valores mais elevados de EPA e DHA encontrado neste ambiente, uma vez que esses FAs são encontrados em altas quantidades nos

dinoflagelados (Napolitano, 1999; Olsen, 1999). Além disso, os PUFAs C18 n3 são considerados biomarcadores de clorófitas e cianobactérias (Volkman *et al.*, 1998), algas também identificadas nas análises de séston, apresentando uma maior contribuição em número de espécies (dados apresentados no capítulo 1) e em FAs C18:3n3 e C18:4n3 no reservatório hipereutrófico. Esses dados refutaram a nossa hipótese inicial de que o reservatório Billings, hipereutrófico, apresentaria uma cadeia trófica deficiente em HUFAs n3, principalmente EPA e DHA. Por outro lado, apesar dos HUFAs n6 não serem produzidos em concentrações altas pelas algas de água doce, maiores porcentagens desses FAs, juntamente com PUFAs C16 foram encontradas nas amostras de séston no reservatório referência durante todo o ano. Dunstan *et al.*, (1994) constataram alta síntese de C20:4n6 (ARA), além dos PUFAs C16 (Parrish *et al.*, 2000), como biomarcadores de diatomáceas, algas identificadas como importante componente fitoplanctônico no reservatório referência. Além disso, a presença de clorófitas e dinoflagelados explicam a grande contribuição de C18:3n3, EPA e DHA (Volkman *et al.*, 1998; Napolitano, 1999) encontradas também neste reservatório.

As poucas diferenças temporais encontradas no perfil de FAs do conteúdo estomacal das fêmeas coletadas em ambos os reservatórios sugerem uma homogeneidade da dieta ao longo do ano, corroborada pela presença do mesmo item alimentar identificado macroscopicamente no conteúdo em todas as estações (material vegetal no reservatório referência e larva de inseto no reservatório hipereutrófico). Entre os ambientes essa dieta mostrou-se ser diferente, refletindo em distintas composições de FAs no conteúdo estomacal. Porcentagens elevadas de C18:1n9 e C18:2n6, por exemplo, foram encontradas nas amostras de conteúdo estomacal das fêmeas no reservatório referência, contra valores mais baixos observados no reservatório hipereutrófico. O FA C18:2n6 é o principal biomarcador de plantas terrestres (Olsen, 1999; Parrish et al., 2000), e como foram encontrados em porcentagens menores nas amostras de séston, sugere-se que esse alto valor de C18:2n6 no conteúdo estomacal seja indicativo de uma dieta com predominância de constituintes de material vegetal, corroborando as observações macroscópicas do conteúdo feitas em campo. Por outro lado, as porcentagens de PUFAs n3, principalmente C18:3n3 e C20:5n3 (EPA), foram maiores no conteúdo estomacal das fêmeas de A. fasciatus no reservatório hipereutrófico, assim como no séston. Na identificação macroscópica do conteúdo estomacal desses animais foram encontradas larvas de insetos, possivelmente da ordem Ephemeroptera, que constitui um importante componente na fauna de águas tropicais (Mariano e Froelich, 2007). Segundo Napolitano (1999), por se alimentarem de algas e/ou organismos do zooplâncton, que podem conter altas porcentagens de EPA, DHA ou C18:3n3, os insetos são importantes fontes de FAs para peixes dulcícolas. Assim, sugere-se que os PUFAs n3 sejam transferidos indiretamente para as fêmeas de *A. fasciatus* ao longo da cadeia alimentar no reservatório hipereutrófico. Segundo Kainz *et al.* (2004), o EPA é altamente acumulado entre o séston e os componentes do microzooplâncton, se tornando alimento de alta qualidade aos níveis tróficos superiores. Os OFAs (ácidos graxos ímpares) apresentaram maior porcentagem no conteúdo estomacal das fêmeas coletadas no reservatório hipereutrófico. É conhecido que organismos do zooplâncton e até mesmo dinoflagelados são capazes de se alimentar de bactérias, podendo ocorrer uma transferência indireta de FAs bacterianos aos peixes (Sanders *et al.*, 1989; Desvilettes *et al.*, 1997), demonstrando que possivelmente haja um papel importante dos outros níveis tróficos na transferência desses FAs aos animais.

Os Tgs armazenados nos tecidos dos animais tem uma composição de FAs mais semelhantes à composição dos lipídios da dieta do que os Fls, mas a sua composição nunca é idêntica, uma vez que os FAs depositados podem ser modificados por elongação e dessaturação no figado (Henderson e Tocher, 1987; Ackman, 1998; Hessen e Leu, 2006). Nossos resultados são consistentes com essa afirmação, de modo que os FAs presentes no séston e no conteúdo estomacal contribuíram grandemente para o perfil de FAs dos Tgs e também nos Fls teciduais nas fêmeas de A. fasciatus em ambos os reservatórios. As maiores porcentagens de OFA-Bs encontradas no conteúdo estomacal das fêmeas no reservatório hipereutrófico refletiram em um alto valor desses FAs nos Tgs de todos os tecidos analisados desses animais. Como já mencionado, os ácidos graxos ímpares são característicos de bactérias, indicando uma transferência trófica indireta desses FAs aos animais, que parecem ser preferencialmente depositados nos principais tecidos de reserva de lipídios. Também como um reflexo da dieta, os FAs C18:1n9 e C18:2n6 foram os principais MUFA e PUFA n6, respectivamente, encontrado em todas as frações lipídicas teciduais das fêmeas coletadas no reservatório referência. Adicionalmente, as porcentagens baixas de HUFA n6 no conteúdo estomacal contrastadas com os altos valores de C20:4n6 (ARA) nos Fls teciduais das fêmeas, sugerem um intenso processo de elongação e dessaturação do FA C18:2n6 (presente em altas porcentagens nos Tgs), como corroborado pela razão C20-22/C18 n6 maior do que 2 nos Fls de todos os tecidos analisados das fêmeas neste ambiente. Ao contrário disso, os PUFAs n3, principalmente C18:3n3, EPA e DHA, apresentaram os maiores valores nos Tgs e Fls de quase todos os tecidos analisados das fêmeas coletadas no reservatório hipereutrófico, mais uma vez como um resultado da transferência desses FAs do séston e conteúdo estomacal aos tecidos. Desse modo, a razão C20-22/C18 n3 foi baixa nos Fls desses animais, uma vez que altas concentrações de EPA e DHA já são obtidas da dieta, não havendo a necessidade de converter o precursor C18:3n3. Adicionalmente, é conhecido que o DHA possui uma grande contribuição na fluidez de membranas (Feller *et al.*, 2002; Turner *et al.*, 2003) e este foi o principal PUFA encontrado nos Fls teciduais das fêmeas do reservatório hipereutrófico. Contudo, quando analisamos o índice de insaturação dos Fls teciduais das fêmeas de ambos os reservatórios, nenhuma diferença foi encontrada, demonstrando a contribuição de outros ácidos graxos insaturados nesse processo, como o C18:1n9, por exemplo. Segundo Ibeas *et al.* (1996) a função do C18:1n9 e HUFAs n3 na modulação do índice de insaturação na membrana dos Fls parece ser fundamental nos tecidos.

De modo geral, podemos observar que as fêmeas coletadas no reservatório hipereutrófico apresentaram a razão n3/n6 maior do que a razão encontrada para as fêmeas coletadas no reservatório referência na maioria dos tecidos analisados, demonstrando, como já mencionado, o predomínio de HUFAs n3 nos Tgs e Fls teciduais das fêmeas no reservatório hipereutrófico. Uma alimentação rica em HUFA n3 pode resultar em resposta de estresse oxidativo, evidenciado, por exemplo, em peixes marinhos pela alta peroxidação lipídica nas membranas e por efeitos moderados na atividade das enzimas antioxidantes observadas no figado desses animais (Tocher et al., 2002). Segundo Henderson e Tocher (1987) a digestibilidade de gorduras aumenta com o grau de insaturação e com a temperatura da água, características presentes no ambiente hipereutrófico, que pode ter contribuído para uma maior absorção de PUFAs n3. Adicionalmente, a alta ingestão de HUFAs n3 refletiu também em maiores razões EPA/ARA e DHA/ARA nos Fls dos tecidos das fêmeas no reservatório hipereutrófico. É bem conhecido que os FAs ARA e EPA atuam como precursores na síntese de eicosanoides, uma classe de moléculas oxigenadas biologicamente ativas que consistem de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, desempenhando importante papel como mensageiros no sistema nervoso central, além de atuarem como hormônios locais ou sinalizadores no controle da inflamação e imunidade (Arts e Kohler, 2009) e também da esteroidogênese (Wade et al., 1994; Sorbera et al., 2001; Henrotte et al., 2011). Os eicosanoides derivados do ARA são mais biologicamente ativos do que os derivados de EPA, mas EPA competitivamente inibe a produção dos eicosanoides derivados de ARA (Sargent et al., 1999; Schmitz e Ecker, 2008). Por isso, a razão EPA/ARA nos tecidos de vertebrados determina a ação dos eicosanoides, que por sua vez é determinada pela ingestão de PUFAs n3 e n6 na dieta. Erdal et al. (1991) encontraram diminuição de anticorpos e da sobrevivência de Salmo salar alimentados com dietas ricas em PUFAs n3. Do mesmo modo, Ictalurus punctatus apresentaram baixa resistência a doenças e função imunológica, como capacidade fagocítica (Fracalossi e Lovell, 1994), além de diminuição na taxa de sobrevivência quando alimentados com uma dieta contendo alta proporção de PUFAs n3 (Li *et al.*, 1994). Efeitos negativos sobre o excesso de PUFAs n3 na reprodução também já foram reportados, como redução no número de ovos produzidos por *Sparus aurata* (Fernández-Palacios *et al.*, 1995); redução *in vitro* da ação esteroidogênica de gonadotropinas nos ovários (Mercure e Van Der Kraak, 1995) e redução na performance de desova em *O. niloticus* (Santiago e Reyes, 1993). A concentração absoluta de diferentes PUFAs é muito importante, contudo deve haver um balanço apropriado entre os PUFAs n6 e n3, principalmente devido à competição pelas enzimas de dessaturação que ocorrem na via de síntese dessas duas famílias de FAs e também de eicosanoides. É sugerido que esse alto valor de PUFAs n3 nas fêmeas de *A. fasciatus* no reservatório hipereutrófico possa atuar negativamente nas respostas fisiológicas do sistema imune e, possivelmente na reprodução.

Tem sido largamente reportado na literatura a forte ligação entre a atividade das enzimas de membrana, como é o caso da Na⁺K⁺ATPase, e o grau de fluidez das mesmas, mediado principalmente pelo tipo (especialmente o DHA) e a quantidade de ácidos graxos insaturados (Evans e Claiborne, 2006). Nas brânquias das fêmeas do reservatório referência essa correlação foi encontrada, contudo no reservatório hipereutrófico foi observado o contrário, sendo que durante o inverno, quando as fêmeas no reservatório hipereutrófico apresentaram uma maior atividade da Na⁺K⁺ATPase, os SFAs aumentaram nos filamentos branquiais. Deste modo, o padrão de regulação da atividade da bomba Na⁺K⁺ATPase deve ser realizado por outros fatores na membrana e não somente pela composição dos FAs. Além disso, o aumento da atividade da Na⁺K⁺ATPase no inverno pode representar uma possível resposta de excreção aumentada dos íon sem excesso no ambiente, uma vez que nesta estação houve aumento de compostos químicos na água, principalmente dos metais.

Analisando o perfil de FAs com base no ciclo reprodutivo, foi notada uma variação temporal na porcentagem dos FAs ARA, EPA e, principalmente DHA nos Fls hepático e ovariano das fêmeas coletadas em ambos os reservatórios, sendo que no reservatório referência houve um aumento desses FAs nas estações de verão e primavera, coincidindo com os valores de IGS, enquanto no reservatório hipereutrófico esse mesmo aumento dos FAs foi observado no inverno e na primavera, demonstrando a capacidade dos animais dessa espécie em ajustar as estratégias reprodutivas de acordo com as características do ambiente (Silva *et al.*, 2010; Schulz e Martins-Júniosr 2000). Como já discutido, as fêmeas de *A. fasciatus* parecem estar em maturação avançada ao longo de todo o ano, e um intenso processo de vitelogênese parece ocorrer em estações determinadas, garantindo a maturação dos oócitos ao

longo do ano. Esses resultados indicam também que o desenvolvimento gonadal ocorra sem a diminuição dos substratos corpóreos, ao contrário pode estar relacionado aos nutrientes que são providos diretamente da dieta (Wiegand, 1996). Em geral, o padrão mais homogêneo da composição de FAs nos ovários entre as fêmeas de cada reservatório, não é necessariamente atribuído a uma dieta homogênea e, a preponderância de ARA, EPA e DHA nos ovários é provavelmente devido a incorporação da vitelogenina, composta de 65-70% de Fls rico principalmente em DHA (Silversand e Haux, 1995; Tocher, 2003). Esse FAs presentes no vitelo desempenham um papel muito importante no desenvolvimento embrionário e larval da prole (Izquierdo *et al.*, 2000).

4.3 Isótopos estáveis

Nos últimos anos o uso de isótopos estáveis, $\delta 13C \in \delta 15N$, têm sido uma importante ferramenta na avaliação trófica das cadeias alimentares. Os valores de 8 13C podem ajudar a determinar a origem do C utilizado pelo organismo (por exemplo, o decaimento da matéria orgânica vs. organismos viventes), enquanto que o enriquecimento em $\delta 15N$ reflete o nível trófico (Minagawa e Wadda, 1984). A razão entre os isótopos das fontes alimentares é incorporada aos tecidos dos animais seguindo sua assimilação. Assim, tem sido proposto que quando há ambiguidade no perfil de FA, o uso combinado de isótopos estáveis pode auxiliar a elucidar a verdadeira fonte alimentar (Gao et al., 2006). Os valores de δ13C e δ15N encontrados no presente estudo corroboram os dados apresentados em outros trabalhos para a espécie em questão (Manetta et al. 2003; Garcia et al., 2007). Nenhuma diferença significativa foi encontrada para os valores de $\delta 13C$ e $\delta 15N$ entre as estações em ambos os reservatórios, corroborando os dados de que A. fasciatus possui uma dieta homogênea ao longo do ano. Do mesmo modo, δ13C não apresentou nenhuma diferença entre os ambientes, indicando que as fêmeas de A. fasciatus de ambos os reservatórios se alimentam de fontes de carbono similares. Contudo, os valores para $\delta 15N$ foram muitos maiores para os animais do reservatório hipereutrófico, o que suportaria a conclusão derivada do perfil de FAs e da observação macroscópica do conteúdo estomacal, que A. fasciatus no reservatório hipereutrófico possui um hábito alimentar onívoro com tendência insetívora, ocupando um nível trófico superior aos animais do reservatório referência. Contudo, δ15N pode também fornecer informações sobre o processamento do nitrogênio no ambiente e suas possíveis fontes, por exemplo, o esgoto (Peterson e Fry, 1987). Deste modo, no presente estudo os altos valores de $\delta 15N$ podem demonstrar que os animais no reservatório hipereutrófico estejam altamente influenciados por diferentes fontes de nitrogênio inorgânico, corroborando o

intenso aporte de esgoto que é despejado constantemente neste local. Os resultados apresentados aqui indicam que a poluição pode ser uma importante fonte de variabilidade isotópica espacial para as fêmeas de *A. fasciatus* no reservatório hipereutrófico, podendo mascarar as análises de nível trófico.

5. Conclusões

Diferente do esperado, o reservatório hipereutrófico apresentou uma alta porcentagem de PUFAs n3 no séston e no conteúdo estomacal das fêmeas de A. fasciatus, como um reflexo direto das diferenças encontradas na qualidade da água. A dieta rica em PUFAs n3 foi incorporada nos tecidos das fêmeas, resultando em alto valor da razão n3/n6 e ARA/EPA, principalmente nos Fls, sugerindo alterações na síntese de eicosanoides e, consequentemente podendo interferir no sistema imune e em processos reprodutivos que dependam de um balanço entre os PUFAs n3 e n6. Adicionalmente, durante as estações em que encontramos os maiores valores de compostos químicos na água, os animais apresentaram um aumento da atividade da bomba Na⁺K⁺ATPase, como uma possível resposta de ajuste ao excesso de íons, contudo esses dados não apresentaram nenhuma relação com o perfil de ácidos graxos considerados clássicos no processo de manutenção da fluidez de membranas analisados nas brânquias. Mesmo com as variações espaciais do perfil de PUFAs, observa-se que as fêmeas em ambos os reservatórios exibem um aumento dos FAs ARA, EPA e DHA nos Fls hepático e ovariano, demonstrando uma alocação temporal de FAs importantes no processo reprodutivo. Finalmente, no presente estudo os isótopos estáveis não foram bons indicadores do nível trófico, estando mais relacionado ao aumento de N inorgânico decorrente da poluição nos animais do reservatório hipereutrófico.

Referências Bibliográficas

- Abreu, P.C.; Costa, C.S.B.; Bemvenuti, C.; Odebrecht, C.; Granéli, W.; Anésio, A.M. 2006. Eutrophication processes and trophic interations in a shallow estuary: preliminar results based on stable isotope analysis, *Estuaries and Coasts*, 29(2): 277-285.
- Ackman, R.G. 1998. Lipids in marine and freshwater organisms. *In*: Arts, M.T., Wainman, B.C. (eds.). Lipids in Freshwater Ecosystems. Springer, New York, p. 263-298.
- Ahlgren. G.; Gustafsson, I.B.; Boberg, M. 1992. Fatty acid content and chemical composition of freshwater microalgae. *Journal of Phycology*, 28: 37–50.

- Arts, M.T.; Ackman, R.G.; Holub, B.J. 2001. Essential fatty acids in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58:122-137.
- Arts, M.T.; Kohler, C.C. 2009. Health and condition in fish: the influence of lipids on membrane competency and immune response. *In:* Arts, M.T.; Brett, M.T.; Kainz, M.E. (eds). Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer (Publ.), New York, EUA, p. 237-256.
- Barbieiri, G.; Hartz, S.; Verani, J.R. 1996. O fator de condição e índice hepatossomático como indicadores do período de desova de *Astyanax fasciatus* Cuvier, 1819, da Represa do Lobo, São Paulo (Osteichthyes, Characidae). *Iheringia: Serie Zoologia*, 81:97-100.
- Bell, M.V.; Tocher, D.R. 2009. Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in aquatic ecosystems: general pathways and new directions. *In*: Arts, M.T., Brett, M.T., Kainz, M.J. (eds.). Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer, New York, p. 211-236.
- Behmer, O.A.; Tolosa, E.M.C.; Neto, A.G.F. 1976. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. EDART, São Paulo, Livraria Editora Ltda. 239p.
- Brett, M.T.; Muller-Navarra, D.C.; Person, J. 2009. Crustacean zooplankton fatty acid composition. *In:* Arts, M.T.; Brett, M.T.; Kainz, M.E. (eds). Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer (Publ.), New York, EUA, p. 115-146.
- Chen, C.Y.; Folt, C.L. 1993. Measures of food quality as demographic predictors in freshwater copepods. *Journal of Plankton Research*, 15:1247-1261.

Christie, W.W. 2003. Lipids analysis. The Oily Press, Bridgwater.

- Cohen, J. 1988. Statistical power analysis for the behavioral sciences. Hillsdale, NJ, Erlbaum.
- Cole, M.L.; Valiela, I.; Kroeger, K.D.; Tomasky, G.L.; Cebrian, J.; Wigand, C.; McKinney, R.A.; Grady, S.P.; da Silva, M.H.C., 2004. Assessment of a delta N-15 isotopic method to indicate anthropogenic eutrophication in aquatic ecosystems. *Journal of Environmental Quality*, 33: 124-132.
- Copeman, L.A.; Parrish, C.C.; Brown, J.A.; Harel, M. 2002. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment. *Aquaculture*, 210: 285-304.
- Dalsgaard, J.; St. John, M.; Kattner, G.; Müller-Navarra, D.; Hagen, W. 2003. Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Advances in Marine Biology*, 46: 225-230.
- Desvilettes, C.H.; Bourdier, G.; Amblard, C.H.; Barth, B. 1997. Use of fatty acids for the assessment of zooplankton grazing on bacteria, protozoans and microalgae. *Freshwater Biology*, 38:629–637.

- Dunstan, G.A.; Volkman, J.K.; Barrett, S.M.; Leoi, J.M.; Jeffrey, S.W. 1994. Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (Bacillariophyceae). *Phytochemistry*, 35(1): 155-161.
- Erdal, J.I.; Evensen, O.; Kaurstad, O.K.; Lillehaug, A.; Solbakken, R.; Thorud, K. 1991. Relationship between diet and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) feeding various levels of ascorbic acid and omega-3 fatty acids. *Aquaculture*, 98:363-379.
- Evans, D.H.; Claiborne, J.B. 2006. The physiology of fishes. Third edition. Ed. Taylor and Francis: Florida, USA, 601pp.
- Falk-Petersen, S.; Dahl, T.M.; Scott, C.; Sargent, J.; Gulliksen, B.; Kwasniewski, S.; Hop, H.; Millar, R. 2002. Lipid biomarkers and trophic linkages between ctenophores and copepods in Svalbard waters. *Marine Ecology Progress Series*, 227: 187-194.
- Feller, S.E.; Gawrish, K.; Mackerell Jr., A.D. 2001. Polyunsaturated fatty acids in lipid bilayers: intrinsic and environmental contributions to their unique physical properties. *Journal of American Chemistry Society*, 124(2): 318-326.
- Fernández-Palacios, H.; Izquierdo, M.S.; Robaina, L.; Valencia, A.; Salhi, M. e Vergara, J. 1995. Effect of n3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream (Sparus aurata L.). Aquaculture, 132:325–337.
- Folch, J.; Less, M.; Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226:497-503.
- Fracalossi, D.M.; Lovell, R.T. 1994. Dietary lipid sources influence responses of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to challenge with the pathogen *Edwardsiella ictaluri*. *Aquaculture*, 119:287-298.
- Garcia, A.M.; Hoeinghaus, D.J.; Vieira, J.P.; Winemiller, K.O. 2007. Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 73: 399-408.
- Gao, Q.F.; Shin, P.K.S.; Lin, G.-H.; Chen, S.-P.; Cheung, S.G. 2006. Stable isotope and fatty acid evidence for uptake of organic waste by green-lipped mussels *Perna viridis* in a polyculture farm system. *Marine Ecology Progress Series*, 317: 273–283.
- Giamas, M.T.D.; Campos, E.C.; Câmara, J.J.C.; Vermulm Jr., H.; Barbieri, G. 2004. A ictiofauna da represa de Ponte Nova, Salesópolis (São Paulo) Bacia do Alto Tietê. *Boletim do Instituto de Pesca*. 30: 25-34.
- Gladyshev, M.I.; Sushchik, N.N.; Anishchenko, O.V.; Makhutova, O.N.; Kolmakov, V.I.; Kalachova, G.S.; Kolmakova, A.A.; Dubovskaya, O.P. 2011. Efficiency of transfer of essential polyunsaturated fatty acids versus organic carbono from producers to consumers in a eutrophic reservoir. *Oecologia*, 165(2): 521-531.
- Gurgel, H.C.B. 2004. Estrutura populacional e época de reprodução de *Astyanas fasciatus* (Curvier) (Characidae, Tetragonopterinae) do Rio Ceará Mirim, Poço Branco, Rio Grande do Norte, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 21(1):131-135.

- Hayakawa, K.; Handa, N.; Kawanobe, K.; Wong, C.S. 1996. Factors controlling the temporal variations of fatty acids in particulate matter during a phytoplankton bloom in a marine mesocosm. *Marine Chemistry*, 52: 233-244.
- Hebert, C.E.; Weseloh, D.V.C.; Idrissi A.; Arts, M.T.; O'Gorman, R.; Gorman, O.T.; Locke, B.; Madenijan, C.P.; Roseman, E.F. 2008. Restoring piscivorous fish populations in the Laurentian Great Lakes causes seabird dietary change. *Ecology*, 89(4): 891-897.
- Henderson, R.J.; Tocher, D.R. 1987. The lipid composition and Biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research*, 26:281-347.
- Henrotte, E.; Milla, S.; Mandiki, S.N.M.; Kestemont, P. 2011. Arachidonic acid induces production of 17,20b-Dihydroxy-4-pregmen-3-one (DHP) via a putative PGE2 receptor in fish follicles from the Eurasian perch. *Lipids*, 46: 179-187.
- Hessen, D.O.; Leu, E. 2006. Trophic transfer and trophic modification of fatty acids in high Arctic lakes. *Freshwater Biology*, 51: 1987-1998.
- Hirt, L.M.; Araya, P.R.; Flores, S.A. 2011. Population structure, reproductive biology and feeding of *Astyanax fasciatus* (Cuvier, 1819) in an Upper Paraná River tributary, Misiones, Argentina. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 23(1): 1-12.
- Izquierdo, M.S.; Socorro, J.; Arantzamendi, L.; Hernández-Cruz, C.M. 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 22: 97-107.
- Johnson, N.A.; Walton, D.W.; Sachinwalla, T.; Thompson, C.H.; Smith, K.; Ruell, P.A.; Stannard, S.R.; George, J. 2008. Noninvasive assessment of hepatic lipid composition: advancing understanding and management of fatty liver disorders. *Hepatology*, 47: 1513– 1523.
- Kattner, G.; Gercken, G.; Eberlein, K. 1983. Development of lipids during the spring plankton bloom in the northern North Sea. I Particulate fatty acids. *Marine Chemistry*, 18:181-194.
- Kainz, M.; Arts, M.T.; Mazumder, A. 2004. Essential fatty acids in the planktonic food webs and their ecological role for higher trophic levels. *Limnology Oceanography*, 49(5):1784-1793.
- Li, M.H.; Wise, D.J.; Johnson, M.R.; Robinson, E.H. 1994. Dietary menhaden oil reduced resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri*. *Aquaculture*, 128:335-344.
- Lowry, O.H.; Rosenbrough, N.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193:265-275.
- Lundsted, L.; Brett, M.T. 1991. Differential growth rates of three cladocerans species in response to mono- and mixed algas diets. *Limnology and Oceanography*, 36:159-165.
- Manetta, G.I.; Benedito-Cecilio, E.; Martinelli, M. 2003. Carbon sources and trophic position of the main species of fishes of Baía River, Paraná, river floodplain, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 63(2): 283-290.

- Mariano, R.; Froelich, C.G. 2007. Ephemeroptera. *In:* Guia on-line: Identificação de larvas de insetos aquáticos do Estado de São Paulo. Froelich, C.G. (org). Disponível em: http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce /guiaonline.Acesso em agosto de 2012.
- Mayzaud, P.; Chanut, J.P.; Ackman, R.G. 1989. Seasonal changes of the biochemical composition of marine particulate matter with special reference to fatty acids and sterols. *Marine Ecology Progress Series.*, 56:189-204.
- Mercure, F.; Van Der Kraak, G. 1995. Inhibition of gonadotropin-stimulated ovarian steroid production by polyunsaturated fatty acids in teleost fish. *Lipids*, 30:547–554.
- McCue, M.D.; Amitai, O.; Khozin-Goldberg, I.; McWilliams, S.R.; Pinshow, B. 2009. Effect of dietary fatty acid composition on fatty acid profiles of polar and neutral lipid tissue fractions in zebra finches, *Taeniopygia guttata*. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 154: 165–172.
- Minagawa, M.; Wada, E. 1984. Stepwise enrichment of 15N along food chains: further evidence and the relation between 15N and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48:1135-1140.
- Mora-Jamet, M.; Cabrera, J.; Alvarado, W. 1997. Crecimiento y maduración sexual de *Astyanax fasciatus* (Pisces: Characidae) en el embalse arenal, Guanacaste, Costa Rica. *Revista Biología Tropical*, 45: 855-859.
- Müller Navarra, D.C.; Brett, M.T.; Park, S.; Chandra, S.; Ballantyne, A.P.; Zorita, E.; Goldman, C.R. 2004. Unsaturated fatty acid content in seston and tropho-dynamic coupling in lakes. *Nature*, 427:69-71.
- Nalepa, T.F.; Fanslow, D.L.; Foley, A.J.III; Lang, G.A.; Eadie, B.J.; Quigley, M.A. 2006. Continued disappearance of the benthic amphipod *Diporeia* spp. in Lake Michigan: is there evidence for food limitation? *Canadian Journal of Fish Aquatic Science*, 63: 872-890.
- Napolitano, G.E. 1999. Fatty acids as trophic and chemical markers in freshwater ecosystems. *In*: Arts, M.T.; Wainman, B.C. (eds.). Lipids in freshwater ecosystems. Springer (Publ.), New York, EUA, p.21-44.
- Olsen, Y. 1999. Lipids and essential fatty acids in aquatic food webs: what can freshwater ecologist learn from mariculture? *In*: Arts, M.T.; Wainman, B.C. (eds.). Lipids in freshwater ecosystems. Springer (Publ.), New York, EUA, p.161-202.
- Parrish, C.C. 1999. Determination of total lipid, lipid classes, and fatty acids in aquatic samples. *In*: Arts, M.T.; Wainman, B.C. (eds.). Lipids in freshwater ecosystems. Springer (Publ.), New York, EUA, p.4–20.
- Parrish, C.C.; Abrajano, T.A.; Budge, S.M.; Helleur, R.J.; Hudson, E.D.; Pulchan, K.; Ramos, C. 2000. Lipid and phenolic biomarkers in marine ecosystem: analysis and applications. *In:* Wangersky P.J. (eds.). Marine Chemistry. Springer Verlag, New York, p.193-224.

- Peterson, B.J.; Fry, B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 18: 293-320.
- Pômpeo, M.L.M.; Cardoso-Silva, S.; Moschini-Carlos, V. 2005. A deterioração da qualidade das águas continentais brasileiras: o processo de eutrofização. *Revista Saneas*, ago: 24-28.
- Potts, G.W.; Wootton, R.J. 1984. Fish reproduction: Strategies and Tactics. London, Academic Press, 410p.
- Prado, P.S.; Souza, C.C.; Bazzoli, N.; Rizzo, E. 2011. Reproductive disruption in labari *Astyanax fasciatus* from a Southeastern Brazilian reservoir. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74: 1870-1887.
- Quabius, E.S.; Bahm, S.E.; Wendelaar-Bonga, S.E. 1997. Interrenal stress responsiveness of tilapia (*Oreochromis niloticus*) is impaired by dietary exposure to PCB 126. *General Comparative Endocrinology*, 108:472-482.
- Sanders, R.W.; Porter, K.G.; Bernett, S.J.; De Biase, A.E. 1989. Seasonal pattern of bacterivory by flagellates, ciliates, rotifers and cladocerans in a freshwater planktonic community. *Limnology and Oceanography*, 34:673-687.
- Sant'anna, C.L.; Azevedo, M.T.P. 2000. Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria fom Brazil. *Nova Hedwigia*, 71: 359-385.
- Santiago, C.B.; Reyes, O.S. 1993. Effect of dietary lipid source on reproductive performance and tissue lipid levels of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus. Broodstock). *Journal of Applied Ichthyology*, 9:33–40.
- Sargent, J.; Bell, G.; McEvoy, L.; Tocher, D.; Estevez, A. 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177: 191-199.
- Sayer, M.D.J.; Gibson, R.N.; Atkinson, R.J.B. 1995. Growth, diet and condition of goldsinny on the West coast of Scotland. *Journal of Fish Biology*, 46:317-340.
- Schmitz, G.; Ecker, J. 2008. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Progress in Lipid Research*, 47: 147-155.
- Schulz, U.H.; Martins-Júnior, H. 2000. Astyanax fasciatus as bioindicator of water pollution of rio Sinos, RS, Brazil. Brazilian Journal of Biology, 61(4): 615-622.
- Shin, P.K.S.; Yip, K.M.; Xu, W.Z.; Hong, W.H.; Cheung, S.G. 2008. Fatty acid as markers to demonstrating trophic relationships among diatoms, rotifers and green-lipped mussels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 357: 75-84.
- Silva, J.P.A.; Muelbert, A.E.; Oliveira, E.C.; Fávaro, L.F. 2010. Reproductive tatics used by the lambari *Astyanax aff. fasciatus* in three water supply reservoirs in the same geographic region of the upper Iguaçu River. *Neotropical Ichthyology*, 8(4):885-892.

- Silversand, C.; Haux, C. 1995. Fatty acid composition of vitellogenin from four teleost species. *Journal of Comparative Physiology (B)*, 164: 593-599;
- Sorbera, L.A.; Astuarino, J.F.; Carrillo, M.; Zanuy, S. 2001. Effects of polyunsaturated fatty acids and prostaglandins on oocytes maturation in a marine teleost, the european sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Biology of Reproduction*, 64:382-389.
- Stutzman, P. 1995. Food quality of gelatinous colonial chlorophytes to the freshwater zooplankters *Daphnia pulicaria* and *Diaptomus oregonensis*. *Freshwater Biology*, 34:149-153.
- Tocher, D.R.; Mourente, G.; Van der Eeken, A.; Evjemo, J.O.; Diaz, E.; Bell, J.G.; Geurden, I.; Lavens, P.; Olsen, Y. 2002. Effects of dietary vitamin E on antioxidant defense mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture Nutrition, 8(3): 195-207.
- Tocher, D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2): 000-000.
- Turner, N.; Else, P. L.; Hulbert, A. J. 2003. Docosahexaenoic acid (DHA) content of membranes determines molecular activity of the sodium pump: implications for disease states and metabolism. *Naturwissenchaftem*, 90: 521-523.
- Volkman, J.K.; Barret, S.M.; Balckburn, S.I.; Mansour, M.P.; Sikes, E.L.; Gelin, F. 1998. Microalgal biomarkers: a review of recent research developments. Organic Geochemistry, 29:1163–1179.
- Wade, M.G.; Van Der Kraak, G.; Gerrits, M.F.; Ballantyne, J.S. 1994. Release and steroidogenic actions of polyunsaturated fatty acids in the goldfish testis. *Biology of Reproduction*, 51:131-139.
- Wiegand, M.D. 1996. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 6: 259-286.
- Yang, Z. 1995. Development of a gas chromatographic method for profiling neutral lipids in marine samples. MSc Thesis, Memorial University of Newfoundland St. John's, Newfoundland.
- Xu, Z.; Burns, C.W. 1991. Development, growth and surviorship of juvenile calanoid copepods on diets of cyanobacteria and algae. Internationale Revue der Gesamten, *Hydrobiologie*, 76:73-87.
- Zar, J. H. 1999. Biostatistical analysis. Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ.

		Pont	te Nova			Bil	lings	
	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
Ν	6	4	3	6	6	4	3	6
C15:0	0.4 ± 0.09	0.5 ± 0.12	Ne	$1.2 \pm 0.55*$	0.6 ± 0.12	0.1 ± 0.06	0.1 ± 0.00	0.2 ± 0.00 **
C15:0iso	Ne	Ne	Ne	$1.4 \pm 0.74*$	Ne	Ne	Ne	0.3 ± 0.00 **
C17:0	$0.5\pm0.22^{\text{a}}$	$0.7\pm0.00^{\rm a}$	2.4 ± 0.59^{b}	$1.9 \pm 0.26^{b*}$	0.6 ± 0.05	0.2 ± 0.02	0.2 ± 0.03	$0.5 \pm 0.15 **$
C17:0anteiso	1.5 ± 1.19	$1.5 \pm 0.68*$	Ne	$2.9 \pm 0.00^{*}$	0.8 ± 0.18	Ne**	Ne	0.2 ± 0.00 **
C18:0iso	$0.3\pm0.00^{\rm a}$	Ne ^a	$2.5 \pm 1.33^{b*}$	$1.3 \pm 0.12^{ab}*$	0.5 ± 0.12	Ne	Ne**	Ne**
C18:0anteiso	Ne ^a	$1.9 \pm 0.98^{b*}$	$4.4 \pm 0.38^{b*}$	Ne ^a	0.8 ± 0.20	Ne**	Ne**	Ne
C20:0iso	Ne ^a	$5.6 \pm 0.75^{b*}$	Ne ^a	Ne ^a	Ne	Ne**	Ne	Ne
ΣOFA – BFA	2.8 ± 0.93^{a}	$9.3 \pm 3.00^{b*}$	9.3 ± 2.30^{b} *	$5.5 \pm 1.01^{b}*$	2.0 ± 1.07	$1.0 \pm 0.06^{**}$	$0.8 \pm 0.23^{**}$	$1.6 \pm 0.36^{**}$
C14:0	4.2 ± 0.67	3.8 ± 0.15	8.2 ± 2.99	8.0 ± 0.70	2.9 ± 0.85	4.4 ± 0.22	3.8 ± 0.27	5.2 ± 0.22
C16:0	$31.4 \pm 2.54*$	28.8 ± 1.08	26.8 ± 1.35	$23.2 \pm 2.59*$	$44.9 \pm 5.44^{a**}$	28.4 ± 0.53^{b}	31.0 ± 0.07^{b}	$34.3 \pm 2.43^{b**}$
C18:0	7.2 ± 3.07	$15.2 \pm 5.47*$	$9.7 \pm 2.34*$	$10.9 \pm 5.41*$	8.6 ± 3.02^{a}	$1.7 \pm 0.20^{b**}$	$2.0 \pm 0.14^{b**}$	$2.9 \pm 0.33^{b**}$
C20:0	2.7 ± 0.53	1.9 ± 0.30	1.5 ± 0.00	1.7 ± 0.36	0.3 ± 0.04	2.7 ± 0.12	2.8 ± 0.25	1.2 ± 0.17
Σ SFA	$44.2 \pm 4.98*$	$49.7 \pm 5.42*$	$45.4 \pm 6.11^*$	43.2 ± 5.64	$56.6 \pm 3.46^{a} $	$37.8 \pm 0.83^{b} * *$	$39.7 \pm 0.55^{b**}$	43.9 ± 2.09^{b}
C16:1n7	2.9 ± 0.43	2.7 ± 0.54	4.2 ± 0.75	4.8 ± 1.60	4.5 ± 0.90	4.0 ± 1.15	5.9 ± 0.18	3.8 ± 0.06
C18:1n9	12.0 ± 2.8^{a}	$8.1 \pm 0.60^{\circ}$	14.9 ± 3.80^{ac} *	$13.7 \pm 2.16^{\circ*}$	7.8 ± 1.20	9.7 ± 0.37	8.0 ± 0.21 **	9.6 ± 0.20 **
C18:1n7	1.3 ± 0.21	1.0 ± 0.16	$2.5 \pm 0.00*$	$4.1 \pm 1.56*$	1.5 ± 0.35	0.3 ± 0.04	0.4 ± 0.01 **	0.7 ± 0.09 **
C20:1n9	2.4 ± 0.70	Ne	Ne	Ne	1.6 ± 0.19	0.2 ± 0.05	Ne	Ne
Σ MUFA	17.4 ± 3.03^{a}	$11.5 \pm 1.35^{\circ}$	20.3 ± 4.78^{ac}	$23.2 \pm 1.88^{\circ}$	15.2 ± 2.01	14.3 ± 1.56	$14.4 \pm 0.29 * *$	$14.1 \pm 0.32 **$
C16:4n1	4.9 ± 0.35^{a}	Ne ^o	1.4 ± 0.00^{a}	4.2 ± 0.00^{a}	1.1 ± 0.26	Ne	0.1 ± 0.00	0.4 ± 0.00 **
C16:2n4	0.6 ± 0.17^{a}	$1.3 \pm 0.28^{a*}$	$3.5 \pm 1.16^{\circ*}$	$1.5 \pm 0.17^{a*}$	1.3 ± 0.35	$0.3 \pm 0.05 **$	0.2 ± 0.14 **	0.3 ± 0.00 **
Σ PUFA C16	4.3 ± 2.87^{a}	$1.3 \pm 0.28^{5*}$	4.2 ± 0.20^{a} *	$4.9 \pm 0.83^{**}$	1.7 ± 0.57	$0.6 \pm 0.06 **$	0.3 ± 0.08 **	0.4 ± 0.10 **
C18:3n3	1.9 ± 0.38	$1.8 \pm 0.41^{*}$	$3.0 \pm 1.41*$	3.5 ± 1.61	4.6 ± 1.21^{a}	$3.5 \pm 0.34^{a**}$	$8.1 \pm 0.31^{b**}$	$6.0 \pm 0.66^{\circ}$
C18:4n3	6.2 ± 1.33^{a}	$2.8 \pm 0.47^{\circ*}$	Ne ⁰ *	$1.7 \pm 0.24^{6*}$	2.6 ± 1.63^{a}	$10.6 \pm 0.49^{6**}$	$9.6 \pm 0.12^{6**}$	$8.3 \pm 1.13^{\circ**}$
C20:4n3	2.0 ± 0.16	1.6 ± 0.09	Ne	1.9 ± 0.21	1.1 ± 0.53	0.2 ± 0.00	0.3 ± 0.02	0.9 ± 0.29
C20:5n3	$7.9 \pm 1.43^{**}$	$6.4 \pm 0.48^{a*}$	$2.9 \pm 1.00^{\circ*}$	$2.0 \pm 0.33^{\circ*}$	$2.9 \pm 0.85^{***}$	$11.5 \pm 0.31^{\circ **}$	$8.5 \pm 0.16^{\circ **}$	$7.8 \pm 0.76^{\circ **}$
C22:5n3	1.2 ± 0.12	Ne	1.5 ± 0.00	1.8 ± 0.00	Ne	0.2 ± 0.03	0.2 ± 0.00	0.3 ± 0.01
C22:6n3	$9.9 \pm 2.65^*$	$8.1 \pm 0.86^*$	$6.7 \pm 1.09^*$	$5.6 \pm 3.66^*$	$3.2 \pm 1.15^{***}$	$15.1 \pm 1.89^{\circ **}$	$11.7 \pm 0.81^{\circ **}$	$10.8 \pm 0.40^{\circ **}$
$\Sigma PUFA n3$	$26.7 \pm 4.14^{**}$	$20.2 \pm 2.15^{\circ*}$	$13.4 \pm 0.25^{\circ*}$	$12.8 \pm 3.36^{\circ*}$	13.5 ± 3.79	$41.1 \pm 2.42^{5**}$	$38.3 \pm 0.48^{50\%}$	$34.0 \pm 2.09^{\circ}$
$\Sigma PUFA C18n3$	8.0 ± 1.29^{a}	$4.6 \pm 0.26^{3*}$	$3.0 \pm 1.41^{6*}$	$5.2 \pm 1.85^{\circ*}$	$6.7 \pm 2.13^{\circ}$	$14.1 \pm 0.59^{b**}$	$17.7 \pm 0.34^{\circ}$	$14.4 \pm 1.03^{\circ **}$
2 PUFA C20-22n3	18.6 ± 3.23	$15.6 \pm 2.00^{-*}$	$10.4 \pm 1.16^{\circ*}$	$7.6 \pm 3.96^{\circ}*$	$6.8 \pm 1.83^{***}$	$27.0 \pm 2.37^{***}$	$20.6 \pm 0.32^{\circ}$	$19.6 \pm 1.09^{\circ **}$
C18:2n6cis	4.2 ± 0.13	2.6 ± 0.66	4.8 ± 0.48	5.7 ± 2.29	5.2 ± 1.24	3.9 ± 0.15	4.0 ± 0.18	2.6 ± 0.33
C18:3n6	$0.1 \pm 0.00^{*}$	Ne [*]	Ne ⁺		$2.0 \pm 1.03^{**}$	$0.8 \pm 0.10^{**}$	2.1 ± 0.19**	1.4 ± 0.39
C20:2n6	1.9 ± 1.02	$1.9 \pm 0.01^*$	$1.4 \pm 0.00^{*}$	$5.2 \pm 0.15^{*}$	1.3 ± 0.41	Ne ^{**}	Ne ^{**}	$0.9 \pm 0.39^{**}$
C20:3n6	1.3 ± 0.25	$2.4 \pm 0.69^{*}$	Ne	Ne	$2.3 \pm 0.24^{\circ}$	Ne ***	$0.1 \pm 0.00^{\circ}$	Ne

Apêndice 1: Perfil de ácidos graxos (%) das amostras de séston coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20:4n6	0.2 ± 0.18	0.9 ± 0.19	1.4 ± 0.00	1.6 ± 0.22	0.9 ± 0.18	0.3 ± 0.07	0.2 ± 0.15	0.4 ± 0.05
C22:2n6	1.1 ± 0.57	0.9 ± 0.30	1.0 ± 0.00	1.5 ± 0.37	1.1 ± 0.36^{a}	Ne ^b	Ne ^b	0.7 ± 0.60^{ab}
C22:4n6	0.7 ± 0.18	$1.5 \pm 0.23*$	$1.3 \pm 0.00*$	$1.7 \pm 0.09*$	Ne	Ne**	$0.1 \pm 0.00 **$	$0.8 \pm 0.00 **$
Σ PUFA n6	6.7 ± 2.94*	8.0 ± 1.92	7.4 ± 3.88	$11.0 \pm 2.34*$	$11.1 \pm 0.97^{a_{**}}$	5.2 ± 0.25^{b}	6.5 ± 0.70^{b}	$5.9 \pm 0.76^{b**}$
Σ PUFA C18n6	4.1 ± 1.93	2.6 ± 0.66	$\textbf{4.8} \pm \textbf{0.48}$	5.7 ± 2.29	7.7 ± 2.68	$\textbf{4.7} \pm \textbf{0.22}$	6.1 ± 0.37	4.1 ± 0.68
Σ PUFA C20-22n6	3.2 ± 1.67	$5.4 \pm 2.54*$	$5.1\pm0.00*$	$5.3\pm2.60*$	4.1 ± 2.54^{a}	$0.5 \pm 0.04^{b**}$	$0.6 \pm 0.17^{b**}$	$1.8 \pm 1.02^{ab} * *$
Σ PUFA t	35.6 ± 5.03^{a} *	29.5 ± 3.61^{a} *	$25.0 \pm 3.63^{b}*$	$28.2 \pm 7.34^{b}*$	$26.3 \pm 3.42^{a} $	$46.9 \pm 2.39^{b} $	$45.0 \pm 0.64^{b**}$	$40.4 \pm 1.88^{b**}$
n3/n6	$5.9 \pm 2.82*$	$2.6 \pm 0.38*$	$2.2 \pm 1.23^{*}$	$1.2 \pm 0.47*$	$1.2 \pm 0.38^{a} $	$7.9 \pm 0.64^{b**}$	$5.9 \pm 0.70^{ab} * *$	$5.8 \pm 1.03^{ab}**$
EPA/DHA	$\boldsymbol{0.8\pm0.11}$	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.09}$	0.5 ± 0.22	$\textbf{0.2} \pm \textbf{0.00}$	1.0 ± 0.27	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.07}$	$\boldsymbol{0.7\pm0.06}$	$\boldsymbol{0.7\pm0.05}$
C16/C18	1.1 ± 0.18	1.1 ± 0.19	1.0 ± 0.14	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.22}$	1.6 ± 0.29	1.1 ± 0.05	1.1 ± 0.02	1.2 ± 0.09
C16:1/C16:0	0.1 ± 0.01	$\textbf{0.1} \pm \textbf{0.02}$	$\boldsymbol{0.2\pm0.02}$	$\textbf{0.2} \pm \textbf{0.07}$	0.1 ± 0.02	0.1 ± 0.04	$\boldsymbol{0.2\pm0.01}$	0.1 ± 0.01

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ t PUFA, Σ n3 PUFA, Σ n6 PUFA, Σ C16 PUFA, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, EPA e DHA são as somatórias de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido eicosapentaenoico e docosahexaenoico. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

