



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP



**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DO PINTADO (*Pseudoplatystoma
corruscans*) A ESTRESSORES COMUNS NA PISCICULTURA**

MICHELE FAGUNDES
Médica Veterinária

Jaboticabal
São Paulo – Brasil
2005

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

CÂMPUS JABOTICABAL

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DO PINTADO (*Pseudoplatystoma
corruscans*) A ESTRESSORES COMUNS NA PISCICULTURA**

Michele Fagundes

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elisabeth Criscuolo Urbinati

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura, do Centro de Aquicultura da UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em AQUICULTURA, Área de Concentração em Aquicultura em Águas Continentais.

Jaboticabal
São Paulo - Brasil
2005

A trilha do homem, nem sempre é farta ou isenta de pedras,
Mas é sempre válida,
A cada amanhecer somos testados,
Afiml ninguém é tão jovem que possa deixar o tempo passar ou tão velho que
não possa recomeçar,
Não há tarefa tão árdua que não possa ser feita com amor,
Não há ninguém tão sábio que não possa aprender,
Pois o vencedor é aquele que consegue vencer a si mesmo e que aprende que a
vida é um milagre que não se repete jamais.

A meus pais *Volmecir e Marinês*, a quem devo a vida. Os grandes responsáveis pela pessoa que sou hoje. Vocês são pessoas mágicas que sempre estiveram ao meu lado nos bons e maus momentos, me mostraram o certo e o errado e me deram o poder de escolha. Pai e mãe vocês são parte de minha alma, e nada mais junto do que dedicar esta conquista a vocês, por todo o apoio e incentivo e por serem assim, especiais, meus heróis.

A meus irmãos *Maiquel e Aniele*, pelo apoio e o companheirismo, até mesmo pelas brigas de infância que nos fazem aprender a se defender desde pequenos. Amo vocês.

Ao *Evandro Soares Guimarães*, por todo apoio, compreensão e paciência, por cada palavra de afeto e de incentivo, pelo companheirismo e amor. Você é muito especial, te amo.

Ofereço e dedico

Homenagem

À Profa. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati

Á você Beth, meus sinceros agradecimentos, pela oportunidade e a confiança que depositastes em mim. Não poderia deixar de agradecer a força e a preocupação que teve comigo todo este tempo, pelo carinho e por todos os ensinamentos. Obrigado de coração por fazer parte da minha caminhada.

Ao Prof. Dr. Leonardo José Gil Barcellos

A meu Pai científico, devo todo amor pela profissão, você foi o responsável por me encaminhar profissionalmente, obrigada por acreditar em mim e me mostrar que os peixinhos precisam de nós. Muito obrigada por tudo, não saberia agradecer com palavras, mas saiba que está sempre guardado com muito carinho em meu coração.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela oportunidade e por cada amanhecer.

A Piscicultura Águas Claras, que doou os animais para a realização do experimento.

À Profa. Dra. Maria Célia Portela pelo empréstimo das dependências do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos para realização do experimento.

À Damares Roviero, pela ajuda e colaboração durante as coletas e análises e pela dedicação e os cuidados de mãe, sempre zelosa e preocupada.

Aos amigos do laboratório Leo Bacarin, Márcio e Leo Takarashi pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos professores, funcionários e amigos do CAUNESP pelo apoio e amizade.

Aos funcionários do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, os quais me receberam com carinho.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Fisiologia de Peixes pelo ajuda, sugestões, amizade.

Aos membros da Comissão Examinadora do Exame Geral de Qualificação, Prof. Dr. Flávio Ruas de Moraes e Dr. Rodrigo Yudi Fujimoto, pela colaboração e sugestões. Muito Obrigada.

Ao Prof. Dr. João Batista Kochenborger Fernandes, pela ajuda e colaboração e por fazer parte da Comissão Examinadora.

A cada pessoa que passou nesta minha caminhada, deixo meu muito obrigado, cada um teve sua importância, vocês estão guardadas com carinho em meu coração.

ÍNDICE

RESUMO	8
ABSTRACT	9
A piscicultura no Brasil e seu potencial	10
O pintado (<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>)	10
Mecanismos do estresse em peixes	13
Causas do estresse	18
Tipos de estresse	18
Captura	18
Transporte - sistema fechado	19
Exposição à luz	20
OBJETIVOS GERAIS	21
Objetivos específicos	21
MATERIAIS E MÉTODOS	22
Animais	22
Protocolo Experimental	22
Experimento 1 - Captura	22
Experimento 2 - Transporte em sistema fechado	23
Experimento 3 - Exposição à luz	24
Amostragem e Métodos de Análise	24
Análise Estatística	25

RESULTADOS	26
Experimento 1 - Captura	26
Experimento 2 - Transporte em sistema fechado	31
Experimento 3 - Exposição à luz	37
DISCUSSÃO	43
CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Cortisol plasmático (ng/mL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 26
- Figura 2.** Glicemia (mg/100mL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 27
- Figura 3.** Cloreto plasmático (mEq/L) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 27
- Figura 4.** Osmolaridade plasmática (mmol/kg) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 28
- Figura 5.** Hematócrito (%) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 29
- Figura 6.** Número de células sanguíneas vermelhas (RCB) ($10^6/\text{mm}^3$) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 29
- Figura 7.** Volume corpuscular médio (VCM) (μ^3) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 30
- Figura 8.** Hemoglobina (g/dL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 31

- Figura 9.** Cortisol plasmático (ng/mL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 32
- Figura 10.** Glicemia (mg/100mL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 32
- Figura 11.** Cloreto plasmático (mEq/L) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 33
- Figura 12.** Osmolaridade plasmática (mmol/kg) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 34
- Figura 13.** Hematócrito (%) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 34
- Figura 14.** Número de células sanguíneas vermelhas (RCB) ($10^6/\text{mm}^3$) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 35
- Figura 15.** Volume corpuscular médio (VCM) (μ^3) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 36
- Figura 16.** Hemoglobina (g/dL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%. 36

Figura 17. Cortisol plasmático (ng/mL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, logo após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%. 37

Figura 18. Glicemia (mg/100mL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, logo após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%. 38

Figura 19. Cloreto plasmático (mEq/L) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, logo após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%. 38

Figura 20. Osmolaridade plasmática (mmol/kg) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz 24 horas ou ausência de luz, logo após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%. 39

Figura 21. Hematócrito (%) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, logo após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%. 40

Figura 22. Número de células sanguíneas vermelhas (RCB) ($10^6/\text{mm}^3$) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, logo após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%. 40

Figura 23. Volume corpuscular médio (VCM) (μ^3) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, logo após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%. 41

Figura 24. Hemoglobina (g/dL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, logo após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%. 42

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DO PINTADO
(*Pseudoplatystoma corruscans*) A ESTRESSORES COMUNS
NA PISCICULTURA

RESUMO

O crescente desenvolvimento da aquicultura brasileira estimulou o interesse de cultivo de espécies com valor comercial como o pintado, intensificando as técnicas de manejo que podem causar danos ao plantel se realizadas de forma inadequada. Este trabalho avaliou as respostas fisiológicas do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) quando exposto aos estressores comuns do sistema de produção (captura, transporte e luminosidade). O estudo foi dividido em três experimentos. No experimento 1, 42 pintados foram submetidos a captura (perseguição e exposição aérea por 3 minutos) e amostrados 5, 30, 60 minutos e 24 e 48 horas após exposição ao estressor. No Experimento 2, 42 pintados foram transportados por 12 horas em sistema fechado e amostrados na chegada, 24 e 48 horas após os animais terem retornados as caixas. No Experimento 3, 26 pintados foram expostos à luz contínua por 24 horas (lâmpadas de 60w) ou permaneceram em total escuridão. Após este período, os peixes foram amostrados ao término exposição à luz ou escuro e 24 horas depois de retornarem ao sistema normal de iluminação (12 horas de escuridão e 12 horas claridade).

No Experimento 1, os níveis de cortisol foram maiores 30 minutos após o agente estressor e retornaram a valores próximos aos normais em 60 minutos; os níveis de glicose plasmática aumentaram da captura até 30 minutos após a níveis que se mantiveram por 24 horas; os indicadores de desequilíbrio iônico (cloreto e osmolaridade plasmática) mostraram discreta redução, enquanto houve redução no hematócrito acompanhado de redução no número de células vermelhas, hemoglobina, sugestivo de um hemodiluição. No Experimento 2, ocorreu diminuição dos níveis de cortisol plasmático e da glicemia, após 12 horas de transporte e no Experimento 3 não houve diferença significativa nos níveis de cortisol e glicemia plasmáticos após alteração no regime de luz (claro ou escuro), embora o hematócrito e o número de células vermelhas tenha aumentado nos animais expostos à luz.

No presente trabalho, as respostas fisiológicas do pintado sugeriram retroalimentação negativa da secreção do cortisol, em condição prolongada de estresse, e uso preferencial de outros substratos energéticos, que não a glicose, para suprir a demanda de energia na correção do distúrbio homeostático do estresse.

ABSTRACT

The development of the aquaculture in Brazil has raised the interest for farming species with economic value such as the pintado, intensifying the rearing routine that might cause stress in fish when imposed in an inappropriate way. The present work evaluated the physiological responses of pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) exposed to handling procedures such as capture, transport and light. The study was divided in 3 experiments. In Experiment 1, 42 fish were submitted to capture (chasing and air exposure for 3 minutes) and sampled 5, 30, 60 minutes and 24 e 48 hours after estressor. In Experiment 2, 42 fish were transported for 12 hours in a closed system and sampled at arrival, 24 and 48 hours after. In Experiment 3, 26 fish were exposed to constant light (60w) or darkness for 24 hours. After that they were kept in the regular light regime (12 hours light and 12 hours darkness).

In Experiment 1, cortisol levels were higher 30 minutes after the stressor and recovered the basal levels within 60 minutes; blood glucose levels increased from capture until 30 minutes after at levels that were kept for 24 hours; plasma chloride and osmolarity reduced slightly and hematocrit, red cell number and hemoglobin reduced suggesting hemodilution. In Experiment 2, plasma cortisol and blood glucose levels decreased 12 hours after transport and in Experiment 3 no significant difference was observed in cortisol e glucose levels after exposure to light or darkness, despite of the increase in hematocrit and red cell number in fish light exposed. The physiological responses of stress in pintado suggested the activation of the feedback mechanism in the cortisol secretion in long-term condition of stress and metabolic preference for fuel substrates other than glucose to supply the metabolic costs from homeostasis disturbance.

A piscicultura no Brasil e seu potencial de crescimento

Com o avanço da piscicultura como atividade zootécnica, observa-se o crescente interesse no conhecimento da fisiologia e do manejo das espécies que possuem importância econômica, visando diminuir as consequências negativas geradas pela criação.

Em 1999, a aquicultura mundial expandiu-se ao redor de 9%, gerando recursos na ordem de US\$ 40 bilhões. Neste mesmo período, a expansão no Brasil foi de 35%, com geração de US\$ 30 milhões e em 2001, a produção total da aquicultura brasileira foi de 204.000 toneladas (Roubach *et al.*, 2003).

Segundo o IBGE (2004), o Brasil possui a maior riqueza mundial em recursos naturais no que diz respeito à água, contando a região Norte com 20% de toda água doce do mundo. Em relação à produção de pescado, 80% refere-se a peixes de água doce e ocorre em todos os estados brasileiros.

O pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*)

Embora existam cerca de 2.700 espécies de peixes catalogadas no país, poucas apresentam valor econômico que justifique a sua utilização em piscicultura comercial (Miranda e Ribeiro, 1997). O pintado ou surubim (*Pseudoplatystoma corruscans*) aparece como uma das principais espécies nativas cultivadas (Roubach *et al.*, 2003).

O *Pseudoplatystoma corruscans*, popularmente conhecido como pintado, surubim, piracajara, pira-pára, piracajara e surubi (Nakatani *et al.*, 2001), é uma espécie nativa do Brasil, pertencente à Ordem dos Siluriformes, que engloba mais de 2.200 espécies de bagres ou peixes de couro espalhados por todo o continente (Kubitza *et al.*, 1998). O gênero *Pseudoplatystoma*, que inclui os maiores peixes da família Pimelodidae, pode ser encontrado nas bacias do rio Amazonas e São Francisco, bem como no sistema do rio da Prata formado pelos rios Paraná, Paraguai e Uruguai (Fowler, 1951; Sato *et al.*, 1997). Priolli *et al.* (2002) estudaram a variabilidade genética da população de pintado coletada no médio e alto Paraná, enquanto, em estudo mais recente, Matheus e Petrere (2004) estudaram a ocorrência do pintado no rio Cuiabá, avaliando aspectos ligados ao crescimento, idade e mortalidade na população natural.

O pintado tem despertado grande interesse de pesquisadores e produtores de peixes devido ao valor comercial e potencial para comercialização. A espécie apresenta

crescimento rápido, tamanho excepcional e ótima aceitação no mercado (Reid, 1983; Toledo, 1991; Cury, 1992), além da qualidade da carne saborosa e sem espinhos intramusculares, e das características para pesca esportiva (Cury, 1992, Lundstedt *et al.*, 2004). O pintado vem sendo criado com sucesso desde meados da década de 90 (Martino *et al.*, 2002 a, b) e o seu cultivo ocorre nas regiões Sudeste, Nordeste e Centro-oeste, sendo esta última a principal região produtora (Roubach *et al.*, 2003).

Para que se tenha sucesso no cultivo de uma espécie é preciso conhecer suas exigências, hábitos e fisiologia e para isso pesquisas devem ser desenvolvidas.

Estudo realizado por Brito (2003) mostrou que o período reprodutivo do pintado ocorre entre outubro e janeiro, com alta frequência de indivíduos em maturação/maduros e desovados/espermiados, e com os maiores valores do índice gonadossomático, coincidindo este período com maior turbidez das águas e maior índice de chuvas na região. No início da domesticação da espécie, uma das dificuldades encontradas foi a reprodução artificial da espécie em cativeiro (Fernandes *et al.*, 2002), e somente a partir do final dos anos 80 conseguiu-se desova induzida bem sucedida mediante injeções de hormônio (Sato *et al.*, 1997).

Com o crescimento da produção da espécie, estudos começaram a ser realizados, principalmente na fase inicial de vida, na qual os indivíduos são extremamente frágeis, embora seja grande o número de indivíduos produzidos numa única desova (Sato *et al.*, 1997). A partir da reabsorção completa do saco vitelino, em torno do quinto dia de vida, a grande maioria das larvas (99%) não consegue sobreviver (Santos e Godinho, 1994). Experimento realizado com larvas mostrou que desde o primeiro dia de vida os indivíduos apresentam preferência por náuplios de artêmia (Lopes *et al.*, 1996) e, em larvas com 22 a 32 dias de vida, a utilização de zooplâncton selvagem torna-se viável (Fernandes *et al.*, 2002). Smerman *et al.* (2002), ao testarem dois tipos de tratamento alimentício (1 - farinha de sangue e zooplâncton e 2 - farinha de sangue, farinha de carne e zooplâncton) observaram que ocorreu maior sobrevivência no primeiro tratamento, sendo 6,5% e 3,2%, respectivamente. No mesmo trabalho, os autores relataram que o local do experimento deve estar em completa escuridão, pois o pintado é um peixe de características noturnas, necessitando da escuridão para se alimentar e não entrar em estresse, o que pode ocasionar sua morte. Guerreiro Alvarado (2003), também estudando aspectos da larvicultura do pintado, aplicou técnica de treinamento

alimentar, em sistema de criação intensiva, com substituição de alimento vivo (artêmia) pelo artificial e verificou a viabilidade da técnica.

O pintado é uma espécie carnívora (Petuco, 1998). Resende *et al.* (1996) avaliaram o conteúdo estomacal dos indivíduos coletados em ambiente natural e relataram que, em 92,6% dos animais, encontrou-se basicamente traíra (*Hoplias mabaricus*) e outros peixes das ordens Characiforme e Siluriforme. Seixas Filho *et al.* (2001a) estudaram a anatomia funcional e morfologia do intestino de pintado e mostraram que a espécie possui intestino compatível ao da maioria dos peixes carnívoros. O tempo de trânsito gastrointestinal de ração para alevinos de pintado, a 28°C, é de sete horas e trinta minutos, uma passagem do alimento considerada rápida devido ao curto trato digestivo, característico do hábito alimentar da espécie (Gonçalves, 1998).

