UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DEPARTAMENTO DE AQÜICULTURA



ESTRESSE DE ALEVINOS DO DOURADO E MANDI SOB DIFERENTES DENSIDADES E TEMPOS DE TRANSPORTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Aqüicultura

Orientador: Prof. Dr. Alex Pires de Oliveira

Nuñer

Co-orientador: Prof. Dr. Leonardo José Gil

Barcellos

WASHINGTON DE BARROS ADAMANTE

FLORIANÓPOLIS - SC 2005

Adamante, Washington de Barros.

Estresse de alevinos de dourado e mandi sob diferentes densidades e tempos de transporte – 2005. f. 30. grafs., tabs.

Orientador: Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñer. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina/Centro de Ciências Agrárias. Bibliografía: f. 30p.

- 1. Estresse; 2. Cortisol tecidual; 3. Salminus brasiliensis;
- 4. Pimelodus maculatus; 5. Transporte de peixes

Estresse de alevinos do dourado e mandi sob diferentes densidades e tempos de transporte

Por

WASHINGTON DE BARROS ADAMANTE

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQÜICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura.

> Profa. Débora Machado Fracalossi, Dra. Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñer - *Orientador*Dr. Evoy Zaniboni Filho

Dr. Paulo César Falanghe Carneiro

Dedico

A minha mãe Cecília e meu pai Hildebrando (in memoriam).

AGRADECIMENTOS

Ao amigo e orientador Alex Pires de Oliveira Nuñer, pela valorosa orientação desde os tempos da graduação, e principalmente por ter acreditado neste trabalho; Ao Prof. Dr Leonardo Jose Gil Barcellos, pela co-orientação neste trabalho e pela disponibilidade de realizar as análises em seu laboratório;

Aos colegas de mestrado, pela amizade e pelo gratificante convívio dentro da sala de aula;

Ao grande mestre Marquinhos, pelas sugestões e auxílio na implantação do experimento;

Ao "duende amigo" Aparício, pela amizade e pelas horas de chimarrão e terere;

Aos amigos do Lapad, Claudinha, Jackson, Jack, Huergo, Fernanda "Bola de fogo" Freitas, Michelle, Pedrão, Ronaldo, Mauricio, Renata, Grazi, André, Samara, Evoy;

Aos estagiários do Laboratório de Diagnóstico em Ictiopatologia da Universidade de Passo Fundo, Auren, Alexandra e Jovâni, pelo inestimável auxílio na realização das análises de cortisol;

Ao grande amigo e parceiro de alambique, seu "Keka";

Ao Prof. Maurício Laterça pelo auxilio e colaboração no trabalho;

Aos meus sogros, Vera e Luiz, pelo apoio, amizade e carinho demonstrados, desde que passei a fazer parte da família;

Ao Nereu e a Sabrina, pelo incentivo e amizade;

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos durante a pós-graduação, e a Tractebel Energia pelo incentivo financeiro ao projeto;

Aos meus pais pelo apoio incondicional e por terem proporcionado mais esta etapa na minha vida;

E principalmente a Luciana, por estar sempre presente e me incentivar nos momentos de desânimo.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMO	vii
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. A piscicultura no Estado de Santa Catarina	1
1.2. O Transporte de Peixes vivos	1
1.3. O estresse durante o transporte	3
1.4. Espécies utilizadas no experimento	6
1.4.1. O Mandi.(Pimelodus maculatus)	6
1.4.2. O Dourado(Salminus brasiliensis)	6
OBJETIVOS	7
Geral	7
Especifico	7
ESTRESSE DE ALEVINOS DE DOURADO (Salminus brasiliensis) E MANDI (Pimelodus maculatus) SOB DIFERENTES DENSIDADES E TEMPOS DE TRANSPORTE	8
Resumo	9
Introdução	
Material e Métodos	12
Resultados e discussão	14
Conclusões	19
Agradecimentos	20
Referências	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS DA INTRODUÇÃO	25
ANEXOS	29

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

FIGURA 1	Esquema representativo dos efeitos primários e secundários do estresse em peixes, de acordo com Mauzeaud <i>et al.</i> (1977)	
	E ALEVINOS DE DOURADO (<i>Salminus brasiliensis</i>) E MANDI (<i>Pimelo</i> B DIFERENTES DENSIDADES E TEMPOS DE TRANSPORTE.	dus
FIGURA 1	Valores médios (± desvio padrão) da concentração de amônia total (mg L ⁻¹) na água de transporte de peixes em diferentes tempos e densidades de transporte. (A) alevinos de <i>S. brasiliensis</i> . (B) alevinos de <i>P. maculatus</i>	15
FIGURA 2	Valores médios (± desvio padrão) da concentração nitrito (mg L ⁻¹) na água de transporte de peixes em diferentes tempos e densidades de transporte. (A) alevinos de <i>S. brasiliensis</i> . (B) alevinos de <i>P. maculatus</i>	15
FIGURA 3	Valores médios (\pm desvio padrão) da condutividade elétrica (μ S cm ⁻¹) na água de transporte de peixes em diferentes tempos e densidades de transporte. (A) alevinos de <i>S. brasiliensis</i> . (B) alevinos de <i>P. maculatus</i> .	16
FIGURA 4	Valores médios (± desvio padrão) das concentrações (ng mg ⁻¹) de cortisol no tecido de alevinos de <i>S. brasiliensis</i> (A) e <i>P. maculatus</i> (B) em três densidades de carga diferentes e em três diferentes tempos de transporte	18

Resumo

O transporte de alevinos de dourado, Salminus brasiliensis, e de mandi, Pimelodus maculatus, em três tempos de transporte (4, 8 e 12 horas) e três densidades de carga (5, 10 e 15 g L⁻¹ e 6, 12 e 18 g L⁻¹ para S. brasiliensis e P. maculatus, respectivamente), foi avaliado, através do estresse, representado pelos níveis de cortisol tecidual, quantificado através do método ELISA no início e ao final de cada tratamento. As variáveis de qualidade de água, analisadas no início e no final do experimento, permaneceram dentro das faixas recomendadas para a manutenção de peixes tropicais, destacando-se a elevação da condutividade elétrica da água à medida que o tempo e a densidade aumentaram. Ao final do experimento constatou-se que o transporte estressou os peixes, porém, a influência do aumento da densidade e do maior tempo de transporte não foi suficiente para resultar em mortalidade nos alevinos. Os resultados obtidos demonstraram que a resposta primária ao estresse dessas espécies, quando submetidas a tempos de transporte relativamente curtos, tende a seguir o padrão comum a qualquer outro estressor agudo. A ausência de mortalidade e as boas condições de qualidade de água ao final do experimento, sugerem que os tempos de transporte e densidades de carga, que podem comprometer a sobrevivência dos alevinos dessas espécies estão acima dos níveis testados.

Abstract

This work studied the effects of transport of "dourado" (*Salminus brasiliensis*) and "mandi" (*Pimelodus maculatus*) fingerlings during three times (4, 8 and 12 hours), three stocking densities (5, 10 and 15 g.L⁻¹ and 6, 12 and 18 g.L⁻¹ respectively to "dourado" and "mandi"). Stress was analyzed in the cortisol contents by ELISA at the beginning and at the end of the experiment. The water quality before and after transport was adequate to the tropical fish maintenance. Increased electrical conductivity was related to larger time of transport and stocking density. In spite of the stress in fish there was no influence of the transport times and stocking densities in fish mortality. The results showed the primary response to stress when these fish species are exposed to short time of transport following the patterns of acute stress. The lack of mortality and the good water quality at the end of the experiment showed that transport duration and stocking densities might be higher than those utilized in this assay.