		Pon	te Nova			Bi	llings	
	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
Ν	6	8	4	8	10	7	4	12
C15:0	0.2 ± 0.11	0.2 ± 0.13	0.2 ± 0.04	0.2 ± 0.08	0.5 ± 0.15	0.7 ± 0.22	0.4 ± 0.27	0.2 ± 0.10
C15:0iso	0.9 ± 0.00	0.4 ± 0.06	0.7 ± 0.32	0.3 ± 0.17	0.7 ± 0.32	Ne	0.5 ± 0.43	0.3 ± 0.10
C16:0iso	Ne	Ne	0.4 ± 0.10	0.1 ± 0.00	0.3 ± 0.11	Ne	0.1 ± 0.00	0.2 ± 0.10
C17:0	$0.3 \pm 0.14*$	$0.2 \pm 0.07*$	$0.6 \pm 0.37*$	$0.3 \pm 0.18*$	2.1 ± 0.74^{a}	2.6 ± 0.58^{a}	2.2 ± 0.95^{a} **	$1.4 \pm 0.27^{b**}$
C17:0anteiso	0.2 ± 0.07	0.3 ± 0.05	Ne	0.4 ± 0.39	1.2 ± 0.82^{a}	0.3 ± 0.17^{b}	Ne ^b	0.4 ± 0.19^{b}
C20:0iso	0.2 ± 0.06	0.9 ± 0.00	Ne	Ne	0.1 ± 0.00	0.7 ± 0.39	Ne	Ne
ΣOFA - BFA	$0.8 \pm 0.52*$	$1.9 \pm 0.95^{*}$	$1.4 \pm 0.51*$	$1.5 \pm 0.62*$	$4.8 \pm 1.39^{a} $	4.5 ± 0.88^{a}	3.7 ± 1.40^{a}	2.3 ± 0.36^{b}
C14:0	2.1 ± 3.41	0.6 ± 0.34	0.7 ± 0.22	0.4 ± 0.09	3.2 ± 1.33	4.5 ± 2.18	1.8 ± 0.62	1.4 ± 0.52
C16:0	25.3 ± 4.33^{a} *	$20.7 \pm 2.94^{ab}*$	$16.9 \pm 2.25^{ab}*$	$14.9 \pm 3.44^{b*}$	33.8 ± 6.53^{a}	31.3 ± 6.76^{a}	$25.2 \pm 5.75^{ab} **$	$21.1 \pm 3.53^{b**}$
C18:0	5.3 ± 1.39	$5.4 \pm 2.00*$	8.7 ± 2.20	5.5 ± 1.76	9.8 ± 1.68	$10.3 \pm 2.18 **$	11.2 ± 3.63	7.4 ± 1.07
C20:0	0.4 ± 0.08	0.4 ± 0.09	0.4 ± 0.06	0.5 ± 0.09	0.7 ± 0.20	0.9 ± 0.46	0.6 ± 0.20	0.5 ± 0.16
Σ SFA	33.1 ± 7.44^{a} *	$27.1 \pm 4.95^{ab}*$	$26.9 \pm 2.81^{ab}*$	$21.8 \pm 2.50^{b}*$	47.9 ± 7.91^{a} **	$47.1 \pm 7.25^{a} * *$	39.2 ±6.80 ^{ab} **	$31.0 \pm 3.14^{b**}$
C16:1n7	$2.1 \pm 1.02*$	$1.5 \pm 0.93*$	$2.4 \pm 0.67*$	2.3 ± 1.48	$9.8 \pm 1.73 **$	$9.1 \pm 2.16^{**}$	$7.5 \pm 1.56 **$	5.9 ± 1.55
C18:1n9	32.4 ± 5.15^{a} *	34.1 ± 4.17^{a} *	$45.6 \pm 12.45^{b*}$	$44.4 \pm 13.94^{b*}$	18.7 ± 5.81 **	$17.1 \pm 4.96 **$	$19.3 \pm 3.63 **$	19.5 ± 6.17 **
C18:1n7	$1.5 \pm 0.26*$	$1.2 \pm 0.16*$	$1.1 \pm 0.46*$	$0.9 \pm 0.17*$	6.5 ± 1.41 **	5.4 ± 1.29 **	$4.2 \pm 1.07 **$	$5.2 \pm 1.52 **$
C20:1n9	0.5 ± 0.10	0.6 ± 0.11	$0.4 \pm 0.11*$	0.3 ± 0.16	0.8 ± 0.20	0.6 ± 0.27	$1.0 \pm 0.37 **$	0.5 ± 0.09
Σ MUFA	36.5 ± 5.18^{a}	37.5 ± 4.79^{a}	$49.5 \pm 8.58^{b}*$	$48.0 \pm 10.12^{ab}*$	35.7 ± 6.10	33.4 ± 5.58	32.0 ± 6.18 **	30.9 ± 5.04 **
C16:4n1	$0.1 \pm 0.08*$	Ne	0.5 ± 0.20	1.5 ± 0.94	$1.1 \pm 0.86^{a_{**}}$	Ne ^b	$0.3\pm0.00^{\mathrm{b}}$	0.4 ± 0.28^{b}
C16:2n4	0.1 ± 0.16	0.4 ± 0.44	0.2 ± 0.18	0.2 ± 0.07	0.3 ± 0.24	0.4 ± 0.10	Ne	0.2 ± 0.11
C16:3n4	0.1 ± 0.11	$0.1 \pm 0.06*$	0.2 ± 0.12	0.3 ± 0.16	0.6 ± 0.18	$0.9 \pm 0.35^{**}$	0.7 ± 0.19	0.5 ± 0.12
Σ PUFA C16	$0.3 \pm 0.17*$	$0.5 \pm 0.48*$	1.0 ± 0.37	1.7 ± 0.71	$2.4 \pm 0.85^{a_{**}}$	$1.4 \pm 0.44^{ab}**$	0.8 ± 0.23^{b}	0.8 ± 0.31^{b}
C18:3n3	1.4 ± 0.79	$1.5 \pm 0.64*$	$1.2 \pm 0.72*$	$1.9 \pm 1.24*$	3.3 ± 2.28^{a}	$8.5 \pm 4.29^{b**}$	$8.1 \pm 5.38^{b**}$	$14.0 \pm 2.94^{c**}$
C18:4n3	0.1 ± 0.09	0.7 ± 0.39	0.5 ± 0.40	0.1 ± 0.02	1.2 ± 0.74	0.7 ± 0.41	0.7 ± 0.40	1.1 ± 0.56
C20:4n3	0.3 ± 0.10	0.2 ± 0.08	Ne	0.6 ± 0.00	1.0 ± 0.48	1.1 ± 0.92	0.5 ± 0.35	0.4 ± 0.15
C20:5n3	0.3 ± 0.00	$0.6\pm0.00*$	$0.6 \pm 0.19*$	$0.6 \pm 0.44*$	2.2 ± 1.77^{a}	$4.2 \pm 2.65^{ab**}$	$4.2 \pm 2.35^{ab**}$	$6.6 \pm 1.57^{b**}$
C22:5n3	0.4 ± 0.12	0.4 ± 0.23	Ne	0.3 ± 0.29	0.5 ± 0.33	0.3 ± 0.19	0.7 ± 0.29	0.5 ± 0.43
C22:6n3	0.3 ± 0.19	0.4 ± 0.24	1.3 ± 0.84	0.6 ± 0.48	0.3 ± 0.25^{a}	1.3 ± 0.83^{b}	2.7 ± 1.15^{b}	1.5 ± 0.88^{b}
Σ PUFA n3	2.4 ± 0.71	$2.2 \pm 1.13^{*}$	$3.5 \pm 2.34*$	$4.1 \pm 1.90*$	5.7 ± 3.86^{a}	$9.4 \pm 4.61^{ab}**$	17.0 ± 8.28^{bc}	$24.4 \pm 4.37^{c**}$
ΣPUFA C18n3	1.5 ± 0.76	$1.8 \pm 0.41*$	$1.6 \pm 1.05*$	$1.9 \pm 1.23*$	4.0 ± 2.81^{a}	$8.8 \pm 4.08^{b} * *$	$8.8 \pm 4.76^{b**}$	$15.1 \pm 3.15^{\circ **}$
Σ PUFA C20-22n3	0.9 ± 0.25	$0.8 \pm 0.58*$	$1.8 \pm 1.03^{*}$	$1.5 \pm 0.80*$	2.8 ± 1.72^{a}	$4.2 \pm 2.56^{ab}**$	$8.2 \pm 5.52^{bc}**$	$9.3 \pm 2.27^{\circ **}$
C18:2n6cis	25.6 ± 10.80^{ab} *	30.7 ± 10.30^{a} *	$17.0 \pm 6.81^{b*}$	$23.7 \pm 11.90^{ab}*$	$3.3 \pm 1.86^{**}$	3.4 ± 1.54 **	$4.5 \pm 1.39 **$	$7.0 \pm 3.15 **$
C18:3n6	0.1 ± 0.07	0.2 ± 0.14	Ne	0.1 ± 0.07	0.3 ± 0.18	0.3 ± 0.11	0.3 ± 0.18	0.4 ± 0.21
C20:2n6	0.2 ± 0.04	0.3 ± 0.16	0.7 ± 0.50	0.4 ± 0.22	0.9 ± 0.68	0.5 ± 0.41	0.4 ± 0.19	0.5 ± 0.31

Apêndice 2: Perfil de ácidos graxos (%) das amostras de conteúdo estomacal das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios de referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20.2n6	0.4 ± 0.20	0.2 ± 0.15	0.4 ± 0.26	0.2 ± 0.10	No	0.2 ± 0.12	0.2 ± 0.10	0.2 ± 0.08
C20.5110	0.4 ± 0.20	0.3 ± 0.13	0.4 ± 0.20	0.2 ± 0.10	INC	0.2 ± 0.12	0.3 ± 0.10	0.2 ± 0.08
C20:4n6	0.6 ± 0.27	0.3 ± 0.32	1.0 ± 0.88	1.0 ± 0.97	1.2 ± 0.70	1.1 ± 0.79	1.4 ± 0.92	2.0 ± 0.60
C22:2n6	0.2 ± 0.10	0.4 ± 0.24	0.8 ± 0.00	0.2 ± 0.13	0.8 ± 0.29	1.2 ± 1.05	0.3 ± 0.00	0.3 ± 0.20
C22:4n6	0.2 ± 0.00	0.1 ± 0.00	Ne	0.1 ± 0.00	Ne	Ne	0.4 ± 0.21	0.2 ± 0.06
C22:5n6	0.2 ± 0.15	0.2 ± 0.16	0.8 ± 0.00	0.2 ± 0.15	0.5 ± 0.33	0.6 ± 0.46	0.3 ± 0.00	0.2 ± 0.10
Σ PUFA n6	$26.9 \pm 10.62^{ab}*$	$31.8 \pm 10.04^{a_{*}}$	$18.9 \pm 8.43^{b}*$	$25.3 \pm 11.77^{ab} *$	5.2 ± 3.31**	$5.6 \pm 3.64 * *$	7.1 ± 2.83**	$10.4 \pm 3.22 **$
ΣPUFA C18n6	$25.6 \pm 10.80^{ab}*$	30.8 ± 10.21^{a} *	$17.0 \pm 6.81^{b_{*}}$	23.7 ± 11.84^{ab} *	$3.7 \pm 2.46 **$	$3.8 \pm 1.55^{**}$	$4.7 \pm 1.31^{**}$	$7.3 \pm 3.23 * *$
Σ PUFA C20-22n6	1.2 ± 0.53	1.1 ± 0.65	2.5 ± 1.93	1.6 ± 1.24	1.6 ± 1.08	1.7 ± 1.09	2.4 ± 1.65	$\textbf{3.1} \pm \textbf{0.72}$
Σ PUFA t	$29.6 \pm 11.17*$	$37.4 \pm 6.07*$	$\textbf{22.2} \pm \textbf{11.10}$	29.0 ± 13.19	12.6 ± 8.46^{a}	15.0 ± 9.26^{a}	$25.0 \pm 10.17^{\mathrm{ab}}$	35.8 ± 4.02^{b}
n3/n6	$0.1 \pm 0.02 *$	$0.1 \pm 0.05*$	$\boldsymbol{0.1 \pm 0.08*}$	$0.1\pm0.07*$	$0.9 \pm 0.66 **$	$1.1 \pm 0.99 * *$	$2.1 \pm 0.89^{**}$	$2.5 \pm 0.77 **$
EPA/DHA	$0.6 \pm 0.00*$	$0.9 \pm 0.00*$	0.5 ± 0.19	2.0 ± 0.64	11.1 ± 8.58**	$3.3 \pm 0.30 * *$	1.6 ± 0.89	6.6 ± 3.79
C16/C18	$0.4 \pm 0.13^{*}$	$0.3\pm0.08*$	$\textbf{0.3} \pm \textbf{0.06}$	$\boldsymbol{0.2\pm0.06}$	$1.1 \pm 0.25^{**}$	$1.1 \pm 0.45^{**}$	$\boldsymbol{0.7\pm0.15}$	0.5 ± 0.13
C16:1/C16:0	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.03	0.2 ± 0.10	0.3 ± 0.07	0.3 ± 0.04	0.3 ± 0.04	0.3 ± 0.06

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ t PUFA, Σ n3 PUFA, Σ n6 PUFA, Σ C16 PUFA, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, EPA e DHA são as somatórias de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido eicosapentaenoico e docosahexaenoico. ^{*}Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

		Ponte	Nova			Bi	llings	
	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
Ν	5	9	5	7	10	8	5	10
C15:0	0.2 ± 0.04	0.1 ± 0.02	0.3 ± 0.18	0.2 ± 0.06	0.4 ± 0.11	0.4 ± 0.09	0.5 ± 0.10	0.4 ± 0.09
C17:0	$0.3 \pm 0.12*$	$0.2 \pm 0.02*$	$0.3\pm0.05*$	$0.5 \pm 0.15*$	$1.1 \pm 0.28 **$	$1.3 \pm 0.23 **$	$1.8 \pm 0.42 **$	1.4 ± 0.18 **
C20:0iso	0.2 ± 0.03	$0.2 \pm 0.06*$	0.2 ± 0.04	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.05	0.8 ± 0.24 **	Ne	Ne
ΣOFA - BFA	$0.6 \pm 0.17*$	$0.6 \pm 0.22*$	$1.0 \pm 0.62*$	$0.9 \pm 0.41*$	$2.3 \pm 0.77 **$	3.0 ± 0.61 **	$3.1 \pm 0.49 * *$	$2.5 \pm 0.69 * *$
C14:0	1.2 ± 0.47	1.2 ± 0.84	1.3 ± 1.09	1.0 ± 0.51	2.2 ± 0.59	3.0 ± 0.82	2.9 ± 0.78	1.8 ± 0.26
C16:0	27.7 ± 1.84^{a}	24.6 ± 2.76^{ab}	$24.1 \pm 1.38^{ab}*$	20.2 ± 1.44^{b}	25.7 ± 3.41^{a}	$25.0\pm3.09^{\text{a}}$	34.4 ± 5.16^{a}	21.1 ± 0.89^{b}
C18:0	6.3 ± 1.36	6.5 ± 0.63	7.5 ± 2.45	7.1 ± 0.50	7.2 ± 1.32	6.9 ± 0.79	10.1 ± 2.01	7.6 ± 0.43
C20:0	0.2 ± 0.07	0.2 ± 0.04	0.4 ± 0.10	0.3 ± 0.05	0.4 ± 0.12	0.5 ± 0.07	0.7 ± 0.22	0.4 ± 0.10
Σ SFA	35.40 ± 1.41^{a}	32.6 ± 2.55^{ab}	33.4 ± 4.40^{ab} *	28.7 ± 2.03^{b}	35.8 ± 4.26^{a}	35.5 ± 4.13^{a}	48.6 ± 7.44^{a}	31.2 ± 1.08^{b}
C16:1n7	3.9 ± 0.38	3.1 ± 0.42	5.3 ± 3.13	3.2 ± 0.54	7.2 ± 1.36	8.4 ± 1.41	8.4 ± 0.93	7.1 ± 0.72
C18:1n9	$41.2 \pm 2.07*$	$43.7 \pm 2.26*$	$38.3 \pm 10.10*$	$42.7 \pm 2.26*$	$27.8 \pm 7.68 **$	$23.0 \pm 3.47 **$	$25.1 \pm 4.42 **$	$28.1 \pm 3.89 **$
C18:1n7	1.5 ± 0.18	1.3 ± 0.11	3.0 ± 2.48	1.8 ± 0.38	4.8 ± 1.24	4.4 ± 0.80	5.4 ± 1.10	4.1 ± 0.91
C20:1n9	0.7 ± 0.08	0.8 ± 0.11	0.9 ± 0.13	0.7 ± 0.21	0.6 ± 0.28	0.5 ± 0.25	1.2 ± 0.49	0.5 ± 0.11
S MUFA	$47.5 \pm 0.22*$	$48.6 \pm 2.52*$	$47.3 \pm 4.98*$	$48.4 \pm 1.58*$	$40.4 \pm 6.59 **$	37.1 ± 2.15**	40.5 ± 3.71 **	$39.9 \pm 2.77 **$
C16:2n4	Ne*	0.2 ± 0.04	Ne*	Ne*	$0.2 \pm 0.06 **$	0.3 ± 0.11	$0.2 \pm 0.08 **$	$0.2 \pm 0.07 **$
C16:3n4	$02 \pm 0.05*$	$0.1 \pm 0.04*$	0.4 ± 0.39	$0.2 \pm 0.08*$	$0.5 \pm 0.16^{**}$	$0.6 \pm 0.09 **$	0.5 ± 0.21	$0.7 \pm 0.08 **$
Σ PUFA C16	$0.2 \pm 0.05*$	$0.2 \pm 0.12*$	$0.4 \pm 0.39^{*}$	$\textbf{0.2} \pm \textbf{0.08}^{*}$	$0.8 \pm 0.26^{**}$	$1.0 \pm 0.16^{**}$	0.9 ± 0.14 **	0.8 ± 0.17 **
C18:3n3	$0.9 \pm 0.37*$	$0.7 \pm 0.24*$	2.0 ± 1.68	$1.6 \pm 0.61*$	6.0 ± 2.41^{a}	9.8 ± 2.41^{a}	2.7 ± 2.35^{b}	$8.6 \pm 1.46^{a**}$
C18:4n3	Ne	Ne	Ne	0.1 ± 0.03	1.2 ± 0.67	1.0 ± 0.00	0.8 ± 0.20	0.6 ± 0.12
C20:4n3	0.1 ± 0.01	Ne	0.3 ± 0.00	0.1 ± 0.03	0.7 ± 0.35	0.5 ± 0.20	0.5 ± 0.23	0.6 ± 0.17
C20:5n3	$0.3 \pm 0.19*$	$0.2 \pm 0.09*$	0.4 ± 0.15	$0.4 \pm 0.24*$	$2.5 \pm 1.36^{**}$	$1.9 \pm 0.72 **$	2.0 ± 0.65	2.8 ± 0.70 **
C22:5n3	0.3 ± 0.22	0.2 ± 0.05	0.3 ± 0.34	0.2 ± 0.14	1.0 ± 0.64	0.8 ± 0.36	0.8 ± 0.32	1.1 ± 0.32
C22:6n3	$0.4 \pm 0.29*$	$0.3 \pm 0.22*$	0.8 ± 0.44	$0.5 \pm 0.37*$	2.4 ± 1.89 **	$1.5 \pm 1.05 **$	1.2 ± 0.18	$2.9 \pm 1.35 **$
ΣPUFA n3	$1.9 \pm 1.05*$	$1.1 \pm 0.56*$	3.8 ± 2.96	$2.5 \pm 1.03*$	$13.8 \pm 6.59^{a} $	14.5 ± 3.69^{a}	7.0 ± 3.18^{b}	$17.0 \pm 2.15^{a} * *$
Σ PUFA C18n3	$0.9 \pm 0.37*$	$0.7 \pm 0.24*$	2.0 ± 1.68	$1.6 \pm 0.68*$	7.2 ± 2.98^{a}	10.0 ± 2.27^{a}	3.5 ± 1.67^{b}	9.2 ± 1.48^{a}
Σ PUFA C20-22n3	$0.9 \pm 0.69*$	$0.4 \pm 0.39*$	1.8 ± 1.30	$1.0 \pm 0.60*$	$6.9 \pm 4.00 * *$	$5.2 \pm 2.55 * *$	3.8 ± 0.99	$7.8 \pm 2.35^{**}$
C20-22/C18n3	0.9 ± 0.32	0.5 ± 0.38	1.0 ± 0.26	0.6 ± 0.23	0.9 ± 0.39	0.5 ± 0.32	1.6 ± 0.12	0.9 ± 0.35
C18:2n6cis	$13.4 \pm 1.79^{ab}*$	$15.5 \pm 3.05^{ab}*$	12.7 ± 6.24^{a} *	$17.0 \pm 1.83^{b*}$	$5.3 \pm 0.94^{ab} * *$	6.7 ± 1.37^{a}	$2.1 \pm 1.83^{b**}$	$6.0 \pm 0.65^{a**}$
C18:3n6	0.2 ± 0.06	0.3 ± 0.07	0.3 ± 0.27	0.3 ± 0.06	0.2 ± 0.12	0.3 ± 0.08	0.3 ± 0.12	0.3 ± 0.08
C20:2n6	0.4 ± 0.11	0.4 ± 0.11	0.4 ± 0.13	0.4 ± 0.13	0.2 ± 0.11	0.2 ± 0.11	0.1 ± 0.07	0.3 ± 0.08
C20:3n6	0.4 ± 0.05	0.4 ± 0.14	0.4 ± 0.11	0.4 ± 0.12	0.2 ± 0.07	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.11	0.3 ± 0.06
C20:4n6	0.6 ± 0.32	0.4 ± 0.07	0.9 ± 0.33	0.7 ± 0.15	0.9 ± 0.42^{a}	0.9 ± 0.33^{a}	$1.2 \pm 0.76^{\circ}$	$1.4 \pm 0.31^{\circ}$
Σ PUFA n6	14.8 ± 1.67^{a} *	$17.0 \pm 3.47^{ab}*$	14.8 ± 5.00^{a} *	18.9 ± 2.00^{b} *	6.8 ± 1.49^{a}	8.5 ± 1.93^{a}	$4.0 \pm 3.21^{b**}$	$8.5 \pm 0.77^{a_{**}}$

Apêndice 3: Perfil de ácidos graxos (%) das amostras de tecido adiposo das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

ΣPUFA C18n6	$13.6 \pm 1.85^{ab}*$	15.8 ± 3.10^{ab} *	12.5 ± 5.32^{a} *	$17.3 \pm 1.86^{b}*$	$5.5 \pm 0.98^{ab}**$	$7.1 \pm 1.65^{a} * *$	$2.4 \pm 1.45^{b**}$	$6.3 \pm 0.68^{a} * *$
Σ PUFA C20-22n6	1.3 ± 0.28	1.2 ± 0.39	1.8 ± 0.53	1.6 ± 0.34	1.3 ± 0.60^{a}	1.4 ± 0.57^{a}	1.5 ± 0.79^{a}	2.2 ± 0.59^{b}
C20-22n6/C18n6	$\textbf{0.1} \pm \textbf{0.04}$	$\textbf{0.1} \pm \textbf{0.02}$	0.2 ± 0.17	$\textbf{0.1} \pm \textbf{0.02}$	$\textbf{0.2} \pm \textbf{0.08}$	$\boldsymbol{0.2\pm0.08}$	$\boldsymbol{0.2\pm0.07}$	0.4 ± 0.12
Σ PUFA t	16.9 ± 1.31	$18.3 \pm 3.68*$	$18.9 \pm 3.03*$	$\textbf{22.0} \pm \textbf{1.69}$	21.4 ± 7.72^{a}	$24.4 \pm 3.73^{a} $	$10.9 \pm 5.21^{b} * *$	26.3 ± 2.50^{a}
n3/n6	$0.1 \pm 0.09*$	$0.1 \pm 0.03*$	0.4 ± 0.46	$0.1 \pm 0.06*$	$\textbf{2.0} \pm \textbf{0.85}^{**}$	$1.7 \pm 0.50 * *$	1.6 ± 0.56	$2.0 \pm 0.29 **$
EPA/ARA	$0.6 \pm 0.20*$	$0.5\pm0.22*$	$0.6 \pm 0.26*$	$0.6 \pm 0.26*$	$2.7 \pm 1.03 **$	$2.2 \pm 0.50 * *$	$1.7 \pm 0.32 * *$	$1.9 \pm 0.25^{**}$
DHA/ARA	$0.8 \pm 0.16*$	$\textbf{0.6} \pm \textbf{0.45}$	1.0 ± 0.26	$\textbf{0.8} \pm \textbf{0.44}$	$2.4 \pm 1.53 **$	1.5 ± 0.69	1.0 ± 0.22	$\textbf{2.0} \pm \textbf{0.62}$

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ t PUFA, Σ n3 PUFA, Σ n6 PUFA, Σ C16 PUFA, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA e DHA são as somatórias de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico e docosahexaenoico. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

EA (0/)		Ponte	e Nova		Billings				
FA (70)	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera	
C15:0	0.4 ± 0.11	0.1 ± 0.05	0.3 ± 0.21	0.3 ± 0.12	0.5 ± 0.09	0.4 ± 0.09	0.4 ± 0.06	0.5 ± 0.13	
C15:0iso	Ne*	Ne*	Ne	0.3 ± 0.11	0.4 ± 0.12 **	0.4 ± 0.16 **	0.3 ± 0.10	0.4 ± 0.20	
C15:0anteiso	Ne*	Ne*	Ne	0.3 ± 0.17	$0.1 \pm 0.02 **$	$0.1 \pm 0.00 **$	0.3 ± 0.00	Ne	
C17:0anteiso	Ne*	Ne*	Ne	0.2 ± 0.09	$0.2 \pm 0.05 **$	0.3 ± 0.14 **	Ne	Ne	
C20:0iso	0.3 ± 0.09	0.3 ± 0.18	0.2 ± 0.05	0.3 ± 0.16	0.5 ± 0.00	0.7 ± 0.28	Ne	Ne	
C17:1cis	0.8 ± 0.09	0.1 ± 0.00	Ne	Ne	0.3 ± 0.01	0.3 ± 0.00	0.3 ± 0.08	0.2 ± 0.00	
Σ OFA-BFA	$1.0 \pm 0.50*$	$0.4 \pm 0.14*$	0.7 ± 0.17	1.0 ± 0.43	$1.8 \pm 0.58 **$	$1.2 \pm 0.63 **$	1.6 ± 0.71	1.1 ± 0.38	
C14:0	2.1 ± 1.18	1.0 ± 0.79	0.8 ± 0.21	1.1 ± 0.17	2.0 ± 0.39	2.1 ± 0.25	1.7 ± 0.47	1.4 ± 0.34	
C16:0	28.5 ± 3.91^{a}	22.1 ± 3.34^{ab}	25.2 ± 3.31^{a}	22.6 ± 3.34^{b}	26.2 ± 2.95	25.0 ± 2.99	23.9 ± 1.62	23.2 ± 1.25	
C18:0	4.6 ± 1.11	7.0 ± 2.02	8.4 ± 3.11	4.8 ± 1.24	7.2 ± 1.26	8.3 ± 0.87	6.0 ± 0.93	6.4 ± 1.23	
C20:0	0.1 ± 0.04	0.2 ± 0.05	0.2 ± 0.09	0.2 ± 0.08	0.4 ± 0.09	0.4 ± 0.17	0.4 ± 0.11	0.4 ± 0.11	
Σ SFA	35.2 ± 3.81^{a}	30.0 ± 4.14^{ab}	34.7 ± 5.04^{a}	28.8 ± 3.43^{b}	35.8 ± 2.92	35.9 ± 3.53	$\textbf{32.0} \pm \textbf{2.48}$	31.5 ± 1.45	
C16:1n7	6.8 ± 1.61	$3.6 \pm 0.69^{*}$	$4.2 \pm 0.66^{*}$	$4.8 \pm 0.79^{*}$	7.3 ± 1.90	$8.5 \pm 1.19 * *$	$9.1 \pm 0.93 **$	$8.2 \pm 0.62 **$	
C18:1n9	38.6 ± 5.88^{a} *	$47.2 \pm 5.10^{ab}*$	$47.4 \pm 2.67^{ab}*$	$47.1 \pm 4.31^{b*}$	$25.4 \pm 4.10 **$	$23.1 \pm 5.94 **$	$22.7 \pm 1.59 **$	$22.6 \pm 4.54 **$	
C18:1n7	$2.0 \pm 0.67*$	1.4 ± 0.15	2.2 ± 0.38	2.1 ± 0.24	$4.5 \pm 0.84 **$	5.0 ± 1.30	5.7 ± 1.06	5.2 ± 1.12	
C20:1n9	0.6 ± 0.21	0.9 ± 0.11	0.7 ± 0.17	0.7 ± 0.18	0.4 ± 0.27	0.4 ± 0.18	0.5 ± 0.15	0.6 ± 0.25	
Σ MUFA	48.1 ± 7.00^{a} *	53.1 ± 5.46^{ab} *	$54.5 \pm 2.81^{ab}*$	$54.7 \pm 4.53^{b*}$	37.7 ± 4.01**	37.2 ± 5.13**	38.0 ± 1.81**	36.6 ± 4.73**	
C16:4n1	Ne*	0.2 ± 0.00	Ne*	0.2 ± 0.00	$0.9 \pm 0.43 **$	0.3 ± 0.00	$0.1 \pm 0.00 **$	0.3 ± 0.00	
C16:2n4	0.2 ± 0.12	0.2 ± 0.01	0.1 ± 0.00	0.2 ± 0.10	0.2 ± 0.08	0.4 ± 0.12	0.3 ± 0.06	0.5 ± 0.31	
C16:3n4	0.3 ± 0.24^{ab} *	0.2 ± 0.05^{a} *	0.3 ± 0.07^{ab} *	$0.6 \pm 0.27^{b*}$	$0.7 \pm 0.37^{a**}$	$0.9 \pm 0.28^{ab} **$	$1.1 \pm 0.41^{b**}$	$1.1 \pm 0.29^{b**}$	
Σ PUFA C16	$0.5 \pm 0.37^{ab}*$	0.6 ± 0.11^{a} *	$0.4 \pm 0.08^{ab}*$	$0.8 \pm 0.24^{b}*$	$0.8 \pm 0.31^{a} * *$	$1.2 \pm 0.34^{ab}**$	1.4 ± 0.46^{b}	$1.6 \pm 0.56^{b}**$	
C18:3n3	$0.8 \pm 0.48*$	$0.3 \pm 0.26*$	$0.6 \pm 0.57*$	$1.1 \pm 0.27*$	$6.1 \pm 1.32^{a**}$	$7.7 \pm 2.55^{ab}**$	$9.0 \pm 1.26^{b**}$	$6.9 \pm 2.60^{ab**}$	
C18:4n3	0.4 ± 0.31	0.3 ± 0.06	Ne	0.2 ± 0.05	1.0 ± 0.50	0.5 ± 0.22	0.7 ± 0.12	0.6 ± 0.14	
C20:3n3	Ne	0.2 ± 0.00	Ne	0.1 ± 0.03	0.3 ± 0.11	0.4 ± 0.12	0.5 ± 0.17	0.6 ± 0.16	
C20:4n3	0.4 ± 0.22	0.2 ± 0.07	0.4 ± 0.00	0.1 ± 0.00	0.7 ± 0.25	0.5 ± 0.17	0.6 ± 0.09	0.9 ± 0.45	
C20:5n3	$0.5 \pm 0.33*$	$0.3 \pm 0.09*$	$0.3 \pm 0.12*$	$0.5 \pm 0.12*$	2.4 ± 0.71 **	$2.0 \pm 0.53 **$	$2.7 \pm 0.45 **$	$3.0 \pm 0.95 **$	
C22:5n3	0.4 ± 0.18	0.2 ± 0.06	0.1 ± 0.06	0.3 ± 0.06	1.2 ± 0.40	0.9 ± 0.27	1.1 ± 0.28	2.0 ± 0.78	
C22:6n3	$0.9 \pm 0.69*$	$0.6 \pm 0.22*$	$0.7 \pm 0.20*$	$1.4 \pm 0.41*$	3.7 ± 1.98^{a}	2.7 ± 0.98^{a}	$3.4 \pm 1.07^{a**}$	$6.0 \pm 4.37^{b**}$	
ΣPUFA n3	$3.0 \pm 1.76*$	$1.7 \pm 0.69*$	$1.1 \pm 1.10*$	$3.4 \pm 0.70*$	$15.1 \pm 3.30^{a} * *$	$14.6 \pm 3.18^{a} $	$18.0 \pm 0.72^{ab}**$	$20.0 \pm 4.48^{b**}$	
Σ PUFA C18n3	$1.2 \pm 0.56*$	$0.7 \pm 0.32*$	$0.5 \pm 0.36*$	$1.2 \pm 0.34*$	$6.8 \pm 1.83^{a} * *$	$8.0 \pm 2.37^{ab}**$	$9.7 \pm 1.28^{b} * *$	$7.5 \pm 2.56^{ab}**$	
Σ PUFA C20-22n3	$1.8 \pm 1.24*$	$1.0 \pm 0.40*$	$0.9 \pm 0.45^{*}$	$2.3 \pm 0.55*$	$8.3 \pm 2.68^{a} * *$	6.6 ± 1.74^{a}	$8.3 \pm 1.56^{a} * *$	$12.5 \pm 6.46^{b^{**}}$	
C20-22n6/C18n3	1.4 ± 0.54	1.5 ± 0.52	$\boldsymbol{0.8\pm0.74}$	2.1 ± 0.97	1.3 ± 0.55	0.9 ± 0.24	$\boldsymbol{0.9\pm0.28}$	$\textbf{2.1} \pm \textbf{2.02}$	
C18:2n6cis	$8.4 \pm 1.52*$	$11.3 \pm 2.99*$	6.9 ± 1.54	8.6 ± 2.19**	5.1 ± 1.34 **	$5.3 \pm 1.08 **$	5.9 ± 0.84	4.6 ± 1.20 **	
C18:3n6	1.3 ± 0.81	0.6 ± 0.42	0.8 ± 0.18	0.6 ± 0.19	1.6 ± 1.46	0.9 ± 0.34	0.2 ± 0.26	1.2 ± 0.44	

Apêndice 4: Perfil de ácidos graxos (%) dos triacilgliceróis hepáticos das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20:3n6	0.6 ± 0.41	0.7 ± 0.26	0.4 ± 0.21	0.6 ± 0.20	0.3 ± 0.13	0.6 ± 0.17	0.4 ± 0.08	0.6 ± 0.39
C20:4n6	0.5 ± 0.21	0.9 ± 0.41	$0.8 \pm 0.37*$	$1.0 \pm 0.18*$	1.3 ± 0.28	2.2 ± 0.88	$1.5 \pm 0.27 **$	$1.7 \pm 0.44 **$
C22:4n6	Ne	0.2 ± 0.05	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.03	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.03	0.2 ± 0.03	0.3 ± 0.16
C22:5n6	0.3 ± 0.17	0.2 ± 0.07	0.3 ± 0.31	0.2 ± 0.00	0.5 ± 0.23	0.2 ± 0.09	0.2 ± 0.11	0.3 ± 0.09
ΣPUFA n6	$11.5 \pm 4.44^{ab}*$	$14.2 \pm 3.62^{a_{*}}$	8.6 ± 5.73^{b}	11.3 ± 3.60^{ab}	8.5 ± 2.01 **	9.8 ± 1.71**	$\textbf{9.0} \pm \textbf{0.77}$	$\textbf{9.2} \pm \textbf{0.98}$
Σ PUFA C18n6	$9.3 \pm 3.27*$	$11.8 \pm 3.08*$	7.4 ± 4.12	$9.1 \pm 3.26*$	5.9 ± 1.58**	$6.3 \pm 1.02^{**}$	6.1 ± 0.74	$5.8 \pm 0.89^{**}$
Σ PUFA C20-22n6	2.2 ± 0.71	2.6 ± 0.91	$1.2 \pm 0.85^{*}$	$2.2 \pm 0.58*$	2.6 ± 1.07	3.5 ± 1.40	$2.9 \pm 0.76^{**}$	$3.4 \pm 1.31^{**}$
C20-22n6/C18n6	$\textbf{0.3} \pm \textbf{0.18}$	0.2 ± 0.10	0.2 ± 0.20	$\boldsymbol{0.3\pm0.07}$	0.5 ± 0.24	0.6 ± 0.24	$\boldsymbol{0.5\pm0.18}$	0.6 ± 0.34
S PUFA t	$15.0 \pm 5.10*$	$16.4 \pm 4.29*$	$10.1 \pm 6.80*$	$15.5 \pm 3.41*$	$24.4 \pm 4.07^{a} $	$25.7 \pm 4.12^{ab} * *$	$28.3 \pm 1.36^{ab}**$	$30.8 \pm 5.51^{b**}$
n3/n6	$\textbf{0.3} \pm \textbf{0.22*}$	$0.1 \pm 0.03*$	$0.1 \pm 0.06*$	$0.3 \pm 0.17*$	$1.8 \pm 0.59 **$	$1.5 \pm 0.37 * *$	$2.0 \pm 0.16^{**}$	$2.2 \pm 0.36^{**}$
EPA/ARA	$0.9 \pm 0.51*$	0.4 ± 0.14	$0.3\pm0.00*$	$0.5 \pm 0.17*$	$2.1 \pm 0.74^{**}$	1.0 ± 0.44	$1.8 \pm 0.32^{**}$	$1.8 \pm 0.37 * *$
DHA/ARA	1.5 ± 0.79	$\textbf{0.8} \pm \textbf{0.52}^{*}$	$0.9 \pm 0.19*$	1.5 ± 0.49	$\textbf{2.7} \pm \textbf{1.28}$	$1.3 \pm 0.20 **$	$2.3 \pm 0.83 **$	3.4 ± 1.51

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ t PUFA, Σ n3 PUFA, Σ n6 PUFA, Σ C16 PUFA, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA e DHA são as somatórias de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico e docosahexaenoico. *Símbolos diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

EA (0/)		Ponte	Nova			Bill	ings	
FA (%)	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
C15:0	0.3 ± 0.10	0.2 ± 0.04	0.1 ± 0.00	0.2 ± 0.02	0.3 ± 0.06	0.3 ± 0.12	0.1 ± 0.03	0.2 ± 0.07
C15:0anteiso	Ne	Ne	1.4 ± 0.00	Ne	0.2 ± 0.09	Ne	Ne	Ne
C16:0iso	0.3 ± 0.00	0.4 ± 0.20	Ne	0.3 ± 0.09	0.3 ± 0.10	0.3 ± 0.06	Ne	0.5 ± 0.14
C18:0anteiso	Ne	0.2 ± 0.05	0.3 ± 0.00	0.3 ± 0.12	Ne	Ne	0.2 ± 0.09	0.3 ± 0.06
C17:1cis	Ne	Ne	Ne	$0.5 \pm 0.16*$	Ne ^a	Ne ^a	Ne ^a	$1.3 \pm 1.32^{b**}$
Σ OFA-BFA	1.0 ± 0.51	0.9 ± 0.42	0.9 ± 0.71	$0.9 \pm 0.29*$	0.4 ± 0.14^{a}	0.9 ± 0.44^{ab}	0.3 ± 0.11^{a}	$1.5 \pm 0.92^{b**}$
C14:0	0.7 ± 0.25	0.3 ± 0.09	0.4 ± 0.29	0.2 ± 0.05	0.6 ± 0.15	0.9 ± 0.51	0.2 ± 0.06	0.3 ± 0.16
C16:0	17.4 ± 1.89^{a}	14.0 ± 1.60^{ab} *	13.0 ± 1.26^{ab}	8.9 ± 0.94^{b}	19.1 ± 4.02^{a}	20.6 ± 3.40^{a}	11.0 ± 0.83^{b}	10.3 ± 1.43^{b}
C18:0	19.1 ± 2.00	15.8 ± 2.03	17.6 ± 6.82	21.2 ± 0.92	19.2 ± 2.11	18.2 ± 5.65	17.4 ± 1.33	18.3 ± 2.14
C20:0	0.3 ± 0.08	0.2 ± 0.07	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.07	0.3 ± 0.11	0.4 ± 0.17	0.3 ± 0.16	0.3 ± 0.08
Σ SFA	37.4 ± 3.64^{a}	$30.5 \pm 1.46^{ab}*$	31.2 ± 5.26^{ab}	30.4 ± 0.98^{b}	39.4 ± 6.03^{a}	$40.5 \pm 5.63^{a} $	29.1 ± 0.92^{b}	29.5 ± 2.55^{b}
C16:1n7	2.1 ± 0.42	1.4 ± 0.14	2.2 ± 0.60	1.0 ± 0.12	3.2 ± 0.78	4.4 ± 2.45	1.6 ± 0.25	1.7 ± 0.66
C18:1n9	16.5 ± 1.41^{ab}	18.7 ± 1.45^{a}	$22.6 \pm 5.23^{b*}$	13.2 ± 1.47^{a}	15.3 ± 5.17^{a}	18.4 ± 2.87^{a}	$8.5 \pm 1.02^{b**}$	8.3 ± 1.64^{b}
C18:1n7	1.8 ± 0.41	1.3 ± 0.11	2.1 ± 0.38	1.7 ± 0.40	4.2 ± 1.31	4.7 ± 1.30	4.0 ± 0.65	3.0 ± 0.93
C20:1n9	0.8 ± 0.20	$1.4 \pm 0.14*$	$1.8 \pm 1.51^{*}$	$0.8 \pm 0.21*$	0.5 ± 0.20	0.4 ± 0.14 **	0.3 ± 0.12 **	0.3 ± 0.13 **
Σ MUFA	$21.1 \pm 1.39^{\mathrm{ac}}$	22.7 ± 1.37^{a}	$28.7 \pm 7.72^{b*}$	$16.6 \pm 1.34^{\circ}$	23.1 ± 5.68^{a}	28.0 ± 5.36^{a}	$14.5 \pm 1.67^{b} * *$	13.5 ± 2.69^{b}
C16:4n1	0.3 ± 0.21	Ne*	0.7 ± 0.00	Ne	Ne	0.3 ± 0.20 **	0.2 ± 0.16	Ne
C16:2n4	0.3 ± 0.11	$0.3 \pm 0.09*$	0.5 ± 0.00	$0.3 \pm 0.14*$	0.3 ± 0.08^{a}	$0.5 \pm 0.42^{a**}$	Ne ^b	$0.5 \pm 0.15^{a**}$
C16:3n4	Ne*	$0.2 \pm 0.00*$	0.2 ± 0.00	$0.1 \pm 0.00*$	0.4 ± 0.16^{a}	$0.7 \pm 0.41^{b**}$	0.3 ± 0.10^{a}	$0.3 \pm 0.10^{a**}$
Σ PUFA C16	$0.3 \pm 0.11*$	$0.4 \pm 0.10*$	0.3 ± 0.25	$0.4 \pm 0.14*$	$0.7 \pm 0.16^{a_{**}}$	$1.1 \pm 0.37^{b**}$	$0.3 \pm 0.10^{\circ}$	0.7 ± 0.21^{a}
C18:3n3	$0.4 \pm 0.19*$	$0.3 \pm 0.15*$	$0.6 \pm 0.44*$	$0.6 \pm 0.16*$	$2.8 \pm 0.61 **$	$3.4 \pm 2.38 **$	$2.5 \pm 0.39 **$	$2.5 \pm 0.93 **$
C18:4n3	0.4 ± 0.27	0.2 ± 0.08	Ne	0.3 ± 0.11	0.4 ± 0.18	0.4 ± 0.43	0.2 ± 0.05	0.4 ± 0.14
C20:3n3	0.3 ± 0.06	0.1 ± 0.00	1.1 ± 0.00	0.2 ± 0.08	0.6 ± 0.30	0.6 ± 0.41	1.1 ± 0.25	0.7 ± 0.26
C20:4n3	0.6 ± 0.41	0.3 ± 0.06	Ne	Ne	0.5 ± 0.20	0.5 ± 0.10	0.7 ± 0.18	0.7 ± 0.25
C20:5n3	$0.9 \pm 0.44*$	1.1 ± 0.66	$1.2 \pm 0.17*$	$2.2 \pm 0.63*$	4.3 ± 1.96^{a}	3.2 ± 0.81^{a}	$8.7 \pm 1.27^{b**}$	$5.6 \pm 1.53^{ab} * *$
C22:5n3	0.9 ± 0.35	0.7 ± 0.18	0.8 ± 0.17	1.3 ± 0.21	2.8 ± 1.64	1.4 ± 0.40	3.7 ± 0.64	3.6 ± 0.58
C22:6n3	12.3 ± 4.18^{a}	11.0 ± 2.62^{a}	8.8 ± 2.38^{a} *	$20.3 \pm 3.13^{\circ*}$	13.7 ± 6.04^{a}	$8.7 \pm 4.71^{\circ}$	$24.9 \pm 1.91^{\circ **}$	$24.0 \pm 2.49^{\circ **}$
ΣPUFA n3	15.6 ± 4.97^{a}	13.5 ± 3.25^{a}	$11.9 \pm 1.14^{a_{*}}$	24.7 ± 3.58^{6} *	$25.0 \pm 9.91^{a} $	18.1 ± 5.05^{a}	$41.7 \pm 1.99^{\circ} * *$	$37.5 \pm 3.85^{\circ} * *$
Σ PUFA C18n3	$0.8 \pm 0.33^{*}$	$0.5 \pm 0.10*$	$0.6 \pm 0.44*$	$0.8 \pm 0.22*$	$3.0 \pm 0.72 **$	3.8 ± 2.43**	$2.5 \pm 0.43 **$	2.8 ± 0.91 **
Σ PUFA C20-22n3	$14.8 \pm 4.76^{a_{*}}$	13.0 ± 3.22^{a}	11.3 ± 1.58^{a} *	23.9 ± 3.50^{6} *	$22.0 \pm 9.25^{a}**$	$14.2 \pm 5.79^{\circ}$	$39.1 \pm 2.08^{\circ}$	$34.7 \pm 3.97^{c**}$
C20-22n6/C18n3	19.5 ± 6.63	$26.6 \pm 7.44*$	29.3 ± 15.05	$31.1 \pm 9.64*$	7.2 ± 2.21^{ab}	5.2 ± 3.39^{a}	15.8 ± 3.29^{b}	$13.3 \pm 4.57^{ab}**$
C18:2n6t	$5.1 \pm 1.34*$	$5.6 \pm 1.33*$	$7.2 \pm 3.36*$	4.2 ± 1.12	$2.9 \pm 1.28 **$	$3.2 \pm 1.50 **$	$1.8 \pm 0.28 **$	1.8 ± 0.38
C18:3n6	2.0 ± 1.01	2.4 ± 1.28	0.8 ± 0.07	1.3 ± 0.72	1.1 ± 0.91	2.4 ± 2.13	0.8 ± 0.14	2.6 ± 1.91
C20:2n6	2.2 ± 0.51	2.5 ± 0.24	Ne	1.9 ± 0.62	0.5 ± 0.23	0.6 ± 0.20	0.5 ± 0.17	0.6 ± 0.20

