

**PROTOCOLO EXPERIMENTAL DE ESTRESSE AO FRIO EM *Colossoma macropomum* COMO BASE PARA UM PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO**

**John Fredy Gomez Agudelo** (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Centro de Aqüicultura - CAUNESP)

**Gabriel Rinaldi Lattanzi**

**Heloísa Moisés Burini** (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira - FACVR)

**Matheus Ryan Silva Júlio** (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira - FACVR)

**Rick Martins Soares** (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira - FACVR)

**Celma Gomes Lemos** (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Centro de Aqüicultura - CAUNESP)

**Arno Juliano Butzge** (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Centro de Aqüicultura - CAUNESP)

**Gabryelle Guimaraes Castro de Sousa** (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Centro de Aqüicultura - CAUNESP)

**Camila Fernandes Corrêa** (Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA, Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo - SAA)

**Eduardo Antônio Sanches** (Departamento de Recursos Pesqueiros e Aqüicultura - FCAVR)

**Luciana Shiotsuki** (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Centro de Pesquisa em Aqüicultura, Palmas/TO)

**Diogo Teruo Hashimoto** (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Centro de Aqüicultura - CAUNESP)

**Rafael Vilhena Reis Neto** (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira - FACVR)

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é a principal espécie nativa da aqüicultura na América do Sul, destacando-se pelo rápido crescimento e ampla aceitação no mercado. No entanto, sua sensibilidade ao frio limita a expansão do cultivo para regiões de clima subtropical. A identificação de variação genética associada à tolerância térmica é essencial para o desenvolvimento de linhagens mais adaptadas, tornando necessária a padronização de protocolos experimentais que possibilitem a fenotipagem precisa sob condições de estresse. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo desenvolver um protocolo de desafio ao frio em tambaqui que integre dados fenotípicos e moleculares, fornecendo subsídios para programas de melhoramento genético baseados em ferramentas genômicas avançadas. Foram desafiados 922 juvenis provenientes de 35 famílias (31 de Palmas TO e 4 de Registro SP). Após atingirem entre 10 e 20 g, os animais foram transferidos para o Setor de Piscicultura da APTA - Polo Regional do Vale do Ribeira, em Pariquera Açu (SP), onde foram identificados com PIT tag, coletaram-se tecidos para análises moleculares e registrou-se o peso inicial individual. Posteriormente, os peixes foram alocados no Laboratório de Desafio às Mudanças Climáticas (LDMC), da Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira -

UNESP/Registro, em um sistema de recirculação de água (RAS) composto por oito caixas de 500 L interligadas a um reservatório com chiller de 2 HP, bomba de 0,5 CV, filtro de areia de 30 kg, aquecedores e termostato. Durante a primeira semana, a temperatura foi mantida em torno de 28 °C para adaptação, com alimentação diária e monitoramento contínuo da qualidade da água. Em seguida, reduziu-se gradualmente a temperatura em aproximadamente 1 °C por dia até atingir 11,5 °C. Alterações comportamentais e fisiológicas foram registradas ao longo do desafio. Entre 18 e 17 °C houve interrupção do consumo de alimento, entre 16 e 15 °C os peixes passaram a permanecer na superfície e entre 15 e 14 °C apresentaram letargia, natação errática e coloração avermelhada. As primeiras mortalidades ocorreram entre 14 e 13 °C e intensificaram-se progressivamente até o pico a 12 °C. Para cada indivíduo, registraram-se temperatura e horário da morte, peso, medidas corporais e coletaram-se amostras de DNA. Tecidos de baço foram obtidos em três etapas para diagnóstico de infecções oportunistas. O protocolo permitiu caracterizar as respostas fisiológicas e comportamentais ao frio, determinar a temperatura letal média (~12,2 °C) e gerar um conjunto robusto de dados fenotípicos e moleculares, fornecendo subsídios estratégicos para programas de melhoramento genético voltados à seleção de famílias mais tolerantes ao frio.