1. INTRODUÇÃO

1.1. A piscicultura no Estado de Santa Catarina

Os primeiros registros da piscicultura no Brasil datam do século XVIII, porém, apenas no século XX apresentou avanços significativos através dos estudos de reprodução induzida de espécies reofilicas desenvolvidos por Rodolfo Von Ihiering (BORGHETTI, et al., 2003). A piscicultura em Santa Catarina, iniciada na década de 70, simultaneamente aos outros estados da região sul do Brasil (VALENTI et al., 2000), e teve como primeiro objetivo criar uma alternativa de renda para o pequeno produtor rural do interior do Estado (SOUZA FILHO et al, 2002a). Segundo o ICEPA (2004), no ano de 2003 o Estado produziu 20.900 toneladas de peixes de água doce, essa produção concentra-se principalmente nas regiões do Vale do Itajaí, Litoral Norte e Oeste Catarinense. A maioria dos cultivos continua sendo desenvolvida por pequenos produtores rurais, que na sua maioria têm na piscicultura uma atividade complementar. Existem hoje no Estado diversos modelos de cultivo de peixes, sendo que o principal deles consiste na integração e aproveitamento de subprodutos oriundos de outras atividades, sendo a suinocultura a principal delas (SOUZA FILHO et al., 2002b). Existe ainda um grande número de produtores que associa a produção a empreendimentos turísticos como pesque-pagues, que oferecem uma estrutura de lazer aliada a uma eficiente forma de comercialização (ICEPA, 2004). Além disso, existem os produtores de peixes que direcionam a comercialização para o pesque-pague e para a indústria. (SOUZA FILHO et al., 2002a).

1.2. O Transporte de Peixes vivos.

O transporte de peixes vivos é uma prática rotineira na piscicultura, e como tal, deve ser planejada de modo que o desconforto proporcionado aos animais seja o menor possível. As finalidades do transporte podem ser devido à comercialização de alevinos, as aquisições de peixes adultos por pesque-pagues, ao transporte de reprodutores e ao transporte de peixes destinados ao comercio de peixe vivo, como em feiras e mercados (GOMES et al, 2003a).

O procedimento básico empregado na atividade de transporte de peixes, consiste na suspensão da alimentação pelo menos por vinte e quatro horas antes do transporte. Os peixes capturados nos viveiros são transferidos para tanques de entrega, onde permanecem por um tempo, para que possam se recuperar do estresse proporcionado

pela captura. Para o transporte propriamente dito, os animais são transferidos para caminhões com caixas próprias para transporte de peixes, ou sacos plásticos acondicionados em caixas de poliestireno, onde permanecem até o local de entrega (CONTE, 2004).

Segundo Berka (1986), existem dois sistemas básicos para o transporte de peixes vivos: o sistema fechado e o sistema aberto. O sistema fechado consiste no transporte dos peixes acondicionados em sacos plásticos, parcialmente preenchidos com água, onde é injetado oxigênio comercial puro. No sistema aberto os peixes são acondicionados em caixas próprias para transporte, sendo a alimentação de oxigênio ou de ar constante.

O transporte de alevinos geralmente ocorre quando estes apresentam de três a dez centímetros de comprimento, tamanho considerado comercial para diversas espécies, sendo que a utilização de sacos plásticos com água e oxigênio é um procedimento amplamente utilizado na piscicultura comercial há muitos anos (SNOW et al., 1978, VOLLMANN-SCHIPPER, 1978). Entretanto, a utilização de sacos plásticos para o transporte pode ser um fator limitante, devido ao acúmulo de metabólitos como a amônia, por alterações do pH da água, pelo aumento da concentração de CO₂, e ainda, pela depleção dos níveis de oxigênio dissolvido na água (AMEND et al., 1982).

A amônia na água doce se apresenta sob duas formas: amônia ionizada (NH₄⁺) e a amônia não ionizada (NH₃), sendo que a toxicidade da amônia encontra-se associada à forma não ionizada (FOSS *et al.*, 2003). As duas formas existem em equilíbrio determinado pelo pH ambiental, pela temperatura da água e salinidade. (WEIRICH et al, 1993; HANDY & POXTON, 1994). Tomasso (1994), afirmou que um aumento no pH da água promove a formação de NH₃, que é livremente difusível através das membranas biológicas, tornando-se assim uma substância perigosa para organismos aquáticos, quando presente em excesso.

A quantidade de oxigênio dissolvido na água também deve ser observada, já que o excesso de biomassa pode resultar em uma diminuição drástica do oxigênio disponível. Segundo Proença & Bittencourt (1994) a maior parte dos peixes morre quando o teor de oxigênio dissolvido é igual ou inferior a 1 mg/L.

A temperatura da água também deve ser controlada, pois além da tolerância específica de cada espécie, com temperaturas mais baixas o metabolismo dos peixes diminui, criando uma situação favorável para o transporte (BERKA, 1986).

Pecha *et al* (1983) apud Berka (1986) afirmaram que para se obter melhores resultados durante o transporte de peixes ou alevinos, os mesmos devem ficar sem alimento por pelo menos um dia, para que possíveis restos de alimentos no trato digestório não contribuam para o acúmulo de metábolitos na água. Para evitar que as variáveis de qualidade de água atinjam níveis indesejáveis durante o período de transporte e resultem em mortalidade, a densidade empregada e a duração do transporte devem ser consideradas. A quantidade de peixes por litro pode variar de acordo com a fase de vida. Berka (1986) recomendou que para o transporte em sacos plásticos de alevinos de truta marrom com comprimento entre 4 e 6 cm em um período de transporte de 12 horas e temperatura da água de 10 °C, não sejam acondicionados mais do que 25 alevinos/L. Para alevinos de carpa-comum com comprimento aproximado de 5 cm, e temperatura da água em torno de 15 °C devem ser acondicionados no máximo 50 alevinos/L, por um período que não ultrapasse 8 horas de transporte.

Kubitza (1999) recomendou que para transportar alevinos de catfish americano com tamanho aproximado de 7,5 cm em um período de transporte de 12 horas com temperatura da água em 25 °C, não deve ser ultrapassada a densidade de 30 alevinos/L.

Uma densidade elevada, aliada a um período de transporte muito longo, pode resultar em estresse para os peixes, comprometendo a eficiência do transporte, podendo resultar em mortalidade e efeitos negativos no desempenho dos indivíduos (AMEND et al., 1982).

1.3. O estresse durante o transporte.

Segundo (BRETT, 1958, apud MARTINS, 2000), o estresse pode ser definido como sendo o "estado produzido por qualquer fator ambiental ou não, que permite a resposta adaptativa do organismo para alcançar novo patamar de equilíbrio frente às condições reduzidas de sobrevivência". Estressor é o termo utilizado para definir qualquer fator capaz de alterar a homeostase do peixe e a resposta fisiológica e comportamental a este estressor, é a chamada resposta ao estresse (SMITH, 1982 apud BARCELLOS et al., 2000).

A permanência de peixes em ambientes onde fatores como as variáveis de qualidade de água não apresentam condições adequadas, ou as práticas de manejo empregadas não são adequados, podem conduzi-los a uma situação de estresse que pode resultar em baixas taxas de sobrevivência e de crescimento, e redução da capacidade reprodutiva, além de contribuir para a redução da eficiência do sistema imunológico

(SPECKER & SCHERECK 1980; SCHERECK 1982; MAULE et al., 1989; CAMPBELL et al., 1994; McCORMIK et al., 1998).

A condição de estresse pode ser provocada por diversos fatores, tais como manejo inadequado, transporte, deficiência nutricional e, até mesmo por fatores ambientais como temperatura, fotoperíodo e salinidade (BARTON & IWAMA, 1991).

Barton & Iwama (1991) relataram dois tipos distintos de estresse, o agudo e o crônico. O estresse agudo é causado principalmente por atividades de manejo como biometrias, coleta de reprodutores, transporte de peixes, sendo que esse estresse pode ser caracterizado pela elevação dos níveis de cortisol plasmático. Uma das funções do cortisol é ajudar a prover os nutrientes necessários para as células durante o estresse. Sua principal ação é estimular os hepatócitos a produzir glicose a partir de substratos como o glicogênio. O estresse crônico ocorre quando os peixes são mantidos por um longo período de tempo em condições inadequadas, tais como altas densidades de estocagem e condições de qualidade de água desfavoráveis.

