

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANANDA LETICIA ALMEIDA CORDEIRO

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DO JUNDIÁ (*Rhandia quelen*) TRANSPORTADO SOB
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CLORETO DE SÓDIO NA ÁGUA.**

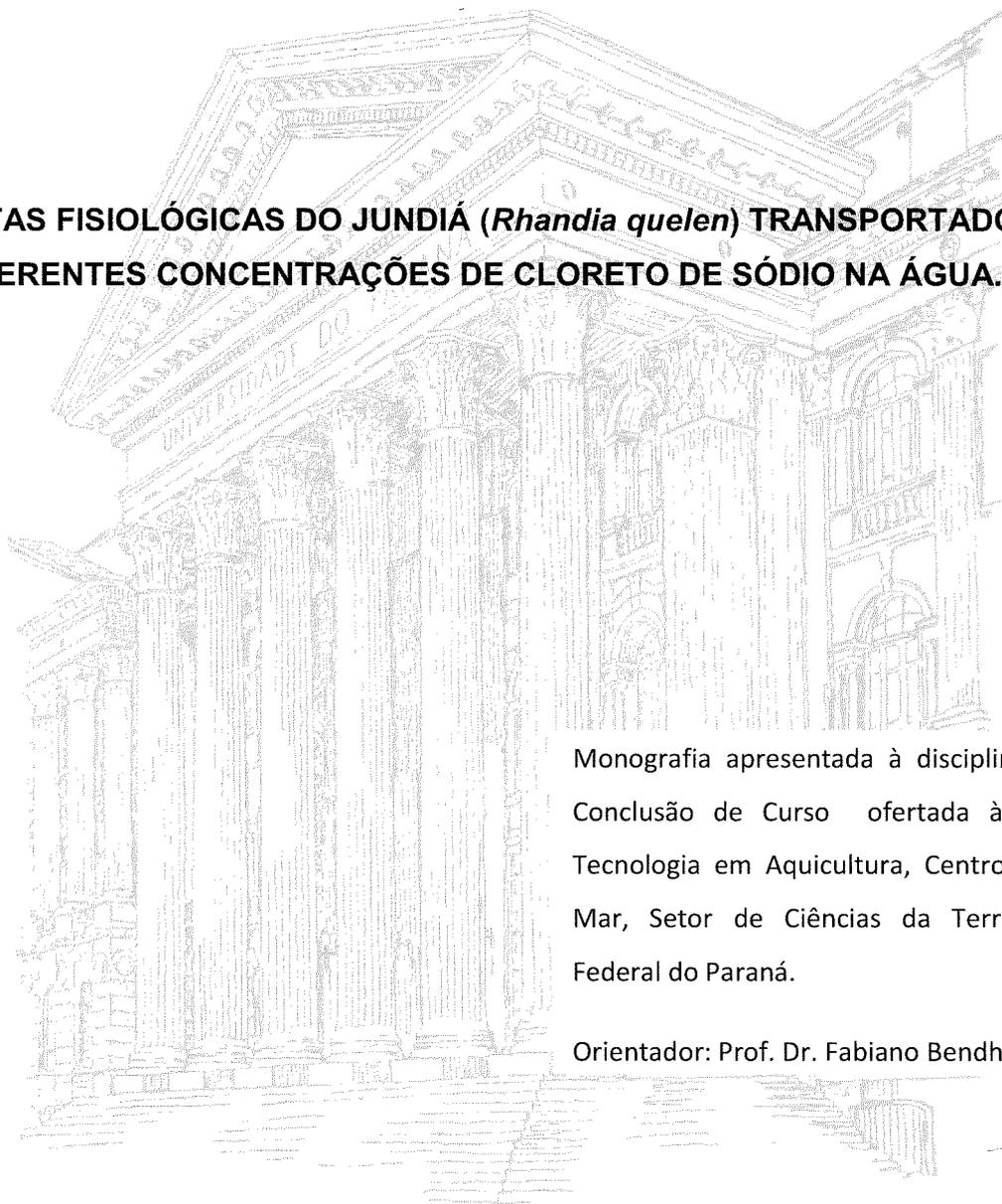
2013-05

PONTAL DO PARANÁ

2013

ANANDA LETICIA ALMEIDA CORDEIRO

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DO JUNDIÁ (*Rhandia quelen*) TRANSPORTADO SOB
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CLORETO DE SÓDIO NA ÁGUA.**



Monografia apresentada à disciplina: Trabalho de Conclusão de Curso ofertada à Graduação de Tecnologia em Aquicultura, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Bendhack

PONTAL DO PARANÁ

2013



CURSO TECNOLOGIA EM AQUICULTURA

Centro de Estudos do Mar

Setor de Ciências da Terra

Universidade Federal do Paraná

Avn. Beira-mar, s/nº - Pontal do Sul - Pontal do Paraná - Paraná - Brasil

CEP 83255-000 - Cx. Postal 50002

Tel. +55 (41) 3511 8644

E-mail : aquicultura@ufpr.br

TERMO DE APROVAÇÃO

Ananda Leticia Almeida Cordeiro

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DO JUNDIÁ *Rhamdia quelen* AO
ESTRESSE DO TRANSPORTE SOB DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE CLORETO DE
SÓDIO NA ÁGUA**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para a obtenção do grau de Tecnólogo em Aqüicultura, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Dr. Fabiano Bendhack
Orientador e Presidente

Dra. Marisa Fernandes de Castilho
Membro Examinador

Dr. Henry Louis Spach
Membro Examinador

Pontal do Paraná, 05/12/2013.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus e aos meus pais de luz, pois sem eles sei que não seria nada. Obrigada por me ouvirem e por me acalentarem em todas as vezes em que me coloquei rezando durante essa trajetória, pedindo para que tudo desse certo e para que eu tivesse forças para continuar.

Aos meus pais Paulo e Sônia, por acreditarem em mim e sempre segurarem a barra quando as coisas pareciam difíceis e acima de tudo, obrigada por existirem e serem meus. Vocês são minha vida, meu tudo, meu chão, meu ar.

Ao meu orientador Fabiano Bendhack pela oportunidade, pela confiança depositada em mim e por nunca me deixar desistir a cada problema que encontrávamos. Esse é o primeiro degrau de uma grande escada. Inefáveis agradecimentos.

À minha técnica de laboratório Waleska, que é uma amiga fiel e guerreira que esteve comigo por todo o meu experimento, em todas as idas e vindas, suportando o meu mal humor e me trazendo a paz que há em suas mãos e em seu coração. Eternamente agradecida.

Ao meu amigo e cúmplice Rolland que durante todos os dias esteve comigo, me mostrando que rir é sempre o melhor remédio diante de nossos problemas. Bi, muito obrigada pelo seu esforço, por me aguentar, por me ajudar com os artigos, com as correções e com as outras coisas também. Eu te amo para sempre.

Às minhas companheiras de laboratório Gabriela, Leonice e Nádia por me ajudarem no experimento e nas análises. Ninguém alcança um mérito completamente sozinho, toda batalha é conquistada por uma equipe. Tudo isso é fruto nosso.