Apêndice 5: Perfil de ácidos graxos (%) dos fosfolipídios hepáticos das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20:3n6	$24 \pm 0.90*$	$3.5 \pm 0.77*$	2.8 ± 0.59	2.7 ± 0.71	$0.6 \pm 0.25 **$	$0.8 \pm 0.22 **$	0.9 ± 0.18	0.9 ± 0.40
C20:4n6	$9.8 \pm 2.40^{*}$	$14.4 \pm 0.44*$	$14.1 \pm 2.99*$	$15.3 \pm 2.68*$	5.6 ± 1.70^{a}	3.8 ± 1.24^{a}	$9.5 \pm 1.53^{b**}$	$10.1 \pm 1.69^{b**}$
C22:4n6	$1.9 \pm 0.88*$	$3.3 \pm 1.14*$	1.8 ± 1.15	1.7 ± 0.35	$0.5 \pm 0.25 **$	0.3 ± 0.13 **	0.7 ± 0.17	1.3 ± 0.87
C22:5n6	0.7 ± 0.36	0.3 ± 0.09	Ne	Ne	0.4 ± 0.36	0.4 ± 0.24	Ne	Ne
S PUFA n6	$24.4 \pm 4.02*$	$32.0 \pm 1.84*$	$26.6 \pm 1.30*$	$27.0 \pm 3.78*$	$11.4 \pm 2.40^{a} $	11.4 ± 2.90^{a}	$14.1 \pm 1.57^{ab}**$	17.3 ± 3.39^{b}
Σ PUFA C18n6	$6.9 \pm 2.18*$	$8.0 \pm 0.82 *$	$8.0 \pm 3.43*$	5.5 ± 1.21	$4.0 \pm 1.26^{ab}**$	$5.6 \pm 1.83^{a} $	2.6 ± 0.39^{b}	4.4 ± 1.66^{ab}
Σ PUFA C20-22n6	$17.5 \pm 3.94*$	$24.1 \pm 1.05*$	$18.6 \pm 4.73*$	$21.5 \pm 3.17*$	7.4 ± 2.04^{a}	5.7 ± 1.70^{a}	$11.5 \pm 1.55^{b}**$	$12.9 \pm 2.43^{b_{**}}$
C20-22n6/C18n6	2.9 ± 1.78	$3.0 \pm 0.18^{*}$	2.7 ± 1.75	4.1 ± 0.89	$2.0 \pm \mathbf{0.80^{ab}}$	$1.1 \pm 0.50^{a**}$	4.6 ± 0.84^{b}	3.2 ± 0.98^{ab}
Σ PUFA t	40.4 ± 4.58^{a}	$45.9 \pm 1.44^{ab}*$	$38.9 \pm 2.69^{a}*$	52.1 ± 1.95^{b}	38.2 ± 8.17^{a}	$30.5 \pm 7.33^{a}**$	56.0 ± 1.46^{b}	$55.5 \pm 4.32^{b**}$
n3/n6	$0.7 \pm 0.26*$	$0.4 \pm 0.13^{*}$	$0.4 \pm 0.02*$	$\boldsymbol{0.9 \pm 0.28}$	$2.2 \pm 0.77 * *$	$1.6 \pm 0.42 **$	3.0 ± 0.41 **	2.2 ± 0.46
EPA/ARA	$0.1 \pm 0.07*$	$0.1 \pm 0.05^{*}$	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.05	0.8 ± 0.18 **	0.9 ± 0.17 **	0.9 ± 0.21	0.6 ± 0.15
DHA/ARA	1.3 ± 0.51	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.20 *}$	$0.6 \pm 0.04*$	1.4 ± 0.38	$\textbf{2.4} \pm \textbf{0.87}$	$2.3 \pm 0.77 **$	$2.7 \pm 0.39 * *$	2.4 ± 0.43
UI	189.0 ± 26.31^{a}	206.8 ± 11.09^{a}	$185.3 \pm 16.49^{a}*$	251.6 ± 12.00^{b}	193.1 ± 54.71^{a}	156.1 ± 34.44^{a}	$291.3 \pm 9.37^{b}**$	280.3 ± 20.36^{b}

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ t PUFA, Σ n3 PUFA, Σ n6 PUFA, Σ C16 PUFA, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA, DHA e UI são as somatórias de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico e índice de insaturação. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

EA (0/)		Pont	e Nova		Billings				
FA (70)	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera	
C15:0	0.4 ± 0.18	0.2 ± 0.05	0.2 ± 0.03	0.3 ± 0.12	0.5 ± 0.12	0.4 ± 0.08	0.3 ± 0.05	0.3 ± 0.06	
C15:0iso	0.1 ± 0.01	Ne*	Ne	Ne	0.5 ± 0.31	0.3 ± 0.11 **	0.5 ± 0.09	0.3 ± 0.09	
C17:0anteiso	0.4 ± 0.11	Ne*	Ne	Ne	0.7 ± 0.31	0.3 ± 0.12 **	Ne	1.1 ± 0.44	
C20:0iso	Ne*	$0.2 \pm 0.05*$	0.2 ± 0.04	Ne	$1.1 \pm 0.26 **$	0.7 ± 0.30 **	Ne	Ne	
Σ OFA-BFA	$1.0 \pm 0.59*$	$0.4 \pm 0.15^{*}$	0.3 ± 0.09	0.5 ± 0.33	$2.8 \pm 1.07 * *$	1.7 ± 0.74 **	0.9 ± 0.32	1.2 ± 0.88	
C14:0	1.3 ± 0.53	0.9 ± 0.38	0.8 ± 0.10	1.0 ± 0.25	1.7 ± 0.44	2.2 ± 0.68	1.5 ± 0.28	1.4 ± 0.22	
C16:0	23.2 ± 2.45^a	$22.5 \pm 2.66^{ab}*$	20.9 ± 1.35^{ab}	20.4 ± 1.37^{b}	24.2 ± 1.96^{ab}	25.1 ± 1.75^{a}	21.1 ± 1.68^{b}	21.0 ± 1.72^{b}	
C18:0	7.7 ± 0.42	7.2 ± 1.00	7.5 ± 0.71	7.8 ± 0.61	7.6 ± 1.34	8.1 ± 0.58	8.2 ± 1.29	7.9 ± 0.55	
C20:0	0.4 ± 0.20	0.2 ± 0.04	0.3 ± 0.02	0.3 ± 0.10	0.4 ± 0.05	0.4 ± 0.11	0.5 ± 0.11	0.4 ± 0.07	
Σ SFA	32.5 ± 1.98^{a}	$30.7 \pm 1.92^{ab}*$	29.4 ± 1.58^{ab}	29.4 ± 0.89^{b}	33.8 ± 3.09^{ab}	$35.9 \pm 2.36^{a} $	31.4 ± 1.88^{b}	30.8 ± 2.42^{b}	
C16:1n7	4.3 ± 1.12	$3.2 \pm 0.36^{*}$	$3.5 \pm 0.47^{*}$	$3.5 \pm 0.15^{*}$	6.3 ± 1.17	$7.8 \pm 0.70 **$	$7.1 \pm 0.65 **$	$7.2 \pm 0.43 **$	
C18:1n9	33.0 ± 6.59^{a}	$42.1 \pm 3.30^{b*}$	$41.0 \pm 5.06^{b*}$	$37.7 \pm 4.41^{ab}*$	25.1 ± 2.37	$21.7 \pm 3.98 **$	$20.7 \pm 1.70 **$	$21.6 \pm 4.43 **$	
C18:1n7	2.3 ± 0.42	1.5 ± 0.23	2.2 ± 0.40	2.4 ± 0.57	4.8 ± 1.11	4.8 ± 0.88	5.3 ± 0.48	5.4 ± 0.99	
C20:1n9	0.7 ± 0.17	0.8 ± 0.11	0.7 ± 0.09	0.6 ± 0.13	0.4 ± 0.12	0.4 ± 0.24	0.4 ± 0.08	0.5 ± 0.09	
Σ MUFA	40.2 ± 6.31^{a}	$47.6 \pm 3.09^{b*}$	$47.5 \pm 5.12^{b}*$	$44.1 \pm 4.01^{ab}*$	36.4 ± 3.41	35.0 ± 2.99**	$33.5 \pm 1.40 * *$	$34.7 \pm 5.20 **$	
C16:4n1	Ne	0.3 ± 0.19	Ne	0.7 ± 0.00	0.9 ± 0.52	0.2 ± 0.09	0.4 ± 0.25	0.8 ± 0.42	
C16:2n4	0.6 ± 0.30	0.3 ± 0.14	Ne	0.5 ± 0.10	0.5 ± 0.43	0.4 ± 0.13	0.2 ± 0.05	0.3 ± 0.12	
C16:3n4	0.3 ± 0.10	$0.1 \pm 0.04*$	$0.3 \pm 0.07*$	0.4 ± 0.15	0.6 ± 0.15	$0.7 \pm 0.06 **$	$0.7 \pm 0.08 **$	0.7 ± 0.13	
Σ PUFA C16	0.6 ± 0.41	$0.4 \pm 0.16*$	$0.3 \pm 0.07*$	$\boldsymbol{0.7\pm0.27}$	0.9 ± 0.50	$0.8 \pm 0.49 * *$	$0.9 \pm 0.06^{**}$	1.0 ± 0.17	
C18:3n3	$1.2 \pm 0.49*$	$0.8 \pm 0.27*$	$1.3 \pm 0.42*$	$1.7 \pm 0.58*$	7.1 ± 1.17 **	$9.2 \pm 1.85^{**}$	$9.7 \pm 1.46 **$	$8.9 \pm 2.58 * *$	
C18:4n3	0.5 ± 0.29	0.5 ± 0.09	0.3 ± 0.00	0.4 ± 0.17	0.7 ± 0.28	0.7 ± 0.38	0.8 ± 0.15	0.7 ± 0.21	
C20:3n3	0.3 ± 0.00	0.3 ± 0.16	Ne	0.3 ± 0.02	0.4 ± 0.05	0.3 ± 0.07	0.4 ± 0.10	0.4 ± 0.10	
C20:4n3	0.9 ± 0.54	Ne	Ne	0.7 ± 0.63	1.2 ± 0.68	0.6 ± 0.13	0.7 ± 0.06	0.8 ± 0.29	
C20:5n3	2.1 ± 1.89	$0.6 \pm 0.44*$	$0.8 \pm 0.43*$	$1.6 \pm 0.85*$	3.8 ± 1.08	$2.8 \pm 0.69 **$	$3.9 \pm 0.53 **$	$3.8 \pm 0.87 **$	
C22:5n3	0.6 ± 0.34	0.3 ± 0.13	0.3 ± 0.15	0.6 ± 0.26	1.0 ± 0.26	0.9 ± 0.26	1.1 ± 0.24	1.5 ± 0.60	
C22:6n3	3.9 ± 2.50	$2.0 \pm 1.19^{*}$	$3.2 \pm 1.53^{*}$	$3.8 \pm 1.73*$	3.7 ± 2.26	$3.4 \pm 0.93 **$	6.1 ± 1.99 **	$6.6 \pm 3.69^{**}$	
Σ PUFA n3	$8.6 \pm 3.81^{a_{*}}$	$4.0 \pm 1.17^{b}*$	$5.6 \pm 1.36^{ab}*$	8.4 ± 3.48^{a}	$17.5 \pm 3.13^{a} * *$	$17.5 \pm 2.08^{a} $	$22.7 \pm 1.31^{b**}$	$22.1 \pm 4.32^{ab}**$	
Σ PUFA C18n3	$1.5 \pm 0.64*$	$1.0 \pm 0.44*$	$1.3 \pm 0.48*$	$2.0 \pm 0.68*$	7.4 ± 1.04^{a}	9.6 ± 1.65**	$10.5 \pm 1.48 * *$	9.6 ± 2.41 **	
Σ PUFA C20-22n3	7.1 ± 3.23	$3.0 \pm 1.80*$	$4.3 \pm 1.99*$	$6.4 \pm 1.90*$	10.0 ± 3.26	7.9 ± 1.78**	$12.2 \pm 2.55 **$	$12.5 \pm 4.29 * *$	
C20-22/C18n3	4.3 ± 1.54	2.9 ± 1.19	3.2 ± 1.22	3.1 ± 0.85	1.4 ± 0.55	0.9 ± 0.23	1.2 ± 0.39	1.6 ± 1.42	
C18:2n6cis	$10.6 \pm 2.60*$	$13.1 \pm 1.28*$	$12.7 \pm 1.95*$	$12.7 \pm 1.50*$	4.8 ± 0.62 **	$6.1 \pm 0.78 **$	$5.9 \pm 0.32 **$	5.5 ± 1.16 **	
C18:3n6	0.8 ± 0.45	0.3 ± 0.13	0.3 ± 0.12	0.5 ± 0.16	0.3 ± 0.13	0.6 ± 0.20	0.6 ± 0.16	0.4 ± 0.18	
C20:2n6	1.0 ± 0.50	0.9 ± 0.27	0.7 ± 0.13	0.8 ± 0.42	0.9 ± 0.61	0.4 ± 0.15	0.8 ± 0.55	0.8 ± 0.59	
C20:3n6	0.6 ± 0.23	0.6 ± 0.09	0.7 ± 0.23	0.6 ± 0.16	0.2 ± 0.07	0.3 ± 0.08	0.4 ± 0.12	0.4 ± 0.22	

Apêndice 6: Perfil de ácidos graxos (%) dos triacilgliceróis musculares das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20:4n6	2.4 ± 1.17	1.4 ± 0.56	2.1 ± 0.90	2.1 ± 0.70	1.2 ± 0.25	1.4 ± 0.34	2.0 ± 0.64	1.8 ± 0.50
C22:2n6	0.9 ± 0.66	0.3 ± 0.19	0.7 ± 0.00	Ne	0.8 ± 0.52	0.2 ± 0.09	0.4 ± 0.30	1.0 ± 0.64
C22:4n6	0.5 ± 0.45	0.2 ± 0.07	0.3 ± 0.13	0.3 ± 0.14	0.3 ± 0.16	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.08	0.3 ± 0.27
C22:5n6	0.7 ± 0.60	Ne	0.7 ± 0.00	Ne	0.6 ± 0.30	0.2 ± 0.08	0.3 ± 0.20	0.4 ± 0.39
Σ PUFA n6	$17.1 \pm 2.22*$	$16.8 \pm 1.06*$	$16.9 \pm 3.23*$	$16.7 \pm 1.61*$	9.0 ± 2.15**	9.1 ± 1.08**	10.5 ± 1.29 **	9.7 ± 1.78**
Σ PUFA C18n6	$11.4 \pm 2.33*$	$13.4 \pm 1.36*$	$13.0 \pm 1.95^*$	$13.1 \pm 1.43*$	$5.4 \pm 0.77 * *$	$6.6 \pm 0.85^{**}$	6.4 ± 0.48 **	$5.9 \pm 1.03^{**}$
Σ PUFA C20-	5.8 ± 2.18	3.4 ± 1.23	4.0 ± 1.48	3.6 ± 0.91	3.6 ± 1.71	2.5 ± 0.63	4.1 ± 1.05	3.8 ± 2.31
22/C18n6	0.0 - 2.10	011 - 1120			0.0 - 1.71			010 - 2101
C20-22/C18n6	0.6 ± 0.45	0.3 ± 0.11	0.3 ± 0.08	0.3 ± 0.09	0.7 ± 0.28	0.4 ± 0.11	0.6 ± 0.16	0.7 ± 0.55
Σ PUFA t	26.4 ± 7.71	$21.1 \pm 2.78*$	$22.8 \pm 5.22*$	$25.9 \pm 4.05*$	27.4 ± 4.00^{a}	$27.3 \pm 2.27^{a} * *$	$34.1 \pm 1.95^{b**}$	$32.7 \pm 5.94^{ab} * *$
n3/n6	$0.5 \pm 0.28*$	$0.2 \pm 0.13^{*}$	$0.3 \pm 0.12*$	$0.5 \pm 0.23*$	$2.0 \pm 0.39 * *$	$2.0 \pm 0.35^{**}$	2.2 ± 0.27 **	2.3 ± 0.31 **
EPA/ARA	$0.8 \pm 0.35*$	$0.4 \pm 0.18*$	$0.4 \pm 0.15^{*}$	$0.8 \pm 0.16*$	$3.1 \pm 0.70 **$	$2.1 \pm 0.55 **$	$2.1 \pm 0.50 * *$	$2.1 \pm 0.26^{**}$
DHA/ARA	1.6 ± 0.43	1.4 ± 0.59	$1.5 \pm 0.25^{*}$	1.8 ± 0.40	2.9 ± 0.95	2.5 ± 0.58	$3.0 \pm 0.53 **$	3.1 ± 1.46

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ t PUFA, Σ n3 PUFA, Σ n6 PUFA, Σ C16 PUFA, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA e DHA são as somatórias de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico e docosahexaenoico. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

EA (0/.)		Ponte	e Nova			Bi	illings	
FA (70)	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
C15:0	0.4 ± 0.19	0.2 ± 0.08	0.1 ± 0.03	0.2 ± 0.07	0.3 ± 0.11	0.3 ± 0.13	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.06
C16:0iso	0.8 ± 0.02	0.5 ± 0.24	1.2 ± 0.00	0.9 ± 0.19	0.9 ± 0.25	0.5 ± 0.25	0.9 ± 0.08	1.2 ± 0.25
C18:0iso	1.1 ± 0.00^{a}	1.2 ± 0.48^{a}	Ne ^b	$2.7\pm0.00^{\circ}$	0.7 ± 0.54	0.7 ± 0.51	Ne	1.8 ± 0.29
C18:0anteiso	1.6 ± 0.94^{a}	Ne ^b	$1.4\pm0.18^{\rm a}$	1.9 ± 0.35^{a}	1.0 ± 0.60	Ne	1.7 ± 0.55	1.8 ± 0.46
Σ OFA-BFA	$2.0 \pm \mathbf{0.80^{ab}}$	1.5 ± 0.81^{a}	1.8 ± 0.57^{a}	3.1 ± 0.56^{b}	2.0 ± 1.13	2.1 ± 0.55	$\textbf{2.7} \pm \textbf{0.47}$	3.2 ± 0.55
C14:0	0.6 ± 0.24	0.3 ± 0.16	0.2 ± 0.07	0.3 ± 0.09	0.6 ± 0.30	0.4 ± 0.16	0.2 ± 0.04	0.2 ± 0.09
C16:0	19.5 ± 3.85^{a}	20.4 ± 3.57^{a}	16.1 ± 1.30^{b}	12.1 ± 1.34^{b}	19.4 ± 2.39^{a}	20.9 ± 3.99^a	15.6 ± 2.14^{ab}	11.3 ± 2.62^{b}
C18:0	17.8 ± 6.40	16.0 ± 2.20	14.0 ± 1.92	16.7 ± 0.82	16.3 ± 1.29	15.79 ± 2.08	14.0 ± 1.12	16.7 ± 1.75
C20:0	0.4 ± 0.28	0.2 ± 0.05	0.2 ± 0.02	0.2 ± 0.06	0.3 ± 0.09	0.3 ± 0.03	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.09
Σ SFA	37.9 ± 7.06^{a}	37.1 ± 2.58^{a}	30.6 ± 1.96^{b}	$29.5 \pm 0.88^{\text{b}}$	36.6 ± 2.33^{a}	37.1 ± 5.56^{a}	30.4 ± 1.04^{ab}	28.5 ± 1.81^{b}
C16:1n7	1.5 ± 0.67	0.8 ± 0.25	Ne	0.8 ± 0.21	1.5 ± 0.45	1.9 ± 0.28	1.4 ± 0.11	1.04 ± 0.41
C18:1n9	7.0 ± 3.50^{a}	$12.2 \pm 2.02^{\circ}$	$11.3 \pm 1.39^{\circ}$ *	8.3 ± 0.65^{a} *	7.9 ± 2.79^{a}	9.0 ± 1.24^{a}	$6.5 \pm 0.46^{ab} * *$	$5.7 \pm 0.48^{b**}$
C18:1n7	3.2 ± 1.20	$1.4 \pm 0.42*$	$1.6 \pm 0.11*$	$1.9 \pm 0.35*$	3.3 ± 1.85	$3.3 \pm 0.42 **$	$2.7 \pm 0.45 **$	$2.5 \pm 0.62 **$
C20:1n9	0.4 ± 0.07	0.5 ± 0.13	0.4 ± 0.10	0.3 ± 0.10	0.4 ± 0.24	0.3 ± 0.00	0.2 ± 0.02	0.2 ± 0.12
Σ MUFA	11.6 ± 2.35^{a}	$14.8 \pm 2.10^{\circ}$	14.2 ± 1.62^{6} *	11.4 ± 0.68^{a} *	13.1 ± 1.81^{a}	$13,7 \pm 1.54^{a}$	$10.8 \pm 0.99^{ab}**$	9.4 ± 1.30^{6}
C16:4n1	0.3 ± 0.07	0.3 ± 0.18	0.5 ± 0.14	0.5 ± 0.08	0.4 ± 0.13	Ne	0.3 ± 0.02	0.4 ± 0.22
C16:2n4	0.8 ± 0.40	0.5 ± 0.12	0.2 ± 0.09	0.7 ± 0.26	0.5 ± 0.19^{a}	0.7 ± 0.12^{a}	Ne	0.7 ± 0.17^{a}
C16:3n4	1.2 ± 0.10^{a}	0.6 ± 0.40^{a}	Ne	Ne ^o	1.0 ± 0.26^{a}	1.0 ± 0.70^{a}	$0.1 \pm 0.02^{\circ}$	$0.2 \pm 0.07^{\circ}$
Σ PUFA C16	1.2 ± 0.63^{a}	1.0 ± 0.52^{a}	0.7 ± 0.11^{6}	1.0 ± 0.26^{ab}	1.0 ± 0.55^{a}	1.2 ± 0.25^{a}	$0.4 \pm 0.02^{\text{b}}$	0.7 ± 0.12^{a}
C18:3n3	$0.5 \pm 0.28*$	0.4 ± 0.20	$0.5 \pm 0.09*$	$0.6 \pm 0.28*$	$2.2 \pm 0.33^{a**}$	Ne ⁵	$2.9 \pm 0.14^{a**}$	$2.1 \pm 1.12^{a**}$
C18:4n3	0.7 ± 0.48	0.3 ± 0.09	0.1 ± 0.04	0.3 ± 0.10	0.2 ± 0.00	Ne	0.3 ± 0.08	0.4 ± 0.18
C20:3n3	Ne	0.3 ± 0.21	0.1 ± 0.04	0.2 ± 0.07	0.2 ± 0.08	0.4 ± 0.05	0.5 ± 0.01	0.5 ± 0.12
C20:4n3	0.8 ± 0.71	0.2 ± 0.06	0.3 ± 0.00	0.3 ± 0.12	0.7 ± 0.23	0.8 ± 0.19	0.6 ± 0.03	0.7 ± 0.27
C20:5n3	$3.1 \pm 1.32*$	$2.5 \pm 1.01*$	$2.9 \pm 0.75^{*}$	$3.1 \pm 0.61*$	8.1 ± 1.90**	$7.1 \pm 0.97 **$	7.6 ± 1.14 **	$5.6 \pm 1.25^{**}$
C22:5n3	2.1 ± 0.53	1.6 ± 0.28	1.8 ± 0.28	2.4 ± 0.40	3.0 ± 0.64	2.6 ± 0.59	3.3 ± 0.49	4.2 ± 0.48
C22:6n3	$20.6 \pm 4.08^{\circ}$	$15.6 \pm 3.56^{\circ}$	$23.1 \pm 4.39^{ac*}$	$26.9 \pm 1.46^{\circ*}$	20.9 ± 3.56^{a}	20.1 ± 4.50^{a}	$28.2 \pm 0.67^{6**}$	31.8 ± 2.54^{6}
$\Sigma PUFA n3$	$27.1 \pm 4.97^{**}$	$20.4 \pm 4.82^{5*}$	$28.4 \pm 5.17^{**}$	$33.7 \pm 1.61^{\circ}$	$30.9 \pm 5.55^{***}$	$26.4 \pm 9.06^{a**}$	43.4 ± 1.06^{6}	45.2 ± 1.00^{6}
$\Sigma PUFA C18n3$	$0.7 \pm 0.52^{*}$	0.6 ± 0.19	$0.6 \pm 0.06^{*}$	$0.9 \pm 0.33^{*}$	$2.2 \pm 0.29^{***}$	Ne ^o	$3.3 \pm 0.06^{\circ **}$	$2.5 \pm 1.15^{ac_{**}}$
Σ PUFA C20-22n3	$26.5 \pm 4.83^{**}$	$19.9 \pm 4.83^{\circ*}$	$27.9 \pm 5.15^{ac_*}$	32.8 ± 1.47	$30.9 \pm 5.55^{***}$	$26.4 \pm 9.06^{***}$	$40.1 \pm 1.00^{5**}$	42.8 ± 1.64^{6}
C20-22/C18n3	48.8 ± 27.92	$39.2 \pm 17.70^{*}$	$50.2 \pm 8.96*$	40.1 ± 14.80	15.1 ± 2.01	Ne**	$12.2 \pm 0.10 **$	21.1 ± 11.21
C18:2n6cis	$4.1 \pm 1.40^{\circ}$	$5.9 \pm 2.10^{\circ*}$	$6.8 \pm 1.63^{\circ*}$	$5.3 \pm 0.56^{a0*}$	2.9 ± 1.15	$3.0 \pm 0.32^{**}$	2.7 ± 0.00 **	$2.0 \pm 0.6 / **$
C18:3n6	0.9±0.38	0.8 ± 0.23	0.6 ± 0.17	0.8 ± 0.17	0.9 ± 0.69	1.2 ± 0.46	0.7 ± 0.07	0.9 ± 0.09
C20:2n6	0.8 ± 0.33	1.3 ± 0.31	1.2 ± 0.34	0.8 ± 0.23	0.4 ± 0.16	0.3 ± 0.09	0.2 ± 0.07	0.6 ± 0.34
C20:3n6	1.3 ± 0.61	2.1 ± 0.93	1.9 ± 0.33	1.4 ± 0.35	0.5 ± 0.20	0.6 ± 0.18	0.7 ± 0.16	0.8 ± 0.14

Apêndice 7: Perfil de ácidos graxos (%) dos fosfolipídios musculares das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20:4n6	$11.0 \pm 1.98*$	$12.2 \pm 1.89*$	$11.5 \pm 0.96*$	$10.7 \pm 1.20*$	$6.1 \pm 0.57 **$	$5.0 \pm 0.60 **$	$6.9 \pm 0.25 **$	$7.1 \pm 0.52 **$
C22:4n6	2.8±1.12	$2.8 \pm 0.97*$	$2.3 \pm 0.36*$	2.2 ± 0.31	1.0 ± 0.18	0.8 ± 0.18 **	$1.1 \pm 0.09 **$	1.5 ± 0.44
S PUFA n6	$20.8 \pm 3.43^{a}*$	$25.0 \pm 6.01^{b}*$	$24.4 \pm 2.54^{ab}*$	$21.2 \pm 1.63^{ab}*$	$12.0 \pm 0.77 **$	11.6 ± 0.90**	$12.3 \pm 0.50 **$	$12.8 \pm 1.17 * *$
Σ PUFA C18n6	4.8 ± 1.26^{a}	6.7 ± 2.12^{b} *	$7.4 \pm 1.65^{b}*$	$6.1 \pm 0.64^{ab}*$	3.6 ± 1.07	$4.2 \pm 0.52 **$	$3.4 \pm 0.07 **$	$2.9 \pm 0.68 **$
Σ PUFA C20-22n6	$16.0 \pm 3.02*$	$18.3 \pm 4.10*$	17.1 ± 1.28*	$15.1 \pm 1.44*$	$8.4 \pm 0.52 **$	7.5 ± 0.58 **	$9.0 \pm 0.43 **$	9.9 ± 0.96**
C20-22/C18n6	3.5 ± 1.16	2.9 ± 0.63	2.4 ± 0.57	2.5 ± 0.33	2.6 ± 0.95	1.9 ± 0.21	$\textbf{2.7} \pm \textbf{0.07}$	3.5 ± 0.78
Σ PUFA t	48.9 ± 5.36^{ac}	46.3 ± 2.77^{a}	53.0 ± 3.96^{bc}	55.6 ± 0.73^{b}	48.1 ± 3.90^{a}	47.1 ± 6.98^{a}	55.8 ± 1.58^{b}	58.8 ± 1.06^{b}
n3/n6	$1.3 \pm 0.37*$	$0.9 \pm 0.46*$	$1.2 \pm 0.33^{*}$	$1.6 \pm 0.19^*$	$2.9 \pm 0.48 **$	$2.7 \pm 0.42 **$	$3.5 \pm 0.06 **$	$3.6 \pm 0.36 **$
EPA/ARA	$0.3 \pm 0.14*$	$0.2 \pm 0.12*$	$\textbf{0.3} \pm \textbf{0.07} *$	$\textbf{0.3} \pm \textbf{0.07}$	1.3 ± 0.24 **	$1.2 \pm 0.23^{**}$	$1.1 \pm 0.12^{**}$	$\boldsymbol{0.8\pm0.16}$
DHA/ARA	$1.9 \pm 0.52*$	$1.3 \pm 0.46*$	$2.0 \pm 0.45^{*}$	$2.6 \pm 0.31*$	$3.5 \pm 0.66 **$	3.6 ± 0.61 **	$4.1 \pm 0.24 **$	$4.5 \pm 0.53 **$
UI	240.6 ± 30.14^{a}	217.6 ± 13.77^{a}	259.2 ± 25.27^{ab}	278.2 ± 6.48^{b} *	247.3 ± 21.21^{a}	228.8 ± 34.17^{a}	291.8 ± 5.28^{b}	$307.5 \pm 6.45^{b}**$

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ t PUFA, Σ n3 PUFA, Σ n6 PUFA, Σ C16 PUFA, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA, DHA e UI são as somatórias de ácidos graxos impares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico e índice de insaturação. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

EA (0/.)		Ponte	Nova			Billi	ngs	
FA (70)	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
C15:0	0.8 ± 0.40	0.3 ± 0.26	0.2 ± 0.05	0.5 ± 0.11	0.6 ± 0.10	0.4 ± 0.07	0.4 ± 0.09	0.5 ± 0.16
C15:0iso	0.3 ± 0.17	0.2 ± 0.03	Ne	0.2 ± 0.08	0.4 ± 0.13	0.4 ± 0.06	0.3 ± 0.08	0.3 ± 0.10
C17:0anteiso	0.4 ± 0.20	Ne	Ne	Ne	0.9 ± 0.00	Ne	Ne	Ne
C20:0iso	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.02	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.00	0.4 ± 0.25	0.6 ± 0.35	Ne	Ne
C17:1cis	1.7 ± 0.00^{a}	Ne ^b	Ne ^b	Ne ^b	0.1 ± 0.03	Ne	0.2 ± 0.03	Ne
Σ OFA-BFA	2.8 ± 0.56^{a}	0.5 ± 0.31^{b}	0.3 ± 0.08^{b}	0.9 ± 0.18^{ab}	1.6 ± 0.73^{a}	0.9 ± 0.33	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.22}$	1.0 ± 0.25
C14:0	2.7 ± 0.96	1.8 ± 0.89	1.2 ± 0.38	1.6 ± 0.48	2.1 ± 0.22	2.7 ± 0.40	1.9 ± 0.50	1.7 ± 0.18
C16:0	32.8 ± 2.71^{a}	30.8 ± 5.48^{ab}	25.5 ± 1.55^{b}	27.5 ± 3.04^{b}	31.9 ± 2.83	30.6 ± 3.53	28.7 ± 2.63	28.8 ± 3.52
C18:0	3.6 ± 0.83	4.8 ± 1.39	5.6 ± 1.35	3.8 ± 1.57	3.9 ± 1.52	4.4 ± 1.45	3.7 ± 0.67	3.4 ± 1.59
C20:0	0.3 ± 0.00	0.5 ± 0.35	0.1 ± 0.03	Ne	0.2 ± 0.08	0.3 ± 0.11	0.1 ± 0.02	0.2 ± 0.08
Σ SFA	39.1 ± 2.70^{a}	37.6 ± 5.85^{ab}	32.4 ± 0.70^{b}	32.9 ± 2.54^{b}	$\textbf{38.0} \pm \textbf{1.85}$	37.9 ± 2.54	34.3 ± 2.43	34.0 ± 2.32
C16:1n7	7.7 ± 2.03	$5.0 \pm 1.55^{*}$	$4.9 \pm 0.39^{*}$	5.7 ± 0.76	8.9 ± 1.47^{a}	$10.5 \pm 1.52^{ab} **$	$11.9 \pm 0.66^{b**}$	11.7 ± 3.70^{ab}
C18:1n9	32.3 ± 5.88^{a} *	$41.2 \pm 6.75^{b*}$	42.8 ± 1.20^{b} *	36.3 ± 5.77^{ab}	$25.0 \pm 3.14 **$	$26.0 \pm 3.47 **$	$27.8 \pm 3.52 **$	25.0 ± 4.43
C18:1n7	3.4 ± 1.44	2.4 ± 1.16	2.2 ± 0.37	3.6 ± 0.72	5.4 ± 1.33	4.9 ± 1.04	5.5 ± 0.80	6.3 ± 1.16
C20:1n9	0.4 ± 0.11	0.7 ± 0.20	0.6 ± 0.07	0.4 ± 0.08	0.4 ± 0.12	0.4 ± 0.16	0.3 ± 0.08	0.5 ± 0.26
S MUFA	43.8 ± 3.27^{a} *	$49.3 \pm 4.96^{b}*$	50.6 ± 1.61^{b}	46.1 ± 6.21^{ab}	$39.7 \pm 1.92^{a_{**}}$	$42.0 \pm 3.20^{ab} * *$	45.7 ± 3.02^{b}	43.4 ± 2.23^{ab}
C16:2n4	Ne	Ne	Ne	Ne	0.2 ± 0.05	0.2 ± 0.07	0.2 ± 0.05	0.2 ± 0.13
C16:3n4	0.8 ± 0.65	$0.5 \pm 0.48*$	$0.4 \pm 0.12*$	$0.9 \pm 0.17*$	1.0 ± 0.25^{a}	$1.3 \pm 0.42^{ab**}$	$1.8 \pm 0.31^{b**}$	$1.7 \pm 0.34^{b**}$
Σ PUFA C16	0.7 ± 0.64	$0.5 \pm 0.47*$	$0.4 \pm 0.12^{*}$	$0.9 \pm 0.17*$	1.3 ± 0.30^{a}	$1.6 \pm 0.43^{ab} * *$	$2.2 \pm 0.36^{b_{**}}$	$2.1 \pm 0.51^{b}**$
C18:3n3	$2.1 \pm 1.41*$	$1.0 \pm 0.83*$	$0.8 \pm 0.38*$	$2.0 \pm 1.04*$	$6.3 \pm 1.03 **$	6.8 ± 2.44 **	$5.8 \pm 1.57 **$	$7.0 \pm 1.54 **$
C18:4n3	Ne	0.2 ± 0.06	Ne	Ne	0.3 ± 0.21	0.2 ± 0.13	0.2 ± 0.06	0.3 ± 0.15
C20:3n3	0.3 ± 0.01	0.2 ± 0.16	Ne	0.2 ± 0.10	0.4 ± 0.08	0.3 ± 0.15	0.3 ± 0.14	0.5 ± 0.14
C20:4n3	0.3 ± 0.17	0.2 ± 0.14	Ne	0.2 ± 0.11	0.8 ± 0.22	0.4 ± 0.15	0.3 ± 0.15	0.5 ± 0.29
C20:5n3	$0.9 \pm 0.78*$	$0.4 \pm 0.24*$	0.4 ± 0.08	1.1 ± 0.91	$2.4 \pm 0.95^{**}$	$1.3 \pm 0.59 **$	1.5 ± 0.50	1.8 ± 0.58
C22:5n3	0.4 ± 0.24	0.2 ± 0.08	0.2 ± 0.11	0.5 ± 0.53	0.8 ± 0.32	0.4 ± 0.24	0.5 ± 0.19	0.8 ± 0.39
C22:6n3	$1.0 \pm 0.39^{*}$	$0.8 \pm 0.58*$	1.9 ± 1.77	2.3 ± 3.67	$1.9 \pm 0.78 **$	$1.3 \pm 0.99 **$	2.3 ± 0.98	2.1 ± 0.97
ΣPUFA n3	$4.4 \pm 1.17^{ab}*$	$1.9 \pm 1.26^{a_{*}}$	$3.3 \pm 1.59^{ab}*$	$6.1 \pm 2.56^{b*}$	$12.9 \pm 2.43 **$	$10.6 \pm 3.30 * *$	$10.9 \pm 3.07 **$	$13.0 \pm 2.39 * *$
ΣPUFA C18n3	$1.8 \pm 0.52*$	$0.7 \pm 0.37*$	$0.8 \pm 0.38*$	$2.0 \pm 1.04*$	$6.5 \pm 0.96^{**}$	$6.9 \pm 2.45^{**}$	6.0 ± 1.61**	$7.2 \pm 1.62 **$
Σ PUFA C20-22n3	$2.6 \pm 0.73^{*}$	$1.3 \pm 0.68*$	2.5 ± 1.95	4.0 ± 1.30	6.4 ± 1.95**	3.7 ± 1.71**	4.9 ± 1.79	5.8 ± 2.09
C20-22/C18n3	1.4 ± 0.28	1.9 ± 1.34	$5.0 \pm 2.38^{*}$	2.0 ± 0.92	1.0 ± 0.31	0.6 ± 0.34	0.8 ± 0.21 **	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.39}$
C18:2n6cis	7.5 ± 2.59^{a} *	7.4 ± 2.45^{a} *	$9.3 \pm 2.50^{ab}*$	10.0 ± 1.30^{b} *	$4.5 \pm 0.63 **$	$5.1 \pm 0.64 **$	4.6 ± 0.87 **	$4.7 \pm 0.86 **$
C18:3n6	0.5 ± 0.20	0.4 ± 0.23	0.2 ± 0.03	0.2 ± 0.05	0.3 ± 0.22	0.4 ± 0.22	0.2 ± 0.04	0.2 ± 0.18
C20:2n6	0.5 ± 0.28	0.7 ± 0.19	0.7 ± 0.47	0.6 ± 0.32	0.4 ± 0.31	0.2 ± 0.07	0.2 ± 0.05	0.4 ± 0.17
C20:3n6	0.5 ± 0.09	0.5 ± 0.15	0.7 ± 0.42	0.7 ± 0.35	0.3 ± 0.04	0.3 ± 0.08	0.3 ± 0.06	0.4 ± 0.10

Apêndice 8: Perfil de ácidos graxos (%) dos triacilgliceróis ovarianos das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20:4n6	1.3 ± 0.74	0.8 ± 0.34	$1.8 \pm 0.62*$	$1.3 \pm 1.13*$	0.9 ± 0.41	0.6 ± 0.47	0.8 ± 0.23 **	$0.8 \pm 0.48 **$
C22:4n6	0.2 ± 0.04	0.2 ± 0.02	0.3 ± 0.38	0.8 ± 0.00 *	0.1 ± 0.03	0.2 ± 0.09	0.1 ± 0.04	0.2 ± 0.01 **
C22:5n6	0.1 ± 0.02	0.1 ± 0.03	Ne	0.3 ± 0.20	0.2 ± 0.11	0.2 ± 0.09	Ne	Ne
ΣPUFA n6	$10.3 \pm 2.42^{ab}*$	$9.9 \pm 2.64^{a*}$	$13.0 \pm 1.19^{b}*$	$13.2 \pm 1.94^{b}*$	$6.4 \pm 0.79 * *$	6.9 ± 1.36**	6.1 ± 1.11**	$6.5 \pm 0.97 * *$
ΣPUFA C18n6	7.8 ± 2.73^{a} *	7.8 ± 2.35^{a} *	$9.4 \pm 2.47^{ab}*$	$10.2 \pm 1.37^{b}*$	$4.6 \pm 0.58^{**}$	$5.5 \pm 0.70 * *$	$\textbf{4.8} \pm \textbf{0.88}^{**}$	$4.9 \pm 0.89^{**}$
Σ PUFA C20-22 n6	2.5 ± 0.99	2.1 ± 0.61	$3.5 \pm 1.88*$	$3.0 \pm 1.41*$	1.8 ± 0.62	1.3 ± 0.80	$1.4 \pm 0.33^{**}$	$1.7 \pm 0.75^{**}$
C20-22/C18n6	0.4 ± 0.21	0.3 ± 0.11	0.5 ± 0.49	$\textbf{0.3} \pm \textbf{0.30}$	0.4 ± 0.16	0.2 ± 0.11	$\textbf{0.3} \pm \textbf{0.06}$	$\boldsymbol{0.4\pm0.18}$
Σ PUFA t	$15.3 \pm 3.16^{ab}*$	12.6 ± 3.58^{a} *	16.7 ± 2.35^{ab}	20.1 ± 7.00^{b}	$20.6 \pm 2.48 **$	19.1 ± 3.80**	19.2 ± 4.10	21.6 ± 2.54
n3/n6	$0.5 \pm 0.42*$	$0.2 \pm 0.13^{*}$	$0.2 \pm 0.11^*$	$0.4\pm0.35^{\ast}$	2.0 ± 0.44 **	$1.6 \pm 0.42^{**}$	1.8 ± 0.31 **	$2.0 \pm 0.39 * *$
EPA/ARA	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.60 *}$	$\textbf{0.5} \pm \textbf{0.30}$	$0.3 \pm 0.19*$	$\boldsymbol{0.9 \pm 0.52}$	$3.1 \pm 0.99 **$	$\textbf{2.3} \pm \textbf{0.79}$	1.8 ± 0.31 **	2.5 ± 1.09
DHA/ARA	1.0 ± 0.55	$\textbf{1.0} \pm \textbf{0.47}$	1.0 ± 0.09	1.4 ± 0.72	2.4 ± 0.51	2.2 ± 0.54	$\textbf{2.8} \pm \textbf{0.62}$	$\textbf{2.7} \pm \textbf{0.85}$

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ t PUFA, Σ n3 PUFA, Σ n6 PUFA, Σ C16 PUFA, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA e DHA são as somatórias de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico e docosahexaenoico. *Símbolos diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

EA (0/)		Ponte	e Nova			Bil	lings	
FA (%)	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
C15:0	0.3 ± 0.23	0.1 ± 0.07	0.1 ± 0.02	0.2 ± 0.11	0.3 ± 0.08	0.3 ± 0.09	0.2 ± 0.04	0.1 ± 0.02
C16:0iso	Ne	0.5 ± 0.10	0.3 ± 0.08	0.8 ± 0.19	Ne	0.4 ± 0.18	0.3 ± 0.10	0.9 ± 0.28
C18:0anteiso	Ne ^a	Ne ^a	$0.3\pm0.06^{\rm a}$	1.1 ± 0.31^{b}	0.5 ± 0.03^{a}	Ne ^a	$0.2\pm0.09^{\rm a}$	0.9 ± 0.15^{b}
Σ OFA-BFA	0.6 ± 0.19^{a}	$1.0 \pm 0.47^{ m ab}$	0.6 ± 0.18^{a}	1.8 ± 0.83^{b}	$0.9\pm0.27^{\rm a}$	1.1 ± 0.32^{a}	0.6 ± 0.22^{a}	1.9 ± 0.49^{b}
C14:0	0.4 ± 0.30	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.08	0.4 ± 0.21	0.5 ± 0.13	0.3 ± 0.08	0.1 ± 0.03
C16:0	$18.1 \pm 1.32*$	$19.9 \pm 2.34*$	17.5 ± 2.25	11.4 ± 4.09	25.9 ± 4.53^{a}	25.6 ± 6.24^{a}	18.5 ± 1.19^{b}	12.3 ± 1.74^{b}
C18:0	13.1 ± 0.95	13.5 ± 1.56	12.4 ± 0.74	16.7 ± 2.43	17.6 ± 3.28	14.0 ± 2.27	12.7 ± 1.97	14.2 ± 0.86
C20:0	0.1 ± 0.05	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.02	0.2 ± 0.04	0.2 ± 0.02	0.1 ± 0.03	0.2 ± 0.03
Σ SFA	$\textbf{31.8} \pm \textbf{0.02} \texttt{*}$	$33.6 \pm 2.18*$	30.1 ± 1.62	$\textbf{28.3} \pm \textbf{2.10}$	$44.1 \pm 7.47^{a} * *$	40.3 ± 7.42^{a}	31.6 ± 1.34^{b}	26.8 ± 1.29^{b}
C16:1n7	1.9 ± 0.63	1.4 ± 0.25	1.5 ± 0.21	0.8 ± 0.28	2.1 ± 0.63	2.5 ± 0.59	2.3 ± 0.28	1.2 ± 0.17
C18:1n9	15.7 ± 6.34^{a}	22.5 ± 2.37^{a}	19.7 ± 2.70^{a} *	10.7 ± 2.00^{b}	15.8 ± 2.28^{a}	17.0 ± 3.38^{a}	13.0 ± 2.07^{a}	7.6 ± 1.22^{b}
C18:1n7	2.6 ± 0.97	1.3 ± 0.08	1.8 ± 0.30	2.1 ± 0.27	4.4 ± 1.21	3.6 ± 1.17	3.6 ± 0.37	3.3 ± 0.78
C20:1n9	0.5 ± 0.23	0.8 ± 0.10	0.7 ± 0.14	0.6 ± 0.18	0.3 ± 0.08	0.4 ± 0.08	0.3 ± 0.06	0.3 ± 0.09
Σ MUFA	20.8 ± 4.97^{a}	26.0 ± 2.65^{a}	23.7 ± 2.57^{a} *	14.2 ± 2.54^{b}	22.6 ± 3.51^{a}	23.4 ± 3.50^{a}	$19.2 \pm 1.99^{a_{**}}$	12.4 ± 1.45^{b}
C16:4n1	Ne	0.3 ± 0.07	0.2 ± 0.08	0.7 ± 0.18	0.2 ± 0.09	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.03	0.5 ± 0.32
C16:2n4	Ne	0.3 ± 0.00	Ne	0.1 ± 0.00	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.09	Ne	0.1 ± 0.01
C16:3n4	0.5 ± 0.04	Ne	0.1 ± 0.03	0.2 ± 0.07	0.3 ± 0.11	0.4 ± 0.06	0.4 ± 0.09	0.2 ± 0.02
Σ PUFA C16	0.5 ± 0.04	0.4 ± 0.15	0.3 ± 0.07	0.7 ± 0.24	0.5 ± 0.23	1.0 ± 0.60	0.5 ± 0.14	0.7 ± 0.19
C18:3n3	$0.6 \pm 0.33*$	0.3 ± 0.15	$0.5 \pm 0.18*$	$0.5 \pm 0.17*$	2.0 ± 0.45^{a}	Ne ^b	$2.5 \pm 0.45^{a**}$	$1.3 \pm 0.62^{c**}$
C18:4n3	Ne	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.00	Ne	0.2 ± 0.02	0.2 ± 0.00	0.1 ± 0.03	Ne
C20:3n3	0.2 ± 0.16	0.2 ± 0.00	0.1 ± 0.02	0.2 ± 0.04	0.5 ± 0.12	0.5 ± 0.13	0.7 ± 0.21	0.6 ± 0.21
C20:4n3	Ne	0.1 ± 0.00	0.2 ± 0.02	0.2 ± 0.05	0.6 ± 0.17	0.5 ± 0.13	0.8 ± 0.17	0.5 ± 0.11
C20:5n3	5.3 ± 3.65^{a}	$1.3 \pm 0.88^{\circ}$ *	2.3 ± 0.82^{6} *	5.4 ± 1.15^{a} *	5.6 ± 2.09^{a}	$5.7 \pm 2.12^{a**}$	$8.8 \pm 1.22^{b**}$	$8.9 \pm 1.63^{b**}$
C22:5n3	2.6 ± 1.54	0.9 ± 0.40	1.3 ± 0.42	2.8 ± 0.52	2.9 ± 1.30	2.5 ± 1.26	4.0 ± 0.74	5.3 ± 0.71
C22:6n3	19.7 ± 1.90^{a}	11.0 ± 4.09^{b}	$14.4 \pm 2.97^{b*}$	23.7 ± 3.02^{a} *	11.9 ± 6.13^{a}	13.7 ± 5.87^{a}	$22.3 \pm 1.50^{b**}$	$30.5 \pm 2.59^{\circ **}$
ΣPUFA n3	$28.4 \pm 7.58^{\mathrm{ac}}$	$13.5 \pm 5.60^{b}*$	$18.7 \pm 3.88^{ab}*$	$32.8 \pm 4.33^{\circ}$ *	23.6 ± 9.36^{a}	23.0 ± 9.34^{a}	$39.1 \pm 2.76^{b**}$	$47.1 \pm 1.61^{\circ **}$
Σ PUFA C18n3	$0.6 \pm 0.33^*$	0.3 ± 0.18	$0.5 \pm 0.17^{*}$	$0.5 \pm 0.17*$	2.1 ± 0.37^{a}	0.2 ± 0.00^{b}	$2.6 \pm 0.43^{a_{**}}$	$1.3 \pm 0.62^{c_{**}}$
Σ PUFA C20-22n3	27.8 ± 7.25^{a}	$13.2 \pm 5.43^{\circ}$	$18.2 \pm 3.76^{\circ}*$	32.2 ± 4.29^{a} *	21.6 ± 9.10^{a}	23.0 ± 9.30^{a}	$36.5 \pm 2.64^{\text{b}**}$	$45.8 \pm 1.88^{\circ}$
C20-22/C18n3	$55.6 \pm 20.09*$	$50.1 \pm 16.34*$	$37.8 \pm 10.08*$	66.7 ± 26.21	$10.2 \pm 3.23^{a} * *$	205 ± 0.00^{6} **	$14.2 \pm 2.36^{a} $	45.5 ± 33.01^{a}
C18:2n6cis	3.0 ± 1.20^{a}	$5.7 \pm 1.44^{6*}$	$5.7 \pm 0.75^{\circ*}$	3.2 ± 0.75^{a} *	1.9 ± 0.39^{ab}	2.7 ± 0.38^{a}	$2.1 \pm 0.30^{ab} * *$	$1.2 \pm 0.46^{\circ}$
C18:3n6	0.4 ± 0.19	0.7 ± 0.54	0.3 ± 0.13	0.4 ± 0.11	1.0 ± 0.94	1.0 ± 0.49	0.3 ± 0.03	0.5 ± 0.12
C20:2n6	1.3 ± 1.16	$2.9 \pm 0.63*$	$2.7 \pm 0.98*$	1.5 ± 0.46	0.4 ± 0.14	0.5 ± 0.20 **	0.5 ± 0.14 **	0.5 ± 0.12
C20:3n6	1.8 ± 1.46	3.7 ± 0.62	$4.1 \pm 0.26^{*}$	$2.4 \pm 0.61*$	0.6 ± 0.22	1.0 ± 0.24	$1.0 \pm 0.15^{**}$	0.8 ± 0.19 **
C20:4n6	8.9 ± 0.08^{a} *	10.1 ± 1.76^{ab} *	$11.8 \pm 1.40^{b*}$	$13.1 \pm 3.17^{ab}*$	$3.7 \pm 1.59^{a**}$	3.4 ± 0.97^{a}	$4.4 \pm 0.40^{ab} **$	$7.0 \pm 1.10^{\circ}$ **

