

Artigo Número 94

FATORES ESTRESSANTES EM PEIXES

Ulisses Simon da Silveira¹, Priscila Vieira Rosa Logato², Edvânia da Conceição Pontes³

INTRODUÇÃO

Adaptados exclusivamente ao ambiente aquático, os peixes compreendem cerca de 25.000 espécies, um número maior do que a soma de todas as espécies de vertebrados terrestres conhecidos. Deste total, apenas umas poucas espécies são utilizadas economicamente para produção aquícola.

Um dos principais requisitos para o bom desenvolvimento da atividade de aquicultura é o conhecimento adequado da biologia das espécies utilizadas para o cultivo. O entendimento da fisiologia das espécies, do funcionamento dos sistemas orgânicos, suas interações e respostas, obtidas as diferentes alterações ambientais e aos métodos de criação, permitem o estabelecimento das melhores condições de cultivo das espécies.

Atualmente, nos modernos sistemas de aquicultura intensiva, os peixes são criados em altas densidades utilizando grandes quantidades de ração. Sob estas condições eleva-se a concentração de amônia, oriunda dos excrementos ou da excreção de nitrogênio, conjuntamente com a diminuição dos níveis de oxigênio dissolvido. Para ROTTA (2003), o tipo de manejo realizado com os peixes, a degradação da matéria orgânica do viveiro, a utilização de oxigênio dissolvido por uma carga excessiva de peixes no viveiro e a fermentação provocada por este tipo de cultivo, levam a um ambiente com péssimas condições para o crescimento e desenvolvimento dos peixes, levando-os a um estado crônico ou crítico de estresse.

Desde a década de 1970, estudos envolvendo o estresse dos peixes têm sido frequentemente realizados no campo da fisiologia. No ambiente, a resposta ao estresse pode ser vista como a capacidade dos peixes mobilizarem as reservas de energia de forma a evitar ou vencer imediatamente situações de ameaça. Em piscicultura intensiva, a situação de estresse está constantemente presente e pode afetar o desempenho produtivo dos peixes, prejudicando o estado de saúde e aumentando a suscetibilidade a doenças.

A produção intensiva de peixes ou o aumento dos estoques naturais não pode ser conseguido sem o uso de vários procedimentos de manejo no campo ou em laboratório que podem induzir ao estresse. O estresse inibe o crescimento através de efeitos sobre o metabolismo e alteração do sistema endócrino que regula o crescimento.

O metabolismo de crescimento em peixes é complexo e menos conhecido que outros mecanismos, como por exemplo, o metabolismo de controle da reprodução. As informações fisiológicas baseadas no estresse provocado pelas práticas culturais podem ser úteis no desenvolvimento de novas e melhores técnicas para aumentar a produtividade de cultivo.

¹ Professor da UEMS, Endereço para correspondência: ulissessimon@hotmail.com

² Professora do Departamento de Zootecnia - UFLA