Por fim, agradeço à professora Ana Paula Baldan pela paciência e gentileza com todos nós e por disponibilizar o espaço, sua equipe e seu curto tempo para nos ajudar. Ana, obrigada por estar conosco e fazer com que esse projeto se tornasse realidade, serei eternamente grata.

RESUMO

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um peixe teleósteo de água doce e fria, considerado euritérmico por suportar mudanças bruscas na temperatura. Possui hábitos bentônicos e noturno por ser sensível a luminosidade. Espécie de grande interesse para aquicultura por possuir características rústicas de cultivo e rápido crescimento. O uso de sal (NaCl) em cultivos dulcícolas tem sido empregado não apenas para auxílio na regulação osmótica dos peixes ou como método profilático às possíveis doenças, mas também como atenuante ao processo de estresse destes animais. O objetivo do seguinte trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas do jundiá ao estresse do transporte sob diferentes concentrações de cloreto de sódio na água. No experimento, foram utilizados 320 peixes provenientes de cultivo em viveiro escavado. Dez peixes foram despescados e aclimatados em laboratório para medição do estado basal, chamados de Inicial. No momento da despesca, dez peixes foram amostrados sendo chamados de pós despesca e os demais animais, foram distribuídos em três caixas de transporte com capacidade de 250 L⁻¹, contendo 0; 8 e 12 gramas de NaCl L⁻¹ e foram transportados por um período de três horas. Análises das variáveis da água foram realizadas antes e após o transporte. Foram quantificados o pH, oxigênio dissolvido, temperatura e amostras de água foram coletadas para análises de amônia. Os peixes dos tratamentos não transportados (Inicial e Pós Despesca) e após o transporte, passaram por procedimento de retirada de sangue por punção caudal para análises de cortisol, glicose e íons como: sódio (Na), cloretos e potássio (K), sendo ainda pesados e medidos. O cortisol não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, apresentando tendências à elevações após a despesca e a glicose apresentou altos níveis nos tratamentos com 8 e 12 g NaCl L⁻¹. Para os íons, o sódio apresentou maiores níveis nos tratamentos com presença de sal na água, o cloreto apresentou diminuição gradativa de seus níveis entre os tratamentos e o potássio não apresentou diferença significativa após o estado basal, mas foi observada uma tendência à elevação de seus níveis entre esses tratamentos. Os parâmetros de pH, oxigênio dissolvido e temperatura sofreram pouca alteração entre as medições, não interferindo no resultado.

ABSTRACT

The silver catfish (*Rhamdia quelen*) is a fresh and cold water teleost fish considered eurythermic by tolerate sudden changes in temperature. Have benthic and nightly habits for being sensitive to light. Interesting specie to aquaculture for possessing features rustic farming and rapid growth. The use of salt (NaCl) in freshwater fish culture has been used not only to assist in fish osmoregulation or as a prophylactic method to possible diseases, but also as attenuating the stress responses these animals. The objective this study was evaluates the physiological responses of catfish to stress transportation under different concentrations of sodium chloride in the water. In the experiment, we used 320 fish from fish ponds culture. Ten fishes were caught and acclimated in the laboratory to measure the baseline called basal level. At the time of harvest ten fish were sampled being called Post harvesting. Another fish were divided into three shipping boxes with capacity of 250 L⁻¹, containing 0, 8 and 12 g NaCl L⁻¹ and were transported in a period of three hours. Water quality analyses were performed before and after the transport. We quantified the pH, dissolved oxygen, temperature and water samples were collected for analyzes of ammonia. All fish was withdraw blood by caudal puncture and to cortisol, glucose and ions such as sodium (Na), chloride and potassium (K) analysis was performed. Cortisol showed no significant differences between treatments and trends highs after harvest. High glucose levels in the treatments with 8 and 12 g L⁻¹ NaCl was found. To ions, sodium showed higher levels in the treatments with the presence of salt in the water, chloride showed a gradual decrease in their levels between treatments and potassium showed no significant difference after the baseline but it was observed one increase their levels between these treatments. The parameters pH dissolved oxygen and temperature suffered a small change between measurements not interfering in the outcome.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. OBJETIVOS	10
2.1. OBJETIVO GERAL.....	10
2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO.....	10
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
3.1. PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	11
3.2. COLETAS.....	11
3.3. ACONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS E ANÁLISES DOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS.....	12
3.4. ANÁLISES DOS PARÂMETROS DA QUALIDADE DA ÁGUA.....	13
3.5. ESTATÍSTICA.....	13
4. RESULTADOS	14
4.1. PARÂMETROS DA ÁGUA.....	14
4.2. CORTISOL SÉRICO.....	15
4.3. GLICOSE PLASMÁTICA.....	16
4.4. SÓDIO SÉRICO.....	16
4.5. CLORETO SÉRICO.....	17
4.6. POTÁSSIO SÉRICO.....	18
5. DISCUSSÃO	20
6. CONCLUSÃO	24
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

1. INTRODUÇÃO

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um peixe tem distribuição neotropical, do sudeste do México ao norte, e centro da Argentina ao sul (SILFVERGRIP, 1996). Segundo o mesmo autor, na distribuição taxonômica, o jundiá pertence a classe: *Osteichthyes*, série: *Teleostei*, ordem: *Siluriformes*, família: *Pimelodidae*, gênero: *Rhamdia* e espécie: *Rhamdia quelen*. Este peixe vive em lagos e poços fundos dos rios, preferindo os ambientes de águas mais calmas com fundo de areia e lama, junto às margens e vegetação (GOMES et al., 2000), sendo também uma espécie com alta sensibilidade à luz, tendo hábitos noturnos. De acordo com MARCHIORO, 1997 é considerada estenoalina, suportando até 9,0 g L⁻¹ de sal comum (NaCl) por 96 horas. Lopes, 2008 observou maior crescimento das larvas em pH entre 8,0 e 8,5, mas segundo GOMES, 2000 indicam que tolerância dessa espécie ao pH alcalino pode ser maior (até pH 9,5). Como dito no início deste estudo, o jundiá habita fundo de rios e tem uma distribuição geográfica que o torna presente em águas com tendências á temperaturas mais baixas em comparação com as espécies nativas do Brasil, contudo essa espécie pode ser considerada euritérmica, pois os alevinos aclimatados a 31 °C suportam temperaturas de 15 a 34 °C. Possuindo hábito alimentar omnívoro, tem preferência por peixes, crustáceos, insetos, restos vegetais, e detritos orgânicos (GUEDES, 1980). Espécie de rápido crescimento que pode ser facilmente criado em cativeiro. No sul do Brasil, a sua criação vem aumentando devido à sua adaptação às condições climáticas, apresentando boa aceitação pelo mercado consumidor (CARNEIRO et al., 2002).

A aquicultura é uma atividade que vem crescendo rapidamente em todo o mundo e tem despertado curiosidades em pesquisas científicas em sua vasta área de produção. Quando fala-se de produção animal, há uma grande preocupação com a sanidade dos mesmos, o que tem feito com que pesquisas sejam realizadas para que esses animais cheguem até seu destino final (consumidor) com boa qualidade. Dentre os motivos que comprometem a qualidade de vida dos animais em cativeiro, encontra-se o estresse que quando não mitigado de forma correta e rápida pode comprometer toda a produção afetando a qualidade da carne, o aparecimento de doenças, podendo até levar a morte. Na piscicultura, os peixes são freqüentemente expostos a agentes estressores como: manejo,

competição por alimento, predadores, má qualidade de água, aparecimento de patologias, transferências e o transporte. Segundo Bendhack (2008), os choques osmóticos presentes principalmente nas práticas de transferência também são agentes estressores em pisciculturas.