Apêndice 9: Perfil de ácidos graxos (%) dos fosfolipídios ovarianos das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C22:4n6	$2.6 \pm 1.26*$	$2.5 \pm 0.83*$	$2.1 \pm 0.35*$	1.8 ± 0.23	0.4 ± 0.21 **	$0.5 \pm 0.22 **$	0.7 ± 0.13 **	1.4 ± 0.75
Σ PUFA n6	$18.0 \pm 2.82^{a_{*}}$	25.6 ± 2.10^{b} *	$26.6 \pm 1.99^{b}*$	$22.5 \pm 4.16^{b}*$	$8.2 \pm 2.44 **$	$9.1 \pm 2.20 * *$	$9.0 \pm 0.32 * *$	11.1 ± 1.53**
Σ PUFA C18n6	3.3 ± 1.39^{a}	$6.4 \pm 1.92^{b}*$	6.0 ± 0.73^{b} *	3.6 ± 0.67^{a} *	$3.0 \pm \mathbf{1.37^{ab}}$	$3.7 \pm 0.82^{a} $	$2.4 \pm 0.30^{ab}**$	$1.7 \pm 0.43^{b**}$
Σ PUFA C20-22 n6	$14.6 \pm 1.44^{a_{*}}$	$19.1 \pm 3.38^{ab}*$	$20.6 \pm 2.31^{b}*$	$18.8 \pm 4.2^{ab} *$	$5.2 \pm 1.72^{a} * *$	$5.4 \pm 1.61^{a} $	$6.6 \pm 0.43^{ab}**$	9.4 ± 1.64 ^b **
C20-22/C18n6	4.7 ± 1.52	3.2 ± 1.10	3.5 ± 0.66	5.3 ± 1.68	$\boldsymbol{2.0\pm0.78}$	1.5 ± 0.40	$\textbf{2.8} \pm \textbf{0.50}$	6.0 ± 2.34
Σ PUFA t	$46.8 \pm 4.80^{ab}*$	39.1 ± 4.53^{a}	$45.3 \pm \mathbf{2.94^{a}}$	55.3 ± 3.33^{b}	$32.1 \pm 10.79^{a} * *$	35.0 ± 10.79^{a}	48.6 ± 2.53^{b}	58.4 ± 1.64^{b}
n3/n6	1.6 ± 0.68	$0.5 \pm 0.26*$	$0.7 \pm 0.18*$	$1.5 \pm 0.49*$	2.9 ± 0.96	$2.5 \pm 0.74 * *$	$4.4 \pm 0.42^{**}$	$4.3 \pm 0.64 **$
EPA/ARA	0.6 ± 0.42	$0.1 \pm 0.11^{*}$	$0.2 \pm 0.09*$	$0.4 \pm 0.19*$	1.6 ± 0.42	$1.7 \pm 0.28 * *$	$2.0 \pm 0.38^{**}$	$1.3 \pm 0.38 **$
DHA/ARA	2.2 ± 0.23	$1.1 \pm 0.56*$	$1.2 \pm 0.33*$	$1.9 \pm 0.61*$	3.2 ± 0.92	$3.9 \pm 0.98 * *$	$5.1 \pm 0.49 * *$	$4.4 \pm 0.72^{**}$
UI	$243.4 \pm 29.05^{a}*$	185.6 ± 24.17^{ab}	$216.8 \pm 16.15^{a}*$	141.9 ± 18.09 ^b *	$175.0 \pm 54.22^{a}**$	179.9 ± 54.74^{a}	$206.6 \pm 12.20^{b**}$	$316.5 \pm 10.96^{\circ}$

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ t PUFA, Σ n3 PUFA, Σ n6 PUFA, Σ C16 PUFA, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA, DHA e UI são as somatórias de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico e índice de insaturação. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

EA (0/)		Ponte	Nova			Billings			
FA (%)	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera	
C15:0	0.6 ± 0.18	0.6 ± 0.22	0.4 ± 0.15	0.6 ± 0.13	0.8 ± 0.12	0.6 ± 0.14	0.6 ± 0.33	0.5 ± 0.09	
C15:0iso	Ne	0.9 ± 0.14	Ne	Ne	1.0 ± 0.66	0.4 ± 0.00	0.5 ± 0.00	Ne	
C16:0iso	$2.0\pm0.58^{\text{a}}$	0.5 ± 0.08^{a}	0.9 ± 0.34^{a}	3.1 ± 1.24^{b}	0.8 ± 0.45^{a}	2.3 ± 1.42^{b}	1.5 ± 1.45^{ab}	3.8 ± 0.60^{b}	
C17:0	1.3 ± 0.58^{a}	2.2 ± 1.77^{a}	$11.4 \pm 4.57^{b*}$	1.1 ± 0.39^{b}	1.6 ± 0.33^{a}	3.0 ± 1.93^{b}	$3.1 \pm 2.20^{b**}$	1.4 ± 0.53^{b}	
C18:0iso	Ne	0.4 ± 0.11	0.7 ± 0.00	Ne	2.0 ± 0.00	1.2 ± 0.74	Ne	2.1 ± 0.00	
C18:0anteiso	0.6 ± 0.28	1.2 ± 0.71	1.1 ± 0.46	2.3 ± 0.71	0.4 ± 0.23^{a}	$0.7 \pm 0.04^{ m b}$	$1.9\pm0.00^{\mathrm{b}}$	2.2 ± 0.41^{b}	
Σ OFA-BFA	4.6 ± 1.74^{a}	5.0 ± 2.07^{a}	$13.5 \pm 4.87^{b}*$	6.9 ± 1.58^{a}	4.5 ± 0.98^{a}	7.6 ± 1.66^{ab}	$5.4 \pm 1.20^{ab} * *$	7.8 ± 1.15^{b}	
C14:0	1.0 ± 0.46	0.6 ± 0.29	0.6 ± 0.22	0.6 ± 0.15	1.9 ± 0.53	0.7 ± 0.24	1.5 ± 0.84	0.6 ± 0.29	
C16:0	$20.1 \pm 4.98^{ab} *$	22.2 ± 6.10^{b}	13.7 ± 1.56^{a} *	12.2 ± 2.47^{a}	30.5 ± 4.27^{a}	18.8 ± 2.52^{a}	23.8 ± 8.10^{a} **	10.2 ± 1.89^{b}	
C18:0	17.6 ± 3.42^{a}	25.2 ± 8.55^{b}	17.4 ± 1.75^{a}	18.8 ± 2.22^{ab}	15.7 ± 5.37	21.5 ± 7.97	17.7 ± 2.91	18.1 ± 1.15	
C20:0	0.7 ± 0.30	0.8 ± 0.24	0.5 ± 0.14	Ne	0.5 ± 0.13	0.6 ± 0.12	0.7 ± 0.26	0.8 ± 0.00	
Σ SFA	39.4 ± 5.56^{a} *	49.6 ± 13.66^{b}	32.0 ± 2.44^{a} *	31.4 ± 4.38^{a}	$48.6 \pm 5.75^{a} $	41.6 ± 9.77^{ab}	$44.3 \pm 10.29^{a} $	29.4 ± 1.78^{b}	
C16:1n7	2.8 ± 1.00	2.3 ± 1.46	2.0 ± 0.17	1.5 ± 0.70	6.4 ± 1.94	2.9 ± 0.75	5.5 ± 2.65	2.5 ± 0.56	
C18:1n9	19.1 ± 7.20^{a}	20.9 ± 6.01^{a}	17.0 ± 1.06^{ab}	11.5 ± 1.67^{b}	25.2 ± 2.45^{a}	14.1 ± 2.20^{b}	21.3 ± 8.00^{a}	$7.3 \pm 1.19^{\circ}$	
C18:1n7	$1.8 \pm 0.58*$	2.2 ± 1.36	$1.8 \pm 0.40*$	1.5 ± 0.33	4.8 ± 1.04 **	3.6 ± 0.58	$4.9 \pm 1.32 **$	2.2 ± 0.49	
C20:1n9	0.7 ± 0.45	1.8 ± 0.35	0.8 ± 0.08	0.8 ± 0.21	0.4 ± 0.17	1.1 ± 0.23	1.0 ± 0.90	Ne	
C24:1	0.4 ± 0.24	1.6 ± 0.52	Ne	0.7 ± 0.00	Ne	Ne	0.3 ± 0.00	Ne	
Σ MUFA	24.4 ± 7.98^{a}	27.0 ± 6.93^{a}	$21.6 \pm 1.65^{ab}*$	15.1 ± 2.08^{b}	$36.5 \pm 4.87^{a} $	21.8 ± 3.02^{b}	$32.9 \pm 11.75^{a} $	$12.0 \pm 1.59^{\circ}$	
C16:4n1	0.6 ± 0.27^{ab}	0.2 ± 0.13^{ab}	0.8 ± 0.37^{a}	1.6 ± 0.43^{b}	2.3 ± 0.00	0.9 ± 0.00	0.6 ± 0.34	1.4 ± 0.18	
C16:2n4	1.2 ± 0.90^{ab}	0.6 ± 0.29^{a}	Ne ^a	1.2 ± 0.39^{b}	0.7 ± 0.44	0.8 ± 0.19	0.2 ± 0.08	1.1 ± 0.45	
C16:3n4	1.3 ± 0.78	0.3 ± 0.24	0.9 ± 0.00	0.9 ± 0.00	0.7 ± 0.27	0.6 ± 0.12	0.6 ± 0.23	Ne	
Σ PUFA C16	1.9 ± 1.48^{ab}	1.1 ± 0.36^{ab}	0.8 ± 0.31^{a}	2.4 ± 0.84^{b}	1.5 ± 0.71	1.6 ± 0.63	1.0 ± 0.22	1.8 ± 1.07	
C18:3n3	0.6 ± 0.12	1.0 ± 0.99	0.5 ± 0.17	Ne*	1.6 ± 0.85	1.4 ± 0.55	1.0 ± 0.70	$1.2 \pm 0.23 **$	
C18:4n3	Ne	0.8 ± 0.76	0.8 ± 0.36	0.8 ± 0.34	1.6 ± 0.76	0.8 ± 0.30	0.6 ± 0.22	1.0 ± 0.15	
C20:4n3	1.2 ± 0.63	1.0 ± 0.93	1.6 ± 0.31	Ne	0.6 ± 0.36	0.7 ± 0.17	1.4 ± 0.53	0.9 ± 0.00	
C20:5n3	1.6 ± 0.92	2.3 ± 1.28	1.4 ± 0.20	2.6 ± 0.76	0.8 ± 0.40	3.8 ± 2.36	3.9 ± 3.18	5.1 ± 1.52	
C22:5n3	0.9 ± 0.63	0.5 ± 0.43	0.9 ± 0.24	1.7 ± 0.35	0.7 ± 0.54	1.4 ± 0.61	3.1 ± 1.00	3.2 ± 0.75	
C22:6n3	$6.7 \pm 3.12^{a*}$	2.0 ± 1.20^{a} *	6.9 ± 1.78^{a}	$15.7 \pm 3.50^{\circ}$	$1.0 \pm 0.54^{a**}$	$7.0 \pm 4.81^{a**}$	6.1 ± 5.63^{a}	20.5 ± 3.47^{b}	
Σ PUFA n3	9.0 ± 5.30^{a}	$5.2 \pm 4.96^{a_{*}}$	11.7 ± 2.07^{a}	$20.5 \pm 4.43^{b}*$	3.7 ± 1.35^{a}	$15.1 \pm 8.29^{b} * *$	9.7 ± 8.86^{ab}	$31.2 \pm 3.66^{\circ} * *$	
Σ PUFA C18n3	0.6 ± 0.10	1.4 ± 1.33	1.3 ± 0.42	$0.8 \pm 0.34^{*}$	2.0 ± 1.39	2.0 ± 0.72	1.1 ± 0.60	2.0 ± 0.58 **	
Σ PUFA C20-22n3	$8.6 \pm 5.17^{a_{*}}$	3.9 ± 2.30^{a} *	10.4 ± 2.11^{a}	20.0 ± 4.17^{b}	$1.9 \pm 1.39^{a} $	$13.1 \pm 8.06^{a} $	8.6 ± 8.28^{a}	$29.2 \pm 3.85^{\text{b}}$	
C20-22/C18n3	$17.0 \pm 8.87*$	4.7 ± 2.38	8.7 ± 3.38	31.8 ± 12.69	$1.1 \pm 0.72 * *$	6.9 ± 5.20	5.3 ± 4.96	15.8 ± 6.78	
C18:2n6cis	5.4 ± 1.55^{a} *	$2.4 \pm 1.45^{\circ}$	$4.4 \pm 1.53^{ab}*$	$3.2 \pm 0.56^{\circ}$	$2.5 \pm 0.99 **$	2.1 ± 0.68	$1.4 \pm 0.80 **$	1.5 ± 0.61	
C18:3n6	0.5 ± 0.23	0.5 ± 0.19	0.5 ± 0.15	0.6 ± 0.06	0.3 ± 0.18	0.6 ± 0.23	0.5 ± 0.14	0.6 ± 0.09	

Apêndice 10: Perfil de ácidos graxos (%) dos fosfolipídios branquiais das fêmeas de *A. fasciatus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20:2n6	1.6 ± 0.77	1.9 ± 1.48	1.7 ± 0.28	1.2 ± 0.43	0.9 ± 0.75	0.8 ± 0.05	1.1 ± 0.27	0.8 ± 0.00
C20:3n6	$1.2 \pm 0.32*$	1.0 ± 0.70	$1.5 \pm 0.51*$	1.7 ± 0.57	0.3 ± 0.02 **	0.9 ± 0.19	0.5 ± 0.10 **	0.9 ± 0.42
C20:4n6	10.9 ± 2.73^{a} *	3.7 ± 2.93^{b}	$10.6 \pm 4.27^{ab} *$	15.8 ± 1.64^{a}	1.6 ± 0.57^{a}	6.2 ± 2.74^{b}	3.8 ± 2.72^{a}	$12.8 \pm 1.23^{\circ}$
C22:2n6	1.0 ± 0.25	2.8 ± 1.81	Ne	Ne	0.8 ± 0.44	0.7 ± 0.03	0.9 ± 0.23	Ne
C22:4n6	1.0 ± 0.41	0.6 ± 0.46	0.9 ± 0.41	1.7 ± 0.49	Ne	0.9 ± 0.27	0.9 ± 0.56	1.7 ± 0.63
C22:5n6	1.2 ± 0.51	2.1 ± 0.92	0.9 ± 0.14	Ne	0.6 ± 0.43	0.6 ± 0.13	0.6 ± 0.29	0.8 ± 0.26
Σ PUFA n6	20.7 ± 6.38^{a} *	11.9 ± 5.23^{b}	$20.4 \pm 5.98^{ab}*$	23.6 ± 1.50^{a}	5.3 ± 3.44^{a}	12.2 ± 4.30^{ab}	9.7 ± 8.86^{a}	17.8 ± 1.70^{b}
Σ PUFA C18n6	$5.8 \pm 1.52^{a_{*}}$	2.9 ± 1.34^{b}	$4.9 \pm 1.45^{ab}*$	3.4 ± 0.50^{a}	$2.9 \pm 1.53 **$	2.9 ± 0.60	$1.9 \pm 0.68 * *$	$2.0 \pm 0.69 * *$
Σ PUFA C20-22n6	$14.9 \pm 5.80^{ab}*$	9.0 ± 5.49^{a}	$15.5 \pm 4.98^{ab}*$	20.2 ± 1.39^{b}	$2.3 \pm 2.03^{a} * *$	9.3 ± 3.80^{b}	4.5 ± 3.68^{a}	$15.7 \pm 1.88^{\circ}$
C20-22/C18n6	2.7 ± 1.35^{a}	2.2 ± 2.13^{a}	3.2 ± 0.78^{ab}	6.0 ± 0.85^{b}	0.7 ± 0.46^{a}	3.1 ± 0.99^{ab}	2.0 ± 1.25^{a}	8.3 ± 2.40^{b}
Σt PUFA	$31.6 \pm 1.15^{ab}*$	18.4 ± 9.35^{a}	$32.9 \pm 8.02^{ab}*$	46.6 ± 5.46^{b}	$10.5 \pm 6.14^{a_{**}}$	28.9 ± 11.90^{b}	$17.4 \pm 12.79^{ab}**$	$50.8 \pm 2.53^{\circ}$
n3/n6	0.4 ± 0.21	$0.5 \pm 0.34*$	$0.6 \pm 0.10^{*}$	$0.9 \pm 0.18*$	0.7 ± 0.23	$1.2 \pm 0.33 * *$	1.3 ± 0.64 **	$1.8 \pm 0.36 **$
EPA/ARA	0.1 ± 0.06	0.3 ± 0.22	$0.1 \pm 0.05^{*}$	0.2 ± 0.04	0.5 ± 0.30	0.6 ± 0.17	$1.0 \pm 0.33^{**}$	0.4 ± 0.15
DHA/ARA	0.6 ± 0.21	$\boldsymbol{0.8\pm0.52}$	0.7 ± 0.11	1.0 ± 0.19	$\boldsymbol{0.7\pm0.20}$	1.0 ± 0.31	1.5 ± 0.66	1.6 ± 0.32
UI	$146.2 \pm 43.08^{a_{*}}$	92.4 ± 55.93^{a}	154.8 ± 31.88^{ab}	224.1 ± 29.22^{b}	$69.9 \pm 18.43^{a_{**}}$	144.9 ± 57.30^{b}	106.9 ± 88.48^{ab}	$256.3 \pm 16.20^{\circ}$

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ t PUFA, Σ n3 PUFA, Σ n6 PUFA, Σ C16 PUFA, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA, DHA, UI são as somatórias de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico e índice de insaturação. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

Capítulo 3

Transferência trófica de ácidos graxos em fêmeas do teleósteo carnívoro *Hoplias malabaricus* em reservatórios tropicais

^aGomes, Aline Dal; ^aTolussi, Carlos Eduardo; ^aHonji, Renato Massaaki; ^bLo Nostro, Fabiana Laura; ^cMartinelli, Luiz Antônio; ^aMoreira, Renata Guimarães

^aUniversidade de São Paulo, Instituto de Biociências – Departamento de Fisiologia, São Paulo, SP, Brasil.

^bUniversidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Buenos Aires, Argentina.

^cUniversidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, SP, Brasil.

Resumo

É conhecido que os ácidos graxos (FA) acumulam-se nos tecidos dos predadores, como reflexo da composição dos FAs da presa. O objetivo deste estudo foi investigar como ocorre a transferência trófica de FAs às fêmeas de Hoplias malabaricus, uma espécie de teleósteo carnívora, vivendo em um ambiente hipereutrófico. O perfil de FAs do conteúdo estomacal e tecidos das fêmeas de H. malabaricus, amostradas ao longo do ciclo reprodutivo no reservatório de Ponte Nova (local referência) e no braço Taquacetuba do reservatório Billings (ambiente hipereutrófico) foram analisados por cromatografia gasosa. A atividade da bomba de Na⁺K⁺ATPase branquial e o perfil de isótopos estáveis muscular também foram quantificados. Foi possível observar um predomínio de ácidos graxos polinsaturados (PUFA) n6 na maioria dos tecidos analisados das fêmeas do reservatório referência, enquanto houve maior porcentagem de PUFAs n3 nos tecidos das fêmeas no reservatório hipereutrófico, como resultado do perfil de FAs da sua presa potencial, Astyanax fasciatus. Adicionalmente, porcentagens altas de HUFAs foram observadas nos triacilgliceróis teciduais das fêmeas em ambos os reservatórios, característico da transferência trófica a níveis superiores. A bomba Na⁺K⁺ATPase apresentou uma atividade mais elevada nas brânquias das fêmeas do reservatório hipereutrófico, estando negativamente correlacionada com a porcentagem de DHA nos fofoslipídios (Fl) branquiais. Os valores de 815N foram maiores também para os animais no ambiente hipereutrófico, funcionando como um importante indicador da alta presença de N inorgânico no ambiente.

Palavras-chave: ácidos graxos, eutrofização, isótopos estáveis, Na⁺K⁺ATPase, peixe carnívoro, transferência trófica.

Abstract

It is known that fatty acids (FA) accumulate in the tissues of predators, reflecting the FA composition their prey. The aim of this study was to investigate the trophic transference of FAs to Hoplias malabaricus females, a carnivore teleost, living in a hypereutrophic reservoir. The FA profile of stomach contents and tissues of H. malabaricus sampled throughout the reproductive cycle in the Ponte Nova reservoir (reference site) and the Taquacetuba arm from Billings reservoir (hypereutrophic system) were analyzed by gas chromatography. The activity of the gill Na^+K^+ATP as pump and muscle stable isotope profiles were also quantified. We observed a prevalence of n6 polyunsaturated fatty acids (PUFA) in most females tissues from reference reservoir, while there was a higher percentage of n3 PUFAs in the tissues of the females from the hypereutrophic reservoir, resembling prey FA profiles. In addition, high percentages of HUFAs were observed in triacylglycerols of females in both reservoirs, a feature of trophic transfer to higher levels. Na⁺K⁺ATPase showed a higher activity in gills of females from the hypereutrophic reservoir, being negatively correlated with the percentage of DHA in gill phospholipids. δ15N values were higher in animals sampled in the hypereutrophic reservoir than in the reference system, probable caused by high allochthonous inorganic N in the environment.

Key-words: carnivorous fish, eutrophication, fatty acids, Na⁺K⁺ATPase, stable isotope, trophic transfer.

1. Introdução

Estudos da transferência trófica de ácidos graxos (FAs) entre os produtores primários e consumidores em ecossistemas aquáticos têm sido investigados há mais de 50 anos (Ackman e Eaton, 1966; Sargent et al., 1987; Saliot et al., 1991; Parrish et al., 1995; Desvilettes et al., 1997; Iverson et al., 2001; Budge et al., 2002; Falk-Petersen et al., 2004; Alfaro et al., 2006; Gomes et al., 2010), e demonstra que o perfil de FAs pode ser transferido da presa ao predador com pouca ou nenhuma modificação da estrutura original (Fraser et al., 1989; Graeve et al., 1994; Kirsch et al., 1998; 2000; Budge et al., 2002; Dalsgaard et al., 2003; Iverson, 2009). Contudo, esses FAs são tipicamente depositados nos tecidos dos consumidores em diferentes proporções comparados à dieta, devido aos processos bioquímicos que ocorrem nos tecidos dos animais, incluindo mobilização seletiva de FAs, catabolismo via β-oxidação, e síntese *de novo* (Arts *et al.*, 2009). Deste modo, com o aumento do nível trófico, a habilidade para utilizar um único FA para tracar a transferência do alimento ao longo da cadeia alimentar é reduzida (Iverson, 2009). A combinação de FAs pode servir como biomarcadores de níveis tróficos superiores. Adicionalmente, é conhecido que a razão entre os ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) n3/n6 apresenta uma grande diferença entre os níveis tróficos, com valores mais altos para peixes carnívoros em relação aos onívoros e herbívoros, e maiores também para os peixes de ambientes eutróficos em comparação a oligotróficos (Ahlgren et al., 2009).

O perfil de FA pode ser utilizado de um modo qualitativo para avaliar a variação temporal ou espacial do forrageamento de predadores em uma variedade de níveis tróficos, sem identificar o tipo específico de presa (Wang *et al.*, 2009; Czesny *et al.*, 2011). Por exemplo, os FAs têm sido utilizados para avaliar as dietas de peixes e copépodes (Fraser *et al.*, 1989; St. John e Lund, 1996), para indicar a presença de peixes e outras presas na dieta de carnívoros terrestres e aquáticos (Rouvinen *et al.*, 1992; Colby *et al.*, 1993), o grau do consumo de plantas por carnívoros terrestres (Iverson *et al.*, 2001), e as diferenças espaciais ou temporais nas dietas, tanto dentro como entre as espécies de invertebrados, peixes e mamíferos marinhos (Iverson *et al.*, 1997; Smith *et al.*, 1997; Budge *et al.*, 2012).

Assim, o objetivo do estudo foi verificar como ocorre a transferência trófica de FAs às fêmeas de *H. malabaricus*, uma espécie carnívora, ao longo do ciclo reprodutivo em reservatórios eutróficos da Região Metropolitana de São Paulo. Nós hipotetizamos que o excesso de PUFAs n3 na cadeia trófica encontrado no ambiente hipereutrófico refletirá na composição dos FAs dos lipídios de reserva e dos fosfolipídios de membrana das fêmeas de
H. malabaricus, podendo até mesmo interferir na atividade da bomba de Na⁺K⁺ATPase. Devido ao seu hábito alimentar carnívoro, hipotetiza-se que as alterações na composição de FAs sejam mais marcantes nas fêmeas de *H. malabaricus* do que em *A. fasciatus*, uma espécie onívora (dados apresentados no capítulo 2).

2. Materiais e Métodos

2.1 Caracterização da área de estudo

A área de estudo compreendeu os dois reservatórios descritos no capítulo 1, sendo o reservatório de Ponte Nova (PN) considerado como o local de referência e o braço Taquacetuba, no reservatório Billings (Bil), considerado como o local hipereutrófico.

2.2 Captura dos animais e coleta de amostras

Fêmeas adultas de *H. malabaricus*, uma espécie carnívora, foram coletadas nos locais previamente descritos. Os procedimentos de captura dos animais e amostragem dos tecidos (Fig. 1) foram descritos no Capítulo 2. O número de indivíduos coletados por estação em cada ambiente é apresentado na tabela 1 e esse foi o n utilizado em todas as análises realizadas no presente estudo. Importante mencionar que durante o inverno não foram coletadas fêmeas com tecido adiposo e na primavera não encontramos nenhum animal com conteúdo estomacal.

2.3 Análises histológicas

As análises histológicas dos ovários foram realizadas seguindo o protocolo já descrito no capítulo 2.

2.4 Análises bioquímicas

2.4.1 Ácidos graxos

A extração lipídica do conteúdo estomacal e dos tecidos, a separação das classes em lipídios neutros (triacilgliceróis - Tg) e polares (fosfolipídios – Fl), a metilação e análise dos ácidos graxos por cromatografia gasosa foram realizadas seguindo os protocolos descritos no capítulo 2.

2.4.2 Atividade da Bomba de $Na^+K^+ATPase$

A quantificação da atividade da bomba de $Na^+K^+ATPase$ branquial das fêmeas de *H*. *malabaricus* foi realizada seguindo o protocolo descrito no capítulo 2.



Figura 1: Procedimentos de coleta. **A)** Registro do comprimento corpóreo. **B)** Registro da massa corpórea. **C)** Vista da cavidade abdominal interna de *H. malabaricus* para retirada dos órgãos, destacando o figado (seta preta) e os ovários (setas brancas). **D)** Estômago aberto mostrando o conteúdo estomacal.

2.5 Análise de isótopos estáveis

A identificação do perfil de isótopos estáveis da musculatura das fêmeas de *H*. *malabaricus* foi realizada seguindo o protocolo descrito no capítulo 2.

2.6 Análise dos dados

Os testes estatísticos aplicados seguiram as mesmas análises já descritas no capítulo 2.

3. Resultados

3.1 Dados morfométricos, ponderais e análises histológicas

As fêmeas amostradas no reservatório hipereutrófico durante a primavera apresentaram massa corpórea e comprimento total mais elevado do que as fêmeas colletadas no reservatório referência (P=0.030, P=0.040, respectivamente; Tab. 1) nesta mesma estação. O IGS das fêmeas colletadas em ambos os reservatórios apresentou uma intensa diminuição nos valores

durante o outono e inverno em relação às outras estações (P=0.041 e P=0.029, respectivamente, Tab. 1). O alto valor de IGS encontrado nas fêmeas de *H. malabaricus* coletadas em ambos os reservatórios nas estações de verão e primavera corroboraram as observações macroscópicas e histológicas, sendo possível verificar ovários grandes, ocupando praticamente toda a cavidade celomática, bem desenvolvidos e vascularizados (Figs. 2a e 3a, respectivamente) contendo muitos oócitos vitelogênicos (Figs. 2b e 3b, respectivamente). Do mesmo modo, os menores valores de IGS observados nas fêmeas de *H. malabaricus* coletadas em ambos os reservatórios nas outras estações também foram corroborados. Neste caso, podemos notar ovários menores, flácidos e com pouca vascularização (Fig. 2c e 3c, respectivamente), contendo oócitos perinucleolares (Figs. 2d e 3d, respectivamente) nas fêmeas em estádio de repouso, coletadas no outono, e ovários ainda reduzidos, mas bem vascularizados (Figs. 2e e 3e, respectivamente), contendo muitos oócitos nos estádios iniciais de desenvolvimento oocitário, como cortical-alveolares e perinucleolares (Figs. 2f e 3f, respectivamente), caracterizando o estádio de maturação intermediária das fêmeas coletadas durante o inverno.

Tabela 1: Parâmetros morfométricos e ponderais das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ano (Média ± DP).

Ambiente	Estação	n	Estádio de maturação	Massa corpórea (g)	Comprimento total (cm)	IGS (%)	IHS (%)	IVS (%)	IGaS (%)
	Verão	6	Maturação avançada	621.2 ± 232.02	36.5 ± 4.96	6.3 ± 0.33^a	1.0 ± 0.04	2.9 ± 0.13	1.3 ± 0.10
Ponte Nova	Outono	4	Repouso	623.0 ± 171.80	36.5 ± 2.67	0.6 ± 0.13^{b}	0.8 ± 0.10	2.8 ± 0.35	1.8 ± 0.49
	Inverno	5	Maturação intermediária	571.6 ± 183.37	35.5 ± 3.22	1.3 ± 0.38^{b}	0.7 ± 0.13	3.8 ± 0.39	1.4 ± 0.20
	Primavera	6	Maturação avançada	$506.6 \pm 67.57^{*}$	$33.8\pm3.91^*$	$7.9\pm1.20^{\text{ a}}$	0.91 ± 0.08	3.6 ± 0.31	1.4 ± 0.10
	Verão	6	Maturação avançada	601.4 ± 201.55	37.5 ± 6.40	6.4 ± 1.53^{a}	1.2 ± 0.19^{a}	4.4 ± 0.70	1.5 ± 0.20
Taquacetuba	Outono	12	Repouso	631.2 ± 209.47	36.5 ± 4.69	$0.7 \pm 0.18^{\ b}$	$0.7\pm0.04^{\text{ b}}$	3.3 ± 0.17	1.2 ± 0.12
(Billings)	Inverno	5	Maturação intermediária	792.2 ± 293.88	38.5 ± 4.50	$1.0\pm0.43^{\ b}$	1.0 ± 0.12^{ab}	4.5 ± 0.55	1.4 ± 0.21
	Primavera	5	Maturação avançada	$896.0 \pm 317.90^{\#}$	$40.8\pm4.17^{\#}$	$5.0\pm0.96^{\:a}$	0.9 ± 0.11^{ab}	3.5 ± 0.35	1.0 ± 0.13

*Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, P < 0.05). ^{ab}Letras diferentes representam diferenças estatísticas no mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, P < 0.05). IGS: Índice gonadossomático; IHS: Índice hepatossomático; IVS: Índive viscerossomático; IGaS: Índice gastrossomático.



Figura 2: Análises macroscópicas e microscópicas dos ovários de *H. malabaricus* coletados no reservatório referência ao longo do ano. **A)** Ovários grandes e bem vascularizados de fêmeas coletadas nas estações de verão e primavera. **B)** Presença de muitos oócitos grandes e vitelogênicos (asterisco) e poucos oócitos perinucleolares (seta), caracterizando o estádio de maturação avançada das fêmeas coletadas no verão e na primavera (Barra=300µm). **C)** Ovários menores, flácidos e com pouca vascularização de fêmeas coletadas no outono. **D)** Presença de pequenos oócitos perinucleolares (asteriscos) e um oócito atrésico (seta), caracterizando o estádio de repouso das fêmeas coletadas no outono (Barra=200 µm). **E)** Ovários pequenos e bem vascularizados, contendo oócitos grandes das fêmeas coletadas no inverno. **F)** Presença de muitos oócitos cortical-alveolares (asterisco) e perinucleolares (seta) caracterizando o estádio de maturação intermediária das fêmeas coletadas no inverno (Barra=75 µm). (B) Coloração Hematoxilina-Eosina e (D e F) PAS/hematoxilina/metanil yellow.



Figura 3: Análises macroscópicas e microscópicas dos ovários de *H. malabaricus* coletados no reservatório hipereutrófico ao longo do ano. **A**) Ovários grandes e bem vascularizados de fêmeas coletadas nas estações de verão e primavera. **B**) Presença de muitos oócitos grandes e vitelogênicos (asterisco) e poucos oócitos perinucleolares (seta), caracterizando o estádio de maturação avançada das fêmeas coletadas no verão e na primavera (Barra=300µm). **C**) Ovários menores, flácidos e com pouca vascularização de fêmeas coletadas no outono. **D**) Presença de pequenos oócitos perinucleolares (asteriscos) e um oócito atrésico (seta), caracterizando o estádio de repouso das fêmeas coletadas no outono (Barra=75 µm). **E**) Ovários pequenos e bem vascularizados, contendo oócitos grandes das fêmeas coletadas no inverno. **F**) Presença de muitos oócitos cortical-alveolares (asterisco) e perinucleolares (seta) caracterizando o estádio de maturação intermediária das fêmeas coletadas no inverno (Barra=75 µm). (B) Coloração Hematoxilina-Eosina e (D e F) PAS/hematoxilina/metanil yellow.

3.2 Perfil de ácidos graxos

3.2.2 Conteúdo estomacal

As principais diferenças observadas no conteúdo estomacal das fêmeas de H. *malabaricus* entre os ambientes foram baseadas principalmente nos FAs C18:2n6, C18:3n3, ARA (ácido araquidônico), EPA (ácido eicosapentaenoico) e DHA. Contudo, não foi encontrado um padrão de variação ao longo do ano. Durante o verão, porcentagens mais elevadas de PUFAs n3, como C18:3n3, EPA e DHA, bem como HUFAs n6, principalmente ARA, foram encontradas no conteúdo estomacal das fêmeas de H. malabaricus no reservatório hipereutrófico em comparação ao referência (P<0.05; Fig. 4A-B; Apêndice 1). Os valores de C18:3n3 e EPA permaneceram mais altos no conteúdo estomacal das fêmeas no reservatório hipereutrófico durante o outono (P<0.001; Fig. 4A-B; Apêndice 1). Contudo, no inverno, os FAs C18:2n6, ARA, EPA e DHA apresentaram porcentagens mais elevadas no reservatório referência do que no hipereutrófico (P<0.005, Fig. 4A-B; Apêndice 1). Adicionalmente, nesta mesma estação, maiores valores de MUFA, principalmente C18:1n9, foram encontrados no conteúdo estomacal das fêmeas no reservatório hipereutrófico (P < 0.001, Fig. 4A, Apêndice 1). De modo geral, a razão n3/n6 se apresentou maior nas amostras de conteúdo estomacal das fêmeas de H. malabaricus no reservatório hipereutrófico ao longo de todo o ano.



Figura 4: Perfil de FAs das amostras de **A-B**) conteúdo estomacal (CE) e **C-D**) tecido adiposo (TA) das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ano. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, P < 0.05). ^{ab}Letras diferentes representam diferenças estatísticas no mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, P < 0.05).

3.2.2 Perfil de ácidos graxos teciduais

O perfil de FAs dos Tgs e Fls teciduais, bem como do tecido adiposo não refletiu diretamente a composição de FAs do conteúdo estomacal das fêmeas em ambos os reservatórios. A análise de componentes principais (ACP) mostrou pouca similaridade entre o perfil de FAs do conteúdo estomacal e do tecido adiposo das fêmeas em cada reservatório (Fig. 5A). Os dois primeiros eixos de ordenação resumiram conjuntamente 63.8% da variabilidade dos dados, baseada predominantemente nas diferenças de C18:1n9, C18:2n6, C18:3n3, ARA, EPA e DHA, sendo que o ARA foi o principal responsável pela separação do CE no reservatório referência, enquanto C18:2n6 e C18:1n9 representaram o tecido adiposo das fêmeas neste mesmo reservatório (Fig. 5A). Por outro lado, os PUFAs n3 foram os responsáveis pela maior separação das amostras de CE das fêmeas no reservatório hipereutrófico, e no tecido adiposo houve também grande influência do FA C18:1n9 (Fig. 5A). Contudo, quando ACP foi realizada entre o perfil de FAs do tecido adiposo das fêmeas de *H. malabaricus* e o perfil de FAs dos Tgs musculares das fêmeas de *A. fasciatus*, sua potencial presa, os dois primeiros eixos de ordenação resumiram 84.7% da variabilidade

encontrada. Neste caso podemos claramente observar uma sobreposição entre esses tecidos principalmente relacionada aos maiores valores de PUFAs n6 e C18:1n9 no reservatório referência e PUFAs n3 para o reservatório hipereutrófico (Fig. 5B).



Figura 5: A) Ordenação de ACP das unidades amostrais em função dos ácidos graxos do conteúdo estomacal (CE) e tecido adiposo (TA) das fêmeas de *H. malabaricus* nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo das estações do ano. B) Ordenação de ACP dos ácidos graxos do tecido adiposo das fêmeas de *H. malabaricus* (Hm) e dos Tgs musculares das fêmeas de *A. fasciatus* (Af) nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo das estações do ano.

As diferenças observadas no perfil de FAs teciduais de *H. malabaricus* foram principalmente devido aos PUFAs. As fêmeas do local de referência apresentaram porcentagens mais elevadas de PUFAs n6, principalmente C18:2n6 e ARA, nos Tgs e Fls dos tecidos analisados na maioria das estações estudadas (P<0.05, Figs. 4C-D; 6-9A-D, Apêndices 2-8), enquanto maiores porcentagens de PUFAs n3 foram encontradas nos tecidos das fêmeas do reservatório hipereutrófico, devido predominantemente ao FA C18:3n3 (P<0.05, Figs. 4C-D; 6-9A-B, Apêndices 2-8). Poucas foram as variações vistas para os FAs EPA e DHA entre os ambientes, sendo que para as fêmeas de ambos os reservatórios houve um aumento de DHA nos Fls hepáticos e ovarianos durante a primavera em relação as outras estações (P<0.001) e estes valores foram mais elevados nos Fls ovarianos das fêmeas do reservatório hipereutrófico em comparação ao ambiente referência em todas as estações do ano (P<0.001) (Figs. 6 e 8D; Apêndices 4 e 8).



Figura 6: Perfil de FAs dos **A-B**) triacilgliceróis (Tg) e **C-D**) fosfolipídios (Fl) hepático das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ano. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, P<0.05). ^{ab}Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas no mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, P<0.05).



Figura 7: Perfil de FAs dos **A-B**) triacilgliceróis (Tg) e **C-D**) fosfolipídios (Fl) musculares das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ano. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, P<0.05). ^{ab}Letras diferentes representam diferenças estatísticas no mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, P<0.05).



Figura 8: Perfil de FAs dos **A-B**) triacilgliceróis (Tg) e **C-D**) fosfolipídios (Fl) ovariano das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ano. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, P < 0.05). ^{ab}Letras diferentes representam diferenças estatísticas no mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, P < 0.05).

A ACP realizada entre os ácidos graxos dos Fls hepáticos e ovarianos para as fêmeas de ambos os reservatórios mostrou mais uma vez uma sobreposição entre os tecidos e uma pequena separação entre os ambientes, ou seja, no reservatório referência houve um maior predomínio de PUFAs n6, enquanto no reservatório hipereutrófico os PUFAs n3 apresentaram maior representatividade (Fig. 9). Os dois primeiros eixos de ordenação resumiram conjuntamente 72.6% da variabilidade dos dados (Fig. 9).



Figura 9: A) Ordenação de ACP das unidades amostrais em função dos ácidos graxos dos fosfolipídios hepáticos (FP) e ovarianos (GP) das fêmeas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ano.

Com relação ao Fls branquiais, o mesmo padrão foi observado para os PUFAs, com as fêmeas do reservatório referência apresentando uma composição maior de PUFA n6, principalmente C18:2n6 e ARA, enquanto no reservatório hipereutrófico encontramos uma maior porcentagem de PUFAs n3, como C18:3n3 e DHA, principalmente na primavera (P<0.05, Fig. 10A-B, Apêndice 9). Durante o inverno, as fêmeas no reservatório hipereutrófico apresentaram um aumento de SFA e MUFA (C16:0 e C18:1n9, respectivamente) nos Fls branquiais decorrente de uma intensa diminuição de PUFA (P<0.05, Fig. 10; Apêndice 9).



Figura 10: Perfil de FAs dos **A-B**) fosfolipídios (Fl) branquiais das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ano. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, P < 0.05). ^{ab}Letras diferentes representam diferenças estatísticas no mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, P < 0.05).

Como já visto no capítulo 2, a diferença no perfil de PUFAs teciduais apresentada para as fêmeas entre os ambientes refletiu em, principalmente, maiores razões n3/n6 nos Tgs e Fls analisados das fêmeas no reservatório hipereutrófico em comparação ao local referência (P<0.05, Apêndices 2-9). Importante mencionar, que as diferenças observadas entre os ambientes para as razões de FAs não foram encontradas em todos os tecidos analisados, sendo que a razão EPA/ARA mostrou-se diferente apenas nos Fl musculares. Nenhuma diferença foi observada para as razões C20-22/C18 n3 e n6, contudo esses valores foram maiores nos Fls do que nos Tgs teciduais (Apêndices 2-9). Do mesmo modo, o índice de insaturação não apresentou diferenças significativas nos Fls das fêmeas de *H. malabaricus* em ambos os reservatórios.

3.3 Bomba de Na⁺K⁺ATPase

As fêmeas de *H. malabaricus* coletadas no reservatório hipereutrófico apresentaram um aumento na atividade da bomba de Na⁺K⁺ATPase branquial durante o inverno e a primavera em relação ao verão e outono (P=0.016, Figura 11), sendo esta atividade mais elevada que nas fêmeas do reservatório referência (P=0.029 e P=0.010, respectivamente, Fig. 11). Foi encontrada uma forte correlação positiva entre a atividade Na⁺K⁺ATPase branquial e a porcentagem de DHA nos Fls branquiais das fêmeas no reservatório referência (r=0.553), entretanto para as fêmeas do reservatório hipereutrófico a correlação de Pearson mostrou-se também forte, mas negativamente (r=-0.419).



Figura 11: Atividade da bomba de Na⁺K⁺ATPase nas brânquias das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ano (Média \pm EPM). *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, *P*<0.05). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro do mesmo ambiente ao longo do ano (ANOVA, *P*<0.05).

3.4 Isótopos estáveis

Nenhuma diferença temporal foi encontrada para os valores de $\delta 15N$ e $\delta 13C$ no músculo das fêmeas de ambos os reservatórios. $\delta 13C$ também não apresentou diferenças entre os ambientes, contudo os animais do reservatório hipereutrófico apresentaram um valor muito mais alto de $\delta 15N$ no músculo do que os animais no local de referência (*P*<0.001, Fig. 12A). Esses dados indicam que os peixes de ambos os reservatórios apresentam a mesma fonte de obtenção do carbono ($\delta 13C$), contudo parecem estar em níveis tróficos diferentes ($\delta^{15}N$) (Fig. 12B).



Figura 12: **A)** Valores de $\delta 15$ N e $\delta 13$ C no músculo das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (PN) e hipereutrófico (Bil) ao longo do ano (Média ± EPM). *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA, *P*<0.05). **B)** Plot de $\delta 15$ N e $\delta 13$ C para as fêmeas de *H. malabaricus* do reservatório referência (PN) e hipereutrófico (Bil). As fontes de carbono assimiladas pelos consumidores são indicadas pela posição no eixo-x, o nível trófico é indicado pela posição no eixo-y.