Várias pesquisas foram realizadas, abordando a necessidade nutricional da espécie, já que se trata de animal carnívoro, com alta exigência protéica (Castagnolli, 1992). Segundo Machado (1999), que comparou níveis dietários de proteína bruta e energia, a relação ideal para juvenis da espécie está entre 30 e 36% de proteína para 3500 e 4000 kcal energia digestível, respectivamente. Já Martino *et al.* (2002b), testaram diferentes fontes de lipídeo e observaram que tanto os lipídeos de origem animal como vegetal são bem metabolizados pela espécie. Entretanto, ao testar diferentes níveis de lipídeos e carboidratos, observaram que não houve melhora do desempenho e crescimento e que ocorreu aumento indesejável da quantidade de lipídio visceral (Martino *et al.*, 2005). Gonçalves e Carneiro (2003) determinaram os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e da energia dos principais alimentos utilizados na formulação de dietas para alevinos de pintado, enquanto Seixas Filho *et al.* (2000) avaliaram a atividade da lipase no quimo do intestino médio e posterior e a presença de células endócrinas (Seixas Filho *et al.*, 2001b). Lundstedt *et al.* (2004) também realizaram estudo sobre as enzimas digestivas do pintado e observaram que estas eram responsivas ao amido. Entretanto a atividade proteolítica mostrou ser suficiente para digestão de grandes quantidades de proteína e os autores recomendaram um balanceamento entre a proteína e outros compostos energéticos como carboidratos e gordura na dieta para otimizar o crescimento da espécie. Furuya e Furuya (2003) estudaram a composição de aminoácidos da carcaça do pintado baseado no conceito de proteína ideal e observaram que este perfil reflete a composição de aminoácidos da

dieta. Fujimoto e Carneiro (2001) testaram níveis de suplementação de vitamina C (ascorbil fosfato) na dieta de alevinos de pintado e observaram que o nível de 500 mg de AP/kg foi suficiente para prevenir a ocorrência de deformidades e infestações parasitárias, possibilitando o melhor desenvolvimento dos peixes.

A ocorrência de canibalismo entre larvas é bastante comum. Em testes feitos com diferentes densidades (14, 28, 42 e 56 larvas/litro), observou-se desenvolvimento negativo e aumento linear da taxa de mortalidade e canibalismo entre os animais, com o aumento da densidade (Andrade *et al.*, 2004). Inoue (2003) testou os efeitos de utilização de concentrações crescentes de cal na água de cultivo (CaMgO_2) (0, 5, 10, 15 g/m^3), e notou uma forte tendência de aumento na sobrevivência em função do aumento nas doses de cal.

A pesca predatória (Giaquinto, 2001), assim como a construção de hidroelétricas (Behr e Hayashi, 1997), a poluição dos rios e o assoreamento provocado pelo desmatamento das matas ciliares (Toledo, 1991), contribui perigosamente para a diminuição gradual dos estoques nativos. Hoje o pintado encontra-se incluído entre as espécies vulneráveis a extinção (Fundação Biodiversitas, 2005). Na criação, é conhecido entre os produtores que a espécie tem alta sensibilidade ao manejo. É um peixe de fundo, com hábito noturno (Smerman, 2002), que se mostra extremamente agitado quando exposto à claridade. Estas características se refletem no desempenho produtivo e conseqüentemente nos custos de produção. Apesar de todo o interesse pela espécie, faltam estudos sobre sua fisiologia, que tragam informações para a otimização do manejo.

Mecanismos do estresse em peixes

Durante todo o período de criação, os peixes são submetidos a diferentes formas de manejo e a variações ambientais que afetam o equilíbrio orgânico do animal. As conseqüências são geralmente a inibição do crescimento, falha na reprodução e resistência reduzida aos patógenos (Wenderlaar Bonga, 1997).

O estresse em peixes tem sido amplamente discutido, e vários aspectos relacionados à sua fisiologia e efeitos são abordados. Ele pode ser definido como condição na qual o equilíbrio dinâmico, ou homeostase, de determinado organismo é perturbado ou influenciado por um estímulo intrínseco ou extrínseco, denominado

estressor (Pickering, 1981). Os efeitos do estresse são estudados em vários grupos de animais, incluindo os peixes, e embora este seja comumente interpretado como nocivo, é importante destacar seu valor adaptativo, à medida que permitem o ajuste do animal às variações ambientais para manutenção de sua homeostase (Wendelaar Bonga, 1997). Barton e Iwama (1991) comentam que os peixes têm capacidade natural de responder fisiologicamente aos estressores, para minimizar os distúrbios impostos. Entretanto, quando os mecanismos de respostas de ajuste excedem além de seus limites normais, a resposta pode ser deletéria à sua saúde.

Segundo Selye (1950), um animal estressado passa por três fases distintas, que ele denominou de Síndrome Geral da Adaptação (SGA). O primeiro estágio da SGA é uma reação de alarme, usualmente caracterizada por uma rápida resposta fisiológica, seguida de um segundo estágio, de resistência. Durante a segunda fase, o organismo se adapta ao distúrbio com o objetivo de recuperar a homeostase. Se o estresse é muito intenso ou persiste por longo período, a adaptação pode não ser mais possível e o organismo entra no terceiro estágio, que é o de exaustão.

A resposta do estresse compreende uma série de alterações fisiológicas e pode ser diferenciada em aguda e crônica. A primeira geralmente ocorre em procedimentos de manejo, como captura e transporte. O segundo tipo de resposta, a crônica, que acontece em condições que mantêm os peixes por longos períodos em situações estressantes, como pH incorreto, baixo nível de oxigênio dissolvido na água e superpopulação, que pode levar à redução no desempenho produtivo (crescimento e reprodução) e da resposta imune (Iwama, 1993).

Os efeitos da resposta de estresse são divididos em primários, secundários e terciários. Entre os efeitos primários, encontra-se o aumento de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) e corticosteróide (cortisol) no plasma. Entre as secundárias, estão os efeitos metabólicos provocados pelos primários, como as alterações da glicemia, do acúmulo de ácido lático muscular, de glicogênio hepático e muscular, como alterações no hematócrito e no número de linfócitos, e ainda os efeitos hidrominerais, como alterações nas concentrações plasmáticas de cloro, sódio, potássio, proteínas e na osmolaridade do plasma. Os efeitos terciários principais são a redução de desempenho produtivo e reprodutivo e a diminuição da resistência às doenças (Wendelaar Bonga, 1997). Estas respostas geralmente independem do tipo de estressor,

mas o aspecto quantitativo desta resposta depende da intensidade e duração do estímulo (Mazeaud *et al.*, 1977).

As respostas fisiológicas de estresse são estimuladas em sistema de cascata, o qual desencadeia respostas em defesa do organismo, estimulando o hipotálamo, que secreta o fator liberador de corticotrofina (CRH), que por sua vez estimula a hipófise a liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Uma vez na corrente sanguínea, o ACTH atinge o tecido interrenal, promovendo a liberação do cortisol. As catecolaminas, adrenalina e noradrenalina, são liberadas pelas células cromafins, estimuladas diretamente pelo sistema nervoso simpático (Van der Boon, 1991).

Em peixes teleósteos, a elevação plasmática do cortisol é reconhecida como a principal resposta hormonal de estresse, sendo utilizada como o principal indicador destas respostas (Patiño *et al.*, 1987). O perfil de liberação de cortisol é bastante variado entre as espécies. Os salmonídeos geralmente apresentam o pico de liberação uma hora após a ocorrência do estímulo estressor e requerem cerca de 24 horas para que as concentrações plasmáticas retornem a valores próximos aos iniciais (Specker e Scheck, 1980, Pickering e Pottinger, 1989; Mesa, 1994). Em peixes tropicais como pacu (*Piaractus mesopotamicus*), a concentração plasmática de cortisol foi medida em tempo de zero, uma e seis horas após exposição a estressor agudo e foram encontrados níveis crescentes do hormônio (Krieger-Azzolini *et al.*, 1989). Em ciclídeos, como a tilápia mossambica (*Oreochromis mossambicus*), ocorreu redução a nível pré-estresse, em menos de uma hora após a ocorrência de estressor (Foo e Lam, 1993). Barcellos *et al.* (1999) submeteram tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) à perseguição e retirada da água por 60 segundos, verificando concentração máxima de cortisol uma hora após o estímulo, o mesmo ocorrendo em jundiá (*Rhamdia quelen*) (Barcellos *et al.*, 2001). Gomes *et al.* (2003) transportaram juvenis de tambaqui durante três horas e detectaram aumento nos níveis de cortisol logo após transporte e 24 horas depois, com retorno aos valores normais em 96 horas. Já, em matrinxã (*Brycon cephalus*), ocorreu elevação do nível de cortisol plasmático após transporte de 4 horas e retorno aos valores normais em 24 horas (Urbinati e Carneiro, 2001; Urbinati *et al.*, 2004).

Sabe-se que a secreção de cortisol é responsável por múltiplos efeitos e sua ação afeta o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos. Geralmente, o cortisol é hiperglicêmico, primariamente pelo resultado da gliconeogênese hepática mantida por proteólise periférica (Mommsen *et al.*, 1999). Van der Boon *et al.* (1991) sugeriram que

o cortisol provoca aumento da lipólise, resultando em maior aporte de ácidos graxos livres e de glicerol, aos tecidos e, conseqüentemente, para a gliconeogênese. Aumento considerável da glicose e de corticosteróides foi observado durante estresse agudo, em *Salvelinus fontinalis* (Vijayan *et al.*, 1991), enquanto ocorreu aumento gradativo na glicemia plasmática com o aumento da duração da exposição ao estressor em machos e fêmeas de salmão (*Oncorhynchus nerka*) (Kubokawa *et al.*, 1999). Leach e Taylor (1980) demonstraram que quando o aumento na concentração plasmática de cortisol é bloqueado por compostos como metirapona (inibidor de uma etapa da síntese desse hormônio), a elevação da glicemia é transitória após um estressor agudo, em comparação a peixes não tratados com este composto. Estes dados sugerem que o aumento da glicose plasmática resultante do estressor de curta duração é devido ao efeito das catecolaminas (por estímulo primário da glicogenólise), enquanto que o responsável por manter os níveis de glicose, em estresse prolongado, é o cortisol.

A liberação das catecolaminas, principalmente a adrenalina, causa dilatação da vasculatura branquial atuando na captação de oxigênio e na osmoregulação, promovendo aumento das trocas iônicas através das brânquias, que aumenta a área de contato das lamelas branquiais com a água (Mayer-Gostan *et al.*, 1987). Ao avaliar a resposta do matrinxã (*Brycon cephalus*), após cinco horas de transporte, Carneiro e Urbinati (1998) observaram que a concentração de sódio e cloreto foi reduzida na chegada do transporte, mantendo-se assim até 24 horas após. O nível plasmático de potássio aumentou após o transporte, retornando aos valores iniciais 24 horas depois. Estes efeitos, entretanto, devem-se à lise celular já que o potássio é um íon intracelular. As alterações na concentração das diferentes substâncias (íons e outras não iônicas como glicose) terminam por afetar a osmolaridade do sangue, tornando esta variável um indicador de estresse.

Como efeito secundário também ocorrem alterações no quadro hematológico, relativos às células vermelhas e brancas. As primeiras estão relacionadas ao processo de maior transporte de oxigênio pela demanda do estresse. Seu número pode aumentar por contração do baço, pois é um órgão hematopoiético e de armazenamento de células (Gilmour 1997). Injeção de cortisol na truta *Oncorhynchus clarki clarki* aumentou o consumo de oxigênio (Morgan e Iwama 1996) e, na carpa, ela aumentou o hematócrito, a hemoglobina e o volume e número de eritrócitos (Wojtaszek *et al.*, 2002). O aumento do volume dos eritrócitos é causado pelo estímulo da bomba Na^+/H^+ e inibição da

bomba de $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ presente na membrana do eritrócito. Este mecanismo eleva o pH celular e a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, aumentando o gradiente osmótico entre o plasma e o citoplasma (Gilmour, 1997).

As células brancas são as células de defesa do organismo. A imunidade reduzida decorrente da resposta de estresse é confirmada por diversos autores, entre eles Kebus *et al.* (1992) e Iwama (1993), e está inversamente correlacionada à elevação do cortisol plasmático, que provoca diminuição do número de linfócitos circulantes. Maule *et al.* (1989) demonstraram que a aplicação de um estressor tão breve quanto 30 segundos de emersão dos peixes foi o suficiente para suprimir em 25% a função dos linfócitos de salmão (*O. tshawytscha*), quatro horas após a ocorrência do estressor. Neste estudo, a supressão e a recuperação foram inversamente correlacionadas com a elevação e diminuição das concentrações de cortisol, respectivamente. McLeay (1973) demonstrou que o *O. kisutch* tratado com ACTH, hormônio que promove a secreção do cortisol, apresentou diminuição no número de linfócitos circulantes. Acrescentando, Salonius e Iwama (1993) sugerem que a diminuição da resistência a doenças ocorre por modulação da atividade dos macrófagos que está relacionada ao estresse. A redução do número de linfócitos e macrófagos pode ser causada pelo extravasamento destas células que permeiam o epitélio das brânquias, pele e intestino do peixe estressado. A função das células B e T torna-se afetada e isto é frequentemente associado com diminuição de resistência a patógenos oportunistas (bactérias, fungos, protozoários e vírus), resultando em doenças e mortalidade (Ellis, 1981; Wendelaar Bonga, 1997). Ainda para explicar a imunossupressão, Flower (1986) relata que o cortisol inibiu a diferenciação dos linfócitos a partir de seus precursores, por inibir as interleucinas, responsáveis pela diferenciação. Adicionalmente, o sistema imune pode ser suprimido pela ação de estressores e o agente causador de doença pode multiplicar-se, ganhar o controle e matar o hospedeiro (Anderson, 1990), o que ocasiona significativas perdas para o produtor.

Algumas técnicas são utilizadas para minimizar o estresse de peixes cultivados, tais como uso de anestésico (Macavoy e Zaepfel, 1997; Urbinati e Carneiro, 2001; Carneiro e Urbinati, 2001b), sal (Wurts, 1995; Carneiro e Urbinati, 2001a) e até mesmo óleo de cravo (Griffiths, 2000), mas o uso de imunoestimulantes, em peixes, tem ganhado importância como indutores de proteção contra doenças e estimuladores de mecanismos não específicos de defesa (Anderson, 1992; Sakai, 1999).

Causas do estresse

Os causadores do estresse em piscicultura são variáveis, de fatores ambientais aos sistemas de criação. Entre estes, estão estação do ano, idade do animal, condições fisiológicas, fatores sociais (predação, parasitismo, competição intensiva por espaço, alimento ou parceiros sexuais), características individuais herdáveis ou adquiridas e mesmo linhagens ou espécies diferentes, bem como mudanças abruptas ou extremas no ambiente físico (temperatura, qualidade da água, luminosidade, sanidade) e interferência humana, incluindo práticas de aqüicultura (captura, manuseio, transporte, aumento de densidade) e poluição da água (metais pesados e químicos orgânicos) que vão levar a uma resposta típica (Wendelaar Bonga, 1997). Tais fatores, individualmente ou juntos, podem impor considerável estresse no sistema fisiológico do peixe (Adams, 1990).

Tipos de estresse

Captura

Em todo processo de produção, os animais são submetidos ao estresse de captura, seja ele para simples troca de tanque, biometria, seleção, ou para uma retirada dos animais da propriedade para distribuição ou venda. Do mesmo modo, nos laboratórios de pesquisa, os peixes são manuseados de diferentes formas de acordo com os protocolos experimentais. Quando os animais passam por estes procedimentos, inúmeros mecanismos são desencadeados em resposta ao desequilíbrio fisiológico que se instala, principalmente se os procedimentos forem realizados de forma inadequada.

Estudos prévios demonstram que o efeito do estresse é mais pronunciado durante a captura e o carregamento dos animais do que durante o transporte propriamente dito (Specker e Schreck, 1980; Johnson e Metcalf, 1982; Robertson *et al.*, 1988; McDonald *et al.*, 1993; Staurnes *et al.*, 1994).