As respostas ao estresse podem ter natureza química, física e comportamental, divididas em três fases: primária, secundária e terciária (BARRETO, 2006). A fase primária ocorre segundos após o contato com o agente estressor (BENDHACK, 2004), onde as vias do sistema nervoso simpático partem do hipotálamo, enviam sinais para as células cromafins, presentes no rim cefálico, que por suas vez liberam as catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) que estimulam o aumento do batimento do opérculo, aumento do fluxo sanguíneo e aumento do transporte de O₂ no sangue (LIMA et al., 2006), além de proporcionar glicose rapidamente (BENDHACK, 2004). Outro hormônio participante na resposta primária é o adrenocorticotrófico (ACTH) que é liberado pela hipófise, sendo esta estimulada pelo hormônio secretor de corticotrofina (CRH). O ACTH é diretamente liberado no sangue que libera o cortisol nas células secretoras do rim cefálico. (BARTON & IWAMA, 1991).

Com condições da fase primária, a fase secundária se inicia, pois as catecolaminas já não conseguem suprir as necessidades de glicemia necessária no plasma, então uma via metabólica é ativada para a liberação glicose no plasma, a glicogenólise hepática. A manutenção da hiperglicemia é mantida por uma nova via metabólica, chamada neoglicogênese, resultado de um aumento na concentração plasmática de cortisol (BENDHACK, 2004). A hiperglicemia deve ser mantida em quantidades ideais, pois desempenha um papel muito importante, oferecer energia para os peixes na resposta ao estressor como a fuga ou enfrentamento da situação adversa.

Uma das respostas ao estresse é o aumento do batimento opercular a fim de se captar maiores quantidades de oxigênio do meio externo, mas ao mesmo tempo em que ocorre essa captura, os hormônios que estão agindo sobre o epitélio branquial tornam-no permeável, facilitando desregulação osmótica dos peixes (BENDHACK, 2004). As brânquias são o canal principal da entrada de oxigênio para o organismo dos peixes, pois estas estruturas estão diretamente expostas ao meio externo. As lamelas, presentes nos

filamentos das brânquias, são responsáveis pelas trocas iônicas e gasosas entre o peixe e a água. O epitélio lamelar é composto por três diferentes células: células de muco, células epiteliais ou de pavimento e células ricas em mitocôndrias, conhecidas também como ionócitos ou células de cloreto (RUALES & TORRES, 2010).

Em peixes de água doce, por viverem em meio hipotônico há uma tendência de a água entrar em seu corpo por osmose e uma estratégia para retirar toda essa água é a urina, por onde saem também os sais, favorecendo um desequilíbrio iônico nos peixes. Por esta razão, as brânquias precisam captar do meio externo, grandes quantidades de Na^+ e Cl^- para manter a homeostase (RUALES & TORRES, 2010). O modelo de captura de Na^+ e Cl^- é a troca dos mesmos por íons indesejáveis presentes no organismo do peixe, como o H^+ (Hidrogênio) e o NH_4^+ (Amônia). Essas trocas são feitas através de uma bomba de Na^+/K^+ presente na membrana basolateral, que cria um gradiente favorável a entrada do Na^+ em sistema de antiporte, eliminando o H^+ ou o NH_4^+ . O Cl^- é trocado na membrana apical pelo HCO_3^- resultado da hidratação do CO_2 da respiração pela anidrase carbônica (BENDHACK, 2004; RUALES & TORRES, 2010).

Esses processos realizados durante a fase secundária buscam equilíbrio salino e a homeostase e, são medidas de ajuste ao estresse em situações de cultivo, porém demandam energia. Quando o peixe não consegue se adaptar ao estímulo do estressor e este ainda continua a agir sobre o animal, suas reservas de energia se esgotam e então ele precisa render-se, é onde começa a fase terciária. A fase terciária é a última fase do estresse e de acordo com Oba et al. (2009), a exposição crônica ao agente estressor pode acarretar diversos problemas como o insucesso na reprodução, diminuição nas taxas de crescimento de resistência à doenças.

O transporte é a fase terminal de um cultivo e também a mais esperada, pois mostra que os animais estão bem e estão prontos para serem comercializados, mas também é uma fase de grande risco aos animais, pois o transporte também é um perigoso causador de estresse nos peixes. Durante o transporte os peixes estão submetidos a vários agentes causadores de estresse, entre eles estão a captura, o confinamento e os movimentos irregulares da água (BENDHACK, 2004). Uma das soluções encontrada pelos aquicultores do mundo todo foi adicionar algumas substâncias com a capacidade de reduzir os efeitos decorrentes do estresse, na água durante o transporte.

O uso do NaCl, conhecido como sal de cozinha é comumente usado em transporte de peixes de água doce devido á dificuldade desses animais de regular os níveis de sal que saem do seu organismo para a água e para capturá-los novamente. A relação do sal com o transporte é tornar o meio externo mais abundante em NaCl, facilitando a entrada para o corpo do peixe, evitando o estresse causado pela difícil tentativa de manter equilíbrio iônico (GOMES et al., 2003). Além de manter o equilíbrio iônico, o sal também é uma substância profilática á possíveis doenças que podem vir a ser acarretadas pelo transporte, além também de ser mais acessível e de baixo custo.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo avaliar as respostas fisiológicas relacionadas ao estresse do jundiá no transporte em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) dissolvido na água.

2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

Quantificar variáveis bioquímicas em resposta ao estresse do transporte em jundiás.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 320 peixes da espécie *Rhamdia quelen*, com comprimento padrão médio de $25,91 \pm 2,16$ cm e peso médio de $360,98 \pm 99,20$ g, provenientes de cultivo em viveiro escavado do Laboratório de Pesquisas em Piscicultura da Pontifícia Universidade Católica do Paraná – LAPEP PUC-PR. Para a obtenção dos valores basais das variáveis que indicam estresse, dez peixes que não foram transportados, chamados de inicial, foram despescados e aclimatados por dois meses no interior do LAPEP em caixas d'água com capacidade de 1000 L^{-1} contendo água cristalina e oxigênio durante 24 horas. No dia do experimento, ao final da despesca, dez peixes também não transportados, foram amostrados e levados para o laboratório, sendo estes chamados de pós despesca. Os demais animais foram divididos e acondicionados em três caixas, com densidade de 150 kg de peixes m^{-3} (100 peixes por caixa) e capacidade de 250 L^{-1} , contendo suplementação de oxigênio e diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) que compunham os tratamentos: 0, 8 e 12 g NaCl L^{-1} dissolvidas na água. Para o transporte, que aconteceu num período de três horas, foi utilizada uma caminhonete onde foram acondicionadas as caixas com os peixes e um cilindro para o fornecimento de oxigênio por mangueiras de difusão reguladas com fluxo de 2 mg L^{-1} minuto. Após o transporte, dez peixes de cada caixa foram amostrados para avaliação do estados de estresse. Os parâmetros pH, oxigênio dissolvido, temperatura e amônia foram medidos antes e após o transporte em todas as caixas e diretamente no viveiro durante a despesca.