4. Discussão

4.1 Morfologia e índices

O IGS é um importante indicador quantitativo do período reprodutivo e muito utilizado para contrabalançar a subjetividade dos dados sobre o estádio de maturação baseados em análises macroscópicas das gônadas, sendo que nas fases finais do desenvolvimento oocitário verifica-se um aumento no volume e, consequentemente na massa dos ovários, que reflete em um aumento do valor desses indicadores (Vazzoler, 1996). Deste modo, no presente trabalho o IGS também foi um bom indicador do estádio de desenvolvimento gonadal, apresentando valores mais elevados nas fêmeas de *H. malabaricus* coletadas em ambos os reservatórios durante a primavera e o verão, as quais continham ovários grandes, bem vascularizados e com oócitos vitelogênicos, que diminuíram nos estádios subsequentes, como mostrado

anteriormente. Os índices HS e VS também podem funcionar como importantes indicadores no processo reprodutivo, mas neste caso estão relacionados ao aporte de substratos energéticos. Segundo Sayer *et al.* (1995), alterações nos valores de IHS em peixes durante o ciclo reprodutivo podem ser devido à utilização do fígado como órgão de reserva energética, o que pode explicar a diminuição desse índice encontrado nas fêmeas de *H. malabaricus* coletadas no reservatório Billings no outono, após o período reprodutivo. Em compensação, os valores de IVS no mesmo período apresentaram uma tendência de aumento, que pode representar uma maior quantidade de tecido adiposo visceral nessa estação, antecedendo o novo período reprodutivo. Estes resultados demonstram o importante papel destes tecidos como fonte de substratos para o processo de vitelogênese, corroborado pelos altos valores de IGS observados nos animais na primavera, além de auxiliar no suprimento da alta demanda energética no período de reprodução.

4.2 Perfil de ácidos graxos

O perfil de FAs analisado no conteúdo estomacal das fêmeas de *H. malabaricus* em ambos os reservatórios não mostrou muita similaridade com o perfil de FAs teciduais desses animais. É importante mencionar que foi identificado macroscopicamente apenas um item alimentar, restos de peixe, no conteúdo estomacal das fêmeas em ambos os reservatórios, contudo, este conteúdo foi encontrado em diferentes fases do processo de digestão, o que pode ter contribuído para grande heterogeneidade observada entre o perfil de FAs da dieta e dos tecidos. Por outro lado, quando comparamos o perfil de FAs do tecido adiposo de *H. malabaricus* com o perfil dos TGs musculares de *A. fasciatus*, em ambos os reservatórios encontramos grande similaridade, com maior porcentagem de PUFAs n6 nos tecidos de ambas as espécies do reservatório referência e valores mais elevados de APGs n3 para os animais do reservatório hipereutrófico, sugerindo que *A. fasciatus* seja uma das presas potenciais de *H. malabaricus* em ambos os ambientes.

Uma vez que o próprio perfil da dieta da presa possa interferir na composição de FAs dos tecidos do predador (Budge *et al.*, 2006), as fêmeas de *H. malabaricus* no reservatório referência mantiveram maiores porcentagens de PUFAs n6 nos Tgs e Fls teciduais, enquanto no reservatório hipereutrófico, encontramos valores mais elevados de PUFAs n3. Deste modo, o perfil de ácidos graxos dos predadores pode refletir a importância das fontes basais para o funcionamento da cadeia alimentar aquática (Budge *et al.*, 2006). Como reflexo desse perfil de PUFAs diferencial entre os ambientes, podemos observar que as fêmeas no reservatório hipereutrófico apresentaram uma maior razão n3/n6 na maioria dos tecidos analisados. Como

já mencionado, uma alimentação rica em PUFA C20-22 n3 pode resultar em resposta de estresse oxidativo às membranas celulares (Tocher *et al.*, 2002) e alterações na via de síntese de eicosanoides (Sargent *et al.*, 1999; Schmitz e Ecker, 2008; Arts e Kohler, 2009) com efeitos negativos ao sistema imune (Erdal *et al.*, 1991; Fracalossi e Lovell, 1994; Li *et al.*, 1994) e aos processos reprodutivos (Santiago e Reyes, 1993; Fernández-Palacios *et al.*, 1995; Mercure e Van Der Kraak, 1995). Entretanto, é importante destacar que a ação dos eicosanoides é determinada pela razão EPA/ARA, principalmente dos fosfolipídios (Tocher, 2003), razão essa que se manteve igual nos fosfolipídios teciduais, com exceção do músculo, nas fêmeas de ambos os reservatórios, o que não ocorreu para as fêmeas de *A. fasciatus* (capítulo 2).

As alterações encontradas no perfil de PUFAs n6 nos Tgs das fêmeas de H. malabaricus foram devidas às variações na porcentagem do ARA, além do C18:2n6. ARA é produto da elongação e dessaturação do EFA C18:2n6, e normalmente é encontrado em altas porcentagens nos Fls, enquanto nos Tgs há grande deposição do EFA, que é diretamente provido da dieta. A maioria dos predadores aquáticos consomem suas presas inteiras, ingerindo todo o lipídio neutro (Tg) e polar (Fl) contido na presa e no trato digestório (Budge et al., 2006; Iverson, 2009), de modo que altas porcentagens de ARA, mesmo EPA e DHA, podem compor os Tgs teciduais dos animais carnívoros. Devido a essa maior facilidade em obter PUFAs C20-22 da dieta, é conhecido que os animais carnívoros apresentam uma menor atividade das dessaturases e elongases (Bell e Tocher, 2009) e como resultado disso, poucas diferenças foram encontradas para as razões EPA/ARA e DHA/ARA teciduais nas fêmeas entre os reservatórios, como mencionado acima. Adicionalmente, o índice de instauração dos fosfolipídios de membrana não foi afetado pela alteração do perfil de PUFAs, de modo que o ARA, nos Fls teciduais das fêmeas no reservatório referência e mais uma vez o DHA no reservatório hipereutrófico, contribuíram para a fluidez de membrana nesses animais. Segundo Ibeas et al. (1996) a função do C18:1n9 e HUFAs n3 na modulação do índice de insaturação na membrana dos Fls parece ser fundamental nos tecidos, com uma contribuição menor de ARA. No presente estudo, para os fosfolipídios de membrana de H. malabaricus no reservatório referência a contribuição do C18:1n9 foi relativamente menor em comparação ao ARA.

Como já mencionado no capítulo 2, há uma forte ligação entre a atividade da Na⁺K⁺ATPase e o grau de fluidez das membranas, mediado principalmente pelo DHA (Evans e Claiborne, 2006). No presente estudo, essa correlação foi encontrada nas brânquias das fêmeas do reservatório referência, contudo no reservatório hipereutrófico observou-se uma

correlação negativa baseada principalmente nas alterações vistas durante o inverno, quando as fêmeas no reservatório hipereutrófico apresentaram uma maior atividade da Na⁺K⁺ATPase com uma diminuição do DHA e um aumento SFAs e MUFAs nos fosfolipídios branquiais. Tal fato indica que o padrão de regulação da atividade da bomba precisa ser melhor investigado nas espécies tropicais, principalmente em ambientes poluídos. Além disso, verificou-se uma maior atividade da Na⁺K⁺ATPase branquial nas fêmeas no reservatório hipereutrófico durante as estações de inverno e primavera, quando encontramos os maiores valores de metais e clorofíla-*a* na água (Capítulo 1), podendo indicar uma possível resposta de excreção aumentada dos íons em excesso no ambiente, resposta essa também observada nas fêmeas de *A. fasciatus* (Capítulo 2).

Como consequência do ciclo reprodutivo, durante a primavera encontramos um aumento dos PUFAs n3, principalmente DHA, nos Fls hepáticos e ovarianos das fêmeas em ambos os reservatórios, o que coincidiu com o maior valor de IGS observado nesses animais em ambos os reservatórios, resultado do intenso processo de vitelogênese que parece ocorrer nesta estação. Adicionalmente, o mesmo padrão observado no fígado e no ovário pode indicar que nas fêmeas de *H. malabaricus*, como em *A. fasciatus* (capítulo 2), o desenvolvimento gonadal também ocorre sem diminuição dos substratos corpóreos (Wiegand, 1996). O aumento de DHA observado nos Fls dos ovários deve-se a incorporação da vitelogenina, composta de 65-70% de Fls rico em DHA (Silversand e Haux, 1995; Tocher, 2003), importante FA no desenvolvimento da prole (Izquierdo *et al.*, 2000).

Com base nas alterações tróficas vistas entre os ambientes, não são todos os FAs que são transferidos igualmente aos níveis tróficos superiores, de modo que uma combinação de FAs parece servir como biomarcadores nos níveis tróficos superiores (Iverson, 2009). Além disso, de acordo com a literatura, devido a função especializada dos FIs de membrana, os organismos tendem a conservar os FAs, fazendo essa classe de lipídios relativamente resistente a alterações da dieta dos predadores e, portanto não são informativos como indicadores da dieta (Budge *et al.*, 2006), o que mais uma vez não foi confirmado pelo presente estudo.

4.3 Isótopos estáveis

Os valores de $\delta 13C$ e $\delta 15N$ encontrados no presente estudo corroboraram os dados apresentados em outros estudos para *H. malabaricus* (Manetta *et al.*, 2003; Garcia *et al.*, 2007). Os valores para $\delta 13C$ não apresentaram nenhuma diferença entre os ambientes, indicando que as fêmeas de *H. malabaricus*, assim como *A. fasciatus*, em ambos os

reservatórios se alimentam de fontes de carbono similares. Contudo, mesmo confirmado o hábito alimentar ictiófago de *H. malabaricus* em ambos os reservatórios, os valores para δ 15N foram maiores nos animais do reservatório hipereutrófico, demonstrando mais uma vez o intenso processo de eutrofização do ambiente (Abreu *et al.*, 2006). De modo geral, a utilização do isótopo δ 15N em ambientes eutróficos parece interferir na identificação do nível trófico.

5. Conclusões

As fêmeas de H. malabaricus em ambos os reservatórios apresentaram uma composição de FAs tecidual semelhante às fêmeas de A. fasciatus, sua presa potencial, de modo que os PUFAs n3 foram altamente incorporados nos tecidos das fêmeas no reservatório hipereutrófico, como reflexo da importância das fontes basais para o funcionamento da cadeia alimentar aquática. Contudo porcentagens altas de PUFAs n3 nos tecidos das fêmeas no reservatório hipereutrófico não resultaram em maiores razões EPA/ARA nos fosfolipídios, de modo que as fêmeas de H. malabaricus possam ser menos prejudicadas com relação a síntese de eicosanoides. Além disso, a presença de porcentagens altas de PUFAs C20-22 nos Tgs é característico da transferência trófica a níveis superiores. Adicionalmente, durante as estações em que encontramos os maiores valores de compostos químicos no reservatório hipereutrófico, os animais apresentaram um aumento da atividade da bomba Na⁺K⁺ATPase, mas sem nenhuma correlação com a porcentagem de DHA, indicando que a regulação dessa enzima seja feita por outros mecanismos. Mais uma vez o uso dos isótopos estáveis não se mostrou eficiente na identificação do nível trófico, de modo que a variação de 815N observada entre os ambientes foi reflexo do despejo de esgoto lançado no reservatório hipereutrófico.

Referências Bibliográficas

- Abreu, P.C.; Costa, C.S.B.; Bemvenuti, C.; Odebrecht, C.; Granéli, W.; Anésio, A.M. 2006. Eutrophication processes and trophic interactions in a shallow estuary: preliminary results based on stable isotope analysis, *Estuaries and Coasts*, 29(2): 277-285.
- Ackman, R.G.; Eaton, C.A. 1966. Lipids of the fin whale (*Balaenoptera physalus*) from north Atlantic waters. III. Occurrence of eicosaenoic and docosaenoic fatty acids in the zooplankter *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars) and their effect on whale oil composition. *Canadian Journal of Biochemistry*, 44: 1561–1566.

- Ahlgren, G.; Vrede, T.; Goedkoop, W. 2009. Fatty acid ratios in freshwater fish, zooplankton and zoobenthos – are there specific optim? *In:* M.T. Arts, M.T. Brett e M.J. Kainz (eds). Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer (Publ.), New York, EUA, p. 147-178.
- Alfaro, A.C.; Thomas, F.; Sergent, L.; Duzbury, M. 2006. Identification of trophic interactions within in estuarine foodweb (northern New Zealand) using fatty acid biomarkers and stable isotopes. *Estuarine Coast Shelf Science*, 70:271–286.
- Arts, M.T.; Brett, M.T.; Kainz, M.J. 2009. Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer, New York, 380p.
- Arts, M.T.; Kohler, C.C. 2009. Health and condition in fish: the influence of lipids on membrane competency and immune response. *In:* Arts, M.T.; Brett, M.T.; Kainz, M.E. (eds). Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer (Publ.), New York, EUA, p. 237-256.
- Bell, M.V.; Tocher, D.R. 2009. Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in aquatic ecosystems: general pathways and new directions. *In*: Arts, M.T., Brett, M.T., Kainz, M.J. (eds.). Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer, New York, p. 211-236.
- Budge, S.M.; Iverson, S.J.; Bowen, W.D.; Ackman, R.G. 2002. Among- and within-species variability in fatty acids signature of marine fish and invertebrates on the Scotian Shelf, Georges Bank and southern Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal Fisheries Aquatic Science*, 59: 886-898.
- Budge, S.M.; Iverson, S. J.; Koopman, H. N. 2006. Studying trophic ecology in marine ecosystems using fatty acids: a primer on analysis and interpretation. *Marine Mammals Science*, 22: 759-801.
- Budge, S.M.; Penney, S.N.; Lall, S.P. 2012. Estimating diets of Atlantic salmon (Salmo salar) using fatty acid signature analyses; validation with controlled feeding studies. Canadian Journal of Fisheries Aquatic Science, 69: 1033-1046.
- Cohen, J. 1988. Statistical power analysis for the behavioral sciences. Hillsdale, NJ, Erlbaum.
- Colby, R.H.; Mattacks, C.A.; Pond, C.M. 1993. The gross anatomy, cellular structure and fatty acid composition of adipose tissue in captive polar bears (*Ursus maritimus*). *Zoo Biology*, 12: 267–275.
- Czesny, S.J.; Rinchard, J.; Hanson, S.D.; Dettmers, J.M.; Dabrowski, K.; Smith, R. 2011. Fatty acid signatures of Lake Michigan prey fish and invertebrates: among-species differences and spatio temporal variability. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 68(7): 1211–1230.
- Desvilettes, C.H.; Bourdier, G.; Amblard, C.H.; Barth, B. 1997. Use of fatty acids for the assessment of zooplankton grazing on bacteria, protozoans and microalgae. *Freshwater Biology*, 38:629–637.
- Erdal, J.I.; Evensen, O.; Kaurstad, O.K.; Lillehaug, A.; Solbakken, R.; Thorud, K. 1991. Relationship between diet and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) feeding various levels of ascorbic acid and omega-3 fatty acids. *Aquaculture*, 98:363-379.

- Evans, D.H.; Claiborne, J.B. 2006. The physiology of fishes. Third edition. Ed. Taylor and Francis: Florida, USA, 601p.
- Falk-Petersen, S.; Haug, K.T.; Nilseen, A.; Wold, T.; Dahl, M. 2004. Lipids and trophic linkages in harp Seal (*Phoca groenlandica*) from the eastern Barents Sea. *Polar Research*, 23: 43–50.
- Fernández-Palacios, H.; Izquierdo, M.S.; Robaina, L.; Valencia, A.; Salhi, M. e Vergara, J. 1995. Effect of n3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream (Sparus aurata L.). Aquaculture, 132:325–337.
- Fracalossi, D.M.; Lovell, R.T. 1994. Dietary lipid sources influence responses of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to challenge with the pathogen *Edwardsiella ictaluri*. *Aquaculture*, 119:287-298.
- Fraser, A.J.; Sargent, J.R.; Gamble, J.C.; Seaton, D.D. 1989. Formation and transfer of fatty acids in an enclosed marine food chain comprising phytoplankton, zooplankton and herring (*Clupea harengus*) larvae. *Marine Chemistry*, 27: 1–18.
- Garcia, A.M.; Hoeinghaus, D.J.; Vieira, J.P.; Winemiller, K.O. 2007. Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 73: 399-408.
- Gomes, A. D.; Correia, T. G.; Moreira, R. G. 2010. Fatty acids as trophic biomarkers in vitellogenic females in an impounded tropical river. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36(3): 699-718.
- Graeve, M.; Hagen, W.; Kattner, G. 1994. Herbivorous or omnivorous? On the significance of lipid compositions as trophic markers in Antarctic copepods. *Deep-Sea Research I*, 41: 915–924.
- Ibeas, C.; Cejas, J.; Gómez, T.; Jerez, S.; Lorenzo, A. 1996. Influence of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids levels on juvenile gilthead seabream (*Sparus auratus*) growth and tissues fatty acid composition. *Aquaculture*, 142: 221-235.
- Iverson, S.J.; Frost, K.J.; Lowry, L.F. 1997. Fatty acid signatures reveal fine scale structure of foraging distribution of harbor seals and their prey in Prince William Sound, Alaska. *Marine Ecology Progress Series*, 151: 255–271.
- Iverson, S.J.; McDonald, J.E.; Smith, L.K. 2001. Changes in the diet of free-ranging black bears in years of contrasting food availability revealed through milk fatty acids. *Canadian Journal of Zoology*, 79: 2268–2279.
- Iverson, S. J. 2009. Tracing aquatic food webs using fatty acids: from qualitative indicators to quantitative determination. *In:* Arts, M. T.; Brett, M. T. e Kainz, M. J. (Eds). Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer, p. 281-307.
- Kirsch, P.E.; Iverson, S.J.; Bowen, W.D.; Kerr, S.R.; Ackman, R.G. 1998. Dietary effects on the fatty acid signature of whole Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Canadian Journal Fisheries Aquatic Science*, 55: 1378–1386.

- Kirsch, P.E.; Iverson, S.J.; Bowen, W.D. 2000. Effect of diet on body composition and blubber fatty acids in captive harp seals (*Phoca groenlandica*). *Physiological Biochemistry and Zoology*, 73: 45–59.
- Li, M.H.; Wise, D.J.; Johnson, M.R.; Robinson, E.H. 1994. Dietary menhaden oil reduced resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri*. *Aquaculture*, 128:335-344.
- Manetta, G.I.; Benedito-Cecilio, E.; Martinelli, M. 2003. Carbon sources and trophic position of the main species of fishes of Baía River, Paraná, river floodplain, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 63(2): 283-290.
- Mercure, F.; Van Der Kraak, G. 1995. Inhibition of gonadotropin-stimulated ovarian steroid production by polyunsaturated fatty acids in teleost fish. *Lipids*, 30:547–554.
- Meynier, L.; Morel, P.C.H.; Chilvers, B.L.; Mackenzie, D.D.S.; Duignan, P.J. 2010. Quantitative fatty acid signature analysis on New Zealand sea lions: model sensitivity and diet estimates. *Journal of Mammalian*, 91(6): 1484–1495.
- Parrish, C.C.; McKenzie, C.H.; MacDonald, B.A.; Hatfield, E.A. 1995. Seasonal studies of seston lipids in relation to microplankton species composition and scallop growth in South Broad Cove, Newfoundland. *Marine Ecology Progress Serie*, 129: 151–164.
- Rouvinen, K.; Jaakko, M.; Kiiskinen, T.; Nummela, S. 1992. Accumulation of dietary fish fatty acids in the body fat reserves of some carnivorous fur-bearing animals. *Agricultural Science in Finland*, 1: 483–489.
- Saliot, A.; Laureillard, J.; Scribe, P.; Sicre, M.A. 1991. Evolutionary trends in the lipid biomarker approach for investigating the biogeochemistry of organic matter in the marine environment. *Marine Chemistry*, 36:233–248.
- Santiago, C.B.; Reyes, O.S. 1993. Effect of dietary lipid source on reproductive performance and tissue lipid levels of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus. Broodstock). *Journal of Applied Ichthyology*, 9:33–40.
- Sargent, J.R.; Parkes, R.J.; Mueller-Harvey, I.; Henderson, R.J. 1987. Lipid biomarkers in marine ecology. *In:* Sleigh, M.A. (ed.). Microbes in the sea. Wiley and Sons, New York. p. 119–138.
- Sargent, J.; Bell, G.; McEvoy, L.; Tocher, D.; Estevez, A. 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177: 191-199.
- Sayer, M.D.J.; Gibson, R.N.; Atkinson, R.J.B. 1995. Growth, diet and condition of goldsinny on the West coast of Scotland. *Journal Fisheries Biology*, 46: 317-340.
- Schmitz, G.; Ecker, J. 2008. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Progress in Lipid Research*, 47: 147-155.
- Silversand, C.; Haux, C. 1995. Fatty acid composition of vitellogenin from four teleost species. *Journal of Comparative Physiology (B)*, 164: 593-599.

- Smith, S.J.; Iverson, S.J.; Bowen, W.D. 1997. Fatty acid signatures and classification trees: new tools for investigating the foraging ecology of seals. *Canadian Journal of Fisheries Aquatic Science*, 54: 1377–1386.
- St. John, M.A.; Lund, T. 1996. Lipid biomarkers: linking the utilization of frontal plankton biomass to enhanced condition of juvenile North Sea cod. *Marine Ecology Progress Series*. 131: 75–85.
- Thiemann, G.W.; Iverson, S.J.; Stirling, I. 2008. Polar bear diets and arctic marine food webs: insights from fatty acid analysis. *Ecology Monography*, 78(4): 591–613.
- Tocher, D.R.; Mourente, G.; Van der Eeken, A.; Evjemo, J.O.; Diaz, E.; Bell, J.G.; Geurden, I.; Lavens, P.; Olsen, Y. 2002. Effects of dietary vitamin E on antioxidant defense mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture Nutrition, 8(3): 195-207.
- Tocher, D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2): 000-000.
- Uieda, V.S. 1984, Ocorrência e distribuição dos peixes em um riacho de água doce. *Revista Brasileira de Biologia*, 44(2): 203-213.
- Vazzoler, A.E.A.M. 1996. Biologia da Reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá, EDUEM. 169 p.
- Wang, S.W.; Iverson, S.J.; Springer, A.M.; Hatch, S.A. 2009. Spatial and temporal diet segregation in northern fulmars (Fulmarus glacialis) breeding in Alaska: insights from fatty acid signatures. *Marine Ecology Progress Series*, 377: 299–307.
- Wang, S.W.; Hollmén, T.E.; Iverson, S.J. 2010. Validating quantitative fatty acid signature analysis to estimate diets of spectacled and Steller's eiders (*Somateria fischer* and *Polysticta steller*). *Journal of Comparative Physiology B*, 180(1): 125–139.
- Wendelaar-Bonga, S.E.; Lock, R.A.C. 2008. The osmoregulatory system, In: Di Giulio, R.T.; Hilton, D.E. (eds). The toxicology of fishes. New York, CRC, Press, 8, 401-415.
- Wiegand, M.D. 1996. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 6: 259-286.
- Zar, J. H. 1999. Biostatistical analysis. Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ.

		Ponte Nova		Billings			
	Verão	Outono	Inverno	Verão	Outono	Inverno	Primavera
Ν	1	1	2	2	3	1	1
C15:0	1.4 ± 0.00	1.2 ± 0.00	$1.6 \pm 0.52*$	0.9 ± 0.37	0.7 ± 0.12	0.4 ± 0.00 **	0.2 ± 0.00
C17:0	3.4 ± 0.00	1.4 ± 0.00	1.5 ± 0.00	2.1 ± 1.06	2.0 ± 0.42	1.5 ± 0.00	2.1 ± 0.00
C18:0anteiso	0.6 ± 0.00	1.4 ± 0.00	$0.8 \pm 0.11*$	$0.4\pm0.00^{\mathrm{ab}}$	0.6 ± 0.45^{a}	$0.2 \pm 0.00^{ab} **$	Ne ^b
C17:1cis	0.3 ± 0.00	0.4 ± 0.00	$0.9 \pm 0.58*$	0.3 ± 0.00^{ab}	0.5 ± 0.25^{a}	$0.3 \pm 0.00^{ab} **$	Ne ^b
ΣOFA - BFA	6.9 ± 0.00	5.6 ± 0.00	6.1 ± 1.14*	5.1 ± 1.32^{ab}	5.4 ± 1.22^{a}	$3.0 \pm 0.00^{ab} **$	$2.4 \pm \mathbf{0.00^{b}}$
C14:0	1.0 ± 0.00	5.2 ± 0.0	2.9 ± 1.35	1.9 ± 0.89	Ne	4.2 ± 0.00	1.3 ± 0.00
C16:0	31.7 ± 0.00^{a}	19.1 ± 0.00^{b}	$20.7 \pm 1.51^{b*}$	30.5 ± 5.16^{a}	23.4 ± 2.92^{b}	$26.5 \pm 0.00^{ab} **$	26.8 ± 0.00^{ab}
C18:0	20.2 ± 0.00^{a} *	$7.9\pm0.00^{\mathrm{b}}$	7.0 ± 0.72^{b}	11.5 ± 2.46^{a}	9.2 ± 1.84^{ab}	10.1 ± 0.00^{ab}	$8.3\pm0.00^{\rm b}$
C20:0	0.4 ± 0.00	0.3 ± 0.00	0.2 ± 0.05	0.4 ± 0.07	0.4 ± 0.13	0.5 ± 0.00	0.4 ± 0.00
Σ SFA	54.1 ± 0.00^{a} *	$32.5 \pm \mathbf{0.00^{b}}$	$31.2 \pm 0.16^{b*}$	45.3 ± 7.27^{a}	35.7 ± 2.03^{b}	$41.7 \pm 0.00^{ab} **$	37.4 ± 0.00^{b}
C16:1n7	$3.3\pm0.00^{\rm a}$	24.9 ± 0.00^{b} *	8.0 ± 3.84^{a}	6.1 ± 3.85	$5.7 \pm 1.89 **$	10.0 ± 0.00	7.9 ± 0.00
C18:1n9	17.9 ± 0.00^{a}	$7.8\pm0.00^{\mathrm{b}}$	7.3 ± 0.34^{b} *	15.5 ± 3.2^{ab}	12.4 ± 1.54^{a}	$20.6 \pm 0.00^{b**}$	9.8 ± 0.00^{a}
C18:1n7	8.9 ± 0.00	6.0 ± 0.00	4.1 ± 1.51	4.9 ± 1.71	4.3 ± 1.15	5.0 ± 0.00	7.5 ± 0.00
C20:1n9	0.6 ± 0.00	0.3 ± 0.00	0.3 ± 0.09	0.6 ± 0.00	0.6 ± 0.06	0.7 ± 0.00	0.3 ± 0.00
Σ MUFA	31.1 ± 0.00^{a}	$39.8 \pm 0.00^{b*}$	$19.8 \pm 4.81^{\circ}$	27.3 ± 8.67^{ab}	$23.9 \pm 1.95^{a} $	$37.0 \pm 0.00^{b**}$	$25.5\pm0.00^{\rm a}$
C16:4n1	Ne	0.3 ± 0.00	0.3 ± 0.00	Ne	0.1 ± 0.00	Ne	Ne
C16:2n4	0.3 ± 0.00	Ne	0.2 ± 0.00	0.3 ± 0.20	0.3 ± 0.23	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.00
C16:3n4	$0.8 \pm 0.00 *$	0.3 ± 0.00	0.5 ± 0.30	$0.3 \pm 0.00 **$	0.6 ± 0.18	0.8 ± 0.00	0.6 ± 0.00
Σ PUFA C16	$1.5 \pm 0.00 \ast$	$\textbf{1.8} \pm \textbf{0.00}$	1.2 ± 1.29	$0.8 \pm 0.20^{**}$	1.2 ± 0.52	$\boldsymbol{1.0\pm0.00}$	$\textbf{0.8} \pm \textbf{0.00}$
C18:3n3	0.2 ± 0.00^{a} *	Ne ^b *	$5.1 \pm 2.36^{\circ}$	3.1 ± 1.18^{a}	$7.1 \pm 3.23^{ab} * *$	$6.2\pm0.00^{\rm a}$	13.9 ± 0.00^{b}
C18:4n3	Ne	Ne	0.4 ± 0.10	0.4 ± 0.04	0.1 ± 0.00	0.3 ± 0.00	0.9 ± 0.00
C20:3n3	Ne	0.3 ± 0.00	0.7 ± 0.19	0.5 ± 0.00	0.9 ± 0.37	0.8 ± 0.00	0.5 ± 0.00
C20:4n3	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.00	0.7 ± 0.16	0.9 ± 0.19	1.0 ± 0.21	0.3 ± 0.00	0.4 ± 0.00
C20:5n3	$0.2 \pm 0.00 *$	Ne*	1.2 ± 0.22	2.3 ± 0.49^{a}	$3.5 \pm 2.03^{ab} * *$	$0.7\pm0.00^{\mathrm{b}}$	4.5 ± 0.00^{a}
C22:5n3	$0.2\pm0.00^{\rm a}$	0.6 ± 0.00^{a} *	$2.4\pm0.40^{\mathrm{b}}$	1.0 ± 0.35	$2.4 \pm 0.64 **$	1.5 ± 0.00	2.0 ± 0.00
C22:6n3	0.4 ± 0.00^{a} *	7.4 ± 0.00^{b}	$9.3 \pm 2.62^{b*}$	6.0 ± 1.97^{a}	9.1 ± 4.72^{b}	$1.5 \pm 0.00^{b**}$	3.1 ± 0.00^{a}
Σ PUFA n3	1.3 ± 0.00^{a} *	$8.5 \pm 0.00^{b*}$	$19.7 \pm 0.81^{\circ}$	14.2 ± 1.07^{a}	$24.0 \pm 4.19^{b**}$	$11.4 \pm 0.00^{a_{**}}$	25.3 ± 0.00^{b}
Σ PUFA C18 n3	0.2 ± 0.00^{a} *	Ne ^b *	$5.5 \pm 2.46^{\circ}$	$3.4 \pm 1.22^{a_{**}}$	$7.1 \pm 3.21^{ab} **$	$6.5 \pm 0.00^{\rm a}$	$14.8\pm0.00^{\rm b}$
Σ PUFA C20-22 n3	1.1 ± 0.00^{a} *	$8.5 \pm 0.00^{b*}$	$14.3 \pm 1.65^{c*}$	10.7 ± 2.30^{a}	$16.8 \pm 5.20^{b**}$	$4.9 \pm 0.00^{\circ} **$	$10.5 \pm 0.00^{\rm a}$
C18:2n6cis	2.4 ± 0.00^{a}	3.0 ± 0.00^a	7.2 ± 3.42^{b} *	3.2 ± 1.34	4.4 ± 2.46	4.1 ± 0.00 **	5.2 ± 0.00
18:3n6	Ne ^a	0.4 ± 0.00^{b}	1.8 ± 0.92^{b}	0.2 ± 0.09	0.5 ± 0.18	0.3 ± 0.00	0.2 ± 0.00
C20:2n6	0.7 ± 0.00	0.6 ± 0.00	1.0 ± 0.64	0.4 ± 0.00	0.4 ± 0.19	0.3 ± 0.00	0.3 ± 0.00

Apêndice 1: Perfil de ácidos graxos (%) das amostras de conteúdo estomacal das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20:3n6	0.3 ± 0.00^{a}	$0.5\pm0.00^{\text{a}}$	1.5 ± 0.30^{b} *	0.6 ± 0.29	0.6 ± 0.07	0.2 ± 0.00 **	0.2 ± 0.00
C20:4n6	0.6 ± 0.00^{a} *	5.8 ± 0.00^{b} *	6.9 ± 0.34^{b} *	$2.5 \pm 0.35^{ab} **$	3.1 ± 0.84^{a}	$1.0 \pm 0.00^{b**}$	2.3 ± 0.00^{ab}
C22:4n6	0.2 ± 0.00^{a}	$0.9\pm0.00^{\mathrm{b}}$	2.4 ± 0.84^{c} *	0.3 ± 0.05	0.6 ± 0.01	0.2 ± 0.00 **	0.2 ± 0.00
C22:5n6	0.2 ± 0.00	0.3 ± 0.00	1.0 ± 0.00	0.4 ± 0.00	0.2 ± 0.09	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.00
S PUFA n6	5.0 ± 0.00^{a} *	$11.8 \pm \mathbf{0.00^{b}}$	$21.7 \pm 2.02^{c*}$	$7.3 \pm 0.92^{ab}**$	9.8 ± 1.91^{a}	$6.1 \pm 0.00^{b**}$	8.6 ± 0.00^{ab}
Σ PUFA C18 n6	$\textbf{3.1} \pm \textbf{0.00}^{a}$	$\textbf{3.4} \pm \textbf{0.00}^{a}$	$8.9 \pm 4.35^{b*}$	3.4 ± 1.25	4.9 ± 2.55	$4.3 \pm 0.00 **$	$\textbf{5.4} \pm \textbf{0.00}$
Σ PUFA C20-22 n6	2.0 ± 0.00^{a} *	$8.4 \pm 0.00^{b*}$	$12.8 \pm 2.32^{c*}$	$3.9 \pm 0.32^{ab}**$	$4.9 \pm 0.74^{a_{**}}$	$1.8 \pm 0.00^{b**}$	3.1 ± 0.00^{ab}
Σ PUFA t	7.8 ± 0.00^{a} *	22.2 ± 0.00^{b} *	$42.9 \pm 3.83^{\circ}$	22.4 ± 0.08^{a}	$35.0 \pm 3.04^{b**}$	$18.5 \pm 0.00^{a_{**}}$	34.7 ± 0.00^{b}
n3/n6	$0.3 \pm 0.00*$	$0.7 \pm 0.00^{*}$	$0.9 \pm 0.05^{*}$	$2.0 \pm 0.39^{**}$	$2.6 \pm 0.95^{**}$	$1.9 \pm 0.00^{**}$	$\textbf{3.0} \pm \textbf{0.00}$
EPA/DHA	0.5 ± 0.00	Ne	0.1 ± 0.06	$\textbf{0.4} \pm \textbf{0.05}$	0.4 ± 0.03	0.5 ± 0.00	$\textbf{1.5} \pm \textbf{0.00}$
C16/C18	$\boldsymbol{0.7\pm0.00}$	$1.8 \pm 0.00*$	$\boldsymbol{0.9 \pm 0.18}$	1.0 ± 0.15	$0.8 \pm 0.14^{**}$	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.00}$	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.00}$
C16:1/C16:0	0.1 ± 0.00	$1.3 \pm 0.00*$	0.4 ± 0.21	0.2 ± 0.16	0.3 ± 0.10 **	0.4 ± 0.00	0.3 ± 0.00

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ PUFA t, Σ PUFA n3, Σ PUFA n6, Σ PUFA C16, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA e DHA são as somatórias e razões de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico e docosahexaenoico. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

		Ponte Nova		Billings			
	Verão	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
Ν	1	2	1	3	10	5	3
C15:0	$0.9\pm0.00^{\mathrm{a}}$	$2.1 \pm 0.68^{\circ}$ *	1.3 ± 0.00^{ab}	0.8 ± 0.32	0.7 ± 0.16 **	$0.7 \pm 0.19 **$	0.7 ± 0.16
C15:0iso	$0.5 \pm 0.00*$	0.6 ± 0.13	0.7 ± 0.00	$1.7 \pm 0.72 **$	Ne	1.2 ± 0.36	1.1 ± 0.33
C17:0	1.0 ± 0.00	1.5 ± 0.30	1.9 ± 0.00	1.7 ± 0.43	1.6 ± 0.25	1.6 ± 0.17	1.5 ± 0.17
C17:0anteiso	Ne	$1.3 \pm 0.00*$	Ne	0.1 ± 0.07	0.2 ± 0.06	Ne**	Ne
C20:0iso	0.4 ± 0.00	Ne	Ne	0.8 ± 0.24	1.2 ± 0.35	0.1 ± 0.00	Ne
C17:1cis	0.1 ± 0.00	1.1 ± 0.32	0.1 ± 0.00	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.04	0.3 ± 0.13	0.3 ± 0.02
ΣOFA - BFA	$3.5 \pm 0.00^{a}*$	$6.6 \pm 2.62^{b*}$	4.4 ± 0.00^{ab}	$6.2 \pm 1.29 **$	$\textbf{4.0} \pm \textbf{0.53}$	$4.1 \pm 0.51^{**}$	3.8 ± 0.73
C14:0	3.8 ± 0.00	2.9 ± 0.83	3.1 ± 0.00	3.8 ± 0.66	2.9 ± 0.63	3.3 ± 0.81	3.0 ± 0.73
C16:0	25.8 ± 0.00	22.8 ± 1.43	20.3 ± 0.00	26.5 ± 2.91	21.2 ± 1.21	21.4 ± 1.44	20.8 ± 1.09
C18:0	6.5 ± 0.00	5.4 ± 0.40	7.3 ± 0.00	7.7 ± 1.52	7.2 ± 0.52	6.6 ± 0.61	6.9 ± 0.35
C20:0	0.3 ± 0.00	0.2 ± 0.04	0.3 ± 0.00	0.4 ± 0.05	0.4 ± 0.05	0.4 ± 0.04	0.5 ± 0.10
Σ SFA	$\textbf{36.6} \pm \textbf{0.00}$	31.6 ± 1.82	31.4 ± 0.00	38.6 ± 4.99	$\textbf{32.0} \pm \textbf{1.78}$	$\textbf{32.0} \pm \textbf{1.77}$	31.7 ± 2.30
C14:1trans	Ne	Ne	Ne	0.2 ± 0.02	1.1 ± 0.17	0.2 ± 0.10	Ne
C16:1n7	8.3 ± 0.00	7.8 ± 1.91	7.5 ± 0.00	11.2 ± 2.69	7.4 ± 2.54	8.4 ± 2.82	9.6 ± 2.24
C18:1n9	18.2 ± 0.00	16.4 ± 9.64	14.1 ± 0.00	17.7 ± 1.62	15.7 ± 2.12	16.7 ± 1.78	17.4 ± 1.52
C18:1n7	3.9 ± 0.00	3.5 ± 0.49	5.5 ± 0.00	5.9 ± 0.83	4.3 ± 0.86	4.6 ± 0.88	5.4 ± 0.80
C20:1n9	0.6 ± 0.00	0.5 ± 0.14	0.7 ± 0.00	1.1 ± 0.34	1.0 ± 0.22	0.8 ± 0.05	0.9 ± 0.15
Σ MUFA	31.0 ± 0.00	28.3 ± 7.36	$\textbf{28.0} \pm \textbf{0.00}$	36.1 ± 2.41	29.6 ± 5.00	30.6 ± 5.38	33.3 ± 4.63
C16:4n1	Ne	0.5 ± 0.15	0.3 ± 0.00	Ne	Ne	0.1 ± 0.00	Ne
C16:2n4	0.1 ± 0.00	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.06	0.3 ± 0.18	0.2 ± 0.05
C16:3n4	$0.5\pm0.00^{\mathrm{a}}$	$0.9 \pm 0.20^{\rm b}$	$1.0\pm0.00^{\mathrm{b}}$	0.7 ± 0.11	0.6 ± 0.04	0.8 ± 0.12	0.8 ± 0.06
Σ PUFA C16	$0.8 \pm 0.00^{\mathrm{a}}$	1.6 ± 0.01^{b}	1.6 ± 0.00^{b}	1.1 ± 0.04	0.9 ± 0.13	1.0 ± 0.38	1.1 ± 0.10
C18:3n3	3.0 ± 0.00^{a} *	6.6 ± 1.22^{b}	5.4 ± 0.00^{b} *	5.6 ± 1.78^{a}	6.7 ± 0.83^{ab}	7.9 ± 1.66^{ab}	9.1 ± 1.19^{b}
C18:4n3	Ne	0.5 ± 0.12	0.6 ± 0.00	Ne ^a	Ne ^a	1.0 ± 0.34^{b}	1.1 ± 0.19
C20:3n3	0.3 ± 0.00	0.8 ± 0.14	0.7 ± 0.00	0.6 ± 0.17	0.9 ± 0.17	0.9 ± 0.19	1.1 ± 0.23
C20:4n3	0.6 ± 0.00	0.5 ± 0.12	0.8 ± 0.00	0.6 ± 0.13	1.3 ± 0.41	1.2 ± 0.55	0.9 ± 0.45
C20:5n3	1.6 ± 0.00	0.9 ± 0.09	2.3 ± 0.00	1.1 ± 0.27	2.7 ± 0.96	2.5 ± 1.30	2.2 ± 1.17
C22:5n3	1.6 ± 0.00	1.6 ± 0.28	2.2 ± 0.00	1.4 ± 0.58	3.2 ± 0.60	2.6 ± 0.52	2.3 ± 1.16
C22:6n3	5.5 ± 0.00	3.3 ± 0.64	5.5 ± 0.00	2.0 ± 0.58^{a}	9.8 ± 4.53^{b}	7.8 ± 5.62^{b}	6.9 ± 2.78
ΣPUFA n3	13.4 ± 0.00	$14.2 \pm 2.61^*$	17.5 ± 0.00	11.4 ± 2.49^{a}	25.6 ± 5.68^{b}	$24.0 \pm 6.50^{b**}$	21.4 ± 6.01
Σ PUFA C18 n3	3.0 ± 0.00^{a} *	7.1 ± 1.34^{b}	6.0 ± 0.00^{b} *	5.6 ± 1.78^{a}	6.7 ± 0.83^{a}	8.9 ± 1.34^{b}	10.2 ± 1.01^{b}
Σ PUFA C20-22 n3	10.3 ± 0.00	7.0 ± 1.26	11.5 ± 0.00	5.7 ± 0.77^{a}	19.0 ± 6.33^{b}	$15.1 + 7.77^{b}$	11.2 + 6.94

Apêndice 2: Perfil de ácidos graxos (%) das amostras de tecido adiposo das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20-22/C18n3	$3.4 \pm 0.00*$	$\textbf{1.0} \pm \textbf{0.01}$	1.9 ± 0.00	$1.1 \pm 0.27 **$	$\textbf{3.0} \pm \textbf{1.18}$	$\textbf{1.8} \pm \textbf{1.08}$	1.2 ± 0.79
C18:2n6cis	$10.1 \pm 0.00*$	$10.8 \pm 0.93*$	$10.6 \pm 0.00*$	$4.1 \pm 1.09 **$	3.7 ± 0.66	$4.3 \pm 1.17 **$	$5.0 \pm 0.75 **$
C18:3n6	0.4 ± 0.00	$1.8 \pm 0.32*$	0.8 ± 0.00	0.3 ± 0.10	0.4 ± 0.05	0.4 ± 0.04 **	0.4 ± 0.08
C20:2n6	0.5 ± 0.00	0.5 ± 0.02	0.6 ± 0.00	0.4 ± 0.12	0.4 ± 0.09	0.4 ± 0.05	0.5 ± 0.07
C20:3n6	0.6 ± 0.00	1.0 ± 0.12	0.9 ± 0.00	0.3 ± 0.07	0.5 ± 0.13	0.5 ± 0.19	0.5 ± 0.17
C20:4n6	$2.5 \pm 0.00*$	3.0 ± 0.50	$3.3 \pm 0.00*$	$1.0 \pm 0.25 **$	1.9 ± 0.37	1.6 ± 0.55	$1.5 \pm 0.49 **$
C22:4n6	0.7 ± 0.00	0.7 ± 0.16	0.9 ± 0.00	0.3 ± 0.10	0.7 ± 0.17	0.9 ± 0.71	0.9 ± 0.37
Σ PUFA n6	14.8 ± 0.00^{a} *	$17.8 \pm 0.25^{b*}$	$17.1 \pm 0.00^{b*}$	6.7 ± 1.57**	$\textbf{7.8} \pm \textbf{0.54}$	$8.3 \pm 0.42^{**}$	$8.5 \pm 0.60 **$
Σ PUFA C18 n6	$10.6 \pm 0.00^{*}$	$12.6 \pm 0.61^*$	$11.3 \pm 0.00*$	4.4 ± 1.19**	$\textbf{4.1} \pm \textbf{0.63}$	$4.8 \pm 1.14^{**}$	$5.4 \pm 0.69^{**}$
Σ PUFA C20-22 n6	$4.3 \pm 0.00*$	$\textbf{5.2} \pm \textbf{0.85}$	$\textbf{5.8} \pm \textbf{0.00*}$	$2.3 \pm 0.38^{**}$	$\textbf{3.7} \pm \textbf{0.69}$	3.5 ± 1.40	$3.2 \pm 1.25^{**}$
C20-22/C18n6	$\textbf{0.4} \pm \textbf{0.00}$	$\textbf{0.4} \pm \textbf{0.09}$	0.5 ± 0.00	0.5 ± 0.06	$\boldsymbol{0.9 \pm 0.27}$	$\textbf{0.8} \pm \textbf{0.45}$	0.6 ± 0.32
Σ PUFA t	$29.0 \pm 0.00^{*}$	33.6 ± 2.93	$\textbf{36.2} \pm \textbf{0.00}$	$19.1 \pm 4.03^{a_{**}}$	34.4 ± 5.66^{b}	33.3 ± 6.47^{b}	31.0 ± 6.70^{ab}
n3/n6	$0.9 \pm 0.00^{*}$	$0.8 \pm 0.14^{*}$	$1.0\pm0.00*$	$1.7 \pm 0.03^{**}$	$3.3 \pm 0.77^{**}$	$\textbf{2.9} \pm \textbf{0.68}$	$2.5 \pm 0.55 **$
EPA/ARA	$\boldsymbol{0.6 \pm 0.00}$	$0.3 \pm 0.02*$	$0.7 \pm 0.00*$	1.0 ± 0.13	$1.4 \pm 0.34^{**}$	1.5 ± 0.34	$1.4 \pm 0.34^{**}$
DHA/ARA	$\textbf{2.2} \pm \textbf{0.00}$	1.1 ± 0.03	1.7 ± 0.00	2.1 ± 0.93	5.0 ± 1.77	4.4 ± 2.44	3.8 ± 0.88

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ PUFA t, Σ PUFA n3, Σ PUFA n6, Σ PUFA C16, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA e DHA são as somatórias e razões de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico e docosahexaenoico. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