Quando os animais são submetidos à captura, seja ela realizada por redes, anzóis ou puçás, os peixes tendem a fugir e passam por posterior exposição aérea, resultando entre outras respostas, no aumento da concentração de lactato e íons H no músculo, que podem ser identificados na corrente sanguínea, além de elevadas concentrações de cortisol e glicose (Barnett e Pankhurst, 1998). Estudos realizados com *Pagrus major*, capturados com anzol e linha e por rede de arrasto, mostraram que os níveis de cortisol nos peixes, nas duas formas de captura, foram maiores que no grupo controle, embora

os animais capturados com anzol e linha não apresentaram mortalidade após a captura (Chopin *et al.*, 1996). Sloman *et al.* (2001) submeteram exemplares de *Oncorhynchus mykiss* a estresse por exposição ao ar, por um período de trinta segundos, e observaram que, trinta minutos após o estressor, as concentrações plasmáticas de cortisol foram significativamente mais altas nos peixes manipulados, quando comparado aos animais não manipulados.

Transporte

O crescimento da indústria aquícola traz consigo o aumento do número de peixes vivos transportados. O tempo de transporte de peixes vivos é muito variado em função do destino, deslocamento entre propriedades, distribuição a estabelecimentos voltados à pesca esportiva, abatedouro, devendo ser realizado com cuidado para que os animais cheguem às melhores condições fisiológicas possíveis ao destino, visto que este procedimento é considerado traumático e capaz de gerar claras respostas de estresse, quer seja em animais adultos (Carneiro e Urbinati, 2001 a, b) como em jovens (Urbinati *et al.*, 2004). Ao mesmo tempo, é importante a adequação da densidade de estocagem durante a operação para minimizar os custos envolvidos (Carneiro e Urbinati, 2002).

Porém, estudos mostram que altas densidades de transporte interferem na resposta de estresse (Sepcker e Schreck, 1980; Starnes *et al.*, 1994). A densidade de transporte dos peixes é um aspecto a ser levado em consideração, devido a vários fatores, principalmente a quantidade de excreção de metabólitos tóxicos, nível de oxigênio disponível (Erikson *et al.*, 1997; Grottum *et al.*, 1997) e a abrasão devido ao contato entre os animais (Ross e Ross, 1999). Para minimizar estas respostas, tão deletérias às saúdes dos peixes, têm-se lançado mão de algumas técnicas como a restrição alimentar, que visa diminuir o consumo de oxigênio e a excreção de amônia e gás carbônico (Tucker, 1985; Grottum *et al.*, 1997), permitindo melhor qualidade da água durante o transporte. Outro recurso é o uso de sal de cozinha (cloreto de sódio) na água para igualar o gradiente osmótico entre o meio ambiente externo ao peixe e o plasma, fazendo com que haja redução na difusão de íons para água. Além disso, o sal serve para estimular a produção de muco sobre o epitélio das brânquias, dificultando a passagem de íons das membranas celulares (Wurts, 1995). O sal também possui efeito profilático, é de fácil obtenção e baixo custo, com eficácia provada em vários experimentos (Barton e Zitzow, 1995; Allyn *et al.*, 2001). Carneiro e Urbinati (2001a),

utilizando diferentes concentrações de cloreto de sódio, observaram que em matrinxã (*Brycon cephalus*) o uso de 6g/L de NaCl diminuiu a resposta fisiológica ao agente estressor. Já Gomes *et al.* (2003) relataram que para tambaqui o uso de sal no transporte na concentração de 8g/L de água foi o suficiente para diminuir a maioria das respostas aos estímulos estressores. A adição de cloreto de sódio na água pode minimizar a perda de íons do sangue pela diminuição do gradiente osmótico entre o plasma e o ambiente, reduzindo o custo energético dos processos osmorregulatórios (Redding e Schreck, 1983; Wurts, 1995).

Os anestésicos são usados como efeitos benéficos por causarem diminuição na excitação dos peixes, e conseqüente diminuição da excreção de amônia e gás carbônico, e do consumo de oxigênio, reduzindo a deterioração da qualidade da água (Ross e Ross, 1999). Entretanto, em matrinxã (*Brycon cephalus*), a benzocaína potenciou a resposta deletéria do transporte (Urbinati e Carneiro, 2001b).

Exposição a luz

No ambiente, os peixes estão expostos a comprimentos de onda que passam pelo azul, verde e infravermelho (Levine e McNichol JR, 1982) e eles são dotados de cones retinianos que os permitem discriminar as cores (Nichol, 1963). Entretanto, poucos estudos foram feitos para se entender o efeito da luz ambiente na biologia dos peixes. Alguns resultados interessantes relatam que, em salmonídeos, a cor de fundo diminuiu o desenvolvimento e aumentou a mortalidade dos ovos (Heichenbach-Klinke, 1982). Em outras famílias de peixes, os efeitos da cor ambiente foram associados a mudanças na formação de cardumes, reação de alarme e atração por cores em *Sardinops caerulea* (Loukashkin e Grant, 1959), *Oplegnathus fasciatus*, *Monocanthus cirrhifer*, *Cybium nipponium*, *Spheroides niphobles* e *Sphyraena japonica* (Kawamoto e Takeda, 1951), e aumentando a sobrevivência e crescimento em larvas de *Perca fluviatilis* (Tamazouzt *et al.*, 2000). Por outro lado, a intensidade da luz pode afetar vários processos no peixe (Stefansson *et al.*, 1990; Stefansson *et al.*, 1993).

Os estudos existentes mencionam tanto a melhora como a piora diminuição do bem estar dos animais provocados pela cor ambiental, reforçando o interesse e a necessidade de melhor entendimento dos efeitos relacionados às condições de cultivo dos peixes. Em aquicultura, as condições ambientais devem ser sem dúvida, monitoradas para garantir o bem estar dos animais. Os peixes ficam mais confortáveis

sob baixa intensidade de luz. Esta observação é comum na experiência do produtor e foi por Hubbs *et al.* (1988). Em salmão “chinook”, durante transporte simulado em pequenas unidades, a exclusão de luz reduziu a resposta hormonal de estresse em 25% em relação aos peixes não protegidos (Wedemeyer, 1985). Entre os profissionais que trabalham com peixes, sabe-se que a cobertura dos tanques onde os animais se encontram faz uma diferença apreciável quanto ao conforto dos ocupantes.

Os estudos em peixes tropicais nesta área são muito escassos. Alguns deles se referem à tilápia (Fanta, 1995; Volpato e Barreto, 2001), enquanto estudo recente com o caracídeo *Brycon cephalus* sugeriu que as cores do ambiente podem afetar sua reação a estressores (Volpato, 2000).

OBJETIVOS GERAIS

Com vista ao exposto, o presente estudo se propôs investigar as respostas fisiológicas de estresse no pintado, quando submetido a diferentes tipos de estressores (captura, transporte e exposição à luz), aos quais os peixes são expostos durante a rotina de piscicultura.

Objetivos específicos

As respostas consideradas indicadores tradicionais de estresse que foram utilizadas neste estudo foram:

Resposta hormonal: concentração plasmática de cortisol.

Resposta metabólica: concentração de glicose sanguínea.

Respostas iônicas: concentração plasmática de cloreto e osmolaridade.

Respostas hematológicas: hematócrito, número e volume das células vermelhas sanguíneas e concentração de hemoglobina.

MATERIAL E MÉTODO

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, do Centro de Aqüicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP), onde realizou-se parte experimental dos peixes, e no Laboratório de Fisiologia de Peixes, no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal, estado de São Paulo, onde foram realizadas as análises laboratoriais.

Animais

Foram utilizados juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), doados pela Piscicultura Águas Claras, Mococa, SP, de onde foram transportados em sacos plásticos até o Centro de Aqüicultura da UNESP. Na chegada, os animais foram transferidos para caixas de polietileno de 100L providas de sistema de renovação de água e aeração constantes. Os peixes foram considerados aclimatados quando estavam se alimentando regularmente, sendo então submetidos aos procedimentos experimentais. Durante o período de aclimação, a temperatura manteve-se em torno de $28,1^{\circ} \pm 1,84^{\circ}\text{C}$, oxigênio dissolvido $6,9 \pm 0,28$ mg/L, pH $7,7 \pm 0,08$ e os animais foram alimentados diariamente com ração comercial (40% de proteína bruta).

Protocolo experimental

O estudo foi dividido em três experimentos, nos quais os animais foram submetidos a diferentes agentes estressores, escolhidos por serem comuns em um sistema de produção. Foram eles:

1. Captura (perseguição e exposição aérea), realizado em setembro de 2004.
2. Transporte em sistema fechado, realizado em novembro de 2004.
3. Exposição à luz, realizado em março de 2005.

Experimento 1 – Captura (perseguição e exposição aérea)

Para realização deste primeiro experimento, foram utilizados 42 exemplares jovens, com peso e comprimento total médios de $14,04 \pm 2,50\text{g}$ e $15,56 \pm 3,36\text{cm}$, respectivamente.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em sete caixas de polietileno de 100L (seis animais por caixa) e, depois de aclimatados, foram submetidos ao agente estressor, após permanecerem em jejum por vinte e quatro horas.

O estímulo estressante constituiu-se de perseguição e captura dos peixes com puçá e posterior manutenção dos animais no ar por três minutos. Peixes de seis caixas (repetições) foram submetidos ao estímulo, enquanto os da sétima caixa não foram manuseados e serviram como controle, tendo sido amostrados antes do manejo. Uma vez estimulados, os peixes foram devolvidos às caixas e foram submetidos à coleta de material biológico nos tempos de cinco, 15, 30 e 60 minutos, 24 horas e 48 horas depois da captura (um por repetição em cada coleta, n=6). Para realizar a amostragem os peixes foram anestesiados com benzocaína (50mg/L de água), adicionada a uma caixa extra, onde eram sedados nos tempos determinados. Em seguida, foram transferidos para uma caixa de recuperação para evitar estresse adicional aos animais que ainda não haviam sido amostrados.

Experimento 2 – Transporte em sistema fechado

Para realização deste experimento, foram utilizados 42 pintado jovens, com peso e comprimento médios de $24,94 \pm 6,12\text{g}$ e $18 \pm 1,42\text{cm}$, respectivamente, e o agente estressor foi o transporte de 12 horas em sacos plásticos.

Após aclimação no laboratório, como descrito anteriormente, os peixes que permaneceram 24 horas sem alimento foram distribuídos aleatoriamente em seis sacos plásticos de 2L (seis animais por saco), inflados com oxigênio, vedados com tiras de borracha e acondicionados em caixa de papelão, sendo então transportados pelo período de 12 horas. Após o transporte, na chegada (tempo 0), foram aferidos os níveis ($13,37 \pm 0,83 \text{ mg/L}$) e saturação ($170,7 \pm 8,00 \%$) de oxigênio e temperatura ($27,4 \pm 0,30^\circ\text{C}$) da água dos sacos com o auxílio do oxímetro, e coletada uma amostra para análise de amônia total ($12,48 \pm 1,70 \text{ mg/L}$) (reativo de Nessler). Em seguida, foi feita a primeira amostragem de material biológico (tempo 0) (um peixe de cada saco plástico, n=6) e os demais foram transferidos para as caixas onde estavam anteriormente, sendo amostrados 24 e 48 horas depois, para avaliação da recuperação. Um sétimo grupo foi mantido nas caixas, como controle, não sendo submetido a nenhum tipo de manejo, e amostrado anteriormente aos demais grupos. Os peixes amostrados não retornavam às caixas para

evitar estresse adicional aos restantes. Para realização das coletas, os animais foram anestesiados com benzocaína (50mg/L água) adicionada a uma caixa, onde foram sedados conforme os tempos determinados.

Experimento 3 – Exposição à luz

Para realização deste terceiro experimento, foram utilizados 26 exemplares jovens de pintado, com peso e comprimento médios de $44,78 \pm 10,07$ g e $21,88 \pm 1,68$ cm, respectivamente, e o estímulo estressor foi a exposição à luz contínua por 24 horas.

Os peixes aclimatados ao laboratório, como descrito anteriormente, foram distribuídos aleatoriamente em sete caixas de polietileno de 100L, sendo cinco caixas com quatro exemplares e duas caixas com três. Para aplicação do estressor, peixes de três caixas foram expostos à luz direta (lâmpada de 60 w) por 24 horas (Tratamento 1). Durante este tempo, peixes das outras três caixas ficaram cobertos por uma lona preta em total escuridão (Tratamento 2). Completadas às 24 horas, foi realizada a primeira coleta (tempo 0), enquanto os animais restantes permaneceram nas caixas, agora semi-cobertas por lona preta (12h escuridão e 12h claridade), como se procede no manejo de rotina, sendo amostrados 24 horas depois. Em cada amostragem foram retirados dois peixes de cada caixa (n=6). Os peixes da sétima caixa foram utilizados como controle e mantidos em caixa semi-coberta (12h escuridão e 12h claridade), sendo amostrados anteriormente aos demais grupos. Durante o período experimental, os animais não foram alimentados.

Para realização das coletas, os peixes foram anestesiados com benzocaína (50mg/L água) adicionada a uma caixa extra, sendo sedados conforme os tempos determinados.

Amostragem e métodos de análise

Os animais amostrados tiveram o sangue coletado com seringas heparinizadas, por punção caudal. Uma alíquota de sangue total foi separada para determinação de glicose (King e Garner, 1947), hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), contagem de células vermelhas (RCB) (Celm DA 500). O restante foi centrifugado para separação do plasma, que foi congelado para posterior análise de cloreto (kit Labtest), osmolaridade (Vapor Pressure Osmometer WESCOR) e cortisol

(Radioimunoensaio – kit DPC). As análises de amônia foram realizadas por espectrofotometria (reagente de Nessler).

Após coleta do material biológico, os animais foram pesados e medidos, antes de retornarem as caixas de recuperação.

Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, para o Experimento 1 e 2. Para o Experimento 3, foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, composto por dois fatores (luz e escuridão) e dois tempos (0 e 24 horas) e testemunha, em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$. Os resultados obtidos foram analisados por ANOVA, utilizando o programa SAS. As médias foram comparadas através do teste de Tukey, com nível de 5% de significância.

RESULTADOS

Experimento 1 – Captura (perseguição com puçá e exposição aérea)

Os níveis de cortisol plasmático dos pintados expostos à captura e exposição aérea apresentaram os maiores valores em 30 minutos (55,02 ng/mL), que foram estatisticamente diferentes apenas dos valores controle (11,11 ng/mL) e dos registrados aos 60 minutos, 24 horas (16,02 e 6,63 ng/mL respectivamente), mas não 48 horas (26,74 ng/mL). Aos 60 minutos após os animais serem estimulados, os níveis do hormônio voltaram a valores próximos dos normais (Figura 1).

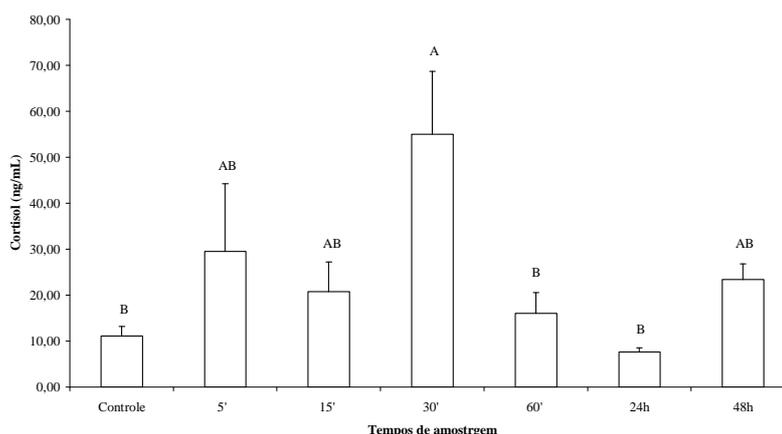


Figura 1: Cortisol plasmático (ng/mL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

A glicemia apresentou aumento progressivo, a partir de cinco minutos da exposição ao agente estressor, mantendo os níveis mais altos após 30 e 60 minutos e 24 horas (151,81; 141,79 e 158,68 mg/100mL, respectivamente). Redução brusca às 48 horas (27,37 mg/100mL) que foi menor numericamente que o valor registrado antes da captura (55,00 mg/100mL) (Figura 2).