3.2. COLETAS

Para medição do estresse basal, após a despesca e após o transporte, os peixes amostrados foram anestesiados em baldes contendo água e benzocaína na quantidade 60 mg L^{-1} para serem realizadas coletas sanguíneas através de punção da veia caudal com ajuda de seringa e agulha. O sangue foi armazenado em tubos de coleta ($1,5 \text{ mL}$) e separado em duas alíquotas, sendo a primeira utilizando anticoagulante EDTA para extração do

plasma e posterior análise de glicose, e a segunda apenas o sangue para extração de soro e posterior análise de cortisol e íons. Após a coleta sanguínea, os peixes foram pesados em balança da marca Quimis com precisão de 0,05 gramas e o comprimento padrão foi medido com o auxílio de um ictiômetro.

3.3 ACONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS E ANÁLISES DOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

Para a análise de cortisol o sangue foi mantido em temperatura ambiente durante 60 minutos e posteriormente centrifugado à 5.000 rpm, durante 10 minutos à 10 °C para a extração do soro que foi separado em tubos de coleta em uma quantidade de 100 µL sendo armazenado à -180 °C para realização da análise. Os níveis de cortisol foram determinados mediante microplacas de Imunoensaio enzimático (ELISA) e posteriormente mensurados em leitora automática de placas ELISA da marca BioTek.

Para a análise de glicose, após coletado, o sangue foi imediatamente centrifugado à 5.000 rpm, durante 10 minutos à 10 °C para extração do plasma. Foram retirados 200 µL de plasma, depositados em novos tubos de coleta e armazenados à -18 °C até o procedimento da análise. A quantificação dos níveis de glicose foi feita através do método enzimático glicose-oxidase com kit comercial de glicose da marca Analisa e a sua mensuração feita através de espectrofotometria.

Para a realização das análises iônicas, o método para a extração do soro foi semelhante ao do cortisol, sendo para os íons separados 150 µL de soro em tubos de coleta e armazenados à -18 °C para as análises posteriores. Os níveis dos íons sódio e potássio foram quantificados através do eletrodo seletivo de íons Iselab do modelo Drake, sendo esta análise realizada no Hospital Veterinário da PUC-PR. A análise para quantificar os níveis de cloretos foi realizada através do método colorimétrico de ponto final com kit comercial de cloretos da marca Bioclin e a mensuração feita através de espectrofotometria.

3.4 ANÁLISES DOS PARÂMETROS DA QUALIDADE DA ÁGUA

Os parâmetros oxigênio dissolvido e temperatura da água, foram medidos com o auxílio de um oxímetro da marca YSI, modelo 85-10 FT e o pH foi medido através de um pHmetro também da marca YSI, modelo pH 100. Para verificar a concentração de amônia total presente na água foram coletadas amostras da água do viveiro e de cada caixa antes e após o transporte utilizando potes esterelizados que foram armazenados à -18 °C até a realização da análise. A quantificação de amônia total presente no viveiro e nas caixas de transporte foi mensurada através do método colorimétrico azul de Indofenol.

3.5 ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado composto por 5 tratamentos (Estado basal; pós transporte; transportados sem NaCl; transportados com 8 gramas NaCl e transportados 12 gramas NaCl) com número amostral = 10. A análise estatística dos resultados foi realizada pela análise de variância e quando apresentado diferenças significativas, foi utilizado o teste Tukey para a comparação das médias. A análise foi realizada com auxílio do software estatístico ASSISTAT 7.7 Beta (UFPB Campina Grande, PB), sendo considerado o nível de significância $p = 0,05 \%$.

4. RESULTADOS

4.1 PARÂMETROS DA ÁGUA

Como resultado dos parâmetros de qualidade de água, o pH apresentou valores entre 7,5 e 8,1 antes do transporte e 7,0 e 7,96 após a realização do transporte. Para oxigênio dissolvido, os valores se mantiveram entre 4,9 e 5,34 mg L⁻¹ antes do transporte e entre 3,2 e 3,8 mg L⁻¹ após o transporte. A temperatura para antes do transporte oscilou entre 19,6 °C e 22,5, já após o transporte a temperatura foi semelhante nas três caixas, indicando 19,8 °C. A concentração de amônia total antes do transporte variou entre 0 mg L⁻¹ e 0,13 mg L⁻¹, nas medições depois do transporte, a variação das concentrações ficou entre 2,16 mg L⁻¹ e 3,72 mg L⁻¹. (Tabela 1).

Tabela 1: VALORES DE PH, OXIGÊNIO DISSOLVIDO, TEMPERATURA E AMÔNIA TOTAL DA ÁGUA ANTES E DEPOIS DO TRANSPORTE.

	Viveiro	0 g NaCl L ⁻¹		8 g NaCl L ⁻¹		12 g NaCl L ⁻¹	
	Antes	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
pH	8,1	7,8	7,7	7,14	7	7,5	7,96
Oxigênio Dissolvido (mg L ⁻¹)	5,40	5,24	3,8	4,84	3,4	4,9	3,2
Temperatura (°C)	22,5	19,6	19,8	19,6	19,8	19,6	19,8
Amônia total (mg L ⁻¹)	0,13	0	2,16	0,02	3,72	0	3,28

4.2 CORTISOL SÉRICO

Os peixes em seu estado basal, apresentaram níveis médios de cortisol de $137,5 \text{ ng mL}^{-1}$. O nível de cortisol presente nos peixes após a despesca teve valor de $175,0 \text{ ng mL}^{-1}$, sendo inferior apenas ao tratamento contendo 12 g NaCl L^{-1} , com a maior concentração dissolvida na água, obtendo o maior nível de cortisol entre todos os tratamentos, com valor de $179,4 \text{ ng mL}^{-1}$. O tratamento com menor nível de cortisol foi o com 8 g NaCl L^{-1} , com média de $142,4 \text{ ng mL}^{-1}$. Os peixes transportados sem adição de NaCl na água, tiveram média $157,0 \text{ ng mL}^{-1}$ de cortisol. Apesar de terem sido observadas tendências à elevação dos níveis de cortisol entre os tratamentos, este parâmetro não apresentou diferenças significativa entre os tratamentos (Figura 1).