O mecanismo de liberação do cortisol é ativado logo após a percepção da alteração homeostática pelo indivíduo, quando se inicia no eixo Hipotálamo-Hipófise - Células Interrenais uma série de eventos (Figura 1). O estímulo causado pelo agente estressor provoca a liberação do fator liberador de corticotrofina, estimulando a glândula hipófise a liberar o ACTH (hormônio adrenocorticotrófico), que através da circulação chega ao tecido interrenal, provocando a liberação do cortisol na corrente sanguínea (DONALDSON, 1981).

A resposta ao estresse compreende uma série de alterações fisiológicas. Os efeitos são divididos em primários, secundários e terciários. Entre os efeitos primários encontram-se os aumentos de catecolaminas, adrenalina e noradrenalina, e corticosteróides no plasma. Nos efeitos secundários, existem os efeitos metabólicos como as alterações na glicemia, no ácido láctico e no glicogênio hepático e muscular, e os hematológicos, como alterações nos hematócritos e no número de linfócitos, além dos efeitos hidrominerais, como alterações na concentração plasmática de cloro, sódio, potássio, proteínas, e nas osmolaridade do plasma. Os principais efeitos terciários são as quedas do desempenho produtivo e reprodutivo e a diminuição da resistência às doenças (WENDELAAR BONGA, 1997).

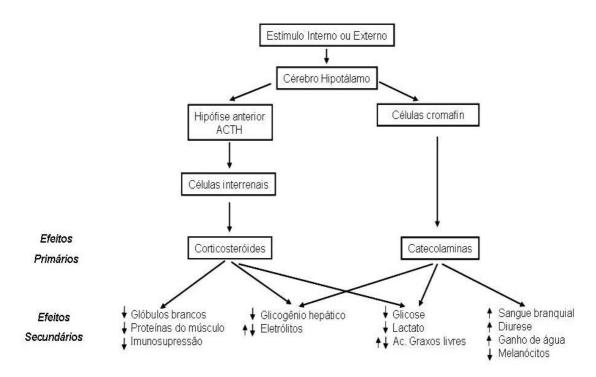


Figura 1. Esquema representativo dos efeitos primários e secundários do estresse em peixes, de acordo com Mauzeaud et al. (1977).

Em peixes teleósteos, a elevação plasmática do cortisol é reconhecida como a principal resposta hormonal ao estresse, sendo amplamente utilizada como indicador dessa resposta (ROBERTSON et al., 1988; BARCELLOS et al., 1997; NOLAN et al., 1999; MARTINS et al., 2000; BARCELLOS et al., 2001; CARNEIRO et al., 2002; FEIST & SCHRECK, 2002; BARCELLOS et al., 2004a).

Entretanto, para espécies brasileiras, pouco se sabe sobre a ação do cortisol durante a ocorrência de estresse. Estudos sobre a resposta ao estresse foram realizados por alguns autores com algumas espécies, entre elas podemos citar o jundiá, *Rhamdia quelen*, (BARCELLOS et al., 2001; BARCELLOS et al., 2003; BARCELLOS et al., 2004b), o tambaqui, *Colossoma macropomum*, (GOMES *et al.*, 2003a.; GOMES et al., 2003b), o tambacu (MARTINS et al., 2002), o matrinxã, Brycon *chepalus*, (CARNEIRO & URBINATI, 1998; CARNEIRO et al., 2002), e o pacu, *Piaractus mesopotamicus*, (MARTINS et al., 2000). Porém, poucos estudos avaliaram especificamente a resposta ao estresse durante o transporte de peixes, sugerindo que pouco se sabe acerca da resposta fisiológica em diferentes espécies durante esta fase.

1.4. Espécies utilizadas no estudo

1.4.1. Mandi (*Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803)

O mandi, também conhecido como pintado-amarelo, ou mandi amarelo, pertence à ordem dos Siluriformes e a família Pimelodidae. Os Siluriformes de maneira geral possuem o corpo desprovido de escamas, sendo classificados popularmente como bagres (BRITSKI, 1999). Segundo Godoy (1987), o mandi apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde o norte da América do Sul até a Argentina, podendo atingir até 50 centímetros de comprimento (BRITSKI, 1999). O mandi vem despertando interesse dos produtores na região sul, devido a sua rusticidade, carne de excelente aceitação (SOUZA & STILES, 1984), além de apresentar hábito alimentar onívoro (BASILE-MARTINS, et al. 1986; LOLIS & ADRIAN 1996).

1.4.2. Dourado (Salminus brasiliensis, Cuvier, 1816).

O dourado pertence à ordem Characiformes e à família Characidae, apresenta hábito alimentar carnívoro, e ocorre nas bacias do Pantanal, do Prata e do São Francisco. O dourado é uma espécie reofílica, que habita ambientes lóticos, possui carne saborosa e características ideais a pesca esportiva sendo, portanto, bastante requisitado por pesque-pagues. O Dourado é ainda considerado uma das espécies com maior preço de mercado na região oeste de Santa Catarina, sendo considerado o maior troféu, tanto na pesca esportiva, quanto na pesca profissional. O dourado tem despertado o interesse de muitos piscicultores por apresentar boas características zootécnicas, como ótima qualidade de carne e rápido crescimento inicial (WEINGARTNER & ZANIBONI FILHO, 2005). Essas características revelam que o dourado apresenta potencial para se tornar em breve, umas das espécies de maior interesse da piscicultura brasileira.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Contribuir com o desenvolvimento de técnicas adequadas de transporte para alevinos de Dourado (*Salminus brasiliensis*) e Mandi (*Pimelodus maculatus*).

2.2 Específicos

- Avaliar o efeito do tempo e da densidade de transporte em sacos plásticos sobre a sobrevivência de alevinos de Dourado e Mandi;
- Avaliar o nível de estresse entre as diferentes densidades e tempos de transporte através da análise dos níveis de cortisol presente no tecido dos indivíduos submetidos a essas condições.

O artigo científico apresentado está de acordo com as normas da Revista "Pesquisa Agropecuária Brasileira", à qual será posteriormente submetido para publicação.

ESTRESSE DE ALEVINOS DE DOURADO (Salminus brasiliensis) E MANDI (Pimelodus maculatus) SOB DIFERENTES DENSIDADES E TEMPOS DE TRANSPORTE

STRESS OF DOURADO (Salminus brasiliensis) AND MANDI (Pimelodus maculates) FINGERLINGS IN DIFFERENT DENSITIES AND TIMES OF TRANSPORT

Washington de Barros Adamante^{1, 2}, Leonardo José Gil Barcellos³, Auren Benck Soso³, Jovani Antônio Finco³, Alex Pires de Oliveira Nuñer^{2*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina; ² Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce, Departamento de Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Rodovia SC 406 nº 3532, Florianópolis, 88066-000, SC, Brasil; ³ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo,

Campus I, Bairro São José. 99001-970 Passo Fundo, RS, Brasil

*apon@cca.ufsc.br

Abstract

This work studied the effects of transport in fingerlings of "dourado" (*Salminus brasiliensis*) and "mandi" (*Pimelodus maculatus*) during three times (4, 8 and 12 hours), three stocking densities (5, 10 and 15 g.L⁻¹ and 23, 46 and 69 g.L⁻¹ respectively to "dourado" and "mandi"). Stress was analyzed in the cortisol contents by ELISA at the beginning and at the end of the experiment. The water quality before and after transport was adequate to the tropical fish maintenance. Increased electrical conductivity was related to larger time of transport and stocking density. In spite of the stress in fish there was no influence of the transport times and stocking densities in fish mortality. The results showed the primary response to stress when these fish species are exposed to short time of transport following the patterns of acute stress. The lack of mortality and the good water quality at the end of the experiment showed that transport duration and stocking densities might be higher than those utilized in this assay.

Keywords: Cortisol, stress, Pimelodus maculatus, Salminus brasiliensis, transport.