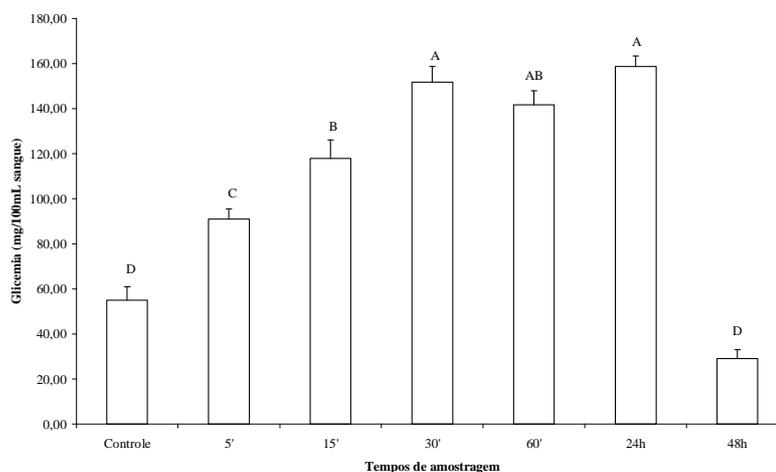


Figura 2: Glicemia (mg/100mL sangue) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

Os níveis plasmáticos de cloreto não apresentaram diferença significativa entre os tempos de coleta (134,13; 128,87; 124,97; 129,29; 120,00; 117,33 e 105,54, para controle, 5, 15, 30, 60 minutos e 24 e 48 horas, respectivamente), apesar de apresentarem perfil de redução entre 5 minutos e 24 horas após exposição ao estressor (Figura 3).

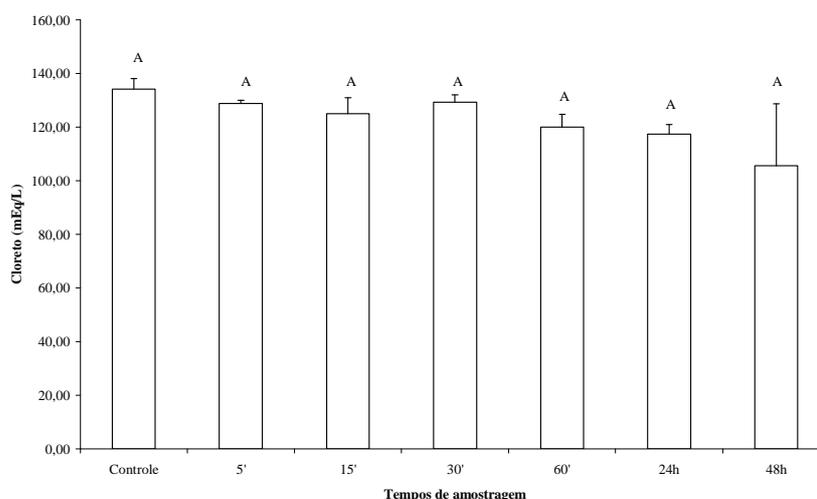


Figura 3: Cloreto plasmático (mEq/L) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

A osmolaridade plasmática apresentou diminuição significativa 60 minutos e 24 horas após exposição ao estressor (239,0 e 235,6 mmol/kg respectivamente), quando comparado ao grupo controle (332,0 mmol/kg), embora os valores registrados em todas as coletas tenham se apresentado numericamente mais baixos que os dos peixes controle (276,4; 268,7; 266,0; 239,0; 235,6 e 256,5 mmol/kg) (Figura 4).

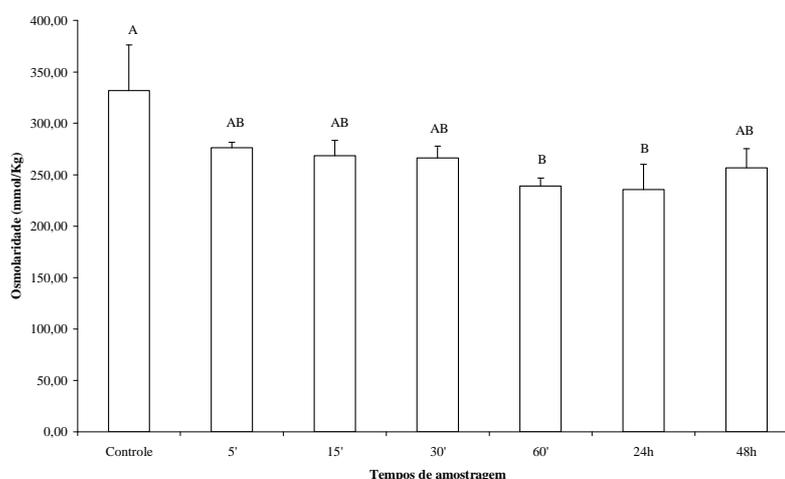


Figura 4: Osmolaridade plasmática (mmol/kg) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

Dentre os parâmetros hematológicos, houve diminuição significativa nos valores do hematócrito em todas as amostragens após a captura (22,70; 17,58; 16,24; 14,88, 15,76; 15,14 e 13,34 %), sendo que o valor mais baixo foi o registrado 48 horas após o estressor, e que diferiu também do valor observado aos 5 minutos. Observou-se que de 5 minutos a 24 horas, os valores apresentaram-se semelhantes (Figura 5).

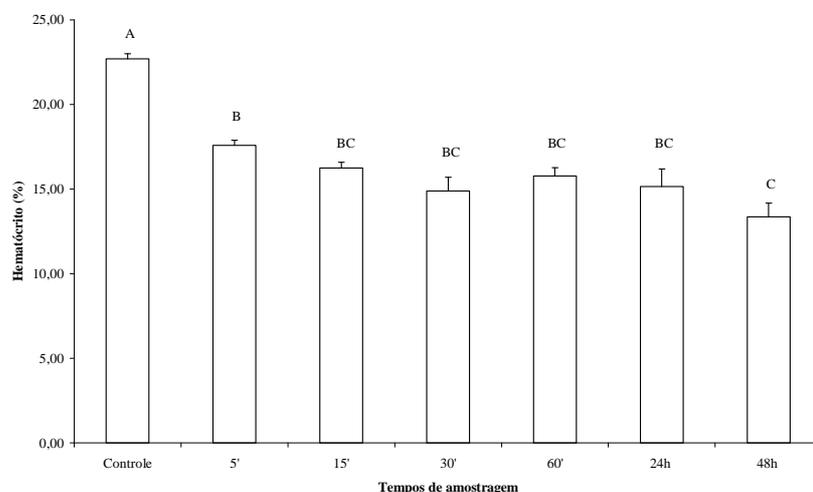


Figura 5: Hematócrito (%) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

O número de células sanguíneas vermelhas (RCB) diminuiu significativamente 15 minutos após captura, mantendo-se assim até 48 horas (2,15; 2,03; 2,01; 2,03 e 2,10 $10^6/\text{mm}^3$, respectivamente) (Figura 6).

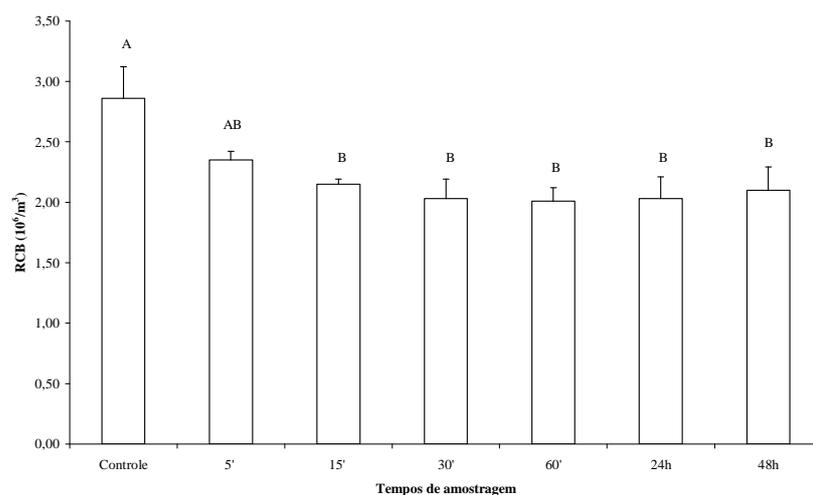


Figura 6: Número de células sanguíneas vermelhas (RCB) ($10^6/\text{mm}^3$) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

Os valores do volume corpuscular médio (VCM) diminuíram significativamente em relação aos valores controle ($75,13 \mu^3$) apenas na amostragem feita 48 horas ($69,53 \mu^3$) após exposição ao agente estressor (Figura 7).

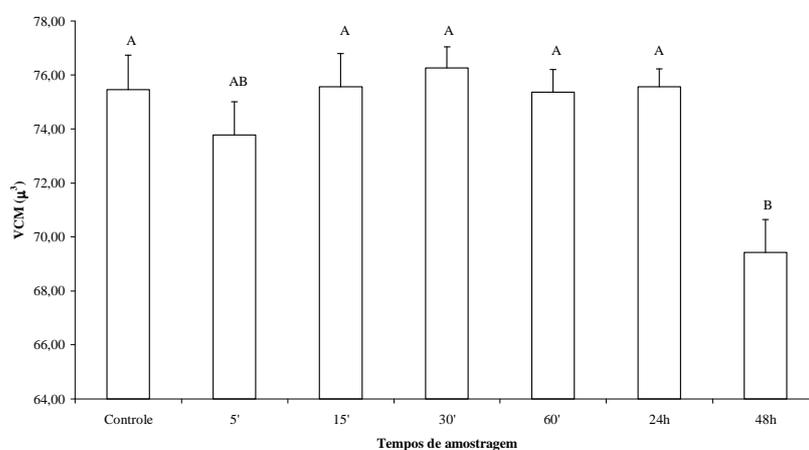


Figura 7: Volume corpuscular médio (VCM) (μ^3) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

A concentração de hemoglobina não apresentou diferença significativa entre as amostragens, apesar do perfil de redução a partir de 5 minutos após exposição ao estressor (10,50; 8,74; 9,64; 9,38; 8,32; 7,82 e 8,30 g/dL) (Figura 8).

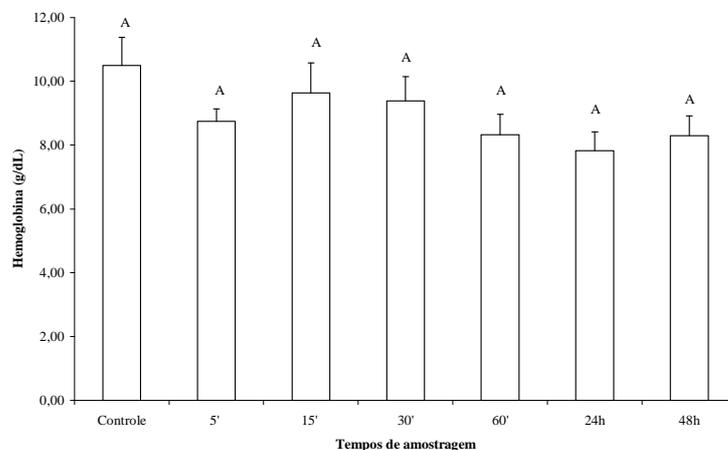


Figura 8: Hemoglobina (g/dL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à captura (perseguição com puçá e posterior exposição aérea, por três minutos), em diferentes tempos após a exposição ao estressor. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

Experimento 2 – Transporte em sistema fechado

Os níveis de cortisol plasmático dos pintados transportados por 12 horas apresentaram diferença significativa entre o controle (48,33 ng/mL) e os valores registrados às 12 e 24 horas (18,23 e 23,30 ng/mL, respectivamente), mas não apresentaram diferença estatística entre eles e nem em relação ao tempo 0 hora (chegada do transporte). Já os valores registrados às 48 horas (6,62 ng/mL) foram diferentes em relação aos valores controle e de 0 hora (29,22 ng/mL) (Figura 9).

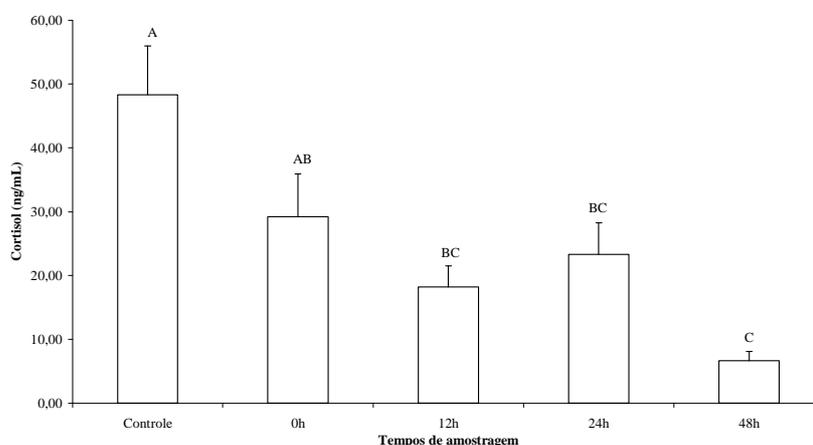


Figura 9: Cortisol plasmático (ng/mL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

A glicemia apresentou diminuição progressiva a partir de 0 hora após a exposição ao agente estressor, apresentando diferença significativa quando comparado o valor controle (136,26 mg/100ml) com os registrados nas amostragens feitas 12, 24 e 48 horas após a chegada (89,89; 74,60 e 68,36 mg/100mL, respectivamente) (Figura 10).

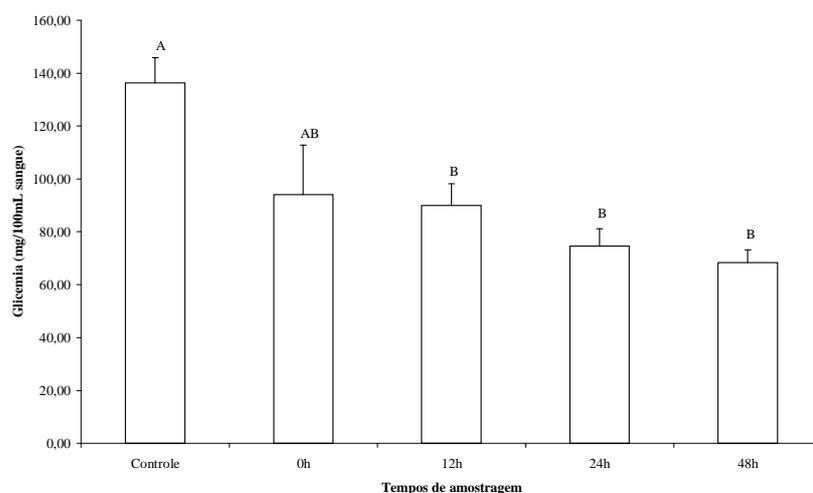


Figura 10: Glicemia (mg/100mL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

Os níveis plasmáticos de cloreto não apresentaram diferença significativa entre os tempos de coleta, porém o valor mais baixo registrado foi às 12 horas após a chegada do transporte (119,48; 120,35; 107,60; 120,31 e 133,25 mEq/L) (Figura 11).

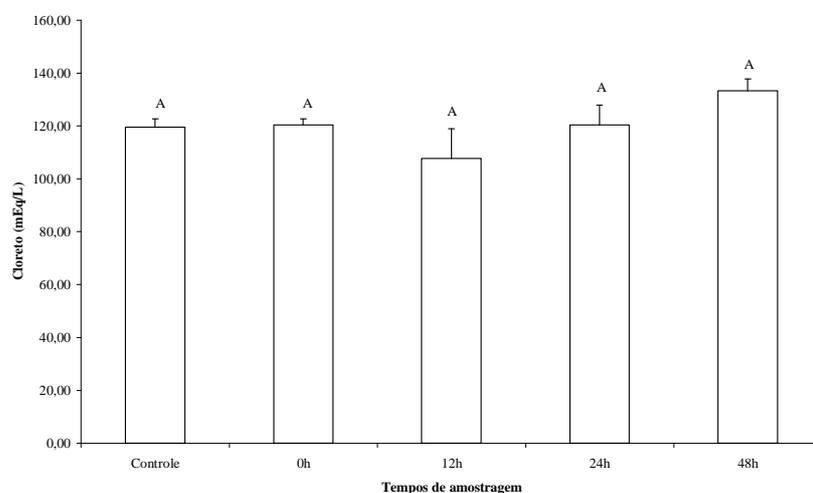


Figura 11: Cloreto plasmático (mEq/L) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

Os valores de osmolaridade plasmática não diferiam significativamente entre os tempos amostrados, apesar dos valores mais baixos ocorrerem 12 e 24 horas após o transporte (278,8; 286,5; 254,2; 252,7 e 285,5 mmol/kg) (Figura 12).