FA (%)	Ponte Nova				Billings			
	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
C15:0	1.0 ± 0.27	1.0 ± 0.41	$1.4 \pm 0.58*$	1.5 ± 0.58	0.8 ± 0.04	0.7 ± 0.13	0.7 ± 0.16 **	0.9 ± 0.14
C15:0iso	0.7 ± 0.46	0.4 ± 0.16	0.7 ± 0.04	1.5 ± 0.24	1.3 ± 0.44	1.5 ± 0.28	1.3 ± 0.14	1.6 ± 0.41
C15:0anteiso	Ne	0.2 ± 0.09	$0.3 \pm 0.09*$	0.5 ± 0.09	0.3 ± 0.05	0.2 ± 0.05	Ne**	Ne
C16:0iso	0.5 ± 0.19	0.2 ± 0.07	0.4 ± 0.05	0.4 ± 0.11	0.4 ± 0.08	0.3 ± 0.08	0.3 ± 0.02	0.3 ± 0.07
C17:1cis	Ne	0.3 ± 0.06	0.5 ± 0.00	Ne	0.2 ± 0.09	0.3 ± 0.13	0.2 ± 0.06	0.4 ± 0.18
ΣOFA - BFA	$\textbf{2.7} \pm \textbf{0.62}$	$\textbf{2.9} \pm \textbf{1.04}$	$4.2 \pm 0.77^{*}$	3.9 ± 0.76	$\textbf{3.2} \pm \textbf{0.70}$	3.5 ± 0.74	$2.7 \pm 0.37^{**}$	$\textbf{2.9} \pm \textbf{0.52}$
C14:0	3.5 ± 1.60	1.0 ± 0.27	2.6 ± 0.66	4.5 ± 0.23	3.4 ± 0.70	2.7 ± 0.80	3.0 ± 0.80	3.5 ± 0.91
C16:0	25.9 ± 4.27^{a}	15.9 ± 2.59^{b}	26.6 ± 2.14^a	31.1 ± 2.92^{a}	27.0 ± 3.32	19.5 ± 3.46	23.9 ± 2.02	25.2 ± 4.24
C18:0	13.7 ± 7.69^{a}	12.8 ± 2.83^{a}	13.4 ± 6.06^{a}	5.7 ± 1.01^{b}	10.4 ± 2.85	11.0 ± 3.15	11.5 ± 5.48	5.9 ± 0.67
C20:0	0.2 ± 0.06	0.3 ± 0.08	0.5 ± 0.04	0.2 ± 0.10	0.3 ± 0.08	0.6 ± 0.18	0.4 ± 0.14	0.3 ± 0.06
Σ SFA	43.3 ± 10.21^{a}	30.3 ± 4.55^{b}	43.2 ± 11.73^{a}	41.7 ± 1.55^{ab}	41.1 ± 3.20	$\textbf{34.3} \pm \textbf{3.82}$	39.0 ± 4.41	$\textbf{34.8} \pm \textbf{1.95}$
C16:1n7	9.8 ± 2.24	3.8 ± 0.74	9.6 ± 3.26	11.1 ± 1.24	10.3 ± 3.69	7.2 ± 2.59	9.1 ± 1.79	10.6 ± 2.56
C18:1n9	15.3 ± 3.84	17.0 ± 9.57	15.7 ± 6.05	17.6 ± 3.91	16.8 ± 2.14	5.4 ± 1.53	21.5 ± 6.09	14.4 ± 0.72
C18:1n7	5.6 ± 2.03	2.8 ± 0.43	4.9 ± 1.60	6.2 ± 1.14	7.0 ± 1.87	14.8 ± 1.91	5.1 ± 0.70	6.7 ± 1.59
C20:1n9	0.4 ± 0.23	0.8 ± 0.10	0.6 ± 0.25	0.5 ± 0.23	0.6 ± 0.18	1.1 ± 0.34	0.8 ± 0.33	0.5 ± 0.20
S MUFA	30.9 ± 4.06	$\textbf{24.4} \pm \textbf{9.41}$	30.9 ± 7.46	$\textbf{36.0} \pm \textbf{1.98}$	$\textbf{34.8} \pm \textbf{7.29}$	28.7 ± 4.34	$\textbf{36.6} \pm \textbf{7.53}$	$\textbf{32.2} \pm \textbf{4.16}$
C16:4n1	1.3 ± 0.00	Ne	1.2 ± 0.29	Ne	Ne	Ne	0.1 ± 0.05	Ne
C16:2n4	0.3 ± 0.00	0.3 ± 0.04	0.4 ± 0.11	0.2 ± 0.09	0.3 ± 0.05	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.07	0.2 ± 0.09
C16:3n4	0.9 ± 0.19^{ab}	$0.5\pm0.17^{\rm a}$	1.0 ± 0.07^{b}	1.0 ± 0.34^{ab}	0.8 ± 0.17	0.7 ± 0.18	1.2 ± 0.34	1.1 ± 0.23
Σ PUFA C16	1.5 ± 1.15^{ab}	$0.7 \pm 0.25^{\rm a}$	2.4 ± 0.03^{b}	1.2 ± 0.32^{ab}	1.1 ± 0.20	1.0 ± 0.27	1.5 ± 0.56	1.3 ± 0.17
C18:3n3	3.0 ± 0.00	$2.0 \pm 0.70 *$	2.4 ± 0.16	$2.2 \pm 0.45*$	3.4 ± 0.80	4.9 ± 1.14 **	4.1 ± 1.64	$6.4 \pm 2.00 **$
C18:4n3	0.9 ± 0.34	0.3 ± 0.07	0.3 ± 0.02	0.4 ± 0.09	0.5 ± 0.16	0.2 ± 0.08	0.6 ± 0.25	0.9 ± 0.4
C20:3n3	0.3 ± 0.06	0.5 ± 0.10	0.4 ± 0.05	0.4 ± 0.21	0.5 ± 0.27	0.9 ± 0.17	0.6 ± 0.17	1.1 ± 0.09
C20:4n3	1.6 ± 0.89	4.3 ± 2.41	1.6 ± 1.76	0.3 ± 0.01	0.7 ± 0.44^{a}	4.9 ± 2.05^{b}	0.6 ± 0.23^a	0.9 ± 0.36^{a}
C20:5n3	0.9 ± 0.43	0.6 ± 0.32	0.5 ± 0.09	1.3 ± 0.12	1.9 ± 1.09	2.5 ± 0.99	1.9 ± 0.64	2.8 ± 0.87
C22:5n3	0.7 ± 0.19	0.8 ± 0.22	0.5 ± 0.00	0.7 ± 0.18	0.6 ± 0.41	1.5 ± 0.36	0.9 ± 0.34	1.7 ± 0.68
C22:6n3	2.6 ± 1.03	3.9 ± 1.78	2.4 ± 0.22	3.5 ± 0.69	4.6 ± 2.93	5.5 ± 2.91	3.7 ± 2.04	6.6 ± 3.18
Σ PUFA n3	8.4 ± 2.00	$12.2 \pm 3.17*$	$\textbf{7.3} \pm \textbf{0.81}$	$9.0 \pm 0.37*$	11.0 ± 6.39^{a}	$20.1 \pm 4.70^{b**}$	12.2 ± 3.79^{a}	20.3 ± 6.51^{ab}
Σ PUFA C18 n3	2.5 ± 1.31	$2.2 \pm 0.80*$	2.5 ± 0.03	$2.9 \pm 0.56*$	$\textbf{3.9} \pm \textbf{0.85}$	5.0 ± 1.09**	4.6 ± 1.87	$7.3 \pm 2.37^{b**}$
Σ PUFA C20-22 n3	5.9 ± 2.80	10.0 ± 2.89	4.8 ± 0.84	5.9 ± 0.94	7.1 ± 4.89^{a}	15.0 ± 4.81^{b}	7.6 ± 2.81^{a}	13.0 ± 5.51^{ab}
C20-22/C18 n3	$4.3 \pm 0.98^{\mathrm{a}}$	5.1 ± 1.96^{a}	1.9 ± 0.36^{b}	2.1 ± 0.80^{ab}	1.7 ± 1.45	3.2 ± 1.64	$\textbf{1.8} \pm \textbf{1.10}$	$\boldsymbol{1.9 \pm 0.82}$
C18:2n6cis	$3.7\pm1.19^{\rm a}$	7.3 ± 2.29^{b} *	4.6 ± 0.25^a	5.1 ± 1.11^{a}	3.5 ± 0.45	$3.6 \pm 0.80 **$	2.9 ± 0.74	3.9 ± 0.56
C18:3n6	0.5 ± 0.19	1.5 ± 0.55	Ne	0.4 ± 0.13	0.5 ± 0.31	1.1 ± 0.27	0.4 ± 0.21	0.5 ± 0.29

Apêndice 3: Perfil de ácidos graxos (%) dos triacilgliceróis hepáticos das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20:2n6	1.3 ± 1.10	0.8 ± 0.20	1.9 ± 0.56	0.5 ± 0.15	0.6 ± 0.26	0.7 ± 0.19	0.6 ± 0.25	0.4 ± 0.13
C20:3n6	0.5 ± 0.19	1.0 ± 0.43	0.7 ± 0.00	0.4 ± 0.12	0.4 ± 0.23	0.6 ± 0.16	0.4 ± 0.09	0.6 ± 0.21
C20:4n6	3.3 ± 2.22	$6.8 \pm 3.10*$	2.6 ± 2.07	1.6 ± 0.30	2.8 ± 2.34	$3.6 \pm 1.96 **$	2.6 ± 2.12	2.0 ± 0.76
C22:2n6	0.9 ± 0.82	1.2 ± 0.80	1.7 ± 0.11	Ne	0.2 ± 0.07	2.4 ± 1.11	0.4 ± 0.29	0.4 ± 0.39
C22:4n6	4.2 ± 2.87^{a} *	10.6 ± 3.42^{b} *	$0.5\pm0.08^{\text{a}}$	0.6 ± 0.57^{a}	0.4 ± 0.16 **	Ne**	0.5 ± 0.19	0.6 ± 0.46
C22:5n6	0.6 ± 0.67	0.4 ± 0.34	2.1 ± 0.21	0.3 ± 0.10	0.3 ± 0.16	0.3 ± 0.16	0.3 ± 0.27	Ne
S PUFA n6	14.1 ± 4.78^{a}	$29.6 \pm 5.17^{b*}$	12.4 ± 3.34^{a}	8.7 ± 1.16^{a}	8.8 ± 3.22**	$12.3 \pm 2.46^{**}$	$\textbf{8.0} \pm \textbf{2.83}$	8.4 ± 1.79
Σ PUFA C18 n6	4.6 ± 1.88^{a}	$8.8 \pm 1.90^{b*}$	4.6 ± 0.25^{a}	5.4 ± 1.00^{b}	$\textbf{4.2} \pm \textbf{0.49}$	$4.7 \pm 0.79^{**}$	3.2 ± 0.74	$\textbf{4.3} \pm \textbf{0.57}$
Σ PUFA C20-22 n6	9.5 ± 4.10^{a} *	$20.8 \pm 6.10^{b*}$	7.8 ± 3.09^{a}	3.7 ± 1.13^{a}	4.7 ± 2.09**	$7.6 \pm 2.51^{**}$	4.7 ± 2.47	4.0 ± 1.64
C20-22/C18n6	2.0 ± 0.71^{a}	$2.5 \pm \mathbf{1.00^a}$	1.7 ± 0.58^{ab}	0.6 ± 0.29^{b}	1.1 ± 0.75	1.7 ± 0.71	$\textbf{1.5} \pm \textbf{0.80}$	0.9 ± 0.36
Σ PUFA t	$22.6 \pm 10.12^{\rm a}$	$42.5 \pm 8.36^{b}*$	21.1 ± 4.18^{a}	$18.4 \pm 1.23^{\rm a}$	$20.9 \pm 7.38^{\mathrm{a}}$	$33.4 \pm 5.80^{b**}$	$21.7 \pm 5.82^{\mathrm{ab}}$	$30.0 \pm 7.97^{\mathrm{ab}}$
n3/n6	$0.5 \pm 0.20*$	$0.4 \pm 0.05*$	$0.6 \pm 0.10^{*}$	$1.0 \pm 0.17*$	$1.2 \pm 0.42^{**}$	$1.7 \pm 0.54^{**}$	$1.6 \pm 0.30^{**}$	$2.4 \pm 0.44^{**}$
EPA/ARA	0.3 ± 0.05	$\textbf{0.1} \pm \textbf{0.04}$	$\textbf{0.2} \pm \textbf{0.16}$	$0.7 \pm 0.06*$	0.8 ± 0.39	$\textbf{0.8} \pm \textbf{0.47}$	$\boldsymbol{0.9 \pm 0.41}$	$1.4 \pm 0.24^{**}$
DHA/ARA	0.8 ± 0.33	$0.6 \pm 0.00^{*}$	1.3 ± 0.96	2.3 ± 0.25	1.7 ± 0.86	1.7 ± 0.99**	1.5 ± 0.47	3.1 ± 1.17

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ PUFA t, Σ PUFA n3, Σ PUFA n6, Σ PUFA C16, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA e DHA são as somatórias e razões de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico e docosahexaenoico. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

EA (0/)		Pont	e Nova			B	illings	
FA (70)	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
C15:0	0.6 ± 0.33	0.6 ± 0.07	0.9 ± 0.59	0.2 ± 0.07	0.3 ± 0.08	0.4 ± 0.14	0.6 ± 0.14	0.3 ± 0.06
C15:0iso	0.3 ± 0.14	Ne	Ne	Ne	0.3 ± 0.15	0.3 ± 0.25	0.6 ± 0.29	0.2 ± 0.00
C17:0anteiso	$0.3 \pm 0.13*$	0.5 ± 0.35	Ne	Ne	Ne**	0.2 ± 0.06	Ne	Ne
C18:0iso	0.4 ± 0.00^{a} *	$0.5\pm0.12^{\rm a}$	Ne ^b	Ne ^b	Ne**	0.4 ± 0.16	Ne	0.2 ± 0.00
C18:0anteiso	Ne ^b	1.0 ± 0.37^{a} *	$0.4\pm0.34^{\mathrm{b}}$	$0.4\pm0.10^{\mathrm{b}}$	Ne	Ne**	Ne	0.3 ± 0.07
ΣOFA - BFA	$1.7 \pm 0.61^{ab}*$	$2.8 \pm 1.27^{a_{*}}$	1.3 ± 0.25^{ab}	0.9 ± 0.33^{b}	$0.7 \pm 0.25^{**}$	$1.4 \pm 0.64^{**}$	1.3 ± 0.51	$\boldsymbol{0.9 \pm 0.26}$
C14:0	0.7 ± 0.06	0.3 ± 0.09	0.8 ± 0.42	0.2 ± 0.05	0.6 ± 0.02	0.5 ± 0.18	1.6 ± 1.02	0.3 ± 0.07
C16:0	23.0 ± 3.04	15.1 ± 3.67	22.8 ± 6.89	9.5 ± 1.81	15.6 ± 1.07	16.9 ± 4.30	24.9 ± 3.79	12.1 ± 5.19
C18:0	20.1 ± 3.18	18.2 ± 5.06	15.3 ± 4.28	21.3 ± 2.39	20.2 ± 0.17	23.2 ± 5.93	15.9 ± 3.26	25.0 ± 6.47
C20:0	0.3 ± 0.00	0.4 ± 0.13	0.6 ± 0.29	0.3 ± 0.33	0.1 ± 0.02	0.4 ± 0.19	0.5 ± 0.27	0.3 ± 0.12
Σ SFA	44.6 ± 6.53	$\textbf{34.9} \pm \textbf{8.50}$	39.6 ± 11.29	31.8 ± 1.41	36.6 ± 0.90	41.9 ± 7.56	43.8 ± 2.30	38.3 ± 11.15
C16:1n7	4.0 ± 0.02	1.6 ± 0.45	3.5 ± 1.64	1.2 ± 0.37	3.3 ± 0.51	1.7 ± 0.55	5.5 ± 2.14	1.7 ± 0.46
C18:1n9	13.3 ± 2.06^{a}	9.2 ± 2.75^{b}	$11.4 \pm 3.35^{ab}*$	8.0 ± 2.24^{b}	11.2 ± 1.04^{a}	$9.3\pm2.37^{\rm a}$	$17.6 \pm 4.65^{b**}$	9.1 ± 3.08^{a}
C18:1n7	6.1 ± 3.09	2.8 ± 0.76	4.3 ± 1.52	3.6 ± 0.83	4.9 ± 0.57	3.9 ± 1.25	5.2 ± 0.48	3.9 ± 0.94
C20:1n9	0.3 ± 0.13	0.6 ± 0.20	0.3 ± 0.19	0.3 ± 0.12	0.2 ± 0.05	0.7 ± 0.32	0.8 ± 0.43	0.2 ± 0.03
S MUFA	23.6 ± 5.30^{a}	14.7 ± 3.58^{b}	$19.5 \pm 7.32^{ab}*$	13.2 ± 2.71^{b}	19.5 ± 2.17^{a}	15.7 ± 3.38^{a}	$29.4 \pm 6.90^{b**}$	14.9 ± 4.41^{a}
C16:2n4	Ne	0.3 ± 0.09	0.4 ± 0.07	0.2 ± 0.03	0.1 ± 0.02	0.2 ± 0.08	0.4 ± 0.22	0.2 ± 0.12
C16:3n4	0.6 ± 0.32^{ab}	0.3 ± 0.01^{a}	0.6 ± 0.39^{b}	0.3 ± 0.13^{a}	0.3 ± 0.05^{a}	0.3 ± 0.16^{a}	0.9 ± 0.36^{b}	0.4 ± 0.18^{a}
Σ PUFA C16	0.6 ± 0.32^{ab}	0.5 ± 0.23^{a}	1.0 ± 0.46^{b}	0.4 ± 0.11^{a}	0.4 ± 0.08^{a}	0.6 ± 0.17^{a}	1.1 ± 0.10^{b}	0.6 ± 0.30^{a}
C18:3n3	0.5 ± 0.09^{a} *	$0.9 \pm 0.16^{\circ}$	0.9 ± 0.15^{ab}	0.7 ± 0.17^{ab} *	$1.5 \pm 0.28 **$	1.5 ± 0.65	2.3 ± 0.70	$1.3 \pm 0.62 **$
C18:4n3	Ne ^a	$3.1 \pm 0.95^{b*}$	0.5 ± 0.42^{a}	0.1 ± 0.03^{a}	0.1 ± 0.01	$0.2 \pm 0.15^{**}$	0.3 ± 0.08	0.2 ± 0.08
C20:3n3	0.3 ± 0.13	0.3 ± 0.10	0.4 ± 0.22	0.5 ± 0.12	0.5 ± 0.08	0.6 ± 0.22	0.6 ± 0.28	0.7 ± 0.19
C20:4n3	0.3 ± 0.17	0.4 ± 0.22	0.4 ± 0.10	0.3 ± 0.09	0.6 ± 0.04	0.4 ± 0.20	0.5 ± 0.11	0.4 ± 0.12
C20:5n3	2.6 ± 0.63	1.2 ± 0.64	1.7 ± 0.18	4.2 ± 1.18	6.4 ± 0.34	4.3 ± 1.31	2.7 ± 1.44	5.6 ± 2.26
C22:5n3	1.3 ± 0.56	1.8 ± 0.32	1.3 ± 0.55	2.3 ± 0.33	1.9 ± 0.31	2.0 ± 0.85	1.1 ± 0.42	2.5 ± 2.00
C22:6n3	11.7 ± 7.66^{a}	13.0 ± 5.24^{a}	12.1 ± 3.19^{a}	20.7 ± 2.02^{b}	17.3 ± 1.94^{a}	14.0 ± 4.87^{a}	7.5 ± 5.29^{b}	18.7 ± 8.29^{a}
Σ PUFA n3	16.7 ± 8.46	22.0 ± 9.01	17.4 ± 9.81	28.7 ± 2.72	28.4 ± 1.74	$\textbf{22.8} \pm \textbf{7.39}$	14.9 ± 7.37	29.4 ± 12.01
Σ PUFA C18 n3	0.5 ± 0.09^{a} *	$3.0 \pm 1.10^{b*}$	1.5 ± 0.57^{ab}	$0.7 \pm 0.24^{a*}$	$1.6 \pm 0.27 **$	$1.6 \pm 0.63^{**}$	2.6 ± 0.73	$1.5 \pm 0.67 **$
Σ PUFA C20-22 n3	$16.2 \pm 10.54^{\rm a}$	$19.0 \pm 7.24^{\rm a}$	$15.9 \pm 9.24^{\rm a}$	27.9 ± 2.69^{b}	26.7 ± 2.01^{a}	21.3 ± 7.20^{a}	12.3 ± 5.77^{b}	27.9 ± 11.41^{a}
C20-22/C18n3	35.4 ± 20.70	8.4 ± 5.87	10.2 ± 2.27	41.4 ± 15.38	16.6 ± 3.98	15.4 ± 7.11	5.6 ± 4.42	18.8 ± 4.91
C18:2n6cis	2.4 ± 1.18^{a}	$5.6 \pm 2.00^{b*}$	3.2 ± 0.15^{bc}	3.2 ± 1.07^{ac} *	2.2 ± 0.47^{ab}	2.4 ± 0.79^{a}	2.6 ± 0.67^{ab}	$1.3 \pm 0.73^{b**}$
C18:3n6	0.5 ± 0.11	1.6 ± 0.20	2.0 ± 0.28	0.7 ± 0.39	0.3 ± 0.06^a	1.8 ± 0.49^{b}	1.1 ± 0.22^{b}	1.0 ± 0.49^{b}
C20:2n6	0.4 ± 0.12	1.0 ± 0.00	1.0 ± 0.22	0.5 ± 0.14	0.3 ± 0.05	0.5 ± 0.07	0.6 ± 0.46	0.4 ± 0.14

Apêndice 4: Perfil de ácidos graxos (%) dos fosfolipídios hepáticos das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20:3n6	0.6 ± 0.14	1.1 ± 0.07	1.2 ± 0.51	1.0 ± 0.24	0.6 ± 0.17	0.5 ± 0.14	0.4 ± 0.09	0.4 ± 0.10
C20:4n6	$7.6\pm2.80^{\rm a}$	12.3 ± 2.29^{ab}	11.1 ± 7.02^{ab} *	17.4 ± 2.06^{b} *	9.6 ± 0.25^{a}	9.6 ± 3.10^{a}	$3.9 \pm 1.99^{b**}$	11.1 ± 3.30^{a}
C22:4n6	0.6 ± 0.28	3.3 ± 2.76	2.3 ± 1.80	2.2 ± 0.92	0.5 ± 0.06	1.8 ± 0.81	0.7 ± 0.20	1.5 ± 0.7
S PUFA n6	$12.8 \pm 2.30^{\rm a}$	$25.2 \pm 2.18^{b*}$	$20.9 \pm 9.68^{ab}*$	$25.1 \pm 2.84^{b*}$	14.5 ± 0.63^{ab}	$17.4 \pm 3.65^{a} $	$9.4 \pm 2.44^{b**}$	$15.8 \pm 4.23^{ab} **$
Σ PUFA C18 n6	2.9 ± 1.29^{a}	$7.2 \pm 2.19^{b*}$	$5.3\pm0.13^{\rm bc}$	$4.0 \pm 0.90^{\mathrm{ac}}$	2.5 ± 0.41^{ab}	4.2 ± 1.01^{a}	$3.7 \pm 0.87^{\mathrm{ab}}$	$2.4 \pm 0.77^{b**}$
Σ PUFA C20-22 n6	9.9 ± 3.59^{a}	18.0 ± 4.37^{ab}	$15.6 \pm 8.55^{ab}*$	$21.1 \pm 2.90^{b*}$	$12.0\pm0.23^{\rm a}$	13.2 ± 3.46^{a}	$5.7 \pm 2.71^{b**}$	$13.5 \pm 3.90^{a_{**}}$
C20-22/C18n6	4.0 ± 3.01	$\textbf{2.8} \pm \textbf{1.60}$	2.9 ± 1.74	5.6 ± 1.66	$\textbf{4.8} \pm \textbf{0.68}$	3.3 ± 1.11	1.7 ± 1.23	6.2 ± 3.00
Σ PUFA t	$30.1 \pm 10.44^{\rm a}$	$47.6 \pm 10.95^{\rm a}$	39.3 ± 15.03^{a}	54.1 ± 3.03^{b}	$43.3\pm1.03^{\rm a}$	$40.8 \pm 9.82^{\rm a}$	25.4 ± 9.66^{b}	$\textbf{45.8} \pm \textbf{15.67}^{\mathrm{a}}$
n3/n6	1.2 ± 0.59	$\boldsymbol{0.9 \pm 0.27}$	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.09}$	1.2 ± 0.21	2.0 ± 0.21	$\textbf{1.3} \pm \textbf{0.36}$	1.5 ± 0.38	$\textbf{1.8} \pm \textbf{0.44}$
EPA/ARA	$\textbf{0.4} \pm \textbf{0.05}$	0.1 ± 0.05	$\textbf{0.2} \pm \textbf{0.10}$	$\boldsymbol{0.2 \pm 0.10}$	0.7 ± 0.05	$\textbf{0.5} \pm \textbf{0.15}$	$\textbf{0.7} \pm \textbf{0.03}$	0.5 ± 0.10
DHA/ARA	1.4 ± 0.76	1.0 ± 0.23	1.1 ± 0.06	1.2 ± 0.18	1.8 ± 0.25	$\textbf{1.5} \pm \textbf{0.70}$	1.7 ± 0.56	1.6 ± 0.55
UI	164.0 ± 68.55	216.3 ± 57.12	190.9 ± 84.46	266.6 ± 14.68	227.6 ± 7.26	201.8 ± 47.70	137.8 ± 45.68	235.9 ± 76.17

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ PUFA t, Σ PUFA n3, Σ PUFA n6, Σ PUFA C16, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA, DHA e UI são as somatórias e razões de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico e índice de insaturação. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

EA (0/)		Ponte N	ova			Bill	ings	
FA (%)	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
C15:0	1.2 ± 0.43	1.6 ± 0.36	1.1 ± 0.63	0.6 ± 0.02	0.7 ± 0.03	0.9 ± 0.20	0.6 ± 0.12	0.6 ± 0.15
C15:0iso	0.9 ± 0.40	0.8 ± 0.35	0.5 ± 0.13	0.6 ± 0.05	1.4 ± 0.51	0.9 ± 0.27	0.8 ± 0.19	0.9 ± 0.35
C15:0anteiso	Ne	0.7 ± 0.46	0.3 ± 0.19	0.7 ± 0.15	0.3 ± 0.07	0.5 ± 0.27	Ne	0.5 ± 0.11
C17:0anteiso	Ne ^a	1.0 ± 0.65^{b}	Ne ^a	0.8 ± 0.37^{ab}	Ne ^a	1.0 ± 0.56^{b}	NeARA	Ne ^a
C18:0anteiso	1.1 ± 0.33^{a}	1.4 ± 0.74^{a}	0.6 ± 0.25^{b}	$0.8\pm0.06^{\mathrm{b}}$	0.3 ± 0.10^a	1.4 ± 0.69^{b}	Ne ^a	Ne ^a
C20:0iso	1.5 ± 0.72	Ne	Ne	Ne	Ne ^a	2.1 ± 0.69^{b}	Ne ^a	Ne ^a
ΣOFA - BFA	$2.6 \pm \mathbf{0.82^a}$	$7.2 \pm \mathbf{2.48^{b}}$	$2.1\pm0.41^{\rm a}$	3.6 ± 0.04^{a}	$\textbf{3.3} \pm \textbf{0.84}^{a}$	6.4 ± 1.92^{b}	1.5 ± 0.33^{a}	2.2 ± 0.61^{a}
C14:0	2.3 ± 1.06	1.9 ± 0.00	1.5 ± 0.55	1.6 ± 0.64	3.7 ± 0.57	2.2 ± 0.47	2.0 ± 0.23	2.6 ± 0.49
C16:0	$19.7 \pm 4.61*$	19.2 ± 1.99	16.3 ± 5.65	19.4 ± 1.18	27.5 ± 3.88^{a}	19.8 ± 1.48^{b}	19.5 ± 1.56^{b}	19.8 ± 0.91^{b}
C18:0	15.0 ± 6.19^{a}	10.6 ± 0.60^{b}	16.7 ± 6.66^{ab}	10.5 ± 4.44^{b}	10.0 ± 3.31	10.1 ± 2.42	10.2 ± 2.41	8.1 ± 0.41
C20:0	Ne	0.3 ± 0.00	0.3 ± 0.05	0.6 ± 0.09	0.4 ± 0.09	0.4 ± 0.14	0.4 ± 0.14	0.4 ± 0.06
Σ SFA	$37.1 \pm 2.09^{a_{*}}$	31.8 ± 2.78^{b}	34.6 ± 1.57^{ab}	32.5 ± 5.50^{ab}	$41.4 \pm 3.85^{a_{**}}$	32.5 ± 2.02^{b}	32.1 ± 0.68^{b}	30.8 ± 1.50^{b}
C16:1n7	6.5 ± 1.82	4.9 ± 0.40	4.4 ± 1.72	4.8 ± 0.64	11.9 ± 2.21^{a}	6.3 ± 1.85^{b}	6.5 ± 1.65^{b}	7.7 ± 2.05^{b}
C18:1n9	13.6 ± 3.34^{a} *	14.4 ± 3.07^{a}	12.5 ± 3.13^{a} *	25.8 ± 0.97^{b} *	17.3 ± 2.35^{a}	13.4 ± 1.81^{b}	17.0 ± 1.85^{a}	16.1 ± 2.11^{a}
C18:1n7	3.5 ± 1.14	3.4 ± 0.48	3.8 ± 0.39	3.6 ± 0.20	7.9 ± 0.96	3.7 ± 0.69	4.5 ± 0.63	4.7 ± 0.63
C20:1n9	Ne	1.0 ± 0.48	1.1 ± 0.81	1.1 ± 0.57	0.5 ± 0.21	0.9 ± 0.22	0.9 ± 0.26	0.6 ± 0.11
S MUFA	$23.7 \pm 3.98^{a}*$	23.7 ± 3.46^{a}	$21.3 \pm 4.41^{a_{*}}$	$35.3 \pm 0.03^{b*}$	37.7 ± 5.38^{a}	24.0 ± 3.72^{b}	$29.0 \pm 3.96^{b**}$	29.2 ± 4.71 ^b **
C16:4n1	1.3 ± 0.37^{a} *	Ne ^b	0.6 ± 0.35^{b}	1.2 ± 0.75^{ab}	Ne**	1.5 ± 0.28	0.6 ± 0.28	0.3 ± 0.08
C16:2n4	1.7 ± 0.29^{a} *	1.0 ± 0.54^{ab}	0.7 ± 0.02^{b}	1.0 ± 0.28^{ab}	0.3 ± 0.04 **	0.8 ± 0.31	0.6 ± 0.05	0.9 ± 0.35
C16:3n4	1.0 ± 0.33	0.8 ± 0.00	0.9 ± 0.14	0.6 ± 0.08	0.8 ± 0.21	0.7 ± 0.17	0.7 ± 0.12	0.8 ± 0.06
Σ PUFA C16	3.6 ± 1.19^{a} *	1.8 ± 0.54^{b}	1.8 ± 0.13^{b}	2.8 ± 0.55^{ab}	$1.0 \pm 0.24^{**}$	1.3 ± 0.47	1.0 ± 0.39	1.7 ± 0.34
C18:3n3	2.2 ± 1.01	$2.9 \pm 0.43*$	$2.6 \pm 1.86*$	$2.5 \pm 0.52*$	3.5 ± 0.96^{a}	$4.6 \pm 1.21^{a**}$	$5.9 \pm 0.92^{ab**}$	$7.1 \pm 0.84^{b**}$
C18:4n3	1.6 ± 0.89	1.5 ± 0.96	1.1 ± 0.48	0.6 ± 0.22	0.4 ± 0.09	1.6 ± 0.95	1.1 ± 0.13	1.4 ± 0.29
C20:3n3	Ne	1.0 ± 0.59	0.7 ± 0.05	0.4 ± 0.13	0.4 ± 0.28	0.8 ± 0.24	0.9 ± 0.27	1.1 ± 0.17
C20:4n3	1.4 ± 0.25	1.3 ± 1.01	0.5 ± 0.27	1.4 ± 0.64	0.5 ± 0.31	1.4 ± 0.82	0.9 ± 0.24	0.9 ± 0.14
C20:5n3	1.3 ± 0.18	1.0 ± 0.42	1.0 ± 0.23	0.7 ± 0.25	1.3 ± 1.09	2.0 ± 0.67	2.2 ± 0.57	2.4 ± 0.88
C22:5n3	1.6 ± 0.55	1.7 ± 0.02	2.7 ± 0.82	1.1 ± 0.62	0.5 ± 0.48	2.0 ± 0.67	2.5 ± 0.71	3.1 ± 0.63
C22:6n3	$8.8 \pm 4.13^*$	6.2 ± 0.99	12.2 ± 5.21^{a}	$4.1 \pm 2.19^*$	$3.0 \pm 1.81^{a_{**}}$	9.1 ± 4.09^{b}	11.2 ± 4.23^{b}	$10.9 \pm 4.10^{b**}$
ΣPUFA n3	$14.5 \pm 4.76^{ab}*$	$15.6 \pm 0.54^{ab}*$	20.2 ± 3.81^{a}	$10.6 \pm 3.09^{b*}$	8.7 ± 5.28^{a}	$21.5 \pm 3.25^{b**}$	24.5 ± 4.86^{b}	$26.9 \pm 4.42^{b**}$
Σ PUFA C18 n3	$\textbf{2.8} \pm \textbf{0.63}$	$4.4 \pm 0.47^{*}$	$3.7 \pm 1.86*$	$3.1 \pm 0.74*$	3.9 ± 1.03^{a}	$6.1 \pm 1.25^{b**}$	7.1 ± 0.86^{bc}	$8.5 \pm 0.55^{\circ}$
Σ PUFA C20-22 n3	$11.7 \pm 4.87*$	11.2 ± 1.01	16.5 ± 5.32	$7.6 \pm 3.83^*$	4.8 ± 2.23^{a}	15.4 ± 3.97^{b}	17.4 ± 5.61^{b}	$18.4 \pm 4.80^{b**}$
C20-22/C18n3	$\textbf{4.4} \pm \textbf{2.07}$	$\textbf{2.6} \pm \textbf{0.51}$	6.4 ± 4.58	$\textbf{2.7} \pm \textbf{0.88}$	1.1 ± 0.28	2.7 ± 1.37	2.6 ± 1.22	$\textbf{2.2} \pm \textbf{0.67}$
C18:2n6cis	5.4 ± 1.01	$7.2 \pm 1.82*$	$6.3 \pm 1.79*$	$6.9 \pm 0.60*$	4.1 ± 0.28	$3.2 \pm 0.69 **$	4.0 ± 0.73 **	$4.0 \pm 0.43 **$

Apêndice 5: Perfil de ácidos graxos (%) dos triacilgliceróis musculares das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C18:3n6	$1.4 \pm 0.34*$	3.2 ± 1.01	$2.6 \pm 1.05*$	1.2 ± 0.00	0.4 ± 0.29 **	2.0 ± 0.79	$1.4 \pm 0.40 **$	0.8 ± 0.18
C20:2n6	2.3 ± 1.10	1.8 ± 1.15	1.2 ± 0.36	1.8 ± 0.42	0.6 ± 0.31	1.6 ± 0.70	1.1 ± 0.36	0.9 ± 0.18
C20:3n6	0.4 ± 0.13	0.7 ± 0.02	0.7 ± 0.32	0.6 ± 0.18	0.3 ± 0.13	0.6 ± 0.21	0.6 ± 0.11	0.4 ± 0.11
C20:4n6	$4.8 \pm 2.00*$	$4.1 \pm 0.48*$	$7.7 \pm 3.05*$	1.6 ± 0.13	$2.1 \pm 1.46 **$	$2.1 \pm 0.83^{**}$	$2.5 \pm 0.89 **$	1.8 ± 0.46
C22:2n6	2.1 ± 0.97	1.1 ± 0.82	0.7 ± 0.13	1.3 ± 0.77	0.2 ± 0.02	1.5 ± 0.76	Ne	Ne
C22:4n6	$1.9 \pm 0.96*$	1.0 ± 0.27	1.8 ± 0.57	0.4 ± 0.17	0.3 ± 0.18 **	1.1 ± 0.51	1.1 ± 0.25	1.0 ± 0.48
C22:5n6	$1.4 \pm 0.62*$	1.0 ± 0.73	0.5 ± 0.28	1.3 ± 0.81	$0.2 \pm 0.06 **$	1.3 ± 0.63	0.4 ± 0.14	0.4 ± 0.07
ΣPUFA n6	$19.7 \pm 3.59^{ab}*$	$19.9 \pm 2.70^{ab}*$	$20.6 \pm 1.15^{a}*$	$15.2 \pm 1.80^{b}*$	$7.9 \pm 3.26^{a_{**}}$	$14.1 \pm 2.79^{b**}$	$11.0 \pm 1.17^{\mathrm{ab}**}$	$9.1 \pm 1.16^{a_{**}}$
Σ PUFA C18 n6	7.4 ± 1.99*	$10.3 \pm 0.19*$	$8.2 \pm 3.52*$	$8.1 \pm 0.60*$	$4.3 \pm 0.34 **$	$6.3 \pm 1.60 **$	$5.4 \pm 1.03^{**}$	$4.8 \pm 0.27 **$
Σ PUFA C20-22 n6	$12.3 \pm 4.72^*$	9.6 ± 2.50	$12.4 \pm 3.88*$	7.1 ± 2.48	$3.6 \pm 2.87^{**}$	7.8 ± 1.74	$5.6 \pm 0.68 ^{**}$	4.3 ± 1.26
C20-22/C18n6	1.9 ± 1.02	$\boldsymbol{0.9 \pm 0.23}$	$\textbf{2.2} \pm \textbf{1.88}$	$\boldsymbol{0.9 \pm 0.37}$	$\textbf{0.8} \pm \textbf{0.58}$	1.3 ± 0.40	1.1 ± 0.30	0.9 ± 0.29
Σ PUFA t	36.1 ± 5.20^{a} *	$37.3 \pm 3.77^{\rm a}$	41.5 ± 3.69^{a}	$27.4 \pm 4.77^{b*}$	$17.7 \pm 8.17^{a_{**}}$	36.9 ± 2.86^{b}	36.8 ± 3.52^{b}	$37.7 \pm 5.41^{b**}$
n3/n6	$\boldsymbol{0.7\pm0.28}$	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.08}$	1.0 ± 0.20	$0.7 \pm 0.12^{*}$	1.1 ± 0.41	1.6 ± 0.50	2.3 ± 0.64	$2.9 \pm 0.22^{**}$
EPA/ARA	0.6 ± 0.34	0.3 ± 0.13	$\textbf{0.1} \pm \textbf{0.04} \ast$	$0.4 \pm 0.12^{*}$	$\textbf{0.8} \pm \textbf{0.48}$	1.0 ± 0.32	1.0 ± 0.51 **	$1.3 \pm 0.25 **$
DHA/ARA	2.1 ± 0.59	1.5 ± 0.06	$1.6 \pm 0.25^*$	2.4 ± 1.14	1.8 ± 1.20	4.3 ± 1.46	4.7 ± 1.71**	5.9 ± 1.34

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ PUFA t, Σ PUFA n3, Σ PUFA n6, Σ PUFA C16, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA e DHA são as somatórias e razões de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico e docosahexaenoico. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

FA (9/)		Ponte	e Nova			Bill	ings	
FA (%)	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera
C15:0	0.4 ± 0.05	0.4 ± 0.11	0.4 ± 0.13	0.2 ± 0.06	0.3 ± 0.11	0.2 ± 0.07	0.2 ± 0.04	0.2 ± 0.01
C15:0anteiso	Ne	Ne	Ne	Ne	2.3 ± 0.05	Ne	Ne	Ne
C16:0iso	Ne	1.1 ± 0.80	1.9 ± 0.87	2.7 ± 0.57	1.1 ± 0.67	2.0 ± 0.55	2.1 ± 0.33	2.4 ± 0.35
C17:0anteiso	Ne*	0.3 ± 0.10	Ne	0.4 ± 0.06	7.3 ± 0.15^{a}	0.4 ± 0.11^{b}	Ne ^b	Ne ^b
C18:0iso	1.2 ± 0.55	0.5 ± 0.27	1.3 ± 0.00	Ne	0.6 ± 0.05	1.0 ± 0.29	Ne	1.6 ± 0.38
C18:0anteiso	Ne	Ne	1.0 ± 0.37	1.4 ± 0.23	Ne	Ne	1.2 ± 0.17	1.4 ± 0.27
ΣOFA - BFA	$\textbf{2.0} \pm \textbf{1.00*}$	$\textbf{2.0} \pm \textbf{1.06}$	3.5 ± 1.84	4.4 ± 0.63	$6.9 \pm 3.44^{a_{**}}$	3.4 ± 1.28^{b}	3.5 ± 0.41^{b}	4.4 ± 0.74^{ab}
C14:0	0.7 ± 0.13	0.4 ± 0.04	0.3 ± 0.12	0.3 ± 0.15	0.4 ± 0.17	0.4 ± 0.16	0.2 ± 0.06	0.4 ± 0.11
C16:0	15.9 ± 5.02^{a}	13.9 ± 1.50^{ab}	12.5 ± 1.53^{ab}	10.2 ± 1.63^{b}	13.8 ± 3.77	13.9 ± 1.84	11.5 ± 0.20	8.7 ± 0.79
C18:0	20.7 ± 6.21^{a}	17.5 ± 1.23^{ab}	14.5 ± 2.45^{b}	18.4 ± 1.88^{b}	17.0 ± 2.46	17.8 ± 1.55	15.6 ± 0.64	20.4 ± 0.97
C20:0	Ne	0.3 ± 0.06	0.3 ± 0.17	0.2 ± 0.04	Ne	0.3 ± 0.09	0.3 ± 0.10	Ne
Σ SFA	37.3 ± 10.18^{a}	32.0 ± 0.61^{ab}	27.8 ± 1.72^{b}	29.1 ± 1.44^{b}	31.2 ± 6.03	32.4 ± 1.81	27.7 ± 0.58	29.5 ± 0.67
C16:1n7	1.8 ± 0.19	1.4 ± 0.38	1.6 ± 0.23	1.2 ± 0.24	1.6 ± 0.51	1.6 ± 0.47	1.4 ± 0.48	1.3 ± 0.11
C18:1n9	7.7 ± 2.79	7.9 ± 0.57	7.2 ± 1.09	5.9 ± 0.92	5.8 ± 3.55^{a}	7.6 ± 0.92^{a}	7.1 ± 0.49^{ab}	5.1 ± 0.66^{b}
C18:1n7	2.9 ± 0.94	2.5 ± 0.14	2.4 ± 0.27	2.3 ± 0.27	4.6 ± 1.41^{ab}	3.1 ± 0.53^{a}	3.2 ± 0.39^{ab}	2.4 ± 0.18^{b}
C20:1n9	0.3 ± 0.05	0.5 ± 0.22	0.3 ± 0.09	0.5 ± 0.23	0.6 ± 0.04	0.6 ± 0.21	0.4 ± 0.09	0.2 ± 0.02
Σ MUFA	12.6 ± 3.87	12.3 ± 0.49	11.6 ± 1.21	9.8 ± 1.44	12.7 ± 2.17^{a}	12.8 ± 1.53^{a}	11.7 ± 1.57^{ab}	8.9 ± 0.98^{b}
C16:4n1	Ne	Ne	0.3 ± 0.22	0.4 ± 0.05	Ne	0.3 ± 0.10	0.3 ± 0.10	0.5 ± 0.01
C16:2n4	0.6 ± 0.15^{ab}	0.4 ± 0.13^{ab}	0.1 ± 0.19^{a}	0.9 ± 0.33^{b}	0.6 ± 0.10^{ab}	0.3 ± 0.08^{a}	Ne ^a	1.1 ± 0.23^{b}
C16:3n4	0.9 ± 0.23^{a}	0.6 ± 0.22^{ab}	0.2 ± 0.04^{b}	Ne ^b	Ne	0.3 ± 0.13	0.2 ± 0.03	Ne
Σ PUFA C16	1.0 ± 0.60^{a}	0.8 ± 0.45^{ab}	0.5 ± 0.39^{b}	$1.2\pm0.33^{\rm a}$	0.8 ± 0.29^{ab}	$0.8 \pm 0.20^{\rm a}$	0.5 ± 0.03^{a}	1.1 ± 0.23^{b}
C18:3n3	0.4 ± 0.13	0.6 ± 0.24	0.8 ± 0.35	0.6 ± 0.22	0.7 ± 0.33	1.1 ± 0.26	1.3 ± 0.32	0.9 ± 0.12
C18:4n3	$0.6 \pm 0.35*$	0.2 ± 0.00	0.3 ± 0.22	0.5 ± 0.15	$7.3 \pm 1.15^{a**}$	Ne ^b	0.3 ± 0.03^{b}	0.6 ± 0.07^{b}
C20:3n3	0.3 ± 0.00	0.3 ± 0.06	0.3 ± 0.09	0.4 ± 0.03	0.5 ± 0.18	0.5 ± 0.11	0.5 ± 0.13	0.5 ± 0.15
C20:4n3	0.2 ± 0.08	0.6 ± 0.16	0.5 ± 0.27	Ne	2.1 ± 1.88	0.4 ± 0.14	0.5 ± 0.09	0.3 ± 0.16
C20:5n3	1.7 ± 0.66	2.2 ± 1.15	2.3 ± 0.89	1.5 ± 0.43	2.4 ± 0.61	2.8 ± 0.42	3.5 ± 0.67	2.5 ± 0.25
C22:5n3	2.7 ± 1.30	2.5 ± 0.20	3.5 ± 1.10	3.5 ± 0.69	3.0 ± 1.39	3.7 ± 1.14	4.6 ± 1.08	4.7 ± 1.35
C22:6n3	24.2 ± 9.27	24.7 ± 2.77	$26.7 \pm 2.08*$	28.4 ± 2.41	20.8 ± 3.68^{a}	28.1 ± 3.10^{ab}	$29.9 \pm 2.68^{b**}$	30.6 ± 2.91^{b}
ΣPUFA n3	29.5 ± 10.69	33.4 ± 5.15	$33.6 \pm 2.69*$	34.7 ± 2.71	33.2 ± 2.68	36.5 ± 2.56	$40.7 \pm 1.84^{**}$	40.0 ± 1.73
Σ PUFA C18 n3	$0.8 \pm 0.26*$	0.7 ± 0.19	1.1 ± 0.37	1.1 ± 0.31	$4.4 \pm 3.96^{a**}$	$1.1 \pm 0.26^{\circ}$	$1.6 \pm 0.31^{\text{b}}$	$1.5 \pm 0.08^{\circ}$
Σ PUFA C20-22 n3	$\textbf{28.7} \pm \textbf{10.70}$	32.7 ± 4.99	$32.5 \pm 3.06*$	33.6 ± 2.99	28.8 ± 2.79^{a}	35.4 ± 2.68^{ab}	$39.0 \pm 2.09^{b**}$	38.5 ± 1.70^{b}
C20-22/C18n3	42.6 ± 21.70	48.8 ± 9.45	$\textbf{35.3} \pm \textbf{16.08}$	33.2 ± 10.52	16.9 ± 15.70	36.1 ± 13.27	24.7 ± 5.79	25.3 ± 1.51
C18:2n6cis	2.4 ± 0.60	$2.8 \pm 1.18*$	3.3 ± 1.27	2.6 ± 0.47	4.7 ± 2.47^{a}	$1.6 \pm 0.44^{\circ **}$	2.1 ± 0.68^{b}	1.6 ± 0.29^{b}