Resumo

O transporte de alevinos de dourado, Salminus brasiliensis, e de mandi, Pimelodus maculatus, em três tempos de transporte (4, 8 e 12 horas) e três densidades de carga (5, 10 e 15 gramas L⁻¹ e 23, 46 e 69 gramas L⁻¹ para S. brasiliensis e P. maculatus, respectivamente), foi avaliado, através do estresse, representado pelos níveis de cortisol tecidual, quantificado através do método ELISA no início e ao final de cada tratamento. As variáveis de qualidade de água, analisadas no início e no final do experimento, permaneceram dentro das faixas recomendadas para a manutenção de peixes tropicais, destacando-se a elevação da condutividade elétrica da água à medida que o tempo e a densidade aumentaram. Ao final do experimento constatou-se que o transporte estressou os peixes, porém, a influência do aumento da densidade e do maior tempo de transporte não foi suficiente para resultar em mortalidade nos alevinos. Os resultados obtidos demonstraram que a resposta primária ao estresse dessas espécies, quando submetidas a tempos de transporte relativamente curtos, tende a seguir o padrão comum a qualquer outro estressor agudo. A ausência de mortalidade e as boas condições de qualidade de água ao final do experimento, sugerem que os tempos de transporte e densidades de carga, que podem comprometer a sobrevivência dos alevinos dessas espécies estão acima dos níveis testados.

Palavras chaves: Cortisol tecidual, estresse, *Pimelodus maculatus*, *Salminus brasiliensis*, transporte.

Introdução

A produção e a comercialização de alevinos geram a necessidade de transporte dos mesmos e para isso geralmente se utiliza o sistema fechado ou aberto. Segundo Berka (1986) o sistema fechado consiste no transporte de peixes acondicionados em sacos plásticos parcialmente preenchidos com água, onde é injetado oxigênio puro, e no sistema aberto os

peixes são acondicionados em caixas próprias para transporte, que recebem oxigênio ou ar constantemente.

Apesar da ampla utilização de sacos plásticos para o transporte de alevinos, esse método pode se tornar um fator limitante, além de um importante fator estressante, devido ao acúmulo de metabólitos na água como a amônia total, às alterações do pH da água, ao aumento da concentração de CO₂, e ainda pela redução das concentrações de oxigênio dissolvido (Amend et al., 1982; Berka, 1986; Gomes et al., 2003a).

Segundo Amend et al. (1982) e Berka (1986) melhores resultados durante o transporte de peixes são obtidos após um período mínimo de 24 horas de jejum, uma vez que os restos de alimentos no trato digestório são eliminados antes do início do transporte. Ainda segundo estes autores, a densidade adequada de estocagem e duração do transporte evita concetrações indesejáveis de metábolitos na água. Uma densidade elevada, aliada a um período de transporte muito longo, pode acarretar em estresse para os peixes, comprometendo a eficiência do transporte e podendo resultar em mortalidade e efeitos negativos no desempenho dos animais (Amend et al., 1982). Entretanto, mesmo sem mortalidade, a ocorrência de estresse agudo durante o transporte pode predispor os peixes a patologias pós-estocagem devido a imunossupressão causada pelo estresse (Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997).

O estresse causado pelo transporte de peixes é classificado como agudo, com elevação dos níveis de cortisol plasmático (Barton & Iwama, 1991). O mecanismo de liberação do cortisol é ativado logo após a percepção da alteração homeostática pelo indivíduo, quando no eixo hipotálamo-hipófise-células interrenais se inicia uma série de eventos. O estímulo causado pelo agente estressor provoca a liberação do fator liberador de corticotrofina, estimulando a glândula hipófise a liberar o ACTH (hormônio adrenocorticotrófico), que

através da circulação chega ao tecido interrenal, provocando a liberação do cortisol na corrente sanguínea (Donaldson, 1981).

Para avaliação do estresse no transporte e na transferência de alevinos a concentração de cortisol, seja plasmático ou tecidual tem sido analisada em diversas espécies de peixes, tais como: *Salmo trutta* (Pickering, 1984), *Paralichthys olivaceus* (De Jesus et al., 1991); *Oreochromis niloticus* (Hwang et al., 1992) *Seriola quinqueradiata* (Sakakura et al., 1998), *Salmo salar* (Sandodden et al., 2001), *Ictalurus punctatus* (Davis et al., 2002; Bilodeau et al., 2003), *Colossoma macropomum* (Gomes et al. 2003a; Gomes et al., 2003b), e *Rhamdia quelen* (Barcellos et al., 2001; Barcellos et al. 2004).

Após o aumento da concentração desses hormônios no sangue há um aumento significativo da concentração de glicose, em resposta a essa secreção. Esse aumento da glicose representa uma reserva energética para a utilização imediata, preparando o animal para uma situação de emergência (Rotlland & Tort, 1997).

Como o transporte de peixes vivos é uma prática rotineira na piscicultura (Carmichael et al., 2001) ele se constitui em um fator de estresse para os animais (Iversen, et al., 1998; Conte, 2004). Apesar dos avanços na piscicultura brasileira, poucas espécies nativas foram estudadas quanto ao seu comportamento durante e após a prática do transporte, podendo-se citar entre elas o tambaqui, *Colossoma macropomum* (Gomes et al., 2003ab), o matrinxã, *Brycon chepalus* (Carneiro & Urbinati, 1998; Carneiro et al., 2002ab; Urbinati et al., 2004) e o jundiá *Rhamdia quelen* (Golombieski et al., 2003).

Com o intuito de ampliar o conhecimento acerca dos efeitos da densidade de estocagem e do tempo de transporte em espécies nativas, o presente estudo utilizou alevinos de dourado (*Salminus brasiliensis*, Cuvier, 1816) e de mandi (*Pimelodus maculatus*, Lacépède, 1803), buscando detectar possíveis diferenças nas respostas ao estresse entre essas espécies.

Materiais e Métodos

Este trabalho foi desenvolvido na Estação de Piscicultura de São Carlos, localizada no município de São Carlos (SC), no mês de janeiro 2005. As análises do cortisol tecidual foram realizadas no Laboratório de Diagnóstico e Pesquisa em Ictiopatologia da Universidade de Passo Fundo (RS).

Os alevinos de *S. brasiliensis* e de *P. maculatus* utilizados foram produzidos na própria estação e foram transferidos dos viveiros de alevinagem para tanques apropriados para a manutenção de alevinos, onde permaneceram por um período de guarenta e oito horas.

Para o inicio do experimento, alevinos de *S. brasiliensis* e de *P. maculatus* que haviam jejuado nas 24 h anteriores, foram estocados nas seguintes densidades para o transporte: 5, 10, 15 gramas L⁻¹ e 23, 46, 69 gramas L⁻¹, respectivamente. Posteriormente esses alevinos foram acondicionados em embalagens plásticas com volume útil de 15 L, que continham 4 L de água e volume restante preenchido com oxigênio puro. Os sacos plásticos foram então fechados com anéis de borracha e acondicionados em uma caixa de poliestireno para evitar choques mecânicos e favorecer a manutenção da temperatura durante o transporte. As embalagens plásticas constituíram as unidades experimentais, que foram distribuídas em um experimento em blocos ao acaso com três repetições, sendo que cada repetição constituiu um bloco com todos os tratamentos. Neste estudo os alevinos de *S. brasiliensis* e de *P. maculatus* apresentavam comprimento e peso médio (± desvio padrão) de 3,75±0,53cm e 0,71±0,53g e 8,60±0,73cm e 5,72±1,55g, respectivamente.

A simulação das condições de transporte foi reproduzida com o uso de uma mesa agitadora, que imitou condições reais. A estrutura utilizada apresentava uma amplitude total de movimento horizontal de 40 cm, em um total de 1080 ciclos/h, de modo que todas as unidades permaneciam em constante agitação.