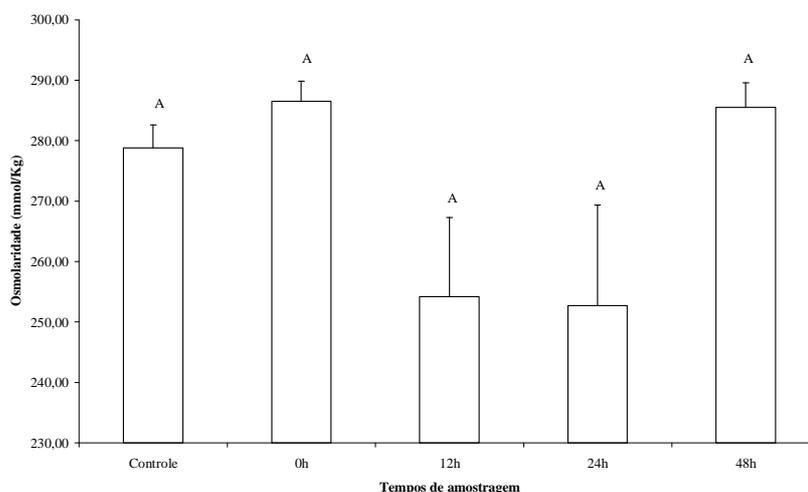


Figura 12: Osmolaridade plasmática (mmol/kg) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

Dentre os parâmetros hematológicos, os valores mais altos de hematócrito foram registrados 12 horas após o transporte e voltam ao nível anterior ao transporte após 48 horas. Só ocorreu diferença entre os valores registrados as 12 e 48 horas (19,2; 19,3; 24,90; 22,70 e 18,07 %) (Figura 13).

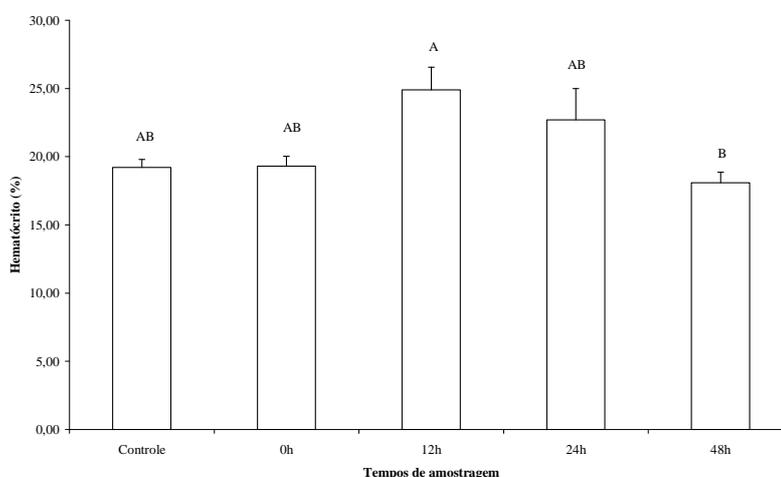


Figura 13: Hematócrito (%) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

O número de células sanguíneas vermelhas (RCB) apresentou um aumento significativo 12 horas ($2,84 \cdot 10^6/\text{mm}^3$) após o transporte, recuperando o valor basal em 48 horas ($2,13 \cdot 10^6/\text{mm}^3$), mas sem diferença estatística do tempo controle, 0, 24 horas ($2,19$, $2,28$ e $2,61 \cdot 10^6/\text{mm}^3$, respectivamente) (Figura 14).

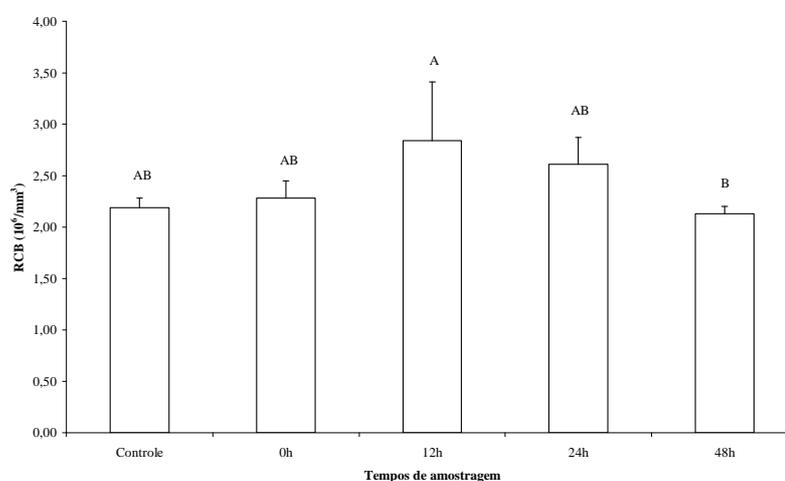


Figura 14: Número de células sanguíneas vermelhas (RCB) ($10^6/\text{mm}^3$) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

Os valores do volume corpuscular médio (VCM) não diferiram entre as amostragens, embora tenham apresentado um perfil de redução gradual dos valores ($87,77$; $84,52$; $88,43$; $86,90$ e $84,72 \mu^3$) (Figura 15).

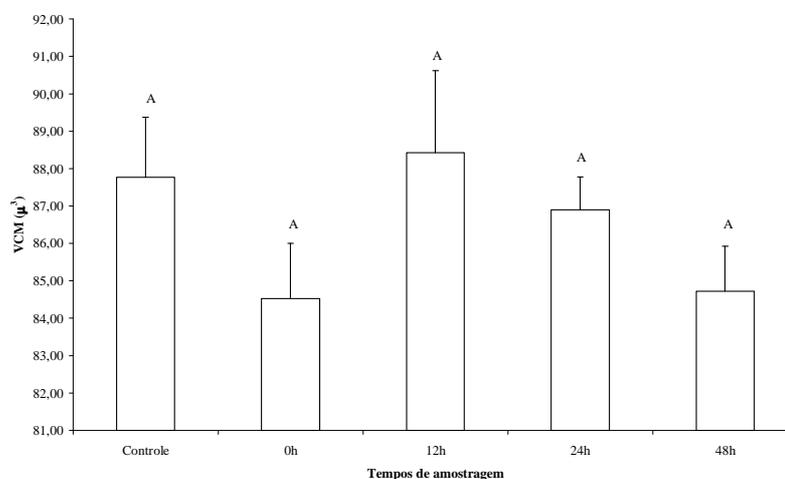


Figura 15: Volume corpuscular médio (VCM) (μ^3) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

A concentração de hemoglobina aumentou significativamente em 12 e 24 horas após o transporte (12,06 e 10,43 g/dL, respectivamente), retornando a valores semelhantes aos normais (8,05 g/dL) em 48 horas (7,57 g/dL). A concentração logo após transporte (8,35 g/dL) foi semelhante às concentrações registradas nos tempos 0 e 48 horas (Figura 16).

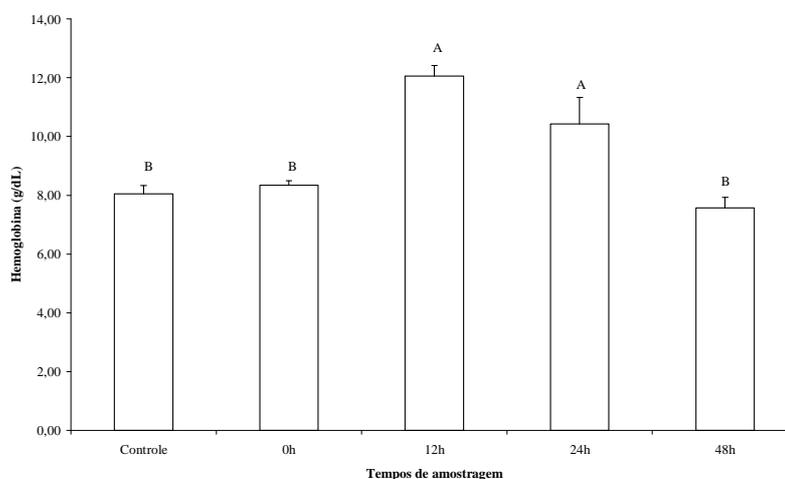


Figura 16: Hemoglobina (g/dL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) transportados em sacos plásticos por 12 horas. Controle – sem transporte; 0 hora – logo após transporte; 12, 24 e 48 horas após o transporte. Delineamento inteiramente casualizado, teste de Tukey a 5%.

Experimento 3 —Exposição à luz

Os níveis de cortisol plasmático de pintados não apresentaram diferença estatística quando comparado os animais que foram expostos à luz contínua e os que permaneceram em escuridão nos tempos de amostragem de 0 e 24 horas (16,40; 14,45; 18,30 e 8,72 ng/ml respectivamente). Embora tenham apresentado uma diminuição numérica do controle (26,10 ng/mL).

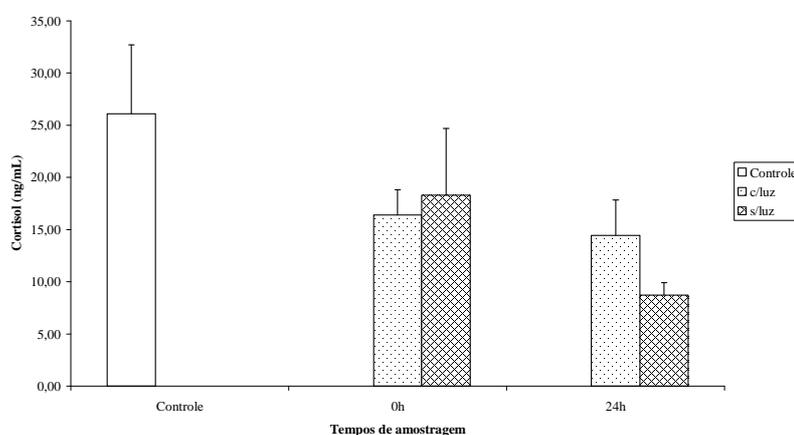


Figura 17: Cortisol plasmático (ng/mL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%.

A glicemia não apresentou diferença estatística significativa entre os tempos de coleta, apesar dos valores mais baixos ocorrerem 24 horas após os peixes voltarem ao regime normal de iluminação. Foram obtidos os seguintes valores: 129,90 mg/100ml para o grupo controle, 117,60 e 99,40 mg/100mL logo após exposição a luz e escuridão e 110,80 e 86,80 mg/100mL 24 horas depois, nos respectivos grupos (Figura 18).

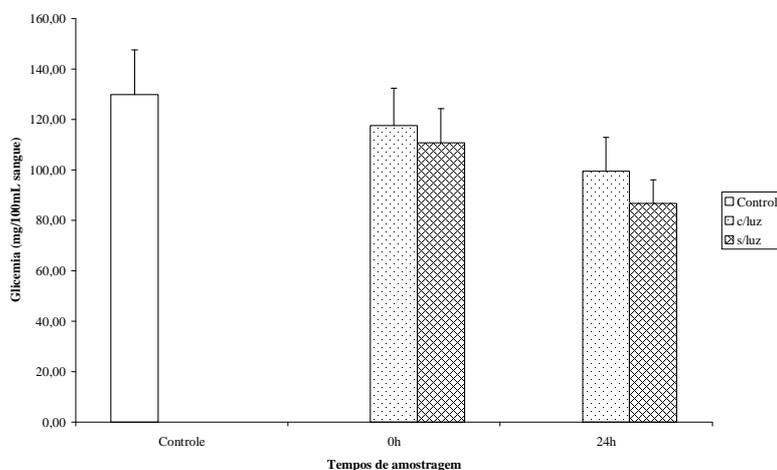


Figura 18: Glicemia (mg/100mL sangue) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%.

Os níveis de cloreto plasmático não apresentaram diferença estatística, embora se tenha registrado valor mais baixo no grupo exposto a luz contínua logo após a exposição e nos 2 grupos de peixes 24 horas depois da volta ao regime normal de iluminação. Os valores obtidos nas diferentes amostragens foram 135,60; 128,00; 130,80; 139,70 e 128,70 mEq/L (Figura 19).

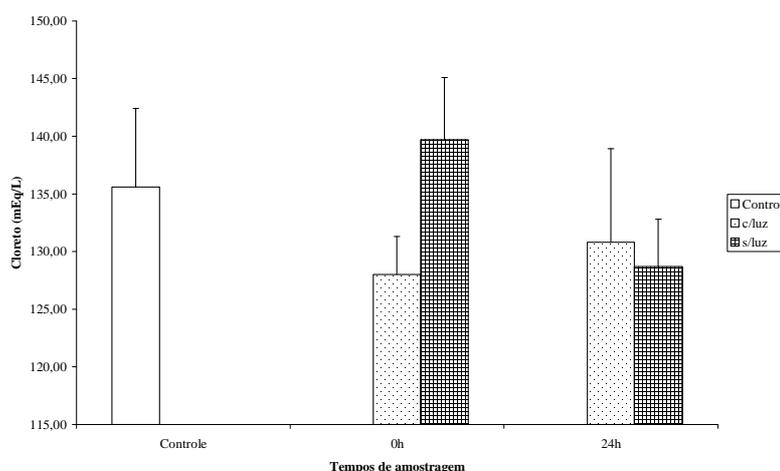


Figura 19: Cloreto plasmático (mEq/L) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%.

A osmolaridade plasmática não diferiu significativamente entre as diferentes coletas, embora houvesse uma tendência à redução progressiva, especialmente no grupo exposto à escuridão. Os valores obtidos foram 300,50; 295,50; 284,40; 284,00 e 279,30 mmol/kg (Figura 20).

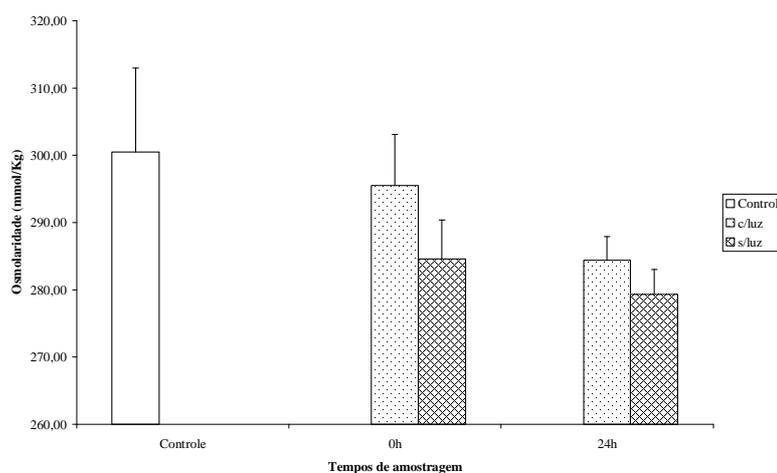


Figura 20: Osmolaridade plasmática (mmol/kg) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz 24 horas ou ausência de luz, após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%.

Dentre os parâmetros hematológicos, o hematócrito aumentou significativamente nos peixes expostos à luz contínua (32,7 %) logo após agente estressor quando comparado ao controle (23,5 %), caindo significativamente 24 horas (19,7 %). Os demais resultados não apresentaram diferença estatística (27,0; e 24,1 %) (Figura 21).

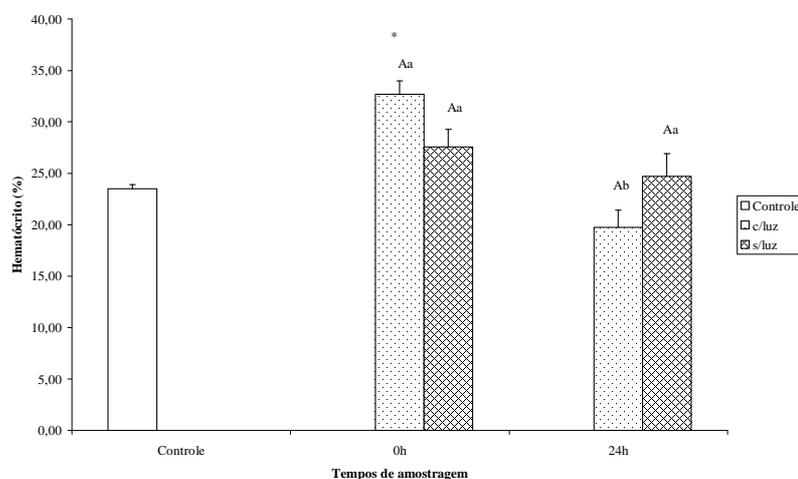


Figura 21: Hematócrito (%) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$, teste de Tukey a 5%.