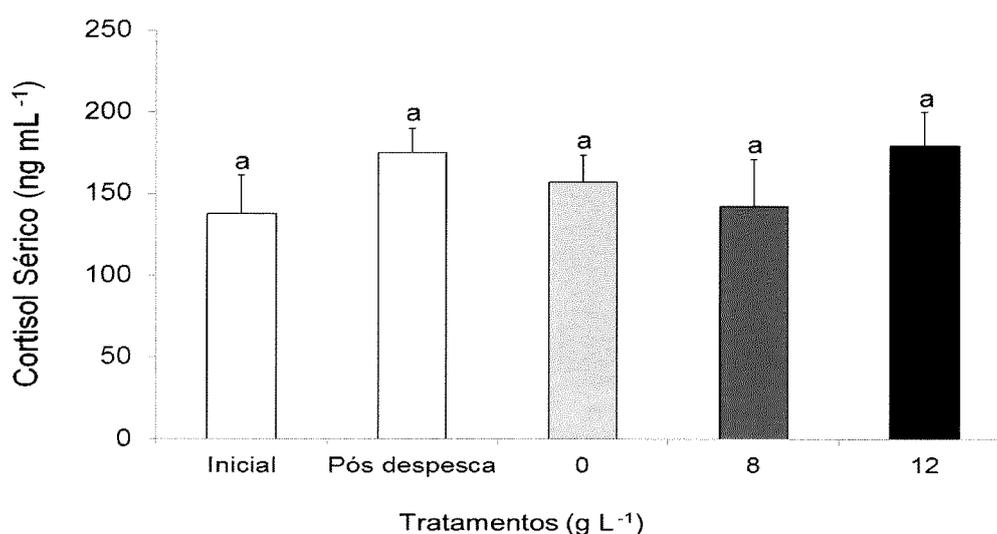


Figura 1: Valores médios de cortisol de jundiás em estado basal (Inicial), após a despesca (pós despesca), transportados sem adição de cloreto de sódio (NaCl) na água e jundiás transportados em água com adição NaCl em concentrações de 8 e 12 g L^{-1} . Barras verticais representam erro padrão da média ($n=7$).

4.3 GLICOSE PLASMÁTICA

A taxa de glicemia (Figura 2) analisada nos peixes logo após a despesca, apresentou valor médio de $50,8 \text{ mg dL}^{-1}$. No entanto, nos peixes que foram transportados, verificou-se aumento nos valores de glicemia, principalmente nos peixes que foram transportados em água com adição de NaCl. O valor médio de glicemia para o tratamento com 8 g NaCl L^{-1} foi $67,7 \text{ mg dL}^{-1}$ e o tratamento contendo 12 g NaCl L^{-1} apresentou média igual à $64,1 \text{ mg dL}^{-1}$. Os peixes transportados sem adição de NaCl, obtiveram valor glicêmico médio de $55,7 \text{ mg dL}^{-1}$. Os níveis de glicemia para o estado basal dos peixes foi de um valor médio de $54,9 \text{ mg dL}^{-1}$, nível mais alto do que o apresentado nos peixes após a despesca.

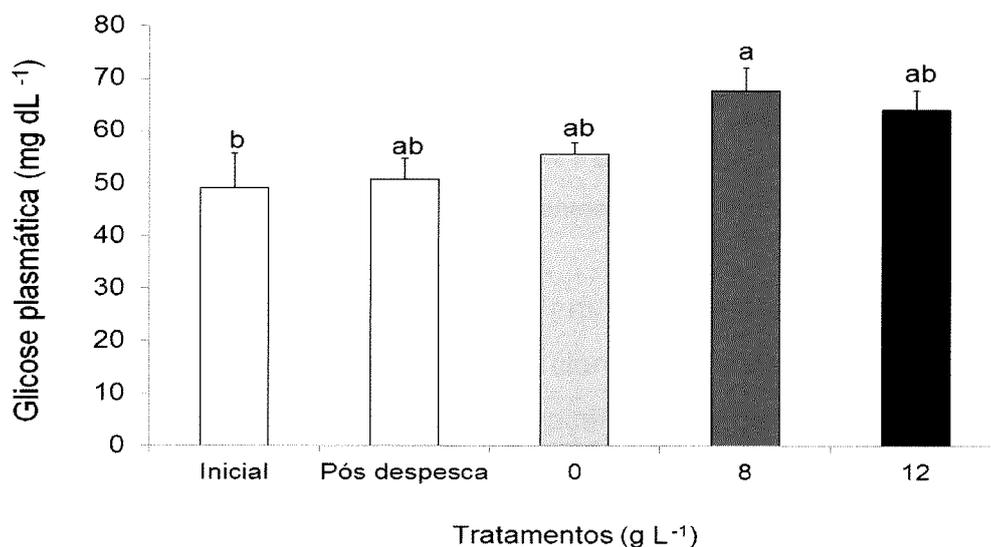


Figura 2: Valores médios de glicose de jundiás em estado basal (Inicial), após a despesca (pós despesca), transportados sem adição de cloreto de sódio (NaCl) na água e jundiás transportados em água com adição NaCl em concentrações de 8 e 12 g L^{-1} . Barras verticais representam erro padrão da média (n=9).

4.4 SÓDIO SÉRICO

O sódio sérico apresentou maiores concentrações nos peixes transportados com sal na água, tratamento com 8 g NaCl L⁻¹ com valores médios de 141,7 mmol L⁻¹ e tratamento com 12 g NaCl L⁻¹ com valores médios de 141,6 mmol L⁻¹. Os peixes do estado basal, apresentaram média de 139,0 mmol L⁻¹, semelhante aos peixes transportado sem sal. Após a despesca, os níveis de sódio foram maiores que os do grupo controle e do transporte sem sal, com nível de 139,8 mmol L⁻¹, como mostra a figura 3.

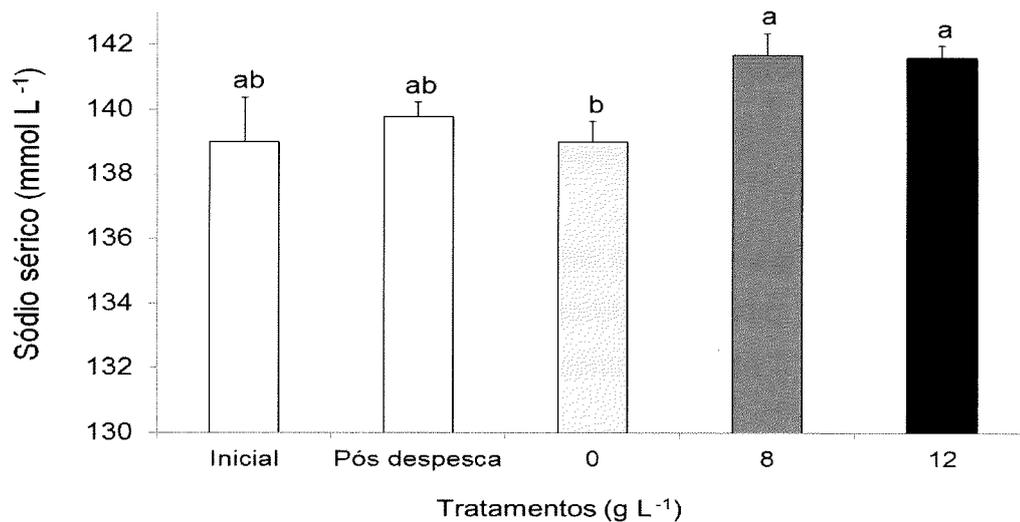


Figura 3: Valores médios de sódio de jundiás em estado basal (Inicial), após a despesca (pós despesca), transportados sem adição de cloreto de sódio (NaCl) na água e jundiás transportados em água com adição NaCl em concentrações de 8 e 12 g L⁻¹. Barras verticais representam erro padrão da média (n=9).