Cada densidade de transporte foi testada durante três tempos: 4, 8 e 12 horas. Após o término do tempo de transporte para cada unidade experimental, obtiveram-se as medidas de temperatura, da concentração de oxigênio dissolvido, do pH e da condutividade elétrica da água, utilizando-se um oxímetro digital YSI-55 e um multiparâmentro digital YSI-63. Amostras de água de cada unidade experimental foram coletadas para análise posterior das concentrações de amônia total e nitrito de acordo com a metodologia descrita por Koroleff (1976) e Golterman et al. (1978), respectivamente. A fração de amônia não-ionizada na água foi determinada através da equação proposta por Johansson & Wedborg (1980) *apud* Lemarie et al. (2004).

Essas variáveis de qualidade de água também foram analisadas no início do experimento, na água utilizada para encher as unidades experimentais, utilizando-se o mesmo protocolo.

Após o término do tempo de transporte cinco peixes de cada unidade experimental foram capturados imediatamente para a análise do cortisol tecidual. A determinação dos valores iniciais de cortisol no tecido foi obtida a partir de uma amostra de cinco alevinos de *S. brasiliensis* e cinco de *P. maculatus*, coletados nos viveiros de alevinagem.

A extração do cortisol tecidual nos alevinos de *P. maculatus* e de *S. brasiliensis* foi realizada de acordo com o protocolo descrito por De Jesus et al. (1991), sendo que após a determinação dos níveis de cortisol no tecido as amostras foram submetidas à análise por ELISA com um kit de análise Adaltis® EIAgem-Cortisol.

Ao final do tempo de simulação do transporte a sobrevivência foi quantificada em cada unidade experimental.

As variáveis da qualidade de água, a sobrevivência e a concentração de cortisol no tecido foram submetidas à análise de regressão (α =0,05) (Zar, 1999).

Resultados e Discussão

Os valores médios (± desvio padrão) iniciais do pH e da temperatura da água nas embalagens de transporte de *S. brasiliensis* e de *P. maculatus* foram de 6,8±0,1 e 20,6±0,8°C e 6,1±0,1 e 20,7±0,9°C respectivamente, sendo que nos dois casos as concentrações de oxigênio dissolvido na água mantiveram-se acima de 20 mg L⁻¹, que excederam a capacidade de leitura do aparelho, indicando uma supersaturação desse gás na água. Estes valores quando analisados não apresentaram diferença significativa (*P*>0,05).

No início do experimento não foi detectado a presença de amônia total na água, porém as concentrações apresentaram aumento significativo (*P*>0,05) no decorrer do tempo, apenas para as densidades de 10 gramas L⁻¹ para *S. brasiliensis* e de 69 gramas L⁻¹ para *P. maculatus* (Figura 1).

As concentrações de amônia não-ionizada na água permaneceram sempre abaixo de 0,01 mg L⁻¹. Segundo Foss et al. (2003), para organismos aquáticos a toxicidade da amônia esta relacionada à sua forma não ionizada. Valores de amônia não ionizada abaixo de 0,02 mg L⁻¹ são considerados seguros para a maioria das espécies de peixes (Vinatea, 1997; Baldisserotto, 2002; Foss et al., 2003) e, deste modo, provavelmente não causaram estresse nos animais.

Assim como observado para a concentração de amônia total, não foi detectada a presença de nitrito na água na leitura inicial. As concentrações de nitrito nas unidades experimentais dos alevinos de P. maculatus não apresentaram aumento significativo no decorrer do tempo (P<0,05), apesar de apresentarem valores absolutos sensivelmente maiores aos obtidos as unidades experimentais com S. brasiliensis para as quais registraram-se tendência de aumento nas densidades de 5 e 10 gramas L^{-1} (Figura 2).

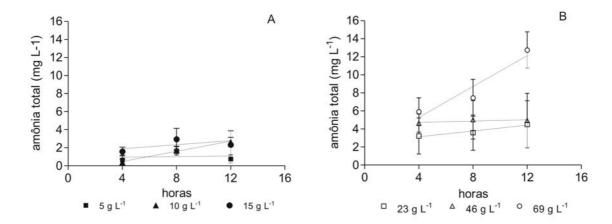


Figura 1. Valores médios (± desvio padrão) da concentração de amônia total (mg L⁻¹) na água de transporte de peixes em diferentes tempos e densidades de transporte. (A) *S. brasiliensis*. (B) *P. maculatus*.

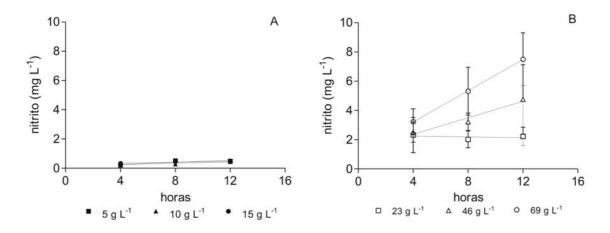


Figura 2. Valores médios (± desvio padrão) da concentração nitrito (mg L⁻¹) na água de transporte de peixes em diferentes tempos e densidades de transporte. (A) alevinos de *S. brasiliensis*. (B) alevinos de *P. maculatus*.

O valor médio inicial (± desvio padrão) para a condutividade elétrica da água foi de 14,0±1,7 μS cm⁻¹. A condutividade elétrica da água apresentou aumento constante com o passar do tempo de transporte para as duas espécies, e foi proporcional às densidades, porém, só se mostrou significativa (*P*<0,05) para a densidade de 10 gramas L⁻¹ para o *S. brasiliensis* e de 46 peixes L⁻¹ para o *P. maculatus* (Figura 3). Segundo Wendelaar Bonga (1997), sob situação de estresse ocorrem alterações na osmoregulação dos peixes, que provocam aumento nas trocas iônicas através das brânquias, principalmente de íons Na⁺, K⁺ e Cl⁻. O aumento da

condutividade elétrica nas unidades experimentais observado neste trabalho aparenta ter sido causado pelo aumento da concentração de íons excretados na água à medida que aumentaram o tempo e a densidade de carga no transporte, o que reforça a idéia da ação do estresse nos peixes, pois em teleósteos alem da função de glicocorticóide o cortisol age como mineralocorticóide, atuando ativamente na osmorregulação (Lin et al., 1999).

Os valores observados para temperatura da água e pH permaneceram em níveis recomendados para a piscicultura (Boyd, 1990).

As concentrações de amônia total, de nitrito e a condutividade elétrica da água das unidades experimentais com *P. maculatus* apresentaram valores sensivelmente mais elevados, quando comparadas com os valores referentes ao *S. brasiliensis*. Provavelmente isso se deve ao fato de que as biomassas testadas para o *P. maculatus* foram maiores que as testadas em *S. brasiliensis*, o que poderia causar desconforto que resultasse em alterações metabólicas, com aumento da excreção, alterações na osmorregulação e conseqüentemente, estresse.

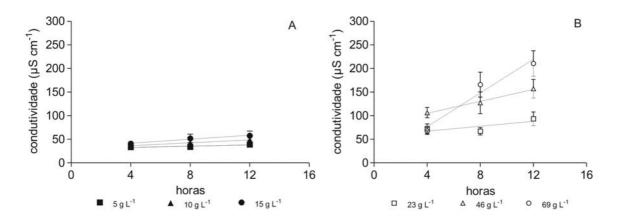


Figura 3. Valores médios (\pm desvio padrão) da condutividade elétrica (μ S cm⁻¹) na água de transporte de peixes em diferentes tempos e densidades de transporte. (A) alevinos de *S. brasiliensis*. (B) alevinos de *P. maculatus*.

As concentrações iniciais de cortisol tecidual observadas para o *S. brasiliensis* e o *P. maculatus* foram 45,0±21,2 ng mg⁻¹ e 69,0±55,1 ng mg⁻¹, respectivamente. Esses valores foram semelhantes quando comparados com os obtidos em todos os tratamentos (P>0,05), com exceção da densidade 5 gramas L⁻¹ no tempo 4 h e da densidade 10 gramas L⁻¹ no tempo 8 h para *S. brasiliensis*. De maneira geral, podemos observar que em todos os tratamentos, ocorreu aumento das concentrações de cortisol tecidual após o início do transporte.