O número de células sanguíneas vermelhas (RCB) aumentou significativamente nos animais expostos à luz contínua ($3,41 \cdot 10^6/\text{mm}^3$) logo após agente estressor quando comparado ao controle ($2,5 \cdot 10^6/\text{mm}^3$), caindo significativamente em 24 horas ($2,10 \cdot 10^6/\text{mm}^3$). Os demais resultados não apresentaram diferença estatística ($2,74$ e $2,60 \cdot 10^6/\text{mm}^3$) (Figura 22).

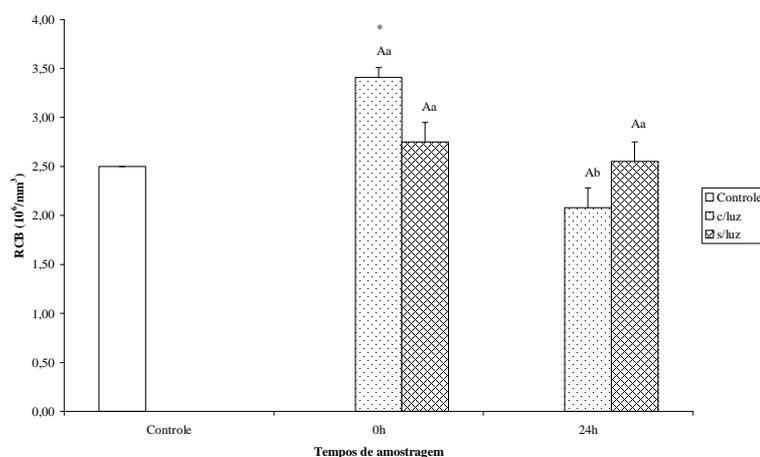


Figura 22: Número de células sanguíneas vermelhas (RCB) ($10^6/\text{mm}^3$) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$, teste de Tukey a 5%.

Os valores de volume corpuscular médio (VCM) não apresentaram diferença significativa, embora os valores mais altos tenham sido registrados logo após a exposição à luz ou escuridão. Foram registrados os seguintes valores: 94,02; 95,98; 94,9; 96,70 e 96,4 μ^3 (Figura 23).

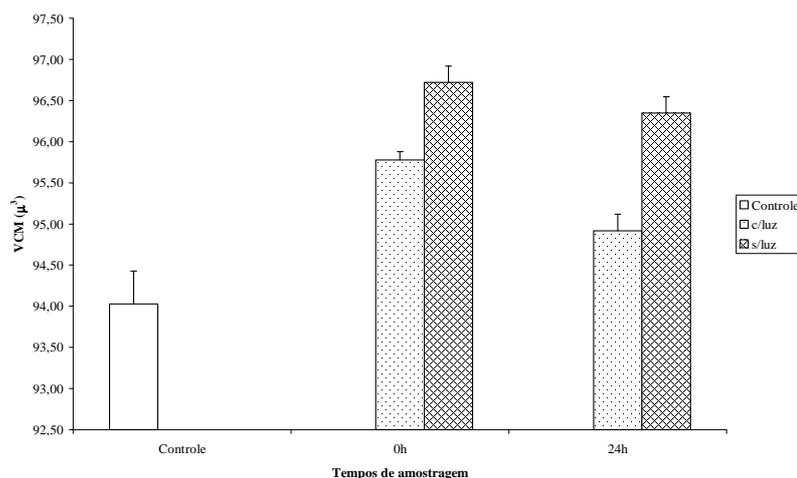


Figura 23: Volume corpuscular médio (VCM) (μ^3) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$, teste de Tukey a 5%.

Os valores de hemoglobina não apresentaram diferença significativa entre os tempos de coleta, sendo os maiores valores registrados logo após a exposição à luz ou escuridão. Foram registrados os seguintes valores: 10,10; 12,58; 10,70; 11,40 e 10,61 g/dL (Figura 24).

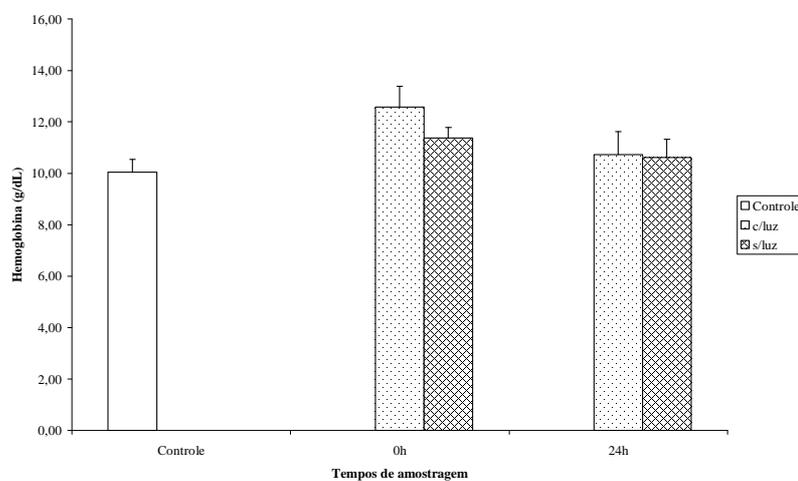


Figura 24: Hemoglobina (g/dL) de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans*) submetidos à exposição contínua de luz por 24 horas ou ausência de luz, após a exposição ao estressor (0 hora) e 24 horas depois. Delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1, teste de Tukey a 5%.

Após realização dos experimentos 1, 2 e 3, pode-se observar que não houve mortalidade nos animais amostrados após exposição ao agente estressor e posterior coleta de material biológico.

DISCUSSÃO

Durante todo o processo de criação, os animais são expostos a vários manejos que podem causar prejuízo à produção, caso não sejam realizados cuidadosamente. A captura, o transporte e a iluminação incorreta quer seja por excesso ou ausência de luz, estão entre as práticas comuns do processo produtivo, sendo considerados adversos aos peixes, causando diminuição no desempenho produtivo (crescimento e reprodução) e imunossupressão dos animais (Wendelaar Bonga, 1997). Este estudo investigou as práticas acima referidas nas respostas fisiológicas indicadoras de estresse do pintado.

No Experimento 1, os animais que foram expostos à captura, em que se considerou a perseguição dos mesmos com puçá e a subsequente exposição aérea, apresentaram os níveis mais altos de cortisol 30 minutos após a condição estressora (55,02 ng/mL). Comparando-se com outro Siluriforme nativo, foi observado que, em jundiá (*Rhamdia quelen*), submetido à captura e transferência de tanque, o valor máximo de liberação do hormônio ocorreu uma hora após o manejo (158,1 ng/mL, nos machos, e 207,9 ng/mL, nas fêmeas) (Barcellos *et al.*, 2001). Entretanto, o perfil de secreção de cortisol varia bastante de acordo com as espécies, com o estressor e o tempo de exposição. *Carassius auratus* submetidos a estresse agudo apresentaram maiores níveis plasmáticos de cortisol entre 30 minutos e uma hora (300 ng/mL) retornando em menos de três horas (Fryer, 1975), enquanto que, em *Pagrus pagrus*, a concentração máxima de cortisol ocorreu duas horas após a exposição ao agente estressor, 8 minutos de manipulação com rede, retornando em 24 horas aos valores pré-estresse (Rotllant e Tort, 1997). Tambaquis (*Colossoma macropomum*) submetidos ao estressor agudo, de luta fora da água por 40 segundos, apresentaram aumento dos níveis de cortisol plasmático após estresse (333,8 ng/mL) com relação aos valores pré-estresse (182,1 ng/ml) (Tavares-Dias *et al.*, 2001). Ao submeter juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*) ao estresse de transporte por seis horas não se observou diferença significativa nos níveis de cortisol plasmático (Gomes, *et al.*, 2003). Já em matrinxã juvenil, o aumento de cortisol verificado após quatro horas de transporte (96,46 ng/mL) retornou a valores semelhantes aos basais em 24 horas (Urbinati *et al.*, 2004). No pintado, o cortisol diminuiu após 30 minutos quando ocorreu o máximo de liberação, chegando a níveis próximos aos normais (11,1 ng/mL) 60 minutos depois da captura (16,0 ng/mL), enquanto no jundiá não houve retorno aos valores basais um dia após o manejo

(Barcellos *et al.*, 2001). Já em *Polyodon apathula*, a concentração máxima de cortisol foi 11 ng/mL, com retorno a valores pré-estresse em uma hora (Barton *et al.*, 1996). Enquanto no Experimento 1, a duração do manejo estressor foi de cerca de três minutos, no Experimento 2 a condição considerada estressora (transporte) durou 12 horas. Isto pode ser a explicação para os perfis de cortisol encontrados no pintado. Os níveis plasmáticos de cortisol mostraram, na chegada, níveis reduzidos, embora sem diferença estatística, em relação aos níveis pré-transporte (48,33 ng/mL), e redução 12 e 24 horas após o transporte (18,23 e 23,30 ng/ml) que se acentuou (6,62 ng/mL) 48 horas após a chegada. Este perfil de redução contínua dos valores de cortisol circulante se assemelha ao que se observou no Experimento 3, em que os peixes foram submetidos por 24 horas à exposição contínua de luz ou escuridão. Neste caso, os níveis de cortisol plasmático já foram numericamente mais baixos nos dois grupos de peixes logo após a exposição às diferentes condições de iluminação. Em todos os experimentos observou-se grande variação individual nas respostas de cortisol, o que pode representar a falta de domesticação dos indivíduos. Os animais do experimento eram provenientes de matrizes capturadas na natureza. Indivíduos selvagens respondem mais intensamente quando submetidos a um agente estressor que indivíduos criados em cativeiro e com maior variação nas respostas (Cadwell Woodward e Strange, 1987).

Os níveis basais de cortisol do pintado variaram nos Experimentos 1, 2 e 3 (11,11; 48,3 e 26,1 ng/mL, respectivamente). Considerando que os cuidados na manipulação e procedimentos de preservação e analíticos do material biológico foram padronizados, pode-se atribuir as diferenças a variações sazonais, já que os experimentos ocorreram em meses diferentes (setembro, novembro e março, respectivamente). O tamanho dos animais também variou, sendo os pesos corporais médios 14,04; 24,9 e 44,78 g, respectivamente. Em *Rhamdia quelen* adultos, registrou-se 15,8 e 29,6 ng/mL, para macho e fêmea, respectivamente (Barcellos *et al.*, 2001) e, em exemplares jovens, valores em torno de 20,0 ng/mL (Barcellos *et al.*, 2004). Em outra espécie da família Siluridae (*Ictalurus punctatus*), os valores pré-estresse de cortisol variaram de 5 a 51 ng/mL (Barton e Iwama, 1991). Rosato *et al.* (2003) mostraram níveis basais de cortisol em torno de 40 ng/ml para matrinxã, enquanto Carneiro e Urbinati (2001a) encontraram valores de 60 ng/ml para a mesma espécie.

O cortisol é reconhecido como a principal resposta hormonal ao estresse (Wendelaar Bonga, 1999). Seu perfil de secreção é variável dependendo da espécie

(Pickering e Pottinger, 1989; Mommsen *et al.*, 1999; Barcellos *et al.*, 2000; Carneiro e Urbinati, 2001), do tipo e da intensidade do estímulo estressor (Schreck, 2000). Do mesmo modo, a recuperação dos valores basais é distinta em diversas condições (Pickering e Pottinger, 1989; Mommsen *et al.*, 1999; Barcellos *et al.*, 2001; Carneiro e Urbinati, 2001) que modificam a taxa de metabolização do hormônio. Entretanto, não há relatos de tempos tão longos de recuperação da homeostasia do cortisol, como os observados para o pintado. A redução dos níveis plasmáticos a valores inferiores aos basais em condição pós-estressor pode representar o mecanismo de retro-alimentação negativa do cortisol no eixo hipotálamo-hipófise (Fryer e Peter, 1977; Mommsen *et al.*, 1999), em que o organismo inibe a secreção endógena frente à hipersecreção causada por estímulo estressor, no sentido de proteção do organismo frente à demanda intensa de energia que ocorre durante o estresse. O pintado é um peixe carnívoro que, em condição de demanda exacerbada de glicose, tem que realizar proteólise com ajuda do cortisol, para produzir precursores gliconeogênicos, processo desvantajoso para o organismo, do ponto de vista energético e estrutural.

A hiperglicemia relatada em vários teleósteos em situação de estresse é fonte de energia para a reação conhecida como “luta e fuga” (Wedemeyer *et al.*, 1990), em que o animal tenta se adaptar à condição estressora, e é atribuída principalmente ao efeito das catecolaminas (Mazeaud e Mazeaud, 1981; Wendelaar Bonga, 1997), que atuam diretamente no fígado e músculo esquelético provocando a quebra do glicogênio. Secundariamente, ela é mantida por ação do cortisol, por efeito gliconeogênico (Mommsen *et al.*, 1999). No Experimento 1, a glicemia dos pintados aumentou gradualmente, desde a captura até 30 minutos depois, a níveis (151,8 mg/mL) que se mantiveram até 24 horas depois (158,7 mg/mL), diferindo dos valores pré-captura (55,0 mg/100mL). Uma acentuada redução numérica na glicemia foi observada 48 horas após a captura, para valores cerca de metade dos valores controle (28,97 mg/100mL). Em *Ramdia quelen*, submetido à captura e transferência de tanques, o valor máximo de glicose ocorreu uma hora após o manejo e normalizou 12 e 24 horas depois, em macho e fêmea, respectivamente, sendo o valor de pico (160 mg/dL) semelhante ao do pintado (Barcellos *et al.*, 2001).

No Experimento 2, em que o tempo de exposição ao estressor foi mais longo, o perfil da glicemia do pintado diferiu daquele do Experimento 1. Após 12 horas de transporte, a glicemia estava reduzida a níveis que permaneceram por mais um dia. Já

no Experimento 3, não ocorreu alteração significativa, assim que terminou o tempo de exposição contínua à luz ou escuridão ou 24 horas depois dos peixes terem retornado ao regime normal de iluminação, embora numericamente houvesse redução dos valores. Do mesmo modo que para o cortisol, deve-se destacar a diferença na intensidade e tempo de exposição ao agente estressor como possível fator responsável pela diferença no perfil glicêmico observado nos diferentes experimentos. Adicionalmente, as características metabólicas do pintado podem explicar a diferença na utilização do substrato energético circulante. No Experimento 1, observa-se a resposta hiperglicêmica de origem adrenérgica imediata, a conservação deste substrato até 24 horas depois da captura e dificuldade de homeostasia glicêmica um dia depois, possivelmente refletindo a resposta de retro-alimentação do cortisol. Já no Experimento 2, não foram feitas observações agudas, em tempos próximos do início do transporte, como na captura, e o que se observa são respostas já de caráter mais crônico (ao final de 12 horas de transporte, 12, 24 e 48 horas depois) e a redução gradual da glicose no sangue acompanhando a redução do cortisol, uma evidência da redução do uso de glicose regulada indiretamente pelo mecanismo de retro-alimentação do cortisol. Deve-se considerar um aspecto metabólico importante que é a preferência do pintado por outro substrato energético que não a glicose para suprir o custo metabólico do distúrbio do estresse. Moraes e Bidinotto (2000) capturaram pintados e os transferiram para caixas onde eles permaneceram por três minutos. Os autores observaram diminuição nos níveis plasmáticos de glicose durante as 24 horas após captura e concomitante diminuição de triglicerídeos, sem alteração nos níveis de lactato, sugerindo preferência metabólica oxidativa e uso de lipídeos como substrato energético.

Além dos diferentes perfis glicêmicos do pintado frente a diferentes condições estressoras, valores basais bastante distintos são registrados, ou seja, 55,0; 136,3 e 113,7 mg/100mL, nos Experimentos 1, 2 e 3, respectivamente. Do mesmo modo que destacado para o cortisol, as diferenças poderiam ser atribuídas a diferenças sazonais ou de tamanho dos animais. Oliveira (1997) observou em pacu uma variação nos níveis plasmáticos de glicemia durante estação e mês do ano, que variaram de 46,68 a 95,64 mg/100mL.

O cortisol, além de influenciar no metabolismo energético tem ação sobre a regulação iônica em teleósteos, juntamente com outros hormônios, como as catecolaminas e a prolactina (Eddy, 1981). No Experimento 1, os indicadores de

equilíbrio iônico (cloreto e osmolaridade plasmáticos) sofreram alterações muito discretas de redução em todo o período de observação após o procedimento de captura, sugerindo perda iônica do sangue para o meio externo hipotônico, possivelmente por efeito do aumento da perfusão nas brânquias ocasionada por ação adrenérgica na circulação sanguínea (Eddy, 1981; McDonald e Milligan, 1997). O mesmo ocorreu após 12 horas de transporte, no Experimento 2, e logo após a exposição à luz e 24 horas depois do retorno às condições normais de iluminação nos 2 grupos de peixes, no Experimento 3. O pintado mostrou maior resistência às mudanças no equilíbrio hidroeletrólítico que outro peixe nativo, o *Brycon cephalus*, em condições de estresse (Carneiro e Urbinati, 2001b).