4.5 CLORETO SÉRICO

A concentração de cloretos (Figura 4) foi maior nos peixes em estado basal, com valor de 122,4 mmol L⁻¹, já os peixes transportados com 12 g NaCl L⁻¹ na água tiveram as menores concentrações de cloretos, com valor médio de 106,4 mmol L⁻¹. Os animais no momento pós despesca, tiveram concentrações de cloretos com valor de 114,6 mmol L⁻¹ e os peixes transportados sem adição de sal com valor de 114,7 mmol L⁻¹. Entre os tratamentos com adição de sal na água, os peixes do tratamento com 8 g, tiveram o menor valor, 110,8 mmol L⁻¹.

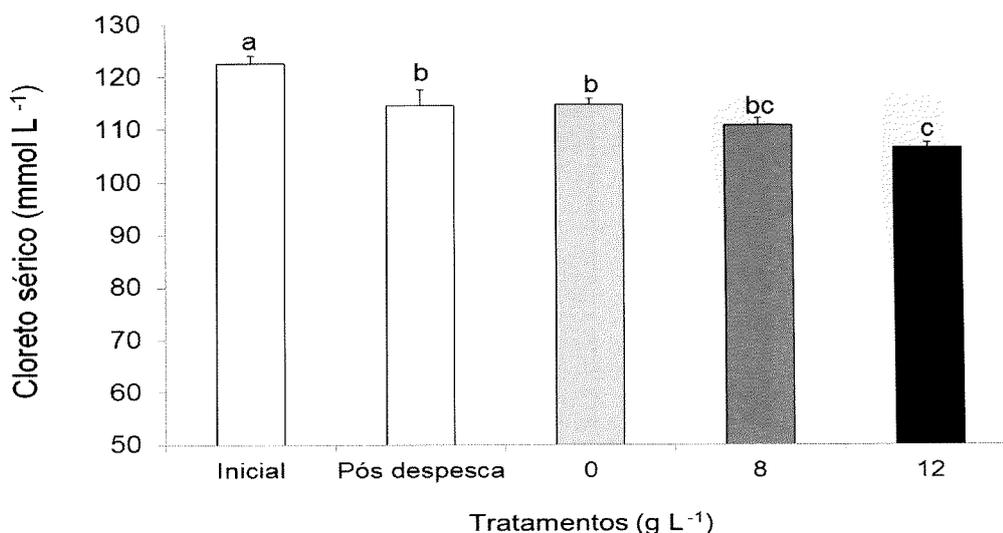


Figura 4: Valores médios de cloretos de jundiás em estado basal (Inicial), após a despesca (pós despesca), transportados sem adição de cloreto de sódio (NaCl) na água e jundiás transportados em água com adição NaCl em concentrações de 8 e 12 g L⁻¹. Barras verticais representam erro padrão da média (n=10).

4.6 POTÁSSIO SÉRICO

O valor para o potássio sérico nos peixes em estado basal foi de 1,22 e 2,74 mmol L⁻¹ nos peixes após a despesca. Para os peixes do tratamento com 12 g NaCl L⁻¹ a média foi 3,5 mmol L⁻¹ e para os do tratamento com 8 g NaCl L⁻¹, 3,41 mmol L⁻¹. Os peixes transportados sem adição de sal apresentaram média de 3,15 mmol L⁻¹ (Figura 5). Apesar de terem sido observadas tendências à elevação dos níveis de cortisol entre os tratamentos, este parâmetro não apresentou diferenças significativa entre os tratamentos dos peixes manejados, porém entre o grupo inicial e os manejados houve aumento nos níveis deste íon.

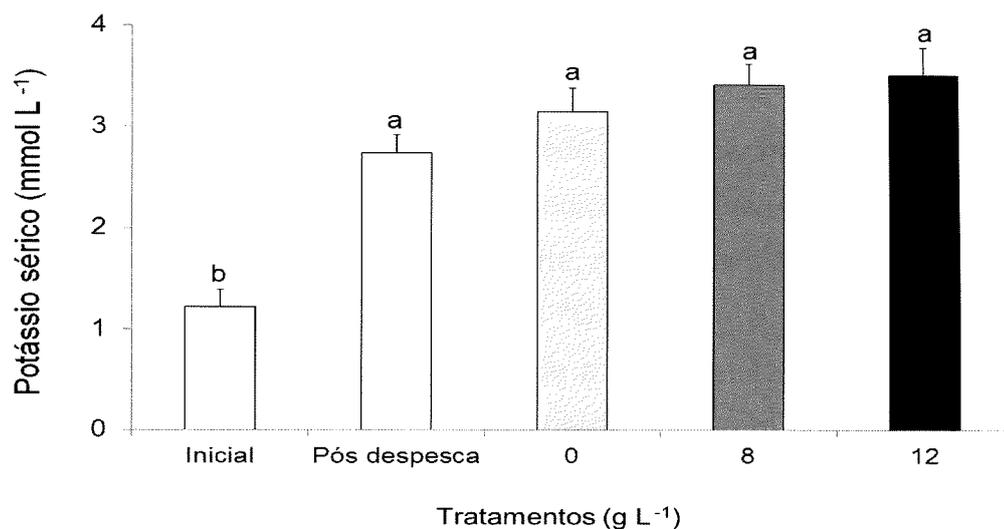


Figura 5: Valores médios de potássio de jundiás em estado basal (Inicial), após a despesca (pós despesca), transportados sem adição de cloreto de sódio (NaCl) na água e jundiás transportados em água com adição NaCl em concentrações de 8 e 12 g L⁻¹. Barras verticais representam erro padrão da média (n=10).

5. DISCUSSÃO

Não houve mortalidade durante o período de experimento e os parâmetros de qualidade de água mantiveram-se dentro das condições aceitáveis para o jundiá (GOMES et al., 2000). Os valores de pH da água de transporte, mantiveram-se entre 7 e 8,1 e os valores de temperatura oscilaram entre 22,5 °C e 19,8 °C. O pH e a temperatura da água estão inteiramente interligados, onde a medida em que a temperatura aumenta os valores de pH também se elevam. Os valores de oxigênio dissolvido oscilaram entre 5,40 mg L⁻¹ e 3,2 mg L⁻¹, onde as menores concentrações de oxigênio dissolvido foram observadas após o transporte. Uma das características da primeira fase de estresse é o aumento do batimento opercular para a captação do O₂ da água, fator que pode ter ocasionado a redução de O₂ presente na água após o transporte. A concentração de amônia total manteve-se entre 0 mg L⁻¹ e 3,72 mg L⁻¹, apresentando maiores concentrações após o transporte. No transporte, os peixes eliminam amônia na água, liberam muco e produzem matéria orgânica através das fezes, quando alimentados antes do transporte. Neste experimento os peixes não foram alimentados antes do transporte, mas a liberação de muco e a excreção de amônia na água podem ter influenciado o aumento de amônia durante o transporte.