Observando-se os níveis de cortisol para as duas espécies, pode-se constatar que as concentrações de cortisol tenderam a se estabilizar a partir do aumento inicial, enquanto que nas menores densidades a elevação inicial mais acentuada decaiu nas horas subseqüentes, para níveis próximos aos das maiores densidades (Figura 4). Essa relação inversa entre as concentrações de cortisol e a densidade de transporte também foi observada por Urbinati et al. (2004) para alevinos de *B. cephalus* submetidos ao estresse do transporte.

O aumento inicial das concentrações de cortisol também foi observado por Gomes et al. (2003a) em juvenis de *Colossoma macropomum* transportados em diferentes densidades de carga, sendo que os valores diminuíram com o passar do tempo quando submetidos a um período de recuperação.

Robertson et al. (1988) observaram o comportamento do cortisol plasmático de juvenis de *Sciaenops ocellatus* durante 5,5 h de transporte em água com 32‰ de sal, e constataram que em um tempo intermediário de 1,5 h houve aumento dos níveis de cortisol, se comparado ao valor inicial. Ao final do tempo de transporte os peixes foram transferidos para tanques, onde sua recuperação foi acompanhada, e constatou-se que os níveis decresceram para valores próximos aos iniciais após dois dias. Esses autores testaram também o tempo de transporte de 2,5 h, porém em água com 4‰ de salinidade, e observaram que após 0.5 h do inicio do experimento o cortisol plasmático passou de níveis próximos à zero, para valores acima de 150 ng ml⁻¹, para então, ao final do experimento regredir para valores em torno de 50 ng ml⁻¹.

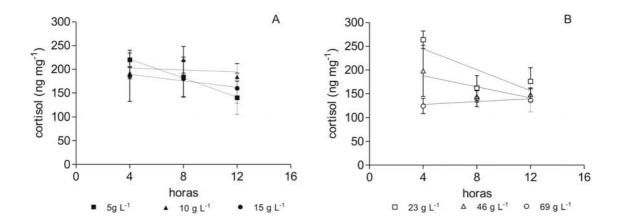


Figura 4. Valores médios (± desvio padrão) das concentrações (ng mg⁻¹) de cortisol no tecido de alevinos de *S. brasiliensis* (A) e *P. maculatus* (B) em três densidades de carga diferentes e em três diferentes tempos de transporte.

A elevação nos níveis do cortisol do *S. brasiliensis* e do *P. maculatus* do início para as primeiras 4 h de transporte observado neste ensaio, corroborou as observações de Sandodden et al. (2001) em *Salmo salar* após o mesmo período.

Em um estudo para determinar o efeito do cloreto de sódio na resposta fisiológica de *Brycon cephalus* durante o transporte, Carneiro et al. (2002a) testaram três concentrações diferentes de cloreto de sódio, além de um grupo controle sem a adição deste sal, em um período de 4 h de transporte. Os resultados mostraram que o cortisol plasmático do grupo controle aumentou significativamente se comparado com o nível inicial e entre os tratamentos, e após 24 h a concentração de cortisol retornou aos níveis iniciais.

Segundo Barcellos et al. (2001), o aumento do cortisol plasmático ocorre uma hora após a transferência de jundiás entre tanques de cultivo, o que demonstra o rápido efeito encontrado no presente estudo. Após 8 e 12 h de transporte a redução nos níveis de cortisol seguiu o mesmo padrão observado por Barcellos et al. (2001) após 4, 12 e 24 h, ainda que a duração do estímulo estressante tenha sido diferente.

Assim como observado no presente estudo, Acerete et al. (2004) registraram aumento no cortisol de *Perca fluviatilis* submetida ao estresse do transporte após as primeiras quatro horas.

Os alevinos de *S. brasiliensis* e do *P. maculatus* avaliados neste trabalho foram analisados somente até o final da condição de estresse proporcionado pelo manejo do transporte, não sendo acompanhado o comportamento do cortisol em um período de recuperação, onde se espera a diminuição para níveis próximos aos basais. Mesmo assim, observou-se que a elevação inicial da concentração de cortisol no tecido dos peixes, seguida por queda posterior, apresentou um padrão comum aos estímulos que causam estresse agudo, tendendo, com o passar do tempo, a retornar os níveis basais.

A ausência de mortalidade neste estudo sugere que o valor crítico de estresse, a partir do qual ocorre morte dos indivíduos, não foi atingido para ambas as espécies.

Conclusões

As densidades de carga e os tempos de transporte empregados no presente estudo produziram estresse nos alevinos de *S. brasiliensis* e *P. maculatus*, porém não causaram mortalidade.

A condutividade elétrica da água aumentou conforme se incrementou o tempo de transporte e a densidade de carga.

A variação da concentração de cortisol foi semelhante para as duas espécies e com o aumento do tempo de transporte essa concentração apresentou valores convergentes.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq/Brasil) pela concessão da bolsa de estudo para o primeiro autor, e à Tractebel Energia pelo apoio financeiro ao desenvolvimento do projeto.

Referências

ACERETE, L.; BALASCH, J.C.; ESPINOSA, E.; JOSA, A.; TORT, L. Physiological responses in Eurasian Perch (*Perca fluviatilis*) subjected to stress to transport and handling. **Aquaculture**, v.237, p.167-178, 2004.

AMEND, N.F.; CROV, T.R.; GOVEN, B.A.; JOHNSON, K.A.; and McCARTHY, D.H. Transportation of fish in closed systems: methods to control ammonia, carbon dioxide, pH and bacterial growth. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.11, p.603-611, 1982.

BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de Peixes Aplicada a Piscicultura. Ed. UFSM, Santa Maria, 2002, 212p.

BARCELLOS, L.G.; KREUTZ, L.C.; QUEVEDO, R.M.; FIOREZE, I.; CERICATO, L.; SOSO, A.B.; FAGUNDES, M.; CONRAD, J.; BALDISSERA, R.C.; BRUSCHI, A.; RITTER, F. Nursery rearing of jundia, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), in cages: Cage type, stocking density and stress response to confinement. **Aquaculture**, v.232, p.383-394, 2004.

BARCELLOS, L.G.; WOEHL, V.M.; WASSERMANN, G.F.; QUEBEDO, R.M.; ITTZES, I.; KRIEGER, M.H. Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), a South American catfish. **Aquaculture Research**, v.32, p.121-123, 2001.

BARCELLOS, L.J.G.; SOUZA, S.M.G.; WOEHL, VM. Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causas e conseqüências (Revisão). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.26, n.1, p.99-111, 2000.

BARTON, B.A.; IWAMA, G.K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**, p.3-26, 1991.

BERKA, R. **The transport of live fish. A review**. EIFAC Technical Paper, (48), 1986, 52p. BILODEAU, A.L.; SMALL, B.C.; WOLTERS, W.R. Pathogen loads, clearance and plasma cortisol response in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), following challenge with *Eswardsiella ictaluri*. **Journal of Fish Diseases**, v. 26, p. 433-437, 2003.

BOYD, C.E. **Water quality in ponds for aquaculture**. Birmingham Publishing, Alabama, 1990, p.147-153.

CARMICHAEL, G.J.; TOMASSO, J.R.; SCHEDLER, T.E. Fish transportation. In: WEDEMEYER, G.A. (Eds). Fish hatchery management 2nd ed. Bethesda: American Fisheries Society, 2001, p.641-660.

CARNEIRO, P.C.F.; MARTINS, M.L.; URBINATI, E.C. Effect of sodium chloride on physiological responses and the gill parasite, *Piscinoodinium sp.*, in matrinxã, *Brycon cephalus*, (Teleostei: Characidae) subjected to transport stress. **Journal of the Aquaculture** in the Tropics, v.17, n.4, p.337-348, 2002a.

CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. Alterações metabólicas, hematológicas e osmorregulatórias do matrinxã *Brycon cephalus* causados pelo estresse de transporte. In: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, 1998, Recife, **Anais...**, v.2 p.609-619.

CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C.; MARTINS, M.L. Transport with different benzocaine concentrations and its consequences on hematological parameter and gill parasite

population of matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869)(Osteichthyes, Characidae). **Acta Scientiarum**, v.24, n.2, p.555-560, 2002b

CONTE, F.S. Stress and welfare of cultured fish. **Applied Animal Behaviour Science**, v.86, p.205-233, 2004.

DAVIS, K.B.; GRIFFIN, B.R.; GRAY, W.L. Effect of handling stress on susceptibility of channel catfish *Ictalurus punctatus* to *Ichthyophthirius multifiliis* and channel catfish virus infection. **Aquaculture**, v.214, p.55-66, 2002.

DE JESUS, E.G.; HIRANO, T.; INUI, Y. Chances in cortisol and thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis in the japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **General and Comparative Endocrinology**, v.82, p.369-376, 1991.

DONALDSON, E.M. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In Pickering, A.D. (Ed.) **Stress and Fish.**, Academic Press, London, 1981,p. 11-47.

FOSS, A.; EVENSEN, T.H.; VOLLEN T.; OIESTAD, V. Effects of chronic ammonia exposure on growth and food conversion efficiency in juvenile spotted wolfish. **Aquaculture**, v.228, p.215-224, 2003.

GOLOMBIESKI, J.I.; SILVA, L.V.F.; BALDISSEROTTO, B.; SILVA, J.H.F. Transport of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings at different times, load densities, and temperatures. **Aquaculture**, v.216, n.95-102, 2003.

GOLTERMAN, H.L.; CLYMO, R.S.; OHNSTAD, M.A.M. **Methods for Chemical Analysis of Freshwater**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, (IBP Handbook, n. 8 2nd ed.) 1978. 213 p.

GOMES, L.C.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E.C. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38 n.2, p.283-290, 2003b.

GOMES, L.C.; ARAÚJO-LIMA.; C.A.R.M.; ROUBACH, R.; CHIPARRI-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; URBINATI, E.C. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.34, n.1, p.76-84, 2003a.

HWANG, P.P.; WU, S.M.; LIN, J.H.; WU, L.S.; Cortisol Content of Eggs and Larvae of Teleosts. **General and Comparative endocrinology**, v. 86, p. 189-196, 1992.

IVERSEN, M.; FINSTAD, B.; NILSSEN, K.J. Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts. **Aquaculture**, v.168, p.387-394, 1998.

KOROLEFF, F. In: GRASSOF, K. **Methods of Seawater Analyses**. Verlag. Chemie. Weinheim, New York, 1976, p.117-181.

LEMARIE, G.; DOSDAT, A.; COVÉS, D.; DUTTO, G.; GASSET, E.; PERSON-LE RUYET, J. Effect of chronic ammonia exposure on growth of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture**, v.229, p.479-491, 2004.

LIN, G.R.; WENG, C.F.; WANG, J.I.; HWANG, P.P. Effects of cortisol on ion regulation in developing tilapia (*Oreochromis mossambicus*) larvae on seawater adaptation. **Physiological and Biochemical Zoology**, v.72, p. 397-404, 1999.

MAUZEAUD, M.M.; MAUZEAUD, 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**, v.106 n.3, p.201-212, 1977.

PICKERING, A.D. Cortisol-Induced Lymphocitopenia in Brown Trout, *Salmo truta* L., **General and Comparative Endocrinology**, v.53, p. 252-259, 1984.

ROBERTSON, L.; THOMAS, P.; ARNOLD C.R.; Plasma cortisol and secondary stress responses of cultured Red Drum (*Sciaenops ocellatus*) to several transportation procedures. **Aquaculture**, v.68, p.115-130, 1988.

ROTLLAND, J.; TORT, L. Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. **Journal of Fish Biology**, v. 51, p. 21-28, 1997.

SANDODDEN, R.; FINSTAD, B.; IVERSEN, M. Transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar*): anaesthesia and recovery. **Aquaculture Research**, v.32, p.87-90, 2001.

SAKAKURA, Y.; TAGAWA, M.; TSUKAMOTO, K. Whole-Body Cortisol Concentrations and Ontogeny of Aggressive Behavior in Yellowtail (*Seriola quinqueradiata* Temminck & Schlegel; Carangidae). **General and Comparative Endocrinology**, v.109, p. 286-282, 1998. STAURNES, M.; SIGHOLT, T.; PEDERSEN, H.P.; RUSTAD, T. Physiological effects of simulated high-density transport of Atlantic cod (*Gadus morhua*). **Aquaculture**, v.119, p.381-391, 1994.

URBINATI, E.C.; ABREU, J.S.; CAMARGO, A.C.S.; PARRA, M.A.L. Loading and transport stress in juvenile matrinxã (*Brycon chepalus*, Characidae) at various densities. **Aquaculture**, v.229, p.389-400, 2004.

VINATEA, L.A. Princípios químicos de qualidade de água em aqüicultura: uma revisão para peixes e camarões. Editora da UFSC, Florianópolis, 1997, 166p.

WENDELAAR BONGA, S.E. The Stress Response in Fish. **Physiological reviews**, v.87, p.591-625, 1997.

ZAR, J.H. Biostatistical Analysis. 4th ed. Upper Saddle River, New Jersey, 1999, 662p.

Referências bibliográficas da introdução

AMEND, N.F.; CROY, T.R.; GOVEN, B.A.; JOHNSON, K.A.; McCARTHY, D.H. **Transportation of fish in closed systems: methods to control ammonia, carbon dioxide, pH and bacterial growth.** Transactions of the American Fisheries Society, Bethesda, v 11, p. 603-611, 1982.

BARCELLOS, L.J.G.; SOUZA, S.M.G.; WOEHL, VM. Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causas e conseqüências (Revisão). Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 99-111, 2000.

BARCELLOS, L.G.; WOEHL, V.M.; WASSERMANN, G.F.; QUEVEDO, R.M.; ITTZES, I.; KRIEGER, M.H. Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), a South American catfish. Aquaculture Research, Oxford, v. 32, p. 121-123, 2001.

BARCELLOS, L.G.; KREUTZ, L.C.; QUEVEDO, R.M.; FIOREZE, I.; CERICATO, L.; SOSO, A.B.; FAGUNDES, M.; CONRAD, J.; BALDISSERA, R.C.; BRUSCHI, A.; RITTER, F. Nursery rearing of jundia, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), in cages: Cage type, stocking density and stress response to confinement. Aquaculture, Amsterdam, v. 232, p. 383-394, 2004a.

BARCELLOS, L.G.; KREUTZ, L.C.; SOUZA, C.; RODRIGUES, L.B.; FIOREZE, I.; QUEVEDO, R.M.; CERICATO, L.; SOSO, A.B.; FAGUNDES, M.; CONRAD, J.; LACERDA, L.A.; TERRA, S. Hematological changes in jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard, Pimelodidae) after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects. Aquaculture, Amsterdam, v. 237, p. 229-236, 2004b.

BARTON, B.A.; IWAMA, G.K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases, Danvers, p. 3-26, 1991.

BASILE-MARTINS, M.A.; CIPÓLLI, M.N.; GODINHO, H.M. Alimentação do mandi, *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (OSTEICHYES, PIMELODIDAE), de trechos dos rios Jaguari e Piracicaba, São Paulo, Brasil. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, v.31, n.1, p.17-29, 1986.

BERKA, R. The transport of live fish. A review. EIFAC Technical Paper, (48), 1986, 52p.

BORGHETTI, N.R.; OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R. Aqüicultura: uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo. Curitiba: Grupo integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais, 2003, 128p.

BRITSKI, H.A. **Peixes do Pantanal. Manual de Identificação**. Ed. Heraldo A. Bristski; Keve Z. de S. de Silimon; Balzak S. Lopes, Brasília, EMBRAPA-CPAP Corumbá, 1999, 184p.