Os parâmetros hematológicos também são utilizados como indicadores de estresse em peixes (Morgan e Iwama, 1997; Fabbri *et al.*, 1998). No Experimento 1, houve redução do hematócrito durante todo o período pós-captura, que pode ser explicado pela diminuição no número de células vermelhas (RCB), que por sua vez foi acompanhado por discreta redução da concentração de hemoglobina, como seria esperado ocorrer. A diminuição verificada no hematócrito e nos parâmetros que o acompanham sugerem hemodiluição causada pela perda eletrolítica e redução da osmolaridade. Segundo Morgan e Iwama (1997), as mudanças no hematócrito durante respostas de estresse indicam hemoconcentração ou hemodiluição devido aos distúrbios osmorregulatórios. Essa resposta parece dependente da intensidade do estímulo. Nos Experimentos 2 e 3, quando foi possível observar condições de estresse mais prolongadas e maior impacto do estresse sobre a homeostasia orgânica, como observado pelos perfis glicêmicos e do cortisol, houve aumento do hematócrito e parâmetros associados, sugerindo tentativa do organismo de buscar maior aporte de oxigênio para maximizar o uso dos substrato energético oxidativo. Diferente do observado neste estudo, Barcellos *et al.* (2004) encontraram diminuição nos valores do hematócrito e RCB em *Rhamdia quelen*, quando os peixes foram submetidos a estresse crônico. Entretanto, Moraes e Bidinotto (2000), ao submeterem juvenis de pintado à captura e transferência de caixas, observaram aumento do hematócrito, número de células vermelhas e hemoglobina confirmando o uso aeróbico de lipídeos como substrato energético no período pós-exposição ao estressor.

Os valores controle de hematócrito do pintado (22,6; 19,2 e 23,5%, nos Experimentos 1, 2 e 3, respectivamente) encontram-se dentro da faixa de valores citados por Tavares-Dias e Moraes (2004) para pintados mantidos em cativeiro (16,6-23,5 %).

CONCLUSÃO

No presente trabalho, as respostas fisiológicas do pintado mostraram perfil distinto daqueles observados na maioria das espécies descritas quando o estresse tinha caráter crônico, refletindo aspectos do metabolismo energético. Na exposição mais prolongada ao estressor (transporte de 12 horas e exposição à luz e escuridão por 24 horas), ocorreu redução acentuada do cortisol e glicose, além dos valores basais sugerindo retroação negativa prolongada da secreção do cortisol e uso preferencial de outros substratos energéticos, que não a glicose, para suprir a demanda de energia na correção do distúrbio homeostático do estresse.

A origem selvagem dos indivíduos utilizados pode ter gerado as altas variações individuais encontradas nos valores dos parâmetros fisiológicos medidos.

Estudos futuros, utilizando maior número de indivíduos, deverão rever e ampliar o enfoque metabólico das respostas indicadoras de estresse no pintado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIA

- ADAMS, S.M. **Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish.** In: ADAMS, S. M. (Ed.). *Biological indicators of stress in fish.* American Fisheries Society, Bethesda. 1990. *American Fisheries Symposium*, 8. p. 1-9.
- ALLYN, M.L.; SHEEHAN, R.J.; KOHLER, C.C. **The effects of capture and transportation stress on white bass semen osmolarity and their alleviation via sodium chloride.** *Transactions of the American Fisheries Society*, Bethesda. 2001. v. 130, p. 706-711.
- ANDERSON, D. P. **Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: application to aquaculture.** *Annual Review Fish Diseases*. 1992. v. 2, p.281-307.
- ANDERSON, D.P. **Immunological indicators; effects of experimental stress on immune protection and disease outbreaks.** In: ADAMS, S. M. (Ed.). *Biological indicators of stress in fish.* American Fisheries Society, Bethesda. 1990. *American Fisheries Symposium*, 8. p. 38-50.
- ANDRADE, L.S.; HAYASHI, C.; SOUZA, S.R.; SOARES, C.M. **Canibalismo em larvas de pintado, *Pseudoplatystoma coruscans*, cultivados sob diferentes densidades de estocagem.** *Acta Scientiarum. Biological Science*, Maringá. 2004. v. 26, p. 299-302.
- BARCELLOS, L.J.G.; NICOLAIEWISKY, S.; SOUZA, S.M.G.; LULHIES, F. **Plasmatic levels of cortisol in the response to acute stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*,L.) previously exposed to chronic stress.** *Aquaculture Research*, Stirling. 1999. v. 30, n. 6, p. 437-445.
- BARCELLOS, L.J.G.; SOUZA, S.M.G, WOEHL, V.M. **Estresse em peixes: Fisiologia da Resposta ao Estresse, Causas e Conseqüências (Revisão).** *Boletim do Instituto de Pesca*, Sao Paulo. 2000. v. 26, n. 1, p. 99-111.
- BARCELLOS, L.J.G.; WOEHL, V.M.; WASSERMANN, G.F.; QUEVEDO, R.M.; ITEZÉS, I.; KRIEGER, M.H. **Plasmatic levels of cortisol and glucose in the response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard, Pisces, Teleostei), a South American catfish.** *Aquaculture Research*, Stirling. 2001. v. 32, p. 121-123.

- BARCELLOS. L.J.G.; KREUTZ L.C.; QUEVEDO R.M.; FIOREZE I.; CERICATO, C.; SOSO, A.B.; FAGUNDES, M.; CONRAD, J.; BALDISSERA, R.K.; BRUSCHI A.; RITTER, F. **Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement.** *Aquaculture*, 2004. v. 232, n. 1-4, p. 383-394.
- BARNETT, C.W.; PANKHURST, N.W. **The effects of common laboratory and husbandry practices on the stress response of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* (Günther, 1862).** *Aquaculture*, Amsterdam. 1998. v. 162, p. 313-329.
- BARTON, A.B.; BOLLING, H. **Paddlefish, *Polydon spathula*, exhibit low physiological response to various handling stressors.** In: *World Aquaculture Society, 1996, San Francisco. Resumo.*
- BARTON, B.A.; IWAMA, G.K. **Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids.** *Annual Reviews of Fish Diseases*, Vancouver. 1991. v.10, p.3-26.
- BARTON, B.A.; ZITZOW, R.E. **Physiological responses of juvenile walleye to handling stress with recovery in saline water.** *Progressive Fish-Culturist*, Bethesda. 1995. v. 57, p.267-276.
- BEHR, E.R.; HAYASHI, C. **Alimentação de larvas *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829) em bandejas berçario durante o período crítico.** In: XII Encontro Brasileiro de Ictiologia, 1997, São Paulo / SP. Resumos do XII Encontro Brasileiro de Ictiologia. São Paulo - SP : Sociedade Brasileira de Ictiologia, 1997. v. unico. p. 51.
- BRITO M.F.G.; BAZZOLI, N. **Reproduction of the surubim catfish (Pisces, Pimelodidae) in the São Francisco River, Pirapora Region, Minas Gerais, Brazil.** *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2003. v.55, n.5. p. 624-633.
- CALDWELL WOODWARD, C., STRANGE, R.J. **Physiological stress responses in wild and hatchery-reared rainbow trout.** *Transactions of American Fisheries Society*, 1987. v. 116, p. 574-579.
- CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. **Alterações metabólicas, hematológicas e osmorregulatória do matrinxã *Brycon cephalus* causados pelo estresse de**

- transporte.** In: Aquicultura Brasil'98; Anais da Aquicultura, Recife. 1998. v. 2, p.609-620.
- CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. **Plasma electrolyte disturbance in matrinxã *Brycon cephalus* transported under influence of benzocaine.** Journal of Applied Aquaculture, Frankfort, Kentucky. 2001b. v. 11, n. 4, p. 1-13.
- CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. **Salt as a stress response mitigator of matrinxã *Brycon cephalus* (Teleostei: Characoidei) during transport.** Aquaculture Research. 2001a. v.32, p. 297-304.
- CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. **Transport stress in matrinxã, *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) at different densities.** Aquaculture International. 2002. v. 10, p.221-229.
- CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce.** Jaboticabal: Unesp. 1992. p. 189.
- CHOPIN, F.S.; ARIMOTO, T.; INOUE, Y. **A comparison of the stress response and mortality of sea bream *Pagrus major* captured by hook and line and trammel net.** Fisheries Research, 1996. v. 28, n.3, p.277-289.
- CURY, M. X. **Criação de pintado e cachara.** Panorama da Aquicultura, Rio de Janeiro. 1992. v. 2, n.3, p. 8-9.
- EDDY, F.B. **Effects of stress on osmotic and ionic regulation in fish.** In: PICKERING. A.D. (Ed.). Stress and fish. Academic Press, London. 1981. p.77-102.
- ELLIS, A. E. **Stress and the modulation of defense mechanisms in fish.** In: PICKERING, A. D. (Ed.). Stress and fish. Academic Press. 1981. p.147-169.
- ERIKSON, U.; SIGHOLT, T.; SELAND, A. **Handling stress and water quality during live transportation and slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*).** Aquaculture, Amsterdam. 1997. v. 149, p.243-252.
- FABBRI, E.; CAPUZZO, A.; MOON, T.W. **The role of circulating catecholamines in the regulation of fish metabolism: An overview.** Comparative Biochemistry and Physiology. 1989. v. 120 C, p.177-192.
- FANTA, E. **Influence of background color on the behavior of the *Oreochromis niloticus* (Cichlidae).** Arquivos de Biologia e Tecnologia. 1995. v. 38, p.1237-1251.

- FERNANDES, E.B; SENHORINI, J.A.; CARNEIRO, D.J. **Crescimento e sobrevivência de larvas de surubim-pintado (*Pseudoplatystoma corruscans* Agassiz, 1829) criados com alimento vivo.** Boletim Técnico do CEPTA, Pirassununga. 2002, v.15 p. 1-7.
- FLOWER, R.J. **The mediators of action.** *Nature*. 1986. 320:20.
- FOO, J.T.W.; LAM, T.J. **Serum cortisol response to handling stress and the effects of cortisol implantation so testosterone level in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*.** *Aquaculture*, Amsterdam. 1993. v. 115, p.145-158.
- FOWLER, H.W. **Os peixes de água doce do Brasil.** Arquivo de Zoologia do estado de São Paulo, São Paulo, 3ª ed., 1951. v. 6, p. 405-625.
- FRYER, J.N. **Stress and adrenocorticosteroids dynamics in the goldfish, *Carassius auratus*.** *Canadian Journal of Zoology*, Ottawa. 1975. v. 53, p. 1012-1020.
- FRYER, J.N.; PETER, R.E. **Hypothalamic control of ACTH secretion in goldfish. III. Hypothalamic cortisol implant studies.** *General and Comparative Endocrinology*, Duluth. 1977. v. 33 p. 215-225.
- FUJIMOTO, R. Y., CARNEIRO, D.J. **Adição de ascorbil polifosfato, como fonte de vitamina C, em dietas para alevinos de pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829).** *Acta Scientiarum*, Maringá, 2001. v. 23, n. 4, p. 855-861.
- FUNDAÇÃO BIODIVERSITA. **Lista oficial da fauna brasileira ameaçada de extinção.** [on line]; disponível em: <<http://biodiversitas.org.br>>. Acessado em: 13 de maio de 2005.
- FURUYA, W.M.; FURUYA, V.R.B. **Composição de aminoácidos da carcaça do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) baseado no conceito de proteína ideal.** *Zootecnia Tropical*. 2003. v.21 (2), p. 109-117.
- GIAQUINTO, P. **Comunicação química no pintado, *Pseudoplatystoma coruscans*.** Tese de Doutorado em Zoologia do Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2001. 57p.
- GILMOUR, K.M. **Gas exchange.** In: EVANS, D.H. (Ed.). *The Physiology of Fishes*. CRC Press, New York, New York, USA. 1997, p.101-127.
- GOMES, L. C. ; ROUBACH, R. ; SANGRATI, Bruno ; PEREIRAFILHO, M. ; URBINATI, E. C. . **Transport of pirarucu (*Arapaima gigas*) in a plastic bag.** *Acta Amazonica*, 2003 v. 33, n. 4, p. 637-642.

- GOMES, L.C.; LIMA, C.A.R.M.A.; ROUBACH, R.; URBINATI, E.C. **Avaliação dos efeitos de sal e da densidade no transporte de tambaqui.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília. 2003. v. 38, n. 2, p. 283-290.
- GONÇALVES, E.G. **Determinação do tempo de trânsito gastro-intestinal e coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta de uma ração para juvenis de pintado, *Pseudoplatystoma corruscans*.** Monografia. Graduação em Zootecnia. Universidade de Marília, 1998.
- GONÇALVES, E.G.; CARNEIRO, D.J. **Coefficientes de digestibilidade aparente da proteína e energia de alguns ingredientes utilizados em dietas para pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*).** Revista Brasileira de Zootecnia. 2003. v.32, n.4 p. 779-786.
- GRIFFITHS, S.P. **The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes.** Journal of Fish Biology. 2000. v. 57, p. 1453-1464.
- GROTTUM, J.A.; STAURNES, M.; SIGHOLT, T. **Effect of oxygenation, aeration and pH control on water quality and survival of turbot, *Scophthalmus maximus* (L), kept at high during transport.** Aquaculture Research. 1997. v. 28, p.159-164.
- GUERREIRO ALVARADO, C. E. **Treinamento alimentar de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829): Sobrevivência, crescimento e aspectos econômicos.** Dissertação de Mestrado em Aqüicultura – Centro de Aqüicultura da UNESP, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo. 2003. 72p.
- HEICHENBACH-KLINKE, H.H. ***Enfermedades de los Peces*.** Editora Acribia, Zaragoza, Spain. 1982.
- HUBBS, C.; NICKUM, J.G.; HUNTER, J.R.; **Guidelines for use of fish in research (ASIH, AFS, AIFRB).** Fisheries. 1988. v. 13(2), p. 16-22.
- IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística** [on line]; disponível em <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 10 de setembro de 2004.
- INOUE, L.A.K.A.; CECARELLI, P.S.; SENHORINI, J.A. **Efeitos da cal na qualidade da água e suas implicações na produção do pintado *Pseudoplatystoma corruscans* (agassiz, 1829) durante a alevinagem.** Biodiversidade Pampeana, PUCRS, Uruguaiana. 2003. v.1 (1), p. 3-11.