O cortisol é um hormônio liberado da circulação sanguínea responsável pela liberação e manutenção da glicose. A elevação desse hormônio é considerada por muitos autores como a principal resposta ao estresse. Apesar de terem sido observadas tendências à elevação dos níveis de cortisol, este hormônio não apresentou diferença significativa entre o estado basal, pós despesca e os tratamentos transportados. Esse resultado pode ser explicado devido às grandes variações de resposta ao estresse entre os indivíduos, onde cada um responde à presença do agente estressor com diferente intensidade. Uma explicação para os altos níveis de cortisol presente nos peixes do estado basal é a exposição a luz em que estes animais estavam submetidos. Gomes (2000) explica que o jundiá habita fundos dos rios onde fica escondido e há ausência de luz. Como resultado, Barcelos et al. (2006) sugerem fortemente que a luz pode ser um fator modulativo de cortisol na resposta ao estresse de jundiás. Alto nível de cortisol também foi observado para os peixes após a despesca. Essa elevação pode ser explicada em consequência da exposição dos peixes à agentes estressores antes mesmo do transporte. Segundo Barcelos et al. (1997) altos níveis de cortisol sugerem que procedimentos de captura no tanque de origem, embalagem e

transporte são muito estressantes para os animais. Nos tratamentos onde os peixes foram transportados sem adição de NaCl na água e com 8 g NaCl L⁻¹ os níveis de cortisol tenderam à uma diminuição comparados com os níveis após a despesca, apresentando uma tendência ao retorno dos níveis basais após 3 horas de transporte nas condições em que se encontravam. Neste experimento, jundiás transportados com 12 g NaCl L⁻¹ apresentaram uma tendência à elevação de seus níveis de cortisol sérico comparado os demais tratamentos com e sem transporte. Essa tendência pode ter sido ocasionada por uma quantidade excessiva de NaCl na água, pois a concentração salina circulante em peixes de água doce oscilam ao redor de 9 g NaCl L⁻¹

O aumento dos níveis plasmáticos de glicose é uma resposta secundária ao estresse. Nessas situações, as reservas energéticas são usadas na fuga ou enfrentamento do agente estressor. De acordo com Oba et al. (2009), as catecolaminas são a causa inicial da elevação dos níveis plasmáticos de glicose, e os corticosteróides podem contribuir para a manutenção da hiperglicemia. Neste estudo os níveis médios de glicose tiveram valor de 49,1 mg dL⁻¹ para os peixes do estado basal, menor que o valor da média encontrada para os peixes após o transporte (50,8 mg dL⁻¹). Nos tratamentos transportados os níveis de glicose foram de 55,7 mg dL⁻¹ para os peixes transportados sem adição de NaCl na água, aumentando nos peixes transportados com 8 g NaCl L⁻¹ apresentando o valor de 67,7 mg dL⁻¹ e voltando a diminuir para os animais transportados com 12 g NaCl L⁻¹, apresentando um valor de 64,1 mg dL⁻¹. O aumento da glicose está diretamente relacionado com a presença de estresse em peixes em jejum. O aumento dos níveis de glicose após a despesca neste experimento está correlacionado com a elevação dos níveis de cortisol para o mesmo tratamento. Esta elevação também foi observada para os peixes transportados sem a presença de NaCl na água e para os transportados 8 g NaCl L⁻¹. O aumento da glicose após o transporte também foi um resultado encontrado por Carneiro & Urbinati (2001) no uso de sal como mitigador de estresse de matrinxãs durante o transporte com concentrações de 0, 1 e 3 g NaCl L⁻¹ na água. Outra explicação para elevação dos níveis glicêmicos é descrita por Brandão et al. (2008) onde o aumento é ocasionado por estímulo das catecolaminas, especialmente a epinefrina, que estimula a glicogenólise, ou seja, a transformação de glicogênio em glicose. A elevação dos níveis de glicose também foi encontrada por Urbinati et al. (2004) no transporte de diferentes densidades de juvenis de Matrinxã e por Mariano et al. (2001) na exposição de tuviras expostas ao ar atmosférico. Para os animais transportados

com 12 g de NaCl L⁻¹ houve uma diminuição nos níveis glicêmicos apresentando gasto excessivo de estoque de energia e diminuição da ação da glicose devido ao estresse causado pela alta concentração de sal presente na água.

Alterações iônicas acontecem devido à uma maior exposição de epitélio branquial a um gradiente iônico, sendo essas alterações, uma das respostas secundárias ao estresse. Os hormônios liberados atuam sobre o epitélio branquial provocando aumento na sua permeabilidade, causando desequilíbrio osmótico nos peixes de água doce (BENDHACK, 2004). Distúrbios osmóticos e iônicos podem ocorrer como resultado da diurese e da perda de eletrólitos sanguíneos (OBA et al. 2009). No presente trabalho, a concentração basal de sódio sérico de jundiás foi de 139,0 mmol L⁻¹, não diferindo significativamente após a captura. Após o transporte, para os peixes transportados sem adição de sal na água, os níveis séricos de sódio diminuíram mediante desequilíbrio iônico causado pelo estresse do transporte. A diminuição dos níveis de sódio também foi um resultado encontrado por Carmichael et al. (1983), Wurts (1995) e Weirich et al. (1992), sugerem o uso de sal no transporte para peixes de água doce numa concentração de até 8 g L⁻¹ sendo esta a concentração aproximada do plasma dos peixes (9 g L⁻¹). Wurts descreve que o uso em maiores concentrações causa desidratação no animal. Já Hattingh et al. (1975) indicam o uso de sal no transporte entre 3 e 7 g L⁻¹, mas segundo Urbinati & Carneiro, (2006) cada espécie de peixe apresenta um preferência diferente em termos de salinidade. Neste estudo os demais tratamentos transportados continham 8 g NaCl L⁻¹ e 12 g NaCl L⁻¹ e apresentaram um aumento nos níveis de sódio não diferentes significativamente entre si, mas quando comparados aos outros tratamentos. Este resultado indica que para o jundiá, o uso de sal nas concentrações sugeridas pelos demais autores apresentou desequilíbrio eletrolítico. Este desequilíbrio ocorreu devido à permeabilidade da membrana, que possibilitou a entrada excessiva de íons de sódio a favor do gradiente, aumentando assim, os níveis desse íon no sangue dos animais.

Diferente do sódio, o cloreto sérico apresentou diminuição de seus níveis entre os peixes em estado basal e após a despesca, com valores respectivos de 122,4 mmol L⁻¹ e 114,6 mmol L⁻¹. Entre os peixes transportados, houve uma diminuição gradativa dos níveis séricos de cloretos, apresentando valor médio de 114,7 mmol L⁻¹ para os peixes transportados sem adição de NaCl na água, 110,8 mmol L⁻¹ para os peixes transportados

com 8 g NaCl L⁻¹ e 106,4 mmol L⁻¹ para os transportados com 12 g NaCl L⁻¹. Pouco se sabe sobre a excreção dos íons de cloretos no processo de estresse em peixes. Normalmente a diminuição ou elevação desses níveis estão proporcionalmente ligados aos níveis de sódio sérico, fato que não ocorreu nesta pesquisa, pois os níveis de sódio sérico mantiveram-se elevados durante o experimento enquanto os níveis de cloretos diminuíram. Para os peixes em estado basal, após a despesca e os transportados sem adição de NaCl na água a intensividade da resposta foi maior, pois não havia presença de substâncias ou métodos que mitigassem tal processo. Nesses casos a diminuição dos níveis de cloreto, ocorreu devido ao desequilíbrio na osmorregulação do animal, fazendo com que perdessem sais numa tentativa de eliminar a água presente em seu corpo através de uma urina diluída. Nos peixes transportados com a presença de NaCl na água, uma hipótese encontrada para a ocorrência de excreção deste íon é saída do mesmo através das junções celulares, pois na presença de concentrações elevadas de sal na água, ouve um aumento do íon sódio presente na célula o que pode ter ocasionado desidratação das mesmas, aumentando o espaço entre as junções celulares, facilitando a perda de cloretos.