Apêndice 6: Perfil de ácidos graxos (%) dos fosfolipídios musculares das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C18:3n6	0.7 ± 0.42	1.2 ± 0.30	0.9 ± 0.13	1.2 ± 0.24	0.5 ± 0.25	1.0 ± 0.13	0.8 ± 0.09	1.3 ± 0.16
C20:2n6	1.0 ± 0.56	0.4 ± 0.12	0.4 ± 0.08	0.6 ± 0.08	0.5 ± 0.09	0.4 ± 0.10	0.4 ± 0.14	0.4 ± 0.09
C20:3n6	0.6 ± 0.14	0.7 ± 0.14	0.8 ± 0.34	0.7 ± 0.21	0.3 ± 0.16	0.5 ± 0.10	0.6 ± 0.05	0.4 ± 0.11
C20:4n6	$10.7 \pm 3.13*$	$11.6 \pm 2.14*$	$13.5 \pm 1.49*$	$11.7 \pm 0.84*$	7.1 ± 1.58**	$7.8 \pm 1.37 **$	$8.7 \pm 0.65 **$	8.9 ± 0.91 **
C22:2n6	Ne	0.6 ± 0.31	0.3 ± 0.08	Ne	0.2 ± 0.16	0.3 ± 0.05	Ne	Ne
C22:4n6	1.9 ± 1.15	2.3 ± 0.95	4.1 ± 0.19	4.0 ± 0.35	2.1 ± 0.30	2.9 ± 0.50	3.4 ± 0.55	3.4 ± 0.46
C22:5n6	3.6 ± 0.19	0.5 ± 0.44	0.2 ± 0.06	Ne	0.4 ± 0.04	0.5 ± 0.00	Ne	Ne
Σ PUFA n6	17.6 ± 3.55^{a}	$19.5 \pm 4.26^{ab}*$	$23.2 \pm 2.63^{b*}$	$20.8 \pm 1.76^{ab}*$	15.3 ± 2.29	$14.1 \pm 1.62^{**}$	$16.1 \pm 0.68^{**}$	$15.9 \pm 0.91 **$
Σ PUFA C18 n6	$\textbf{3.1} \pm \textbf{0.95}$	$\textbf{4.0} \pm \textbf{0.89}$	4.0 ± 1.13	$\textbf{3.8} \pm \textbf{0.66}$	5.2 ± 3.23^{a}	2.6 ± 0.41^{b}	3.0 ± 0.63^{b}	$2.9\pm0.31^{\rm b}$
Σ PUFA C18 n6 Σ PUFA C20-22 n6	$\begin{array}{c} 3.1 \pm 0.95 \\ 14.5 \pm 4.27 * \end{array}$	$\begin{array}{c} 4.0 \pm 0.89 \\ 15.6 \pm 3.46 * \end{array}$	4.0 ± 1.13 19.0 $\pm 1.92^*$	3.8 ± 0.66 $16.9 \pm 1.18*$	$5.2 \pm 3.23^{a} \\ 10.1 \pm 1.99^{**}$	$\begin{array}{c} 2.6 \pm 0.41^{\rm b} \\ 11.5 \pm 1.58^{**} \end{array}$	$\begin{array}{c} 3.0 \pm 0.63^{b} \\ 13.1 \pm 0.72^{**} \end{array}$	$\begin{array}{c} 2.9 \pm 0.31^{b} \\ 13.0 \pm 0.72^{**} \end{array}$
Σ PUFA C18 n6 Σ PUFA C20-22 n6 C20-22/C18n6	$\begin{array}{c} 3.1 \pm 0.95 \\ 14.5 \pm 4.27 * \\ 5.2 \pm 2.47 \end{array}$	$\begin{array}{c} 4.0 \pm 0.89 \\ 15.6 \pm 3.46 ^{*} \\ 3.9 \pm 0.40 \end{array}$	$\begin{array}{c} 4.0 \pm 1.13 \\ 19.0 \pm 1.92 * \\ 4.7 \pm 0.84 \end{array}$	$\begin{array}{c} 3.8 \pm 0.66 \\ 16.9 \pm 1.18 ^{*} \\ 4.5 \pm 0.59 \end{array}$	5.2 ± 3.23^{a} 10.1 ± 1.99** 3.0 ± 2.16	$\begin{array}{c} 2.6 \pm 0.41^{b} \\ 11.5 \pm 1.58^{**} \\ 4.5 \pm 0.96 \end{array}$	$\begin{array}{c} 3.0 \pm 0.63^{b} \\ 13.1 \pm 0.72^{**} \\ 4.6 \pm 1.13 \end{array}$	$\begin{array}{c} 2.9 \pm 0.31^{b} \\ 13.0 \pm 0.72^{**} \\ 4.5 \pm 0.44 \end{array}$
Σ PUFA C18 n6 Σ PUFA C20-22 n6 C20-22/C18n6 Σ PUFA t	$\begin{array}{c} 3.1 \pm 0.95 \\ 14.5 \pm 4.27 * \\ 5.2 \pm 2.47 \\ 48.1 \pm 12.86^{a} \end{array}$	$\begin{array}{c} 4.0 \pm 0.89 \\ 15.6 \pm 3.46 * \\ 3.9 \pm 0.40 \\ 53.7 \pm 1.30^{\rm ab} \end{array}$	$\begin{array}{c} 4.0 \pm 1.13 \\ 19.0 \pm 1.92 * \\ 4.7 \pm 0.84 \\ 56.6 \pm 2.49^{b} \end{array}$	$\begin{array}{c} 3.8 \pm 0.66 \\ 16.9 \pm 1.18 * \\ 4.5 \pm 0.59 \\ 56.4 \pm 1.35^{ab} \end{array}$	5.2 ± 3.23^{a} 10.1 ± 1.99** 3.0 ± 2.16 49.2 ± 3.73	$\begin{array}{c} 2.6 \pm 0.41^{\rm b} \\ 11.5 \pm 1.58^{**} \\ 4.5 \pm 0.96 \\ 51.1 \pm 2.84 \end{array}$	$\begin{array}{c} 3.0 \pm 0.63^{b} \\ 13.1 \pm 0.72^{**} \\ 4.6 \pm 1.13 \\ 56.9 \pm 1.42 \end{array}$	$\begin{array}{c} 2.9 \pm 0.31^{b} \\ 13.0 \pm 0.72^{**} \\ 4.5 \pm 0.44 \\ 57.0 \pm 1.55 \end{array}$
Σ PUFA C18 n6 Σ PUFA C20-22 n6 C20-22/C18n6 Σ PUFA t n3/n6	$\begin{array}{c} 3.1 \pm 0.95 \\ 14.5 \pm 4.27 * \\ 5.2 \pm 2.47 \\ 48.1 \pm 12.86^a \\ 1.6 \pm 0.48 * \end{array}$	$\begin{array}{c} 4.0 \pm 0.89 \\ 15.6 \pm 3.46 * \\ 3.9 \pm 0.40 \\ 53.7 \pm 1.30^{ab} \\ 1.8 \pm 0.77 \end{array}$	$\begin{array}{c} 4.0 \pm 1.13 \\ 19.0 \pm 1.92 * \\ 4.7 \pm 0.84 \\ 56.6 \pm 2.49^{b} \\ 1.6 \pm 0.44 * \end{array}$	$\begin{array}{c} 3.8 \pm 0.66 \\ 16.9 \pm 1.18 * \\ 4.5 \pm 0.59 \\ 56.4 \pm 1.35^{ab} \\ 1.7 \pm 0.28 * \end{array}$	5.2 ± 3.23^{a} 10.1 ± 1.99** 3.0 ± 2.16 49.2 ± 3.73 2.2 ± 0.37**	$\begin{array}{c} 2.6 \pm 0.41^{\rm b} \\ 11.5 \pm 1.58^{**} \\ 4.5 \pm 0.96 \\ 51.1 \pm 2.84 \\ 2.6 \pm 0.37 \end{array}$	$\begin{array}{c} 3.0 \pm 0.63^{b} \\ 13.1 \pm 0.72^{**} \\ 4.6 \pm 1.13 \\ 56.9 \pm 1.42 \\ 2.5 \pm 0.21^{**} \end{array}$	$\begin{array}{c} 2.9 \pm 0.31^{b} \\ 13.0 \pm 0.72^{**} \\ 4.5 \pm 0.44 \\ 57.0 \pm 1.55 \\ 2.5 \pm 0.21^{**} \end{array}$
Σ PUFA C18 n6 Σ PUFA C20-22 n6 C20-22/C18n6 Σ PUFA t n3/n6 EPA/ARA	$\begin{array}{c} 3.1 \pm 0.95 \\ 14.5 \pm 4.27 * \\ 5.2 \pm 2.47 \\ 48.1 \pm 12.86^a \\ 1.6 \pm 0.48 * \\ 0.2 \pm 0.06 \end{array}$	$\begin{array}{c} 4.0 \pm 0.89 \\ 15.6 \pm 3.46 * \\ 3.9 \pm 0.40 \\ 53.7 \pm 1.30^{ab} \\ 1.8 \pm 0.77 \\ 0.2 \pm 0.17 \end{array}$	$\begin{array}{c} 4.0 \pm 1.13 \\ 19.0 \pm 1.92^* \\ 4.7 \pm 0.84 \\ 56.6 \pm 2.49^b \\ 1.6 \pm 0.44^* \\ 0.1 \pm 0.04^* \end{array}$	$\begin{array}{c} 3.8 \pm 0.66 \\ 16.9 \pm 1.18^* \\ 4.5 \pm 0.59 \\ 56.4 \pm 1.35^{ab} \\ 1.7 \pm 0.28^* \\ 0.1 \pm 0.04^* \end{array}$	5.2 ± 3.23^{a} 10.1 ± 1.99** 3.0 ± 2.16 49.2 ± 3.73 2.2 ± 0.37** 0.3 ± 0.10	$\begin{array}{c} 2.6 \pm 0.41^{b} \\ 11.5 \pm 1.58^{**} \\ 4.5 \pm 0.96 \\ 51.1 \pm 2.84 \\ 2.6 \pm 0.37 \\ 0.4 \pm 0.10 \end{array}$	$\begin{array}{c} 3.0 \pm 0.63^{b} \\ 13.1 \pm 0.72^{**} \\ 4.6 \pm 1.13 \\ 56.9 \pm 1.42 \\ 2.5 \pm 0.21^{**} \\ 0.4 \pm 0.07^{**} \end{array}$	$\begin{array}{c} 2.9 \pm 0.31^b \\ 13.0 \pm 0.72^{**} \\ 4.5 \pm 0.44 \\ 57.0 \pm 1.55 \\ 2.5 \pm 0.21^{**} \\ 0.3 \pm 0.03^{**} \end{array}$
Σ PUFA C18 n6 Σ PUFA C20-22 n6 C20-22/C18n6 Σ PUFA t n3/n6 EPA/ARA DHA/ARA	$\begin{array}{c} 3.1 \pm 0.95 \\ 14.5 \pm 4.27 * \\ 5.2 \pm 2.47 \\ 48.1 \pm 12.86 ^{a} \\ 1.6 \pm 0.48 * \\ 0.2 \pm 0.06 \\ 2.2 \pm 0.68 \end{array}$	$\begin{array}{c} 4.0 \pm 0.89 \\ 15.6 \pm 3.46 * \\ 3.9 \pm 0.40 \\ 53.7 \pm 1.30^{ab} \\ 1.8 \pm 0.77 \\ 0.2 \pm 0.17 \\ 2.2 \pm 0.76 \end{array}$	$\begin{array}{c} 4.0 \pm 1.13 \\ 19.0 \pm 1.92 * \\ 4.7 \pm 0.84 \\ 56.6 \pm 2.49^{b} \\ 1.6 \pm 0.44 * \\ 0.1 \pm 0.04 * \\ 2.0 \pm 0.31 \end{array}$	$\begin{array}{c} 3.8 \pm 0.66 \\ 16.9 \pm 1.18^* \\ 4.5 \pm 0.59 \\ 56.4 \pm 1.35^{ab} \\ 1.7 \pm 0.28^* \\ 0.1 \pm 0.04^* \\ 2.4 \pm 0.40 \end{array}$	5.2 ± 3.23^{a} 10.1 ± 1.99** 3.0 ± 2.16 49.2 ± 3.73 2.2 ± 0.37** 0.3 ± 0.10 3.1 ± 1.00	$\begin{array}{c} 2.6 \pm 0.41^{\rm b} \\ 11.5 \pm 1.58^{**} \\ 4.5 \pm 0.96 \\ 51.1 \pm 2.84 \\ 2.6 \pm 0.37 \\ 0.4 \pm 0.10 \\ 3.7 \pm 0.76 \end{array}$	$\begin{array}{c} 3.0 \pm 0.63^{b} \\ 13.1 \pm 0.72^{**} \\ 4.6 \pm 1.13 \\ 56.9 \pm 1.42 \\ 2.5 \pm 0.21^{**} \\ 0.4 \pm 0.07^{**} \\ 3.5 \pm 0.47 \end{array}$	$\begin{array}{c} 2.9 \pm 0.31^b \\ 13.0 \pm 0.72^{**} \\ 4.5 \pm 0.44 \\ 57.0 \pm 1.55 \\ 2.5 \pm 0.21^{**} \\ 0.3 \pm 0.03^{**} \\ 3.5 \pm 0.59 \end{array}$

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ PUFA t, Σ PUFA n3, Σ PUFA n6, Σ PUFA C16, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA, DHA e UI são as somatórias e razões de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico e índice de insaturação. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

$\begin{array}{ c c c c c c c c c c c c c c c c c c c$	$ mavera \pm 0.18 \pm 0.68 Ne \pm 0.12 Ne \pm 0.13 \pm 0.92 \pm 1.04 \pm 4.37 \pm 0.67 $
C15:0 1.3 ± 0.29 1.6 ± 0.84 1.7 ± 0.79 1.4 ± 0.39 1.1 ± 0.28 0.8 ± 0.14 0.7 ± 0.19 0.9 C15:0iso 1.3 ± 0.66 0.7 ± 0.39 1.0 ± 0.48 1.2 ± 0.38 2.0 ± 0.69 1.1 ± 0.21 1.3 ± 0.35 2.3 C15:0anteiso 0.4 ± 0.22 0.2 ± 0.04 0.5 ± 0.35 0.5 ± 0.10 0.3 ± 0.03 0.2 ± 0.04 NeC16:0iso 0.5 ± 0.22 0.3 ± 0.02 0.5 ± 0.31 0.4 ± 0.10 0.4 ± 0.10 0.3 ± 0.04 0.2 ± 0.09 0.4 C20:0iso 0.3 ± 0.10 0.9 ± 0.80 NeNeNe 0.7 ± 0.07 1.2 ± 0.21 NeC17:1cis 0.2 ± 0.03 0.5 ± 0.28 0.7 ± 0.39 0.4 ± 0.19 0.4 ± 0.05 0.3 ± 0.11 0.2 ± 0.04 0.5 $\mathcal{S} OFA - BFA$ 3.9 ± 1.86 4.7 ± 1.04 4.3 ± 1.29 3.8 ± 0.83 4.6 ± 0.97 3.9 ± 0.75 2.5 ± 0.59 3.9 C14:0 5.6 ± 1.25 2.5 ± 0.07 4.2 ± 1.83 4.3 ± 1.15 5.1 ± 0.34 2.9 ± 0.63 3.4 ± 1.21 4.5 C16:0 27.5 ± 0.93 24.0 ± 0.57 24.2 ± 2.15 25.2 ± 2.03 27.9 ± 2.28 22.8 ± 1.24 21.8 ± 4.70 23.6 C18:0 4.3 ± 1.53 7.3 ± 0.50 7.0 ± 1.01 5.1 ± 1.49 4.7 ± 0.99 7.7 ± 0.33 4.1 C20:0 0.2 ± 0.11 0.3 ± 0.02 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.01 0.2 ± 0.05 0.3 ± 0.10 0.3 ± 0.90 0.2 C18:1n7 16.2 ± 2.91 $18.0 \pm$	± 0.18 ± 0.68 Ne ± 0.12 Ne ± 0.13 ± 0.92 ± 1.04 ± 4.37 ± 0.67
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	± 0.68 Ne ± 0.12 Ne ± 0.13 ± 0.92 ± 1.04 ± 4.37 ± 0.67
$ \begin{array}{c c c c c c c c c c c c c c c c c c c $	Ne ± 0.12 Ne ± 0.13 ± 0.92 ± 1.04 ± 4.37 ± 0.67
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	± 0.12 Ne ± 0.13 ± 0.92 ± 1.04 ± 4.37 ± 0.67
C20:0iso 0.3 ± 0.10 0.9 ± 0.80 NeNe 0.7 ± 0.07 1.2 ± 0.21 NeC17:1cis 0.2 ± 0.03 0.5 ± 0.28 0.7 ± 0.39 0.4 ± 0.19 0.4 ± 0.05 0.3 ± 0.11 0.2 ± 0.04 0.5 $\Sigma OFA - BFA$ 3.9 ± 1.86 4.7 ± 1.04 4.3 ± 1.29 3.8 ± 0.83 4.6 ± 0.97 3.9 ± 0.75 2.5 ± 0.59 3.9 C14:0 5.6 ± 1.25 2.5 ± 0.07 4.2 ± 1.83 4.3 ± 1.15 5.1 ± 0.34 2.9 ± 0.63 3.4 ± 1.21 4.5 C16:0 27.5 ± 0.93 24.0 ± 0.57 24.2 ± 2.15 25.2 ± 2.03 27.9 ± 2.28 22.8 ± 1.24 21.8 ± 4.70 23.6 C18:0 4.3 ± 1.53 7.3 ± 0.50 7.0 ± 1.01 5.1 ± 1.49 4.7 ± 0.99 7.7 ± 0.85 7.7 ± 0.33 4.1 C20:0 0.2 ± 0.11 0.3 ± 0.02 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.01 0.2 ± 0.05 0.3 ± 0.10 0.3 ± 0.09 0.2 ΣSFA 37.5 ± 1.57 34.2 ± 1.02 35.6 ± 1.73 34.7 ± 2.10 37.8 ± 1.87 34.0 ± 0.91 33.4 ± 5.79 32.4 C16:1n7 14.0 ± 2.92 6.8 ± 0.28 9.5 ± 0.75 11.1 ± 2.52 12.6 ± 2.30 8.0 ± 2.48 8.6 ± 3.03 11.4 C18:1n9 15.2 ± 2.91 18.0 ± 3.46 16.1 ± 2.85 17.4 ± 4.74 11.8 ± 4.96 15.5 ± 1.32 16.0 ± 2.55 13.2 C16:1n7 4.0 ± 0.07 0.7 ± 0.19 0.5 ± 0.23 0.4 ± 0.22 0.8 ± 0.20 0.7 ± 0.16 0.3 C18:1n9 0.2	Ne ± 0.13 ± 0.92 ± 1.04 ± 4.37 ± 0.67
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	± 0.13 ± 0.92 ± 1.04 ± 4.37 ± 0.67
$ \begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	± 0.92 ± 1.04 ± 4.37 ± 0.67
C14:0 5.6 ± 1.25 2.5 ± 0.07 4.2 ± 1.83 4.3 ± 1.15 5.1 ± 0.34 2.9 ± 0.63 3.4 ± 1.21 4.5 C16:0 27.5 ± 0.93 24.0 ± 0.57 24.2 ± 2.15 25.2 ± 2.03 27.9 ± 2.28 22.8 ± 1.24 21.8 ± 4.70 23.66 C18:0 4.3 ± 1.53 7.3 ± 0.50 7.0 ± 1.01 5.1 ± 1.49 4.7 ± 0.99 7.7 ± 0.85 7.7 ± 0.33 4.1 C20:0 0.2 ± 0.11 0.3 ± 0.02 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.01 0.2 ± 0.05 0.3 ± 0.10 0.3 ± 0.09 0.2 ΣSFA 37.5 ± 1.57 34.2 ± 1.02 35.6 ± 1.73 34.7 ± 2.10 37.8 ± 1.87 34.0 ± 0.91 33.4 ± 5.79 32.7 C16:1n7 14.0 ± 2.92 6.8 ± 0.28 9.5 ± 0.75 11.1 ± 2.52 12.6 ± 2.30 8.0 ± 2.48 8.6 ± 3.03 11.4 C18:1n9 15.2 ± 2.91 18.0 ± 3.46 16.1 ± 2.85 17.4 ± 4.74 11.8 ± 4.96 15.5 ± 1.32 16.0 ± 2.55 13.7 C18:1n7 6.0 ± 1.07 3.7 ± 0.19 4.7 ± 1.31 6.3 ± 1.17 8.6 ± 3.96 4.6 ± 1.08 5.0 ± 1.23 6.3 C20:1n9 0.2 ± 0.07 0.7 ± 0.19 0.5 ± 0.19 0.5 ± 0.23 0.4 ± 0.20 0.7 ± 0.16 0.3 $\Sigma MUFA$ 35.4 ± 3.27 29.2 ± 3.48 30.9 ± 1.60 35.3 ± 5.78 33.6 ± 3.72 29.2 ± 3.93 30.5 ± 6.87 31.32 C16:2n4 0.2 ± 0.16 0.2 ± 0.11 0.2 ± 0.19 0.2 ± 0.07 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.13 0.3 <t< th=""><th>± 1.04 ± 4.37 ± 0.67</th></t<>	± 1.04 ± 4.37 ± 0.67
C16:0 27.5 ± 0.93 24.0 ± 0.57 24.2 ± 2.15 25.2 ± 2.03 27.9 ± 2.28 22.8 ± 1.24 21.8 ± 4.70 23.0 C18:0 4.3 ± 1.53 7.3 ± 0.50 7.0 ± 1.01 5.1 ± 1.49 4.7 ± 0.99 7.7 ± 0.85 7.7 ± 0.33 4.1 C20:0 0.2 ± 0.11 0.3 ± 0.02 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.01 0.2 ± 0.05 0.3 ± 0.10 0.3 ± 0.09 0.2 $\mathcal{L}SFA$ 37.5 ± 1.57 34.2 ± 1.02 35.6 ± 1.73 34.7 ± 2.10 37.8 ± 1.87 34.0 ± 0.91 33.4 ± 5.79 32.7 C16:1n7 14.0 ± 2.92 6.8 ± 0.28 9.5 ± 0.75 11.1 ± 2.52 12.6 ± 2.30 8.0 ± 2.48 8.6 ± 3.03 11.4 C18:1n9 15.2 ± 2.91 18.0 ± 3.46 16.1 ± 2.85 17.4 ± 4.74 11.8 ± 4.96 15.5 ± 1.32 16.0 ± 2.55 13.7 C18:1n7 6.0 ± 1.07 3.7 ± 0.19 4.7 ± 1.31 6.3 ± 1.17 8.6 ± 3.96 4.6 ± 1.08 5.0 ± 1.23 6.3 C20:1n9 0.2 ± 0.07 0.7 ± 0.19 0.5 ± 0.19 0.5 ± 0.23 0.4 ± 0.22 0.8 ± 0.20 0.7 ± 0.16 0.3 $\mathcal{\Sigma} MUFA$ 35.4 ± 3.27 29.2 ± 3.48 30.9 ± 1.60 35.3 ± 5.78 33.6 ± 3.72 29.2 ± 3.93 30.5 ± 6.87 31.32 C16:2n4 0.2 ± 0.16 0.2 ± 0.11 0.2 ± 0.19 0.2 ± 0.07 0.2 ± 0.05 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.13 0.3 C16:3n4 1.1 ± 0.34 0.8 ± 0.20 1.0 ± 0.25 1.1 ± 0.34 0.9 ± 0.09 0.7 ± 0.18	$5 \pm 4.37 \pm 0.67$
C18:0 4.3 ± 1.53 7.3 ± 0.50 7.0 ± 1.01 5.1 ± 1.49 4.7 ± 0.99 7.7 ± 0.85 7.7 ± 0.33 4.1 C20:0 0.2 ± 0.11 0.3 ± 0.02 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.01 0.2 ± 0.05 0.3 ± 0.10 0.3 ± 0.09 0.2 ΣSFA 37.5 ± 1.57 34.2 ± 1.02 35.6 ± 1.73 34.7 ± 2.10 37.8 ± 1.87 34.0 ± 0.91 33.4 ± 5.79 32.7 C16:1n7 14.0 ± 2.92 6.8 ± 0.28 9.5 ± 0.75 11.1 ± 2.52 12.6 ± 2.30 8.0 ± 2.48 8.6 ± 3.03 11.6 C18:1n9 15.2 ± 2.91 18.0 ± 3.46 16.1 ± 2.85 17.4 ± 4.74 11.8 ± 4.96 15.5 ± 1.32 16.0 ± 2.55 13.7 C18:1n7 6.0 ± 1.07 3.7 ± 0.19 4.7 ± 1.31 6.3 ± 1.17 8.6 ± 3.96 4.6 ± 1.08 5.0 ± 1.23 6.3 C20:1n9 0.2 ± 0.07 0.7 ± 0.19 0.5 ± 0.19 0.5 ± 0.23 0.4 ± 0.22 0.8 ± 0.20 0.7 ± 0.16 0.3 $\Sigma MUFA$ 35.4 ± 3.27 29.2 ± 3.48 30.9 ± 1.60 35.3 ± 5.78 33.6 ± 3.72 29.2 ± 3.93 30.5 ± 6.87 31.3 C16:2n4 0.2 ± 0.16 0.2 ± 0.11 0.2 ± 0.19 0.2 ± 0.07 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.13 0.3 C16:3n4 1.1 ± 0.34 0.8 ± 0.20 1.0 ± 0.25 1.1 ± 0.34 0.9 ± 0.09 0.7 ± 0.08 0.9 ± 0.15 1.2 $\Sigma PUFA C16$ 1.4 ± 0.51 1.2 ± 0.30 1.2 ± 0.43 1.3 ± 0.40 1.3 ± 0.09 0.9 ± 0.18 1.4 ± 0.29 <	± 0.67
C20:0 0.2 ± 0.11 0.3 ± 0.02 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.01 0.2 ± 0.05 0.3 ± 0.10 0.3 ± 0.09 0.2 ± 0.09 Σ SFA37.5 \pm 1.57 34.2 ± 1.02 35.6 ± 1.73 34.7 ± 2.10 37.8 ± 1.87 34.0 ± 0.91 33.4 ± 5.79 32.3 C16:1n7 14.0 ± 2.92 6.8 ± 0.28 9.5 ± 0.75 11.1 ± 2.52 12.6 ± 2.30 8.0 ± 2.48 8.6 ± 3.03 11.4 C18:1n9 15.2 ± 2.91 18.0 ± 3.46 16.1 ± 2.85 17.4 ± 4.74 11.8 ± 4.96 15.5 ± 1.32 16.0 ± 2.55 13.2 C18:1n7 6.0 ± 1.07 3.7 ± 0.19 4.7 ± 1.31 6.3 ± 1.17 8.6 ± 3.96 4.6 ± 1.08 5.0 ± 1.23 6.3 C20:1n9 0.2 ± 0.07 0.7 ± 0.19 0.5 ± 0.19 0.5 ± 0.23 0.4 ± 0.22 0.8 ± 0.20 0.7 ± 0.16 0.3 Σ MUFA 35.4 ± 3.27 29.2 ± 3.48 30.9 ± 1.60 35.3 ± 5.78 33.6 ± 3.72 29.2 ± 3.93 30.5 ± 6.87 31.3 C16:2n4 0.2 ± 0.16 0.2 ± 0.11 0.2 ± 0.19 0.2 ± 0.07 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.13 0.3 C16:3n4 1.1 ± 0.34 0.8 ± 0.20 1.0 ± 0.25 1.1 ± 0.34 0.9 ± 0.09 0.7 ± 0.08 0.9 ± 0.15 1.2 Σ PUFA C16 1.4 ± 0.51 1.2 ± 0.30 1.2 ± 0.43 1.3 ± 0.40 1.3 ± 0.09 0.9 ± 0.18 1.4 ± 0.29 1.5	
$ \begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	± 0.03
C16:1n7 14.0 ± 2.92 6.8 ± 0.28 9.5 ± 0.75 11.1 ± 2.52 12.6 ± 2.30 8.0 ± 2.48 8.6 ± 3.03 11.4 C18:1n9 15.2 ± 2.91 18.0 ± 3.46 16.1 ± 2.85 17.4 ± 4.74 11.8 ± 4.96 15.5 ± 1.32 16.0 ± 2.55 13.2 C18:1n7 6.0 ± 1.07 3.7 ± 0.19 4.7 ± 1.31 6.3 ± 1.17 8.6 ± 3.96 4.6 ± 1.08 5.0 ± 1.23 6.3 C20:1n9 0.2 ± 0.07 0.7 ± 0.19 0.5 ± 0.19 0.5 ± 0.23 0.4 ± 0.22 0.8 ± 0.20 0.7 ± 0.16 0.3 Σ MUFA 35.4 ± 3.27 29.2 ± 3.48 30.9 ± 1.60 35.3 ± 5.78 33.6 ± 3.72 29.2 ± 3.93 30.5 ± 6.87 31.3 C16:2n4 0.2 ± 0.16 0.2 ± 0.11 0.2 ± 0.19 0.2 ± 0.07 0.2 ± 0.05 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.13 0.3 C16:3n4 1.1 ± 0.34 0.8 ± 0.20 1.0 ± 0.25 1.1 ± 0.34 0.9 ± 0.09 0.7 ± 0.08 0.9 ± 0.15 1.2 Σ PUFA C16 1.4 ± 0.51 1.2 ± 0.30 1.2 ± 0.43 1.3 ± 0.40 1.3 ± 0.09 0.9 ± 0.18 1.4 ± 0.29 1.5	5 ± 5.63
C18:1n9 15.2 ± 2.91 18.0 ± 3.46 16.1 ± 2.85 17.4 ± 4.74 11.8 ± 4.96 15.5 ± 1.32 16.0 ± 2.55 13.7 C18:1n7 6.0 ± 1.07 3.7 ± 0.19 4.7 ± 1.31 6.3 ± 1.17 8.6 ± 3.96 4.6 ± 1.08 5.0 ± 1.23 6.3 C20:1n9 0.2 ± 0.07 0.7 ± 0.19 0.5 ± 0.19 0.5 ± 0.23 0.4 ± 0.22 0.8 ± 0.20 0.7 ± 0.16 0.3 Σ MUFA 35.4 ± 3.27 29.2 ± 3.48 30.9 ± 1.60 35.3 ± 5.78 33.6 ± 3.72 29.2 ± 3.93 30.5 ± 6.87 31.3 C16:2n4 0.2 ± 0.16 0.2 ± 0.11 0.2 ± 0.19 0.2 ± 0.07 0.2 ± 0.05 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.13 0.3 C16:3n4 1.1 ± 0.34 0.8 ± 0.20 1.0 ± 0.25 1.1 ± 0.34 0.9 ± 0.09 0.7 ± 0.08 0.9 ± 0.15 1.2 Σ PUFA C16 1.4 ± 0.51 1.2 ± 0.30 1.2 ± 0.43 1.3 ± 0.40 1.3 ± 0.09 0.9 ± 0.18 1.4 ± 0.29 1.5	± 2.25
C18:1n7 6.0 ± 1.07 3.7 ± 0.19 4.7 ± 1.31 6.3 ± 1.17 8.6 ± 3.96 4.6 ± 1.08 5.0 ± 1.23 6.3 C20:1n9 0.2 ± 0.07 0.7 ± 0.19 0.5 ± 0.19 0.5 ± 0.23 0.4 ± 0.22 0.8 ± 0.20 0.7 ± 0.16 0.3 Σ MUFA 35.4 ± 3.27 29.2 ± 3.48 30.9 ± 1.60 35.3 ± 5.78 33.6 ± 3.72 29.2 ± 3.93 30.5 ± 6.87 31.3 C16:2n4 0.2 ± 0.16 0.2 ± 0.11 0.2 ± 0.19 0.2 ± 0.07 0.2 ± 0.05 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.13 0.3 C16:3n4 1.1 ± 0.34 0.8 ± 0.20 1.0 ± 0.25 1.1 ± 0.34 0.9 ± 0.09 0.7 ± 0.08 0.9 ± 0.15 1.2 Σ PUFA C16 1.4 ± 0.51 1.2 ± 0.30 1.2 ± 0.43 1.3 ± 0.40 1.3 ± 0.09 0.9 ± 0.18 1.4 ± 0.29 1.5	± 0.72
C20:1n9 0.2 ± 0.07 0.7 ± 0.19 0.5 ± 0.19 0.5 ± 0.23 0.4 ± 0.22 0.8 ± 0.20 0.7 ± 0.16 0.3 Σ MUFA 35.4 ± 3.27 29.2 ± 3.48 30.9 ± 1.60 35.3 ± 5.78 33.6 ± 3.72 29.2 ± 3.93 30.5 ± 6.87 31.3 C16:2n4 0.2 ± 0.16 0.2 ± 0.11 0.2 ± 0.19 0.2 ± 0.07 0.2 ± 0.05 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.13 0.3 C16:3n4 1.1 ± 0.34 0.8 ± 0.20 1.0 ± 0.25 1.1 ± 0.34 0.9 ± 0.09 0.7 ± 0.08 0.9 ± 0.15 1.2 Σ PUFA C16 1.4 ± 0.51 1.2 ± 0.30 1.2 ± 0.43 1.3 ± 0.40 1.3 ± 0.09 0.9 ± 0.18 1.4 ± 0.29 1.5	± 0.69
$ \begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	± 0.10
C16:2n4 0.2 ± 0.16 0.2 ± 0.11 0.2 ± 0.19 0.2 ± 0.07 0.2 ± 0.05 0.2 ± 0.08 0.3 ± 0.13 0.3 C16:3n4 1.1 ± 0.34 0.8 ± 0.20 1.0 ± 0.25 1.1 ± 0.34 0.9 ± 0.09 0.7 ± 0.08 0.9 ± 0.15 1.2 Σ PUFA C16 1.4 ± 0.51 1.2 ± 0.30 1.2 ± 0.43 1.3 ± 0.40 1.3 ± 0.09 0.9 ± 0.18 1.4 ± 0.29 1.5	± 3.47
C16:3n4 1.1 ± 0.34 0.8 ± 0.20 1.0 ± 0.25 1.1 ± 0.34 0.9 ± 0.09 0.7 ± 0.08 0.9 ± 0.15 1.2 Σ PUFA C16 1.4 ± 0.51 1.2 ± 0.30 1.2 ± 0.43 1.3 ± 0.40 1.3 ± 0.09 0.9 ± 0.18 1.4 ± 0.29 1.5	± 0.01
$ \Sigma PUFA C16 \qquad 1.4 \pm 0.51 \qquad 1.2 \pm 0.30 \qquad 1.2 \pm 0.43 \qquad 1.3 \pm 0.40 \qquad 1.3 \pm 0.09 \qquad 0.9 \pm 0.18 \qquad 1.4 \pm 0.29 \qquad 1.5 \qquad 1.5 \pm 0.09 \qquad 0.9 \pm 0.18 \qquad 0.14 \pm 0.29 \qquad 1.5 = 0.18 \qquad 0.14 \pm 0.29 \qquad 0.29 = 0.29 \qquad 0.29 \pm 0.29 \qquad 0.29 \pm 0.29 \qquad 0.29 \pm 0.29 = 0.29 \pm 0.29 \pm 0.29 = 0.29 \pm 0.29$	± 0.24
	± 0.20
C18:3n3 $2.1 \pm 0.34^{a*}$ $4.4 \pm 0.97^{b*}$ $4.0 \pm 1.78^{b*}$ $3.4 \pm 0.84^{ab*}$ $4.3 \pm 0.58^{a**}$ $6.2 \pm 1.08^{ab**}$ $6.1 \pm 0.98^{ab**}$ 6.2 ± 1.08^{ab}	1.04 ^b **
C18:4n3 0.3 ± 0.04 0.1 ± 0.10 0.4 ± 0.15 0.5 ± 0.10 0.6 ± 0.47 0.3 ± 0.14 0.8 ± 0.45 1.0	± 0.21
C20:3n3 0.4 ± 0.10 0.6 ± 0.19 0.6 ± 0.18 0.5 ± 0.19 0.6 ± 0.10 0.8 ± 0.11 0.8 ± 0.19 0.9	± 0.22
C20:4n3 0.9 ± 0.49 0.5 ± 0.52 0.5 ± 0.23 0.8 ± 0.47 1.7 ± 0.78 1.0 ± 0.39 1.1 ± 0.59 1.2	± 0.28
C20:5n3 1.5 ± 0.72 1.6 ± 1.51 1.0 ± 0.36 1.1 ± 0.51 1.9 ± 0.34 2.6 ± 0.69 2.3 ± 1.51 2.5	± 0.97
C22:5n3 1.5 ± 0.25 1.6 ± 0.70 1.6 ± 0.78 1.5 ± 0.51 1.7 ± 0.86 2.8 ± 0.55 1.9 ± 0.66 2.1	± 0.61
C22:6n3 6.2 ± 2.20 6.7 ± 4.58 5.2 ± 1.52 $4.9 \pm 2.00^*$ 5.4 ± 0.82 9.5 ± 3.82 10.3 ± 5.77 $9.7 \pm 2.00^*$: 4.62**
$\Sigma PUFA n3 \qquad 12.8 \pm 2.74 \qquad 15.5 \pm 9.13^* \qquad 13.2 \pm 1.93^* \qquad 12.6 \pm 3.53^* \qquad 16.3 \pm 1.86 \qquad 23.1 \pm 4.17^{**} \qquad 23.3 \pm 9.87^{**} \qquad 23.8 \pm 9.87^{**} \qquad 23.8^{*} \qquad 23.8^{*} \qquad 23.8^{*} \qquad 23.8$	± 7.78**
$\Sigma PUFA \ C18 \ n3 \qquad 2.3 \pm 0.36^{a_*} \qquad 4.5 \pm 0.94^{b_*} \qquad 4.4 \pm 1.92^{b_*} \qquad 3.9 \pm 0.83^{a_{b_*}} \qquad 4.9 \pm 0.48^{a_{**}} \qquad 6.4 \pm 1.16^{a_{b_{**}}} \qquad 6.9 \pm 0.69^{a_{b_{**}}} \qquad 7.2 \pm 0.26^{a_{b_{*}}} \qquad 7.2 \pm 0.26^{a_{b_{*}$	1.23 ^b **
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	± 6.11**
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	± 0.81

Apêndice 7: Perfil de ácidos graxos (%) dos triacilgliceróis ovarianos das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).
C18:3n6	0.4 ± 0.16	0.9 ± 0.44	1.0 ± 0.50	0.6 ± 0.24	0.5 ± 0.23	0.6 ± 0.25	0.4 ± 0.17	0.3 ± 0.06
C20:2n6	0.4 ± 0.08	0.6 ± 0.19	0.6 ± 0.18	0.3 ± 0.05	0.4 ± 0.10	0.5 ± 0.15	0.4 ± 0.15	0.6 ± 0.82
C20:3n6	0.7 ± 0.22	0.7 ± 0.20	0.9 ± 0.31	0.9 ± 0.35	0.6 ± 0.05	0.5 ± 0.10	0.5 ± 0.23	0.6 ± 0.17
C20:4n6	2.1 ± 0.86	2.9 ± 0.42	3.6 ± 0.98	2.0 ± 1.46	1.3 ± 0.58	1.9 ± 0.29	2.1 ± 1.54	1.1 ± 0.42
C22:2n6	0.2 ± 0.14	0.2 ± 0.02	Ne	0.5 ± 0.45	0.2 ± 0.05	0.3 ± 0.16	0.3 ± 0.17	0.9 ± 0.77
C22:4n6	0.5 ± 0.21	0.9 ± 0.29	0.9 ± 0.38	0.6 ± 0.40	0.4 ± 0.10	0.9 ± 0.44	1.3 ± 0.99	0.7 ± 0.43
C22:5n6	0.3 ± 0.24	0.2 ± 0.09	0.4 ± 0.00	Ne	0.1 ± 0.00	0.3 ± 0.15	0.2 ± 0.06	1.2 ± 0.00
Σ PUFA n6	$8.9 \pm 2.05^{\mathrm{a}}$	$15.2 \pm 6.08^{b*}$	$14.8 \pm 2.05^{b*}$	$12.2 \pm 3.75^{ab}*$	6.4 ± 1.06	$8.8 \pm 0.77^{**}$	8.9 ± 2.75**	7.1 ± 2.15**
Σ PUFA C18 n6	$\textbf{4.8} \pm \textbf{1.07}^{a}$	9.7 ± 4.84 ^b *	$8.7 \pm 2.75^{b*}$	$8.1 \pm 1.73^{ab}*$	3.7 ± 0.46	4.5 ± 1.13**	$4.2 \pm 1.04^{**}$	$3.5 \pm 0.37 **$
Σ PUFA C20-22 n6	4.1 ± 1.39	$\textbf{5.5} \pm \textbf{0.27}$	6.1 ± 1.60	$\textbf{4.0} \pm \textbf{2.38}$	$\textbf{2.6} \pm \textbf{0.76}$	$\textbf{4.3} \pm \textbf{0.76}$	$\textbf{4.7} \pm \textbf{1.23}$	$\textbf{3.6} \pm \textbf{1.79}$
C20-22/C18n6	$\boldsymbol{0.9 \pm 0.28}$	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.70}$	$\textbf{0.8} \pm \textbf{0.39}$	0.5 ± 0.21	0.7 ± 0.18	1.0 ± 0.40	1.2 ± 0.85	$\textbf{1.0} \pm \textbf{0.40}$
Σ PUFA t	23.1 ± 3.16	31.9 ± 3.14	29.2 ± 2.85	26.1 ± 6.91	24.0 ± 2.18	$\textbf{32.9} \pm \textbf{3.87}$	33.6 ± 10.62	$\textbf{32.4} \pm \textbf{8.49}$
n3/n6	1.5 ± 0.49	1.4 ± 0.44	$\boldsymbol{0.9 \pm 0.20}$	1.1 ± 0.24	2.6 ± 0.50	$\textbf{2.7} \pm \textbf{0.60}$	2.6 ± 1.02	3.5 ± 1.11
EPA/ARA	$\boldsymbol{0.7\pm0.20}$	$0.6 \pm 0.63^{*}$	$\textbf{0.3} \pm \textbf{0.04} \texttt{*}$	$0.7 \pm 0.27*$	1.7 ± 0.72	$1.3 \pm 0.27 **$	$1.2 \pm 0.51^{**}$	$2.3 \pm 0.41^{**}$
DHA/ARA	$\textbf{3.1} \pm \textbf{1.03}$	2.5 ± 2.37	1.4 ± 0.42	$3.2 \pm 1.47*$	5.1 ± 1.65	4.8 ± 1.59	4.5 ± 2.74	8.6 ± 3.43**

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ PUFA t, Σ PUFA n3, Σ PUFA n6, Σ PUFA C16, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA e DHA são as somatórias e razões de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico e docosahexaenoico. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

EA (0/)	Ponte Nova				Billings				
ГА (70)	Verão	Outono	Inverno		Verão	Outono	Inverno	Primavera	
C15:0	0.5 ± 0.10	0.5 ± 0.31	0.5 ± 0.14	0.2 ± 0.05	0.4 ± 0.09	0.3 ± 0.06	0.4 ± 0.00	0.2 ± 0.03	
C16:0iso	0.2 ± 0.03^{a}	5.4 ± 0.28^{b}	3.5 ± 2.00^{b} *	1.4 ± 0.61^{b}	Ne	2.5 ± 1.44	$0.1 \pm 0.03 **$	1.0 ± 0.31	
C18:0iso	0.4 ± 0.26	2.2 ± 0.04	Ne	Ne	0.2 ± 0.02	0.8 ± 0.58	Ne	Ne	
C18:0anteiso	0.2 ± 0.03	Ne	1.2 ± 0.57	1.0 ± 0.56	Ne	1.4 ± 0.66	0.4 ± 0.11	0.6 ± 0.05	
ΣOFA - BFA	$1.5 \pm 0.21^{\rm a}$	6.0 ± 4.24^{b}	$5.5 \pm 2.63^{b*}$	2.4 ± 1.34^{b}	1.0 ± 0.20	4.4 ± 2.84	$1.3 \pm 0.04 **$	$\textbf{1.7} \pm \textbf{0.27}$	
C14:0	0.7 ± 0.24	0.3 ± 0.12	0.6 ± 0.19	0.2 ± 0.04	0.5 ± 0.06	0.4 ± 0.11	0.4 ± 0.06	0.2 ± 0.04	
C16:0	18.9 ± 3.27^{a}	15.1 ± 2.20^{b}	17.2 ± 2.43^{a} *	9.9 ± 1.35^{b}	18.7 ± 2.59^{a}	18.0 ± 2.58^{ab}	22.0 ± 2.11^{a}	10.1 ± 0.95^{b}	
C18:0	16.5 ± 2.82^{a}	12.9 ± 0.49^{b}	11.0 ± 1.22^{b}	17.0 ± 1.39^{a}	15.6 ± 0.50	12.2 ± 2.35	11.5 ± 4.82	17.3 ± 1.48	
C20:0	0.1 ± 0.01	0.2 ± 0.03	0.2 ± 0.05	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.02	0.2 ± 0.12	0.2 ± 0.05	0.2 ± 0.07	
Σ SFA	$36.3 \pm 2.30^{\rm a}$	28.7 ± 2.13^{b}	$29.0 \pm 2.05^{b*}$	27.4 ± 0.65^{b}	$35.0 \pm 2.26^{\rm a}$	30.9 ± 3.10^{ab}	$34.3 \pm 6.81^{a_{**}}$	28.0 ± 1.37^{b}	
C16:1n7	3.0 ± 0.75	2.1 ± 0.19	2.6 ± 0.56	1.4 ± 0.26	2.6 ± 0.52	2.5 ± 0.51	2.6 ± 0.20	1.2 ± 0.27	
C18:1n9	12.7 ± 2.53^{a}	9.8 ± 0.38^{ab}	10.9 ± 1.66^{a}	8.1 ± 1.54^{b}	8.3 ± 4.47^{ab}	10.8 ± 2.38^{a}	12.7 ± 1.80^{a}	7.1 ± 1.15^{b}	
C18:1n7	4.3 ± 0.69	4.6 ± 0.61	3.7 ± 0.46	3.3 ± 0.56	7.3 ± 4.88^{a}	4.8 ± 0.83^{ab}	4.1 ± 0.61^{ab}	3.0 ± 0.49^{b}	
C20:1n9	0.2 ± 0.04	0.5 ± 0.04	0.3 ± 0.08	0.3 ± 0.14	0.5 ± 0.48	0.4 ± 0.12	0.3 ± 0.02	0.2 ± 0.06	
S MUFA	$20.2 \pm \mathbf{3.28^a}$	$17.2 \pm 1.00^{\rm a}$	$17.4 \pm 2.10^{\rm a}$	13.1 ± 1.76^{b}	$18.7 \pm 2.26^{\rm a}$	18.6 ± 2.99^{a}	$19.8 \pm 2.23^{\rm a}$	11.4 ± 1.69^{b}	
C16:4n1	0.3 ± 0.24^{a}	$0.7\pm0.04^{\mathrm{b}}$	0.7 ± 0.17^{b}	0.4 ± 0.15	0.1 ± 0.00	0.5 ± 0.27	0.3 ± 0.14	0.4 ± 0.05	
C16:2n4	0.3 ± 0.13	0.2 ± 0.11	0.1 ± 0.01	0.2 ± 0.05	0.1 ± 0.07	0.1 ± 0.04	Ne	0.1 ± 0.00	
C16:3n4	0.5 ± 0.06^{ab}	$0.9\pm0.82^{\rm a}$	0.5 ± 0.10^{ab}	$0.3\pm0.08^{\mathrm{b}}$	0.3 ± 0.18	0.5 ± 0.32	0.5 ± 0.03	0.3 ± 0.03	
Σ PUFA C16	1.0 ± 0.30^{ab}	1.3 ± 1.00^{a}	0.5 ± 0.12^{b}	0.4 ± 0.09^{b}	0.6 ± 0.12	1.0 ± 0.41	$\textbf{0.8} \pm \textbf{0.03}$	$\textbf{0.8} \pm \textbf{0.04}$	
C18:3n3	$0.5 \pm 0.13*$	$0.6\pm0.08*$	$0.7 \pm 0.30*$	$0.5 \pm 0.12*$	1.2 ± 0.12 **	1.3 ± 0.30 **	$1.6 \pm 0.05 **$	0.8 ± 0.19 **	
C18:4n3	0.4 ± 0.02	0.2 ± 0.01	0.1 ± 0.07	0.1 ± 0.01	$0.2\pm0.05^{\rm a}$	1.1 ± 0.82^{b}	$0.2\pm0.03^{\rm a}$	0.2 ± 0.05^{a}	
C20:3n3	Ne	0.3 ± 0.05	0.4 ± 0.13	0.3 ± 0.10	0.8 ± 0.40	0.5 ± 0.12	0.6 ± 0.14	0.6 ± 0.13	
C20:4n3	0.3 ± 0.12	0.2 ± 0.09	0.3 ± 0.25	0.6 ± 0.18	0.6 ± 0.14	0.8 ± 0.74	0.5 ± 0.05	0.4 ± 0.09	
C20:5n3	2.8 ± 0.78	0.9 ± 0.11	2.1 ± 0.99	4.0 ± 1.13	5.8 ± 0.48	3.0 ± 1.15	5.1 ± 0.33	6.8 ± 0.68	
C22:5n3	2.6 ± 1.11	1.6 ± 0.17	2.8 ± 1.71	3.9 ± 1.06	2.6 ± 0.60	2.8 ± 1.18	2.5 ± 0.88	4.2 ± 1.69	
C22:6n3	17.4 ± 2.20^{a} *	16.4 ± 0.34^{a} *	19.0 ± 1.90^{a}	$24.7 \pm 2.83^{b*}$	22.0 ± 1.92^{a}	19.0 ± 3.28^{a}	20.5 ± 5.99^{a}	$31.4 \pm 4.57^{b**}$	
Σ PUFA n3	$24.1 \pm 3.18^{a_{*}}$	20.0 ± 0.58^{a} *	25.3 ± 3.41^{a} *	$33.9 \pm 3.58^{b*}$	$32.9 \pm 2.64^{a_{**}}$	$27.9 \pm 2.87^{a} $	$31.1 \pm 6.65^{a} $	$44.3 \pm 2.14^{b**}$	
Σ PUFA C18 n3	$0.6 \pm 0.27*$	$0.6 \pm 0.32^*$	$0.8 \pm 0.30^{*}$	$0.5 \pm 0.13^{*}$	$1.3 \pm 0.11^{a_{**}}$	$2.0 \pm 1.22^{b**}$	$1.8 \pm 0.02^{ab}**$	$1.0 \pm 0.21^{a_{**}}$	
Σ PUFA C20-22 n3	$23.5 \pm 3.23^{a}*$	19.4 ± 0.51^{a} *	24.5 ± 3.54^{a} *	$33.4 \pm 3.61^{b*}$	$31.6 \pm 2.75^{a} **$	26.1 ± 3.38^{a}	29.3 ± 6.63^{a}	$43.4 \pm 2.34^{b**}$	
C20-22/C18n3	49.0 ± 24.19	52.4 ± 34.90	34.2 ± 19.10	68.5 ± 21.86	24.1 ± 4.19	42.5 ± 36.33	16.2 ± 3.49	45.8 ± 10.37	
C18:2n6cis	2.7 ± 0.67	4.0 ± 0.58	$3.9 \pm 1.32*$	$2.8 \pm 0.79 *$	1.7 ± 0.24^{ab}	2.3 ± 0.66^{a}	$2.2 \pm 0.26^{ab} **$	$1.0 \pm 0.32^{b**}$	
C18:3n6	0.6 ± 0.44	0.8 ± 0.23	0.6 ± 0.14	0.7 ± 0.1	0.4 ± 0.36	1.4 ± 1.05	0.6 ± 0.14	0.7 ± 0.23	
C20:2n6	0.4 ± 0.07	0.4 ± 0.19	0.5 ± 0.10	0.5 ± 0.11	0.3 ± 0.04	0.7 ± 0.42	0.4 ± 0.10	0.3 ± 0.10	