- IWAMA, G.K. **Intensive fish production: Course Manual UBC Access Guided Independent Study.** The University of British Columbia, Vancouver. 1993. p. 130.
- JOHNSON, D.L.; METCALF, M.T. **Causes and controls of freshwater drum mortality during transportation.** Transactions of the American Fisheries Society. 1982. v. 111, p. 58-62.
- KEBUS, M.J.; COLLINS, M.T.; BROWNFIELD, M.S.; AMUNDSON, C.H.; KAYES, T.B., MALISON, J.A. **Effects of rearing density on stress response and growth of rainbow trout.** Journal of Aquatic Animal Health, Bethesda. 1992. v. 4, p. 1-6.
- KING, E.J., GARNER, R.J. **Colorimetric determination of glucose.** J. Clin. Pathol. 1947. v.1 p. 30-33.
- KRIEGER-AZZOLINI, M.H.; DELATTRE, E.; CAROLSFELD, J.; CECCARELLI, P.; MENEZES, F.V. **A time-course study of physiological indicators of handling stress in tropical fish *Piractus mesopotamicus* (Pacu).** Brazilian Journal of Medical and Biological Research, São Paulo. 1989. v. 22, p. 1019-1022.
- KUBITZA, F.; CAMPOS, J.L.; BRUM, J.A. **Produção intensiva de surubins no Projeto Pacu Ltda. e Agropeixe Ltda.** In: Aqüicultura Brasil'98, Recife. 1998. Anais da Aqüicultura Brasil' 98. v.1, p. 393-407.
- KUBOKAWA, K.; WATANABE, T.; YOSHIOKA, M.; IWATA, M. **Effects of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone and glucose levels in male and female sockeye salmon during breeding season.** Aquaculture, Amsterdam. 1999. v. 172, p. 335-349.
- LEACH, G.J.; TAYLOR, M.H. **The role of cortisol in stress induced metabolic changes in *Fundulus heteroclitus*.** General and Comparative Endocrinology, Duluth. 1980. v. 42, p. 219-227.
- LEVINE, J.S.; McNICHOL JR, E.F. **Color vision in fish.** Scientific American. 1982. v. 216, p. 108-117.
- LOPES, M.C.; FREIRE, R.A.B.; VICENSOTTO, J.R.M.; SEMHORIRI, J.A. **Alimentação de lavas de surubim-pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1825), em laboratório, na primeira semana de vida.** Boletim Técnico CEPTA. 1996. v.9, p.11-29.
- LOUKASHKI, A.S.; GRANT, N. **Behavior and reactions of the pacific sardine, *Sardinops caerulea* (Girard), under the influence of white and colored lights**

- and darkness.** Proceedings of the California Academy of Sciences. 1959. v. 29, p. 509-548.
- LUNDSTEDT, L.M., BIBIANO, J.F.M, MORAES, G. **Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition.** Comparative Biochemistry and Physiology Part B. 2004. v.137, p. 331-339.
- MACHADO, J.H.; **Desempenho produtivo de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), arraçoados com diferentes níveis de proteína e energia.** Dissertação de Mestrado em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Folho – UNESP. 1999.
- MARTINO, R.C.; CYRINO, J.E.P.; PORTZ, L.; TRUGO, L. C. **Performance and fatty acid composition of surubim (*Pseudoplatystoma corruscans*) fed diets with animal and plant lipids.** Aquaculture, Amsterdam. 2002b. v. 209. p.233-246.
- MARTINO, R.C.; CYRINO, J.E.P.; PORTZ, L.; TRUGO, L.C. **Effect of dietary lipid level on nutritional performance of the surubim, *Pseudoplatystoma corruscans*.** Aquaculture, Amsterdam. 2002a. v. 209, p. 209-218.
- MARTINO, R.C.; CYRINO, J.E.P.; PORTZ, L.; TRUGO, L.C. **Performance, carcass composition and nutrient utilization of surubim *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz) fed diets with varying carbohydrate and lipid levels.** Aquaculture Nutrition. 2005. v.11. p. 131-137.
- MATEUS, L. A. F.; PETRERE JR., M. **Age, growth and yield per recruit analysis of the pintado *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829) in the Cuiabá river basin, Pantanal Matogrossense, Brazil.** Brazilian Journal of Biology. 2004 v. 64, n. 2, p. 257-264.
- MAULE, A.G.; TRIPP, R.A.; KAATTARI, S.L.; SCHRECK, C.B. **Stress alters immune function and disease resistance in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytsch*).** Journal of Endocrinology, Cambridge. 1989. v. 120, p. 135-142.
- MAYER-GOSTAN, N.; WENDELAAR BONGA, S.E.; BALM, P.H.M. **Mechanisms of hormone actions on gill transport.** In: PANG, P.K.T.; SCHREIBMAN, M.P. Vertebrate Endocrinology: Fundamentals and Medical implications. Academic Press, Orlando. 1987. p. 211-213.
- MAZEAUD, M.M., MAZEAUD, F. **Adrenergic responses to stress in fish.** In: PICKERING, A.D. (Ed), Stress and fish. Academic Press. 1981. p. 49-76.

- MAZEAUD, M.M., MAZEAUD, F., DONALDSON, E.M. **Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review.** Transactions of the American Fisheries Society. 1977. v. 106, p. 201-212.
- McAVOY, S.E.; ZAEPFEL, R.C. **Effects of tricaine methanesulfonate (MS-222) on hematocrit: first field measurements on blacknose dace.** Transactions of the American Fisheries Society. 1997. v. 126. p.500-503.
- McDONALD, D.G., GOLDSTEIN, M.D., MILTON, C. **Responses of hatchery-reared brook trout, lake trout, and spike to transport stress.** Transactions of the American Fisheries Society. 1993. v. 122, p. 1127-1138.
- McDONALD, D.G.; MILLIGAN, L. **Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress** In Iwama, G.W., A.D. Pickering, J.P. Sumpter, C.B. Schreck, editors. Fish stress and health in aquaculture. Cambridge: University Press. 1997. p. 119-144
- McLEAY, D.J. **Effects of ACTH on the pituitary-interrenal axis and abundance of white blood cell types in juvenile coho salmon, (*Oncorhynchus kisutch*).** General and Comparative Endocrinology, Duluth. 1973. v. 21. p. 431-440.
- MESA, M.G. **Effects of multiple acute stressors on the predator avoidance ability and physiology of juvenile chinook salmon.** Transactions of American Fisheries Society, Bethesda. 1994. v. 123, n. 5, p. 786-793.
- MIRANDA, M.O.T.; RIBEIRO, L.P. **Características zootécnicas do surubim *Pseudoplatystoma corruscans*.** In: IBAMA. Surubins. Coleção Meio Ambiente. Série Estudos Pesca, Belo Horizonte. 1997. v. 19, p. 43-56.
- MOMMSEN, T.P.; VIJAYAN. M.M., T.W. **Cortisol in teleost: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation.** Fish Biology and Fisheries. 1999. v. 9, p. 211-268.
- MORAES, G.; BIDINOTTO, P. M. **Metabolic impact of handling on *Pseudoplatystoma corruscans*, a widespread teleost fish.** In: International Congress on Biology of Fish, 2000, Aberdeen. Fish Biology, 2000. p. 89-100.
- MORGAN, J.D.; IWAMA, G.K. **Cortisol induces changes in oxygen consumption and ionic regulation in coastal cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki clarki*) parr.** Fish Physiology and Biochemistry. 1996. v. 15, n. 5, p. 385-394.
- NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A.A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, V.P.; MAKRAKIS, C.M.; PAVANELLI, S.C. **Ovos e larvas de**

- peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação.** Editora da Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 2001. 378p.
- NICHOL, J.A.C. **Some aspects of photoreception and vision in fishes.** In: RUSSEL, F.S. (Ed.), *Advances in Marine Biology. Photobehavior.* Academic Press, London. 1963. v. 1.
- OLIVEIRA, E.G. **Influência do sexo e das épocas do ano sobre parâmetros biométricos, bioquímicos e hormonais em pacu (*Piractus mesopotamicus*), mantidos em cativeiro.** Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. 1997. 115p.
- PATIÑO, R.; REDDING, J.M.; SCHRECK, C.B. **Interrenal secretion of corticosteroids and plasma cortisol and cortisone concentrations after acute stress and during seawater acclimation in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*).** *General and Comparative Endocrinology*, Duluth. 1987. v. 68. p. 431-439.
- PETUCO, J.B. **Como cuidar do pintado.** Editora Globo. São Paulo. Setembro de 1998.
- PICKERING, A.D. **Introduction: The Concept of Biological Stress.** In: PICKERING, A.D. (Ed.) *Stress and fish.* Academic Press. 1981. p. 367.
- PICKERING, A.D.; POTTINGER, T.G. **Stress response and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol.** *Fish Physiology and Biochemistry*, Amsterdam, 1989. v. 7, n. 6, p. 253-258.
- PRIOLI, A. J. ; SEKINE, E. S. ; JÚLIO JR, H. F. ; PRIOLI, Sônia Maria Alves Pinto . **Genetic diversity between populations of *Pseudoplatystoma corruscans* (Pisces - Siluriformes) isolated by Guaíra Falls of the Paraná River.** *Acta Scientiarum*, Maringá - PR, 2002 v. 24, n. 2, p. 507-512.
- REDDING, J.M.; SCHRECK, C.B. **Influence of ambient salinity on osmoregulation and cortisol concentration in yearling coho salmon during stress.** *Transactions of the American Fisheries Society.* 1983. v. 112, p. 800-807.
- REID, S.B. **La biología de los bagres rayados *Pseudoplatystoma fasciatum* y *tigrinum* en la cuenca del Rio Apune, Venezuela.** *Revista Unellez de Ciencia y Tecnologia*, Barinas. 1983. v. 1, n. 1, p. 13-14.
- RESENDE, E. K.; CATELA, C.A.; NASCIMENTO, F.; PALMEIRA, S. S.; LIMA, M. S.; PEREIRA, R. **Biologia do curimatá (*Prochilodus lineatus*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) na**

- bacia hidrográfica do rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil.**
CPAP - Boletim de Pesquisa EMBRAPA, Corumbá, MS, 1996. n. 2, p.1-75.
- ROBERTSON, L.; THOMAS, P.; ARNOLD, C.R. **Plasma cortisol and secondary stress response of cultures red drum (*Sciaenops ocellatus*) to several transportation procedures.** Aquaculture, Amsterdam. 1988. v. 68, p. 115-130.
- ROSATO, P. N. GONÇALVES, F. D., URBINATI, E. C. **Cortisol and blood glucose profile as stress indicators on matrinxã (*Brycon cephalus*) submitted to air exposure.** In: International Meeting of World Aquaculture Society, Salvador/BA. Book of Abstracts. 2003 v. 2, p. 651.
- ROSS, L.G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals.** Blackwell Science, Oxford, UK. 1999.
- ROTLANT, J.; TORT, L. **Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the spared red porgy previously subjected to crowding stress.** Journal of fish Biology, Londres. 1997 v. 51. p. 21-28.
- ROUBACH, R.; CORREIA, E.S.; ZAIDEN, S.; MARTINO, R.C.; CAVALLI, R.O. **Aquaculture in Brazil.** World Aquaculture. 2003. v. 34, n. 1, p. 28-34.
- SAKAI, M. **Current research status of fish immunostimulants.** Aquaculture, Amsterdam. 1999. v. 172, p. 63-92.
- SANTO, J.E.; GODINHO, H.P. **Morfogênese e comportamento larvais de surubim, *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829), sob condições experimentais.** Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia. 1994. v. 46, n.2., p. 139-147.
- SATO, Y.; CARDOSO, E.L.; SALLUM, W.B.; GODINHO, H.P. **Indução experimental da desova do surubim *Pseudoplatystoma corruscan*.** In: MIRANDA, M.O.T. Surubim. IBAMA. Coleção Meio Ambiente, série Estudos Pesca, Belo Horizonte. 1997. v. 19, p. 69-79.
- SCHRECK, C.B. **Accumulation and long-term effects of stress in fish.** In: The Biology of Animal Stress (eds. Moberg, G.P. and Mench, J.A.). CAB International 2000.
- SEIXAS FILHO, J. T. de; BRÁS, J. de M.; GOMIDE, A.T.de M.; OLIVEIRA, M.G. de A.; DONZELE, J.L.; MENIN, E. **Anatomia fundamental e morfometria no**

- Teleostei (Pisces) de água doce surubim (*Pseudoplatystoma corruscans* – Agassiz, 1829).** Revista Brasileira Zootecnia. 2001a. v. 30, n. 6, p.1670-1680.
- SEIXAS FILHO, J. T. de; FONSECA, C. C.; OLIVEIRA, M. G. de A.*et al.* **Determinação do sistema endócrino difuso nos intestinos de três Teleostei (Pisces) de água doce com hábitos alimentares diferentes.** Revista Brasileira Zootecnia. 2001b, v. 30, n. 5, p.1403-1408.
- SEIXAS FILHO, J.T.; OLIVEIRA, M.G.A.; DONZELE, J.L.; GOMIDE, A.T.M.; MENIN, E. **Atividade de lipase em quimo de três espécies tropicais de peixes Teleostei de água doce.** Revista Brasileira Zootecnia. 2000. v.29, n.1, p.1516-3598.
- SELYE, H. **Stress and the general adaptation syndrome.** British Medical Journal. 1950. v. 1, p. 1383-1392.
- SLOMAN, K.A.; TAYLOR, A.C.; METCALFE, N.B.; GILMOUR, K.M. **Stress from air emersion fails to alter chloride cell numbers in the gills of rainbow trout.** Journal of Fish Biology. 2001. v. 59. p. 186-190.
- SMERMAN, W.; CASTRO, J.G.D.; TOLEDO, J.J. de; ROSA, C.A.S. da; GODOI, D.S.de. **Larvicultura de pintado (*Pseudoplatystoma* sp) em Alta Floresta – Mato Grosso.** Revista de Biologia e Ciências da Terra. 2002. v. 2, n.1.
- SPECKER, J.L.; SCHRECK, C.B. **Stress responses to transportation and fitness for marine survival in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) smolts.** Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, Ottawa. 1980. v. 37, p. 765-769.
- STAURNES, M.; SIGHOLT, T.; PEDERSEN, H.P.; RUSTAD, T. **Physiological effects of simulated high-density transport of Atlantic cod (*Gadus morhua*).** Aquaculture, Amsterdam. 1994. v. 119, p. 381-391.
- STEFANSSON, S.O.; HANSEN, T.J.; TARANGER, G.L. **Growth and parr-smolt transformation of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) under different light intensities and subsequent survival and growth in seawater.** Aquacultural Engineering. 1993. v. 13, p. 231-243.
- STEFANSSON, S.O.; NORTVEDT, R.; HANSEN, T.J.; TARANGER, G.L. **First feeding of Atlantic salmon (*Salmo salar*) under different photoperiods and light intensities.** Aquaculture and Fisheries Management. 1990. v. 21, p. 481-487.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. **Hematologia de Peixes Teleósteos.** Ribeirão Preto, São Paulo. 2004. 25p.

- TAVARES-DIAS, M.; SANDRINE, E.F.S., MORAES, F.R., CARNEIRO, P.C.F. **Physiological Response of “Tambaqui” *Colossoma macropomum* (CHARACIDAE) to Acute Stress.** Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo. 2001. v. 27. n. 1 p.43-48.
- TOLEDO, L.R. **Novo hóspede dos açudes.** Globo Rural, São Paulo. 1991. p. 54-61.
- TUCKER, C.S. **Channel catfish.** Elsevier, Amsterdam. 1985. 657p.
- URBINATI, E.C.; CARNEIRO, P.C.F. **Metabolic and hormonal responses of matrinxã, *Brycon cephalus*, (Teleost: Characidae) to transport stress under influence of benzocaine.** Journal of Aquaculture in the Tropics. 2001. v. 16, n. 1, p. 75-85.
- URBINATI, E.C.; SAMPAIO, J.A.; CAMARGO, A.C.S.; LANDINES, M.A. **Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at various densities.** Aquaculture, Amsterdam. 2004. v. 229, p. 389-400.
- VAN DER BOON, J.; VAN DEN TRILLART, G.E.E.J.M.; ADDINK, A.D.E. **The effect of cortisol administration on intermediary metabolism in teleost fish.** Comparative Biochemistry and Physiology, Vancouver, 100A. 1991. v.1, p. 47-53.
- VIJAYAN, M.M.; BALLANTYNE, J.S.; LEATHERLAND, J.F. **Cortisol-induced change in some aspects of the intermediary metabolism of *Salvelinus fontinalis*.** General and Comparative Endocrinology, Duluth. 1991. v. 82, p. 476-486.
- VOLPATO, G.; BARRETO, R.E. **Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research, São Paulo. 2001. v. 34, p. 1041-1045
- VOLPATO, G.L. **Aggression among farmed fish.** In: FLOS, R.; CRESWELL, L. (Eds.) Aqua 2000: Responsible Aquaculture in the New Millennium. European Aquaculture Society Special Publication, Nice. n. 28.
- WEDEMEYER, G. **Development and evaluation of transport media to mitigate stress and improve juvenile salmon survival in Columbia River bagging and trucking operations.** Contract Report to Bonneville Power Administration, Portland, Oregon. 1985. n. 82. p. 19.

- WEDEMEYER, G.; BARTON, B.A.; McLEAY, D.J. **Stress and acclimation.** In: SCHRECK, C.B.; MOYLE, P.B. (Eds.). *Methods for Fish Biology.* American Fisheries Society, Bethesda. 1990. p.451-489.
- WENDERLAAR BONGA, S.E. **The stress response in fish.** *Physiological Reviews.* 1997. v. 77, n. 3, p. 591-625.
- WOJTASZEK, J.; DZIEWULSKA-SZWAJKOWSKA, D.; LOZINSKA-GABSKA, M.; ADAMOWICZ, A.; DZUGAJ, A. **Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio* L.): cortisol effect on the carp blood.** *General and Comparative Endocrinology.* 2002. v. 125, p. 176-183.
- WURTS, W.A. **Using salt to reduce handling stress in channel catfish.** *World Aquaculture.* 1995. v. 26, n. 3, p. 80-81.