O íon potássio é o principal cátion citoplasmático (CARNEIRO & URBINATI, 2001). O nível médio de potássio apresentou-se menor nos peixes em estado basal com valor de 1,22 mmol L⁻¹. Apesar de não ter apresentado diferenças significativas, o potássio sérico apresentou tendência a elevação nos peixes após a despesca com valor médio de 2,74 mmol L⁻¹ e nos peixes transportados, sendo 3,15 mmol L⁻¹ o valor médio nos peixes transportados sem adição de NaCl, 3,41 mmol L⁻¹ para os peixes transportados com 8 g NaCl L⁻¹ e 3,50 mmol L⁻¹ para os peixes transportados com 12 g NaCl L⁻¹. Esse aumento é também explicado pelos mesmos autores, no mesmo artigo onde descrevem que o aumento do íon potássio ocorre devido ao distúrbio eletrolítico causado pelo estresse, bem como o extravasamento do conteúdo celular, onde há grandes concentrações de potássio. Esses mesmos autores encontraram resultados parecidos no uso de sal como mitigador da resposta ao estresse de matrinxãs durante o transporte.

6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, é possível concluir que o uso de cloreto de sódio na água de transporte, nas concentrações testadas, causou leves alterações osmorregulatórias no jundiá e não impediu ou mitigou o estresse dos peixes, contudo, o uso de sal nessas concentrações não causou distúrbios acentuados a saúde do animal, podendo ainda continuar sendo utilizado como método profilático a possíveis doenças. Por final, sugere-se a realização de novos experimentos com o uso de diferentes concentrações de sal na água do transporte, a fim de se obter os já conhecidos benefícios da adição de sal na água do transporte de peixes sem causar desequilíbrio osmótico nesta espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARCELLOS, L.G.; SOUZA, S.M.G.; LUCERO, L.F. Estudos preliminares sobre o cortisol sérico em resposta ao estresse na tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Bol. Inst. Pesca, São Paulo, 24: 239-245, 1997.
- BARCELLOS, L.J.G.; RITTER, F.; KREUTZ, L.C.; SILVA, L.B.; CERICATO, L.; QUEVEDO, R.M. The color of illumination affects the stress response of jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy & Gaimard, Heptapteridae). Ciência Rural, v. 36, n. 4, p. 1249-1252, 2006.
- 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 1, 3-26, 1991.
- BARRETO, R. E. Efeitos de estressores e do cortisol na memória em peixes. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, na área de Concentração de Zoologia) – Instituto de Biociências de Butucatu, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, 2006.
- BENDHACK, F. Uso de sulfato de cálcio como redutor de estresse no transporte de Matrinxãs *Brycon amazonicus*. Dissertação (Mestrado em aquicultura, na área de Concentração de Aquicultura em Águas Continentais) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, 2004.
- BENDHACK, F. Respostas fisiológicas do Matrinxã *Brycon amazonicus* após mudança de ambientes com diferentes concentrações de sais de cálcio e de sódio. Tese (Doutorado em aquicultura) – Centro de aquicultura, Universidade Estadual Paulista, 2008.
- BRANDÃO, F. R., GOMES, L. C., CRESCÊNCIO, R., CARVALHO, E. da S. Uso de sal durante o transporte de juvenis (1kg) de pirarucu (*Arapaima gigas*). Acta Amazonica, 38 (4), 767 – 772, 2008.
- CARMICHAEL, G.J.; WEDMEYER, G.A.; MCCRAEN, J.D.; MILLARD J.L. Physiological effects of handling and hauling stress on Smallmouth Bass. Progressive Fish-Culturist, 45: 110-113, 1983.

- CARNEIRO, P. C. F., URBINATI, E. C. Salt as a stress response mitigator of matrinxã, *Brycon cephalus*, during transport. *Aquaculture Research*, 32, 297-304, 2001.
- CARNEIRO, P. C. F., KAISELER, P. H. da S., SWAROFISKY, E. A. C., BALDISSEROTO, B. Transport of jundiá *Rhamdia quelen* juveniles at different loading densities: water quality and blood parameters. *Neotropical Ichthyology*, 7 (2), 283-288, 2009.
- GUEDES, D.S. Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (*Rhamdia* spp) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, Pimelodidae). Santa Maria – RS, 1980. 99p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, 1980.
- GOMES, L. C., GOLOMBIESKI, J. I., GOMES, A. R. C., BALDISSEROTO, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI, PIMELODIDAE). *Ciência Rural*, 30 (1), 179-185, 2000.
- 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*, 38 (2), 283-290, 2003.
- HATTINGH, J.; FOURIE, F.L.R.; VAN VUREN, J.H.J. The transport of freshwater fish. *Journal of Fish Biology*, 7: 447-449, 1975.
- LIMA, L. C., RIBEIRO, L. P., LEITE, R. C., MELO, D. C. Estresse em peixes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 30 (3-4), 113-117, 2006.
- MARCHIORO, M.I. Sobrevivência de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824, Pisces, Pimelodidae) à variação de pH e salinidade da água de cultivo. Santa Maria, RS, 1997. 87p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, 1997.
- MARIANO, W. dos S., SORIA, S. F. P., GARCIA, R. G., FELIX, M. Z., L, F., TOLEDO, J. R. S. Metabolismo e fisiologia de Tuvira, *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) submetidos à exposição ao ar atmosférico. *Ensaio e Ciência*, 11(1), 2001.

OBA, E. T., MARIANO, W. S., ROMAGUEIRA, L., SANTOS, B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. *Manejo e Sanidade de peixes em Cultivo*, 8, 226-247, 2009.

RUALES, C. A. D., TORRES, W. V. Transporte iônico em El epitélio branquial de peces de agua dulce. *Revista Lasallista de Investigación*, 7 (1), 85-99, 2010.

SILFVERGRIP, A.M.C. A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae). Stockholm, Sweden, 1996. 156p. (PhD Thesis) - Department of Zoology, Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, 1996.

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

URBINATI, E. C., CARNEIRO, P. C. F. Sodium chloride added to transport water and physiological responses of Matrinxã *Brycon amazonicus* (Teleost: Characidae). *Acta Amazonica*, 36(4), 569-572, 2006.

WEIRICH, C.R.; TOMASSO, J.R.; SMITH, T.I.J. Confinement and transport-induced stress in white bass *Morone chrysops* x striped bass *M. saxatilis* hybrids: Effect of calcium and salinity. *Journal of the World Aquaculture Society*, 23: 49-57, 1992.

WURTS, W. A. Using salt to reduce handling stress in channel catfish. *World Aquaculture*, 26: 80-81, 1995.