- CAMPBELL, P.M.; POTTINGER, T.G.; SUMPTER, J.P. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. Aquaculture, Amsterdam, v. 120, p. 151-169, 1994.
- CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. Alterações metabólicas, hematológicas e osmorregulatórias do matrinxã, *Brycon chepalus*, causadas pelo estresse de transporte. Anais do Aqüicultura Brasil'98, Recife. v 2, p. 609-619, 1998.
- CARNEIRO, P.C.F.; MARTINS, M.L.; URBINATI, E.C. Effect of sodium chloride on physiological responses and the gill parasite, *Piscinoodinium sp.*, in matrinxã, *Brycon cephalus*, (Teleostei: Characidae) subjected to transport stress. Journal of Aquaculture in the Tropics, Calcutta, v.17, n. 4, p. 337-348, 2002.
- CONTE, F.S. **Stress and the welfare of cultured fish**. Applied Animal Behaviour Science, Amsterdam, v. 86, p. 205-223, 2004.
- DONALDSON, E.M. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In Pickering, A.D. (Ed.) Stress and Fish. London, Academic Press, p. 11-47, 1981.
- FEIST, G.; SCHERECK, C.B. Ontogeny of the stress response in Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawyscha*. Fish Physiology and Biochemistry, Amsterdam, v 25, p. 31-40, 2002.
- FOSS, A.; EVENSEN, T.H.; VOLLEN T.; OIESTAD, V. Effects of chronic ammonia exposure on growth and food conversion efficiency in juvenile spotted wolfish. Aquaculture, Amsterdam, v. 228, p. 215-224, 2003.
- GODOY, M.P. **Peixes do Estado de Santa Catarina**. Editora da UFSC, Co-edição Eletrosul/FURB, Florianopolis, 1987, 572p.
- GOMES, L.C.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; ROUBACH, R.; CHIPARRI-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; URBINATI, E.C. **Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui** *Colossoma macropomum.* Journal Of The World Aquaculture Society, Baton Rouge, v. 34, n. 1, p. 76-84, 2003a.
- GOMES, L.C.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E.C. **Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 38, n. 2, p. 283-290, 2003b.
- HANDY, R.D.; POXTON, M.G. **Nitrogen polluition in mariculture: toxicity and excretion of nitrogenous compounds be marine fish.** Reviews in Fish Biology and Fisheries, Londres, v. 3, p. 01-37, 1993.
- INSTITUTO CEPA. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina.** Florianópolis, 337p. 2004
- KUBITZA, F. **Técnicas de transporte de peixes vivos**. 3ª edição. F. Kubitza, Jundiaí, 1999, 51p.

- LOLIS, A.A.; ANDRIA, I. Alimentação de *Pimelodus maculatus* Lacépède 1803 (Siluriformes, Pimelodidae), na planície de inundação do alto Rio Paraná, Brasil. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, v.23, p. 187-202, 1996.
- MARTINS, M.L. Efeito da suplementação com vitamina C sobre a reação inflamatória em *Piaractus mesopotamicus* HOLMBERG, 1887 estressados. 2000, f. 130. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.
- MARTINS, M. L.; RUAS, F.M.; RODINI, J.E.M.; MALHEIROS, E.B. Falha na resposta do cortisol ao estresse por captura e por carragenina em *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1889, Osteichthyes: Charadidae). Acta Scientiarum, Maringá, v. 22, n. 2, p. 545-552, 2000.
- MARTINS, M.L.; DE MORAES, F.R.; FUJIMOTO, R.Y.; NOMURA, D.T.; FENERICK Jr., J. **Resposta do híbrido tambacu** (*Piaractus mesopotamicus* HOLMBERG, 1887 Macho X *Colossoma macropomum* CUVIER, 1818 Fêmea) **aos estímulos simples ou consecutivos de captura.** Boletim Instituto de Pesca, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 195-204, 2002.
- MAULE, A.G.; TRIPP, R.A.; KAATTARI, S.L.; SCHRECK, C.B. Stress alters immune function and disease resistance in Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. The Journal of Endocrinology, Bristol, v. 120, p. 135-142, 1989.
- 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, Bethesda, v. 106, n. 3, p. 201-212, 1977.
- McCORMICK, S.D.; SHIRIMPTON, J.M.; CAREY, J.B.; O"DEA, M.F.; SLOAN, K.E.; MORIYAMA, S.; BJORNSSON, B.T. Repeated acute stress reduces growth rate of Atlantic salmon parr and alters plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor and cortisol. Aquaculture, Amsterdam, v. 168, p. 221-235, 1998.
- NOLAM, D.T.; OP'T VELD, R.L.J.M.; BALM, P.H.M.; WENDELAAR BONGA, S.E. Ambient salinity modulats the response of the tilápia, *Oreochromis mossambicus* (Peters), to net confinement. Aquaculture, Amsterdam, v. 177, p. 297-309, 1999.
- PROENÇA, C.E.M.; BITTENCOURT, P.R.L. **Manual de Piscicultura Tropical.** Brasília: IBAMA, 1994, 196 p.
- ROBERTSON, L.; THOMAS, P.; ARNOLD C.R. Plasma cortisol and secondary stress responses of cultured Red Drum (*Sciaenops ocellatus*) to several transportation procedures. Aquaculture, Amsterdam, v. 68, p. 115-130, 1988.
- SCHRECK, C.B. Stress and rearing of salmonids. Aquaculture, Amsterdam, v. 28, p. 241-249, 1982.
- SNOW, J.R.; BREWER, D.; WRIGHT, C.F.; Plastic bags for shipping sac fry of largemouth bass. Progressive Fish-Culturist, Bethesda, v. 40, n. 1, p. 13-16, 1978.

SOUZA, FILHO, J.; SCHAPPO C.L.; TAMASSIA, S.T.J.; BHORCHARDT, I. Estudo de Competitividade da Piscicultura na Região do Alto Vale do Itajaí. Inst. Cepa, Florianópolis, 73 p., 2002a.

SOUZA, FILHO. J.; SCHAPPO C.L.; TAMASSIA, S.T.J. Custo de Produção de Peixes de Água Doce: Modelo Alto vale do Itajaí. Inst. Cepa, Florianópolis, 40 p., 2002b.

SOUZA, M.R.; STILLES, G.E. Índice gonado-somático (IGS) e estudo morfocitológico do ovárido de Pimelodus maculatus, Lacépède 1803, mantidos em cativeiro. In: III Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, 1984. São Carlos. Anais...,São Carlos, Abraq, 1984, p. 441-448.

SPECKER, J.L.; SCHRECK, C.B. Stress responses to transportation and fitness for marine survival in Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, smots. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, Ottawa, v. 37, p. 768-769, 1980.

TOMASSO, J.R. **Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals.** Reviews in Fisheries Science, Texas, v. 2, n. 4, p. 291-314, 1994.

VALENTI, W.C.; POLI C.R.; PEREIRA, J.A.; BORGHETTI, J.R. Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Editores: Wagner Cotroni Valenti, Carlos Rogério Poli, Jose Arlindo Pereira e Jose Roberto Borghetti. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000, 399p.

VOLLMANN-SCHIPPER, F. **Transporte de Peces Vivos**. Editora Acribia, Zaragoza, 1978, 90p.,

WEIRICH, C.R., TOMASSO, J.R., SMITH, T.I.J. **Toxicity of ammonia and nitrite to sunshine bass in selected environments.** Journal of Aquatic Animal Health, Bethesda, v.5, p. 64-72, 1993.

WENDELAAR BONGA, S.E. **The Stress Response in Fish**. Physiological reviews, Baltimore, v. 87, p. 591-625, 1997.

WEINGARTNER, M.; ZANIBONI-FILHO, E.. Dourado. In: **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Bernardo Baldisserotto & Levy de Carvalho Gomes (org.). Editora da UFSM, 2005

ANEXOS

Figura 1. Alevinos de *Salminus brasiliensis* acondicionados em embalagens plásticas para a simulação do transporte.



Figura 2. Máquina elétrica utilizada na simulação de transporte de alevinos de *Salminus brasiliensis* e *Pimelodus maculatus*



Figura 3. Alevino de *Pimelodus maculatus* congelado (esquerda), e triturado (direita) para a extração de cortisol tecidual