Apêndice 8: Perfil de ácidos graxos (%) dos fosfolipídios ovarianos das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C20:3n6	0.7 ± 0.17	0.9 ± 0.06	1.2 ± 0.33	0.9 ± 0.18	0.6 ± 0.08	0.5 ± 0.07	0.6 ± 0.09	0.4 ± 0.10
C20:4n6	11.2 ± 3.04^{a} *	15.2 ± 0.97^{b} *	11.4 ± 2.44^{ab} *	14.1 ± 1.76^{ab}	$7.5 \pm 1.62 **$	8.5 ± 1.22**	$6.0 \pm 0.17 **$	8.9 ± 1.23**
C22:4n6	1.9 ± 1.08^{a}	4.8 ± 0.29^{b}	4.2 ± 0.96^{ab}	3.4 ± 1.84^{ab}	1.4 ± 0.35	3.3 ± 1.30	2.7 ± 1.28	2.7 ± 0.73
S PUFA n6	$17.6 \pm 5.28^{a_{*}}$	$26.4 \pm 0.89^{b_{*}}$	21.7 ± 3.80^{ab}	$22.4 \pm 3.66^{ab}*$	11.8 ± 1.13**	$17.1 \pm 2.36^{**}$	$12.7 \pm 2.26^{**}$	$13.9 \pm 2.04 **$
Σ PUFA C18 n6	$\textbf{3.3} \pm \textbf{0.98}$	$\textbf{4.8} \pm \textbf{0.36}$	$4.5 \pm 1.40*$	$3.5 \pm 0.81^{*}$	$2.1\pm0.35^{\rm ab}$	3.6 ± 1.29^{a}	$2.8 \pm 0.40^{\mathrm{ab}**}$	$1.7 \pm 0.40^{b**}$
Σ PUFA C20-22 n6	14.3 ± 4.39^{a}	$21.5 \pm 1.25^{b*}$	$17.3 \pm 2.54^{ab}*$	$18.9 \pm 3.61^{ab}*$	9.7 ± 1.47**	13.5 ± 1.84**	$10.0 \pm 1.86^{**}$	$12.2 \pm 1.71^{**}$
C20-22/C18n6	4.4 ± 0.79	$\textbf{4.5} \pm \textbf{0.60}$	$\textbf{4.1} \pm \textbf{0.90}$	5.7 ± 1.91	4.8 ± 1.58	4.1 ± 1.43	3.6 ± 0.15	$\textbf{7.5} \pm \textbf{0.98}$
S PUFA t	42.3 ± 4.96^{a}	47.6 ± 1.74^{b}	47.6 ± 4.54^{b}	$56.6 \pm 2.41^{\circ}$	$45.2 \pm 3.87^{\mathrm{a}}$	45.7 ± 3.36^{a}	$44.3\pm8.95^{\rm a}$	58.5 ± 2.79^{b}
n3/n6	1.5 ± 0.45	$0.8 \pm 0.03*$	$1.2 \pm 0.29*$	$1.6 \pm 0.39^*$	$\textbf{2.8} \pm \textbf{0.04}$	$1.7 \pm 0.31^{**}$	$2.4 \pm 0.09^{**}$	$3.3 \pm 0.56 **$
EPA/ARA	$\textbf{0.3} \pm \textbf{0.11}$	$\textbf{0.1} \pm \textbf{0.01}$	$0.2 \pm 0.08*$	0.3 ± 0.11	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.10}$	0.4 ± 0.14	$0.9 \pm 0.08^{**}$	$\boldsymbol{0.8 \pm 0.17}$
DHA/ARA	1.6 ± 0.46	$1.1 \pm 0.08*$	1.7 ± 0.49	1.8 ± 0.38	3.0 ± 0.46	$2.3 \pm 0.30^{**}$	$\textbf{3.4} \pm \textbf{0.90}$	3.6 ± 0.73
UI	221.1 ± 18.69^{a}	232.0 ± 5.88^{a}	240.3 ± 17.06^{a}	$289.0 \pm 14.15^{b*}$	244.3 ± 17.71^{a}	236.7 ± 17.38^{a}	237.8 ± 45.63^{a}	$315.5 \pm 16.34^{b**}$

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ PUFA t, Σ PUFA n3, Σ PUFA n6, Σ PUFA C16, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA, DHA e UI são as somatórias e razões de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico e índice de insaturação. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

EA (0/)		Ponte	Nova		Billings				
FA (70)	Verão	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Inverno	Primavera	
C15:0	0.8 ± 0.06	0.6 ± 0.19	0.4 ± 0.35	0.3 ± 0.10	0.4 ± 0.14	0.4 ± 0.03	1.2 ± 0.07	0.3 ± 0.16	
C16:0iso	Ne ^a	2.4 ± 1.56^{ab}	7.1 ± 2.00^{b}	$4.8 \pm 0.60^{b} *$	1.4 ± 0.57	2.8 ± 1.00	0.9 ± 0.55	$2.6 \pm 1.28 **$	
C17:0	1.4 ± 0.34	1.8 ± 1.02	1.4 ± 0.31	1.4 ± 0.45	0.9 ± 0.34	1.6 ± 0.26	4.4 ± 2.08	1.5 ± 0.28	
C17:0anteiso	0.2 ± 0.07	0.6 ± 0.11	0.7 ± 0.39	0.9 ± 0.11	$3.3 \pm 1.02 **$	0.6 ± 0.12	Ne	0.7 ± 0.26	
C18:0iso	0.8 ± 0.06 *	2.0 ± 1.33	Ne	Ne	Ne	2.2 ± 1.12	Ne	1.8 ± 0.68	
C18:0anteiso	Ne	Ne	4.6 ± 2.08	4.3 ± 0.43	1.0 ± 0.32	0.8 ± 0.43	0.9 ± 0.32	3.4 ± 0.28	
ΣOFA - BFA	$3.4 \pm 0.67^{a_{*}}$	7.4 ± 2.49^{ab}	10.9 ± 6.83^{b}	$11.9 \pm 1.35^{b*}$	8.4 ± 1.23**	7.5 ± 2.56	$\textbf{8.1} \pm \textbf{3.00}$	$7.2 \pm 2.63^{**}$	
C14:0	1.1 ± 0.12	0.4 ± 0.16	0.4 ± 0.45	0.3 ± 0.14	0.5 ± 0.21	0.5 ± 0.13	1.4 ± 0.45	0.5 ± 0.30	
C16:0	$20.6 \pm 1.02*$	14.1 ± 5.03	$12.0 \pm 8.00*$	9.9 ± 3.16	$12.8 \pm 2.32 **$	15.0 ± 1.47	17.5 ± 3.40 **	10.5 ± 5.21	
C18:0	17.3 ± 0.98	22.6 ± 1.67	19.5 ± 1.35	21.5 ± 4.50	14.4 ± 1.98^{a}	21.2 ± 1.47^{ab}	22.9 ± 1.55^{b}	18.0 ± 4.37^{a}	
C20:0	0.8 ± 0.11	0.8 ± 0.08	1.2 ± 0.15	0.7 ± 0.15	0.3 ± 0.11	0.8 ± 0.26	0.9 ± 0.15	0.7 ± 0.16	
C22:0	0.5 ± 0.09	0.3 ± 0.07	0.5 ± 0.10	0.7 ± 0.20	0.3 ± 0.09	0.3 ± 0.07	1.2 ± 0.03	0.6 ± 0.24	
Σ SFA	$40.3 \pm 2.32^*$	38.4 ± 4.81	$33.8 \pm 7.12^*$	$\textbf{33.7} \pm \textbf{7.92}$	$28.2 \pm 5.67^{a} $	37.8 ± 2.43^{ab}	$44.6 \pm 4.93^{b**}$	30.2 ± 10.26^{a}	
C16:1n7	3.8 ± 0.76	2.3 ± 0.33	2.2 ± 0.86	2.0 ± 0.48	2.2 ± 0.87	3.2 ± 0.70	4.6 ± 1.16	2.9 ± 1.28	
C18:1n9	9.6 ± 1.21	12.1 ± 7.57	$7.0 \pm 3.88*$	6.7 ± 2.09	7.8 ± 2.03^{a}	9.9 ± 1.63^{ab}	$14.3 \pm 2.21^{b**}$	6.5 ± 3.28^{a}	
C18:1n7	5.2 ± 1.08	3.6 ± 0.49	3.1 ± 1.09	3.8 ± 0.95	4.1 ± 1.76	5.0 ± 1.09	6.3 ± 1.66	4.0 ± 1.28	
C20:1n9	0.7 ± 0.22	1.5 ± 0.16	0.9 ± 0.32	0.7 ± 0.37	1.0 ± 0.87	1.0 ± 0.45	0.9 ± 0.16	0.7 ± 0.31	
S MUFA	19.6 ± 2.32	19.6 ± 7.94	$13.5 \pm 6.41^*$	13.4 ± 3.88	15.0 ± 4.02^{a}	19.3 ± 3.02^{ab}	$26.1 \pm 4.98^{b**}$	14.0 ± 6.10^{a}	
C16:4n1	Ne*	0.6 ± 0.51	1.9 ± 0.69	1.5 ± 0.23	$3.9 \pm 1.25^{a**}$	0.6 ± 0.29^{b}	0.9 ± 0.51^{b}	$1.0 \pm 0.16^{\circ}$	
C16:2n4	0.1 ± 0.09	0.2 ± 0.09	Ne	0.3 ± 0.04	Ne	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.00	Ne	
C16:3n4	1.9 ± 0.32	1.4 ± 1.04	0.2 ± 0.18	0.3 ± 0.05	Ne	1.1 ± 1.29	0.8 ± 0.16	1.0 ± 0.60	
Σ PUFA C16	$2.0 \pm 0.54*$	2.2 ± 0.76	2.1 ± 0.51	$\textbf{1.8} \pm \textbf{0.41}$	$3.9 \pm 1.00^{a**}$	$1.8 \pm 1.14^{\text{b}}$	1.5 ± 0.46^{b}	1.4 ± 0.30^{b}	
C18:3n3	$0.2 \pm 0.15*$	$0.6 \pm 0.20^{*}$	0.2 ± 0.02	0.4 ± 0.05	$3.9 \pm 1.09^{a**}$	$1.1 \pm 0.43^{b**}$	$0.3 \pm 0.09^{\circ}$	$1.0 \pm 0.28^{\circ}$	
C18:4n3	Ne ^a	$0.4 \pm 0.13^{\circ}$	$0.7 \pm 0.45^{\circ}$	$0.4 \pm 0.15^{\circ}$	0.6 ± 0.23	$0.3 \pm 0.15^{\circ}$	$0.3 \pm 0.00^{\circ}$	Ne ^b	
C20:3n3	Ne	0.2 ± 0.10	0.1 ± 0.03	0.3 ± 0.02	Ne	0.4 ± 0.09	Ne	0.4 ± 0.07	
C20:4n3	1.4 ± 0.89	0.7 ± 0.50	2.1 ± 0.00	0.5 ± 0.12	2.8 ± 0.98	0.5 ± 0.24	2.8 ± 0.06	0.7 ± 0.54	
C20:5n3	2.3 ± 0.97	0.7 ± 0.32	1.1 ± 0.52	1.3 ± 0.64	2.6 ± 0.78	3.1 ± 0.97	3.0 ± 0.77	3.2 ± 1.09	
C22:5n3	1.1 ± 0.17	1.1 ± 0.42	1.4 ± 0.14	2.2 ± 1.26	1.8 ± 0.56	2.0 ± 0.71	Ne	3.1 ± 1.95	
C22:6n3	11.6 ± 1.02	6.4 ± 3.15	11.1 ± 2.69	$12.1 \pm 5.75*$	8.5 ± 2.39^{a}	9.4 ± 3.23^{a}	10.4 ± 4.23^{a}	$19.5 \pm 8.85^{\circ}$	
ΣPUFA n3	16.5 ± 2.03	9.9 ± 4.19	15.7 ± 1.28	$16.7 \pm 7.43^{*}$	21.3 ± 3.78^{ac}	$16.7 \pm 4.33^{\circ}$	$15.3 \pm 0.25^{\circ}$	$28.0 \pm 10.99^{\circ} $	
Σ PUFA C18 n3	$0.2 \pm 0.06^{a_{*}}$	0.9 ± 0.38^{0} *	0.9 ± 0.43^{ab}	0.8 ± 0.18^{ab}	$4.5 \pm 1.37^{**}$	$1.4 \pm 0.50^{0**}$	$0.6 \pm 0.19^{\circ}$	$1.0 \pm 0.28^{\circ}$	
Σ PUFA C20-22 n3 C20-22/C18p3	16.4 ± 2.13 108 4 + 4 09 ^a *	9.0 ± 4.04 10 8 + 6 55 ^b	14.8 ± 0.85 18.6 + 8.11 ^b	15.9 ± 7.37* 20 3 + 10 20 ^b	16.8 ± 2.01^{a} 3 7 + 1 04 ^a **	15.4 ± 4.37^{a} 14 7 + 10 33 ^{ab}	13.8 ± 2.06^{a} 23.6 ± 0.43 ^b	$27.0 \pm 10.96^{\circ**}$ 28.6 + 15.65 ^{ab}	
C20-22/C10NJ	100.7 - 7.07	10.0 - 0.00	10.0 ± 0.11	20.3 ± 10.27	5./ ± 1.04	17.7 ± 10.33	20.0 ± 0.70	20.0 ± 10.00	

Apêndice 9: Perfil de ácidos graxos (%) dos fosfolipídios branquiais das fêmeas de *H. malabaricus* coletadas nos reservatórios referência (Ponte Nova) e hipereutrófico (Billings) ao longo do ano (Média ± DP).

C18:2n6cis	$2.2\pm0.45^a \ast$	$4.8 \pm 1.11^{b*}$	2.3 ± 0.30^{a} *	$3.6 \pm 0.93^{ab}*$	5.9 ± 1.65^{a} **	$2.8 \pm 0.74^{b**}$	$1.2 \pm 0.58^{b**}$	$1.7 \pm 0.51^{b**}$
C18:3n6	0.5 ± 0.23	1.0 ± 0.08	1.1 ± 0.19	0.8 ± 0.13	0.3 ± 0.11	0.6 ± 0.13	1.1 ± 0.03	0.6 ± 0.18
C20:2n6	0.3 ± 0.12	0.5 ± 0.24	0.4 ± 0.11	0.6 ± 0.29	3.5 ± 2.11	0.4 ± 0.12	Ne	0.6 ± 0.52
C20:3n6	0.4 ± 0.26	0.7 ± 0.30	0.6 ± 0.24	0.6 ± 0.16	0.4 ± 0.22	0.6 ± 0.08	Ne	0.4 ± 0.08
C20:4n6	12.9 ± 1.87	12.8 ± 5.25	$16.0 \pm 3.89*$	13.3 ± 4.73	8.2 ± 1.98^{a}	10.7 ± 1.66^{a}	$6.5 \pm 1.10^{b**}$	11.3 ± 3.79^{a}
C22:2n6	0.2 ± 0.10	Ne	0.2 ± 0.12	Ne	2.2 ± 0.78	0.2 ± 0.04	0.2 ± 0.06	1.5 ± 0.87
C22:4n6	1.4 ± 0.79	2.3 ± 1.04	3.4 ± 1.17	3.4 ± 1.60	1.1 ± 0.17	1.6 ± 0.39	1.2 ± 1.51	3.8 ± 1.64
C22:5n6	0.2 ± 0.12	0.3 ± 0.15	0.4 ± 0.00	0.3 ± 0.12	1.5 ± 0.29	0.2 ± 0.01	1.2 ± 1.37	1.6 ± 0.43
ΣPUFA n6	18.1 ± 1.48	22.4 ± 7.69	$24.1 \pm 4.91^*$	22.4 ± 5.92	23.1 ± 5.96^{a}	16.8 ± 2.53^{a}	$10.8 \pm 2.75^{b**}$	$19.1 \pm 5.04^{\rm a}$
Σ PUFA C18 n6	$\textbf{2.8} \pm \textbf{0.91}^{a} \textbf{*}$	$5.8 \pm 1.11^{b*}$	3.4 ± 0.10^{a} *	$4.4 \pm 1.00^{ab}*$	$6.2 \pm 2.32^{a_{**}}$	$3.4 \pm 0.77^{b**}$	$1.9 \pm 0.77^{b**}$	$2.3 \pm 0.56^{b**}$
Σ PUFA C20-22 n6	15.3 ± 1.56	16.6 ± 6.86	$20.7 \pm 5.02*$	18.0 ± 6.35	16.9 ± 4.59^{a}	$13.3 \pm 2.00^{\rm a}$	$8.4 \pm 3.40^{b**}$	$16.7 \pm 5.40^{\rm a}$
C20-22/C18n6	$5.5 \pm 0.99*$	$\textbf{2.8} \pm \textbf{1.02}$	6.2 ± 1.68	4.4 ± 2.57	$2.7 \pm 0.21^{**}$	$\textbf{4.0} \pm \textbf{1.04}$	4.4 ± 1.10	$\textbf{7.7} \pm \textbf{3.32}$
Σ PUFA t	36.6 ± 2.49	34.5 ± 11.52	41.9 ± 6.70*	41.0 ± 12.31	48.3 ± 8.43^{a}	35.3 ± 6.50^{a}	$24.2 \pm 6.43^{b**}$	$48.6 \pm 15.84^{\rm a}$
n3/n6	0.9 ± 0.32	$0.4 \pm 0.06*$	$\boldsymbol{0.7\pm0.08}$	$0.7 \pm 0.21*$	0.9 ± 0.63	$1.0 \pm 0.24^{**}$	$\textbf{0.8} \pm \textbf{0.45}$	$1.4 \pm 0.33^{**}$
EPA/ARA	$\textbf{0.2} \pm \textbf{0.18}$	$\textbf{0.1} \pm \textbf{0.02}$	0.1 ± 0.05	0.1 ± 0.04	0.3 ± 0.26	$\textbf{0.3} \pm \textbf{0.08}$	$\textbf{0.4} \pm \textbf{0.10}$	$\textbf{0.3} \pm \textbf{0.02}$
DHA/ARA	$\textbf{0.9} \pm \textbf{0.43}$	$\textbf{0.5} \pm \textbf{0.07}$	$\boldsymbol{0.7\pm0.00}$	0.9 ± 0.26	1.0 ± 0.65	0.9 ± 0.24	1.6 ± 0.24	$\textbf{1.6} \pm \textbf{0.47}$
UI	184.3 ± 27.32	157.5 ± 42.80	$197.9 \pm 25.52*$	194.5 ± 58.73	$206.6 \pm 33.47^{\rm a}$	$173.9 \pm 28.59^{\rm a}$	$59.4 \pm 9.83^{b**}$	$244.8 \pm 76.99^{\rm a}$

 Σ OFA-BFA, Σ SFA, Σ MUFA, Σ PUFA t, Σ PUFA n3, Σ PUFA n6, Σ PUFA C16, Σ C18, Σ C20-22 PUFA, ARA, EPA, DHA e UI são as somatórias e razões de ácidos graxos ímpares e de cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados, polinsaturados totais, polinsaturados n₃, polinsaturados n₆, polinsaturados com 16 carbonos, polinsaturados com 18 carbonos, polinsaturados com 20-22 carbonos, ácido araquidônico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico e índice de insaturação. *Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes na mesma estação (ANOVA). ^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas dentro dos grupos ao longo do ano (ANOVA). Ne - não encontrado.

Discussão geral

1. Discussão geral

As alterações nas características físicas e químicas da água ou outras modificações do *habitat* podem resultar em diminuição ou eliminação de muitos recursos alimentares para os peixes (Araújo, 1998), alterando assim a composição de lipídios, especificamente ácidos graxos, ao longo da cadeia alimentar. No presente estudo, a qualidade da água de ambos os reservatórios analisados refletiu em alterações na transferência de ácidos graxos ao longo da cadeia trófica aos peixes onívoros e carnívoros.

As características físicas, químicas e biológicas analisadas na água permitiram caracterizar o reservatório de Ponte Nova como eutrófico, sendo considerado o local de referência e o braço Taquacetuba no reservatório Billings como hipereutrófico. O reservatório Billings está localizado no aglomerado mais extenso e populoso da América do Sul, ocupado por muitas propriedades irregulares e/ou de risco e tendo um dos maiores complexos industriais do mundo ao seu redor (Favaro, 2007). Além disso, nos períodos de elevados índices pluviométricos, o reservatório recebe água do rio Pinheiros e Tietê sem qualquer tratamento prévio (Furlan, 2011). Todos esses problemas antrópicos favorecem o aumento de metais e nutrientes na água, corroborando os dados mostrados no presente estudo.

É bem conhecido que as cianobactérias prevalecem em ambientes eutróficos, como visto principalmente no reservatório hipereutrófico, contudo, como já mencionado essas algas são consideradas como alimento de baixa qualidade, devido à baixa produção de HUFAs n3 e à alta produção de SFAs e PUFAs C18 (Lundsted e Brett, 1991; Xu e Burns, 1991; Chen e Folt, 1993; Stuzman, 1995; Muller-Navarra *et al.*, 2004). Porcentagens mais elevadas de HUFAs n3, como EPA e DHA, foram encontrados no reservatório hipereutrófico, contradizendo a informação presente na literatura e refutando a nossa hipótese inicial de que ambientes muito eutróficos apresentam deficiência desses FAs (Muller-Navarra *et al.*, 2004). Ao contrário disso, no reservatório referência a composição de FAs do séston, PUFAs C16 e EPA, DHA e PUFA C18 n3 corroboraram a presença de diatomáceas, dinoflagelados e clorófitas, respectivamente (Volkman *et al.*, 1989; Volkman *et al.*, 1998; Iverson, 2009), encontradas no presente estudo.

No reservatório referência a composição de FAs do séston teve pouca influência no perfil de FAs do conteúdo estomacal de *A. fasciatus*, que foi caracterizado por uma alta porcentagem de C18:1n9 e C18:2n6, biomarcadores de zooplâncton e plantas terrestres, respectivamente (Olsen, 1999; Parrish *et al.*, 2000), demonstrando que possivelmente haja um

papel importante dos outros níveis tróficos, como de zooplâncton, ou mesmo de fontes alóctones, em sua dieta. Por outro lado, o conteúdo estomacal de *A. fasciatus* no reservatório hipereutrófico teve grande influência do perfil de FAs do séston, apresentando porcentagens altas de HUFAs n3, principalmente EPA e DHA. A identificação macroscópica do conteúdo estomacal revelou a presença de insetos e larvas de insetos, que normalmente se alimentam de algas contendo altas porcentagens de EPA (diatomáceas) e/ou C18:3n3 (clorófitas). Assim, os PUFAs n3, provenientes de fontes autóctones, são transferidos indiretamente às fêmeas de *A. fasciatus* ao longo da cadeia alimentar no reservatório hipereutrófico. O perfil de ácidos graxos do séston e do conteúdo estomacal refletiu em porcentagens mais altas de C18:1n9 e PUFAs n6 nos tecidos de *A. fasciatus e H. malabaricus* no reservatório referência e em altos valores de PUFAs n3 nos tecidos de ambas as espécies no reservatório hipereutrófico. Desse modo, a composição de FAs do conteúdo estomacal e também dos tecidos de ambas as espécies em ambos os reservatórios foi possivelmente reflexo da transferência trófica de FAs dos níveis basais aos níveis tróficos superiores (Budge *et al.*, 2006).

Os altos valores de HUFA n3 encontrados, principalmente nos Fls teciduais das fêmeas de A. fasciatus no reservatório hipereutrófico refletiram em altas razões n3/n6 e EPA/ARA. ARA é a principal fonte de produção de eicosanoides, originando prostaglandinas biologicamente mais ativas do que EPA, e que estão envolvidas na regulação da resposta imune e produção de esteroides (Wathes et al., 2007; Arts e Kohler, 2009). Altos níveis de EPA podem modular a produção de eicosanoides, inibindo competitivamente a produção desses compostos derivados do ARA (Bell et al., 1993; Schmitz e Ecker, 2008). Há evidências consideráveis, em peixes e mamíferos, de que a suplementação de PUFA n3 na dieta pode influenciar os padrões biossintéticos envolvidos na síntese de prostaglandinas e, consequentemente interferindo na esteroidogênese e no sistema imune (Aitken e Baker, 1995; Bell et al., 1995; Izquierdo et al., 2001; Wathes et al., 2007; Arts e Kohler, 2009), sugerindo que nas fêmeas de A. fasciatus no reservatório hipereutrófico haja alterações nesses processos bioquímicos. Por outro lado, a razão n3/n6 também se apresentou mais elevada em fêmeas de H. malabaricus do reservatório hipereutrófico em relação ao reservatório referência, contudo a razão EPA/ARA nos Fls teciduais foi similar entre os ambientes, estando relacionado ao hábito alimentar carnívoro da espécie, uma vez que os predadores ingerem a presa inteira, assimilam os FAs que compõem tanto Tgs quanto Fls, obtendo com maior facilidade uma porcentagem mais alta de PUFAs C20-22 do que animais onívoros. Desse modo, os predadores parecem ter um efeito menor do desbalanço da transferência trófica de FAs, enquanto os níveis mais basais refletem as alterações do ambiente e podem ter prejuízos devido a estas alterações. É importante destacar que a razão ótima de n3/n6 não é conhecida para a maioria dos organismos, mas parece ser espécie-específica (Sargent *et al.*, 1995) e também relacionada ao hábito alimentar, sendo que a razão diminui na ordem carnívoros-bentívoros > carnívoros-piscívoros > onívoros-herbívoros (Ahlgren *et al.*, 2009) e como reportado na literatura *H. malabaricus*, no reservatório referência, apresentou uma razão n3/n6 maior do que *A. fasciatus*, tanto no tecido adiposo ($0.9\pm0.10 / 0.2\pm0.15$; *P*=0.007) quanto nos Fl hepáticos ($1.0\pm0.21 / 0.6\pm0.24$; *P*=0.003), os principais tecidos representantes da fração neutra e polar dos lipídios. Devido ao alto conteúdo de PUFAs n3 presente na base da cadeia, essa diferença não foi observada entre as espécies no reservatório hipereutrófico.

Na tentativa de melhor elucidar o nível trófico dos animais, principalmente de A. fasciatus, foi analisado o perfil de isótopos estáveis (Stowasser et al., 2009; Redmond et al., 2010; Gladyshev et al., 2012; Zhao et al., 2013). Geralmente há um enriquecimento das formas mais pesadas dos isótopos (8 13C e 815N) que são incorporadas nos tecidos dos animais e acumulam-se à medida que o nível trófico aumenta (Post, 2002). O perfil de FA do conteúdo estomacal e dos tecidos de A. fasciatus em ambos os reservatórios corroboraram a identificação macroscópica do conteúdo estomacal, contudo não podemos afirmar que o perfil de isótopos estáveis reforce a proposição do hábito alimentar da espécie, que sugere-se ser onívoro com tendência zooplanctívora no reservatório referência e insetívora no reservatório hipereutrófico. Para ambas as espécies nos dois reservatórios o 8C13 não diferiu, mas os valores de $\delta 15N$ foram diferentes entre os ambientes e semelhantes entre ambas as espécies, com diferente hábito alimentar, no reservatório hipereutrófico, indicando que os consumidores são altamente influenciados por diferentes fontes de N inorgânico (Valiela, 1995; Cole et al., 2004; Abreu et al., 2006; Garcia et al., 2007) que são despejados constantemente neste local através de esgoto. Para análises de níveis tróficos em ambientes eutróficos há a necessidade de obter o perfil de $\delta 15N$ dos níveis tróficos inferiores, como em animais herbívoros, para assim extrapolarmos aos níveis superiores, levando em consideração a alta concentração natural de N no ambiente (Garcia et al., 2007). Deste modo, no presente estudo a análise do perfil isotópico funcionou como mais um indicativo do intenso processo de eutrofização no reservatório hipereutrófico.

Alterações nas características físicas e químicas da água resultam também em mudanças no epitélio branquial, podendo alterar as células de cloreto e a atividade da Na⁺K⁺ATPase, uma importante proteína de membrana que participa do processo de osmorregulação (Jagoe e Haine, 1997; Gensemer e Playle, 1999; Kroglund e Staurnes, 1999). Muitos estudos têm mostrado a diminuição da atividade da bomba Na⁺K⁺ATPase nas brânquias de peixes quando

expostos a poluentes (De la Torre *et al.*, 1999; Suvetha *et al.*, 2010; Vieira, 2012; Poopal *et al.*, 2013). Ao contrário disso, no presente estudo ambas as espécies no reservatório hipereutrófico exibiram uma elevada atividade da bomba Na⁺K⁺ATPase branquial durante a estação seca, no inverno, quando foi encontrado uma maior concentração dos poluentes na água, sugerindo um aumento dos processos osmorregulatórios nesses animais, mas sem nenhuma correlação com o conteúdo de DHA presente nos Fls branquiais. É conhecido que a composição de ácidos graxos na membrana influencia diretamente a velocidade dos processos associados a ela, incluindo a atividade de bombas (Couture e Hulbert, 1995; Hulbert e Else, 1999) e tem sido largamente demonstrado na literatura a relação da atividade da Na⁺K⁺ATPase e a fluidez de membranas, mediada principalmente pelo conteúdo de DHA presente nos Fls (Wu *et al.*, 2004; Turner *et al.*, 2003). Mesmo havendo um alto conteúdo de DHA nos Fls dos animais no reservatório hipereutrófico, a contribuição desse FA em termos de porcentagem, foi menor nos Fls branquiais, sugerindo que em animais de ambiente tropical e poluído, o ajuste da atividade da bomba seja regulado por outros fatores na membrana e não somente pela composição dos FAs.

Com relação ao ciclo reprodutivo, foi possível observar uma variação temporal na composição dos FAs, principalmente nos Fls hepático e ovariano de ambas as espécies nos dois reservatórios. Os FAs ARA, EPA e DHA apresentaram porcentagens mais altas nesses tecidos das fêmeas de A. fasciatus no reservatório referência nas estações de verão e primavera, coincidindo com os maiores valores de IGS encontrados nessas estações e também com a alta concentração de estradiol plasmático observada no verão (Tolussi et al., 2013). Nas fêmeas dessa mesma espécie no reservatório hipereutrófico, o aumento desses FAs foi encontrado durante o inverno e a primavera, coincidindo também com o aumento de estradiol plasmático observado nesses animais (Tolussi et al., 2013). Por outro lado, para as fêmeas de H. malabaricus em ambos os reservatórios encontramos apenas um aumento de DHA nos Fls hepático e ovariano durante a primavera, relacionado também ao alto IGS desses animais nessa estação. Durante o processo de vitelogênese, o estradiol estimula o figado a sintetizar a vitelogenina, uma glicolipofosfoproteína formada por 79% de proteínas e 19% de lipídios, e destes, 70% são de fosfolipídios (Tocher, 2003; Jalabert, 2005). Deste modo, o aumento de ARA, EPA e DHA nos ovários se deve ao alto conteúdo de Fls presente no vitelo e à grande necessidade desses FAs para o desenvolvimento embrionário e larval (Izquierdo et al., 2000). O estudo das alterações no perfil de FAs ao longo do ciclo reprodutivo de A. fasciatus e H. malabaricus no presente trabalho foi importante para verificar que os animais mantêm uma alimentação e realocação de FAs relativamente constante aos ovários, demonstrando a alta plasticidade reprodutiva, oportunista e generalista de ambas as espécies (Schulz e Martins-Júnior, 2000; Lins *et al.*, 2010).

De modo geral, a variabilidade na composição de ácidos graxos de ambas as espécies entre as diferentes localizações geográficas foi reflexo das alterações na dieta dos peixes. A composição do fitoplâncton na base da cadeia alimentar flutua sazonalmente (Parrish *et al.*, 1995) e de acordo com as características geográficas do ambiente, que determinam alterações nos fatores bióticos e abióticos, como temperatura, salinidade, incidência de luz e disponibilidade de nutrientes. Essas alterações ambientais interferem no perfil de ácidos graxos do fitoplâncton em uma área e então, na composição de ácidos graxos do alimento disponível para os níveis tróficos superiores, podendo alterar o perfil de ácidos graxos dos Tgs e Fls teciduais nos peixes, alterando uma gama de processos bioquímicos envolvidos com essas moléculas, como atividade de elongases e dessaturases, síntese de eicosanoides, respostas imunológicas e esteroidogênicas, atividade de proteínas de membrana, etc. Contudo, essas alterações parecem ter um efeito menor em espécies carnívoras do que onívoras.

Referências Bibliográficas

- Abreu, P.C.; Costa, C.S.B.; Bemvenuti, C.; Odebrecht, C.; Granéli, W.; Anésio, A.M. 2006. Eutrophication processes and trophic interactions in a shallow estuary: preliminary results based on stable isotope analysis, *Estuaries and Coasts*, 29(2): 277-285.
- Ahlgren, G.; Vrede, T.; Goedkoop, W. 2009. Fatty acid ratios in freshwater fish, zooplankton and zoobenthos – are there specific optim? *In:* M.T. Arts, M.T. Brett e M.J. Kainz (eds). Lipids in Aquatic Ecossystems. Springer (Publ.), New York, EUA, p. 147-178.
- Aitken, R.J.; Baker, H.W. 1995. Seminal leukocytes: passengers, terrorists or good samaritans? *Human Reproduction*, 10:1736–1739.
- Araújo, F. G. 1998. Adaptação do índice de integridade biótica usando a comunidade de peixes para o rio Paraíba do Sul. *Revista Brasileira de Biologia*, 58: 547-558.
- Arts, M.T.; Kohler, C.C. 2009. Health and condition in fish: the influence of lipids on membrane competency and immune response. *In*: Arts, M.T.; Brett, M.T.; Kainz, M.J. (Eds). Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer. 237-256p.
- Bell, J.G.; Dick, J.R.; Mc Vicar, A.H.; Sargent, J.R.; Thompson, K.D. 1993. Dietary sunflower, linseed and fish oils affect phospholipid fatty acid composition, development of cardiac lesions, phospholipase activity and eicosanoid production in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 49: 665-673.
- Bell, J. G.; Tocher, D. R.; Macdonald, F.M.; Sargent, J.R. 1995. Effects of dietary borage oil [enriched in y-linolenic acid, 18:3 (n-6)] or marine fish oil [enriched in eicosapentaenoic acid, 20:5 (n-3)]on growth, mortalities, liver histopathology and lipid composition of

juvenile turbot (Scophthalmus maximus). Fish Physiology and Biochemistry, 14(5): 373-383.

- Budge, S.M.; Iverson, S.J.; Koopman, H. N. 2006. Studying trophic ecology in marine ecosystems using fatty acids: a primer on analysis and interpretation. *Marine Mammals Science*, 22: 759-801.
- Chen, C.Y.; Folt, C.L. 1993. Measures of food quality as demographic predictors in freshwater copepods. *Journal Planktonic Research*, 15:1247-1261.
- Cole, M.L.; Valiela, I.; Kroeger, K.D.; Tomasky, G.L.; Cebrian, J.; Wigand, C.; McKinney, R.A.; Grady, S.P.; da Silva, M.H.C., 2004. Assessment of a delta N-15 isotopic method to indicate anthropogenic eutrophication in aquatic ecosystems. *Journal of Environmental Quality*, 33: 124-132.
- Couture, P.; Hulbert, A.J. 1995. On the relationship between body mass, tissue metabolic rate and sodium pump activity in mammalian liver and kidney. *American Joural of Physiology*, 268: 641-650.
- De la Torre, F.R.; Salibián, A.; Ferrari, L. 1999. Enzyme activities as biomarkers of freshwater pollution: Responses of fish branchial (Na+K)-ATPase and liver transaminases. *Environmental Toxicology*, 14(3): 313-319.
- Favaro, D.I.T; Damatto, S.R.; Moreira, E.G.; Mazzilli, B.P.; Campagnoli, F. 2007. Chemical characterization and recent sedimentation rates in sediment cores from Rio Grande Reservoir, SP, Brazil. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 273(2): 451-463.
- Furlan, N. 2011. Distribuição da ictiofauna do Rio Grande (Alto Tietê, SP) e níveis de exposição de mercúrio (Hg) ao longo de seu eixo e na zona de influência da represa Billings. Dissertação de Mestrado. Secretaria de Agricultura e Abastecimento, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Instituto de Pesca.
- Garcia, A.M.; Hoeinghaus, D.J.; Vieira, J.P.; Winemiller, K.O. 2007. Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 73: 399-408.
- Gensemer, R.W; Playle, R.C. 1999. The bioavailability and toxicity of aluminum in aquatic environments. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 29:315-450.
- Gladyshev, M.I.; Sushchik, N.N.; Kalachova, G.S.; Makhutova, O.N. 2012. Stable isotope composition of fatty acids in organisms of different trophic levels in the Yenisei River. *Plos One*, 7(3): e34059.
- Hulbert, A.J.; Else, P.L. 1999. Membranes as possible pacemarkers of metabolism. *Journal of Theoretical Biology*, 199: 257-274.
- Iverson, S.J. 2009. Tracing aquatic food webs using fatty acids: from qualitative indicators to quantitative determination. *In*: Arts, M. T.; Brett, M. T. e Kainz, M. J. (Eds). Lipids in Aquatic Ecosystems. Springer. Pp. 281-307.

- Izquierdo, M.S.; Socorro, J.; Arantzamendi, L.; Hernández-Cruz, C.M. 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 22: 97-107.
- Izquierdo, M.S.; Fernández-Palacios, H.; Tacon, A.G.J. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197:25–42.
- Jagoe, C.H.; Haines, T.A. 1997. Changes in gill morphology of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts due to addition of acid and aluminum to stream water. *Environmental Pollution*, 97:137-146.
- Jalabert, B. 2005. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. *Reproduction Nutritional Development*, 45: 261–279.
- Poopal, R.K.; Ramesh, M.; Dinhesh, B. 2013. Short-term mercury exposure on Na⁺/K-ATPase activity and ionoregulation in gill and brain of an Indian major carp, *Cirrhinus mrigala. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 27(1): 70-75.
- Kroglund, F.; Staurnes, M. 1999. Water quality requirements of smolting Atlantic salmon (Salmo salar) in limed acid rivers. Canadian Journal of Fisheries Aquatic Science, 56: 2078-2086.
- Lins, J.A.P.N.; Kirschnik, P.G.; Queiroz, V.S.; Cirio, S.M. 2010. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. *Revista Acadêmica de Ciências Agrárias Ambientais*, 8: 469–484.
- Lundsted, L.; Brett, M.T. 1991. Differential growth rates of three cladocerans species in response to mono- and mixed algas diets. *Limnological Oceanography*, 36: 159-165.
- Muller Navarra, D.C.; Brett, M.T.; Park, S.; Chandra, S.; Ballantyne, A.P.; Zorita, E.; Goldman, C.R. 2004. Unsaturated fatty acid content in seston and tropho-dynamic coupling in lakes. *Nature*, 427: 69-71.
- Olsen, Y. 1999. Lipids and essential fatty acids in aquatic food webs: what can freshwater ecologist learn from mariculture? *In*: M.T. Arts; B.C. Wainman (eds.). Lipids in freshwater ecosystems. Springer (Publ.), New York, EUA, 161-202p.
- Parrish, C.C.; Mckenzie, C.H.; Macdonald, B.A.; Hatfield, E.A. 1995. Seasonal studies of seston lipids in relation to microplankton species composition and scallop growth in South Broad Cove, Newfoundland. *Marine Ecology Progress Series*, 129:151-164.
- Parrish, C.C.; Abrajano, T.A.; Budge, S.M.; Helleur, R.J.; Hudson, E.D.; Pulchan, K.; Ramos, C. 2000. Lipid and phenolic biomarkers in marine ecosystem: analysis and applications. *In:* Wangersky P.J. (eds.). Marine Chemistry. Springer Verlag, New York, p. 193-224.
- Post, D.M. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology*, 83:703–718.

- Redmond, K.J.; Magnesen, T.; Hansen, P.K.; Strand, O.; Meier, S. 2010. Stable isotopes and fatty acids as tracers of the assimilation of salmon fish feed in blue mussels (*Mytilus edulis*). *Aquaculture*, 298: 202-210.
- Sargent, J.R.; Bell, J.G.; Henderson, R.J.; Tocher, D.R., 1995. Requirement criteria for essential fatty acids. *Journal of Applied Ichthyology*, 11: 183–198.
- Schmitz, G.; Ecker, J. 2008. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Progress in Lipid Research*, 47: 147-155.
- Schulz, U.H.; Martins-Júnior, H. 2000. Astyanax fasciatus as bioindicator of water pollution of rio Sinos, RS, Brazil. Brazilian Journal of Biology, 61(4): 615-622.
- Stowasser, G.; McAllen, R.; Pierce, G.J.; Collins, M.A.; Moffat, C.F.; Priede, I.G.; Pond, W.D. 2009. Trophic position of deep-sea fish – Assessment through fatty acid and stable isotope analyses. *Deep-Sea Research I*, 56: 812-826.
- Stutzman, P. 1995. Food quality of gelatinous colonial chlorophytes to the freshwater zooplankters Daphnia pulicaria and Diaptomus oregonensis. Freshwater Biology, 34: 149-153.
- Suvetha, L.; Ramesh, M.; Saravanan, M. 2010. Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na⁺/K⁺-ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio. Environmental Toxicology and Pharmacology*, 29(1): 44-49.
- Tocher, D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2): 000-000.
- Tolussi, C.E.; Gomes, A.D.; Honji, R.M.; Parreira, W.S.P.; Moreira, R.G. 2013. The influence of ambiente anthropization in estradiol levels and ovarian development of *Astyanax fasciatus* (Teleostei: Characiformes: Characidae) females. *In:* 17th International Congress of Comparative Endocrinology. Barcelona.
- Torres-Ruiz, M.; Wehr, J.D.; Perrone, A.A. 2007. Trophic relations in a stream food web: importance of fatty acids for macroinvertebrate consumers. *Journal of North American Benthological Society*, 26: 509-522.
- Turner, N.; Else, P. L.; Hulbert, A. J. 2003. Docosahexaenoic acid (DHA) content of membranes determines molecular activity of the sodium pump: implications for disease states and metabolism. *Naturwissenchaftem*, 90: 521-523.
- Valiela, I.;Collins, G.; Kremer, J.; Lajtha, K.; Geist, M.; Seely, B.; Brawley, J.; Sham, C.H. 1997. Nitrogen loading from coastal watershed to to receiving estuaries: New method and application. *Ecological: Applications*, 7: 358–380.
- Vieira, V.A.R.O. 2012. Avaliação da toxicidade de metais no metabolismo de fêmeas vitelogênicas de Astyanax bimaculatus (Teleostei: Characidae). Tese de Doutorado. Departamento de Fisiologia Geral do Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 143p.

- Volkman, J.K.; Jeffrey, S.W.; Nichols, P.D.; Rogers, G.L.; Garland, C.D. 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *Journal Experimental of Marine Biology*, 128: 219-240.
- Volkman, J.K.; Barret, S.M.; Balckburn, S.I.; Mansour, M.P.; Sikes, E.L.; Gelin, F. 1998. Microalgal biomarkers: a review of recent research developments. Organic Geochemistry, 29:1163–1179.
- Wathes, D.C.; Abayasekara, R.E.; Aitken, R.J. 2007. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biology of Reproduction*, 77: 190-201.
- Wu, B.J.; Hulbert, A.J.; Storlien, L.H.; Else, P.L. 2004. Membrane lipid and sodium pumps of cattle and crocodiles: an experimental test of membrane pacemaker theory of metabolism. *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology,* 287: R633-R641.
- Xu, Z.; Burns, C.W. 1991. Development, growth and surviorship of juvenile calanoid copepods on diets of cyanobacteria and algae. Internationale Revue der Gesamten *Hydrobiologie*, 76, 73-87.
- Zhao, L.; Yang, F.; Yan, X. Stable isotopes and fatty acids as dietary tracers of interdital bivalves. *Fisheries Science*, 79: 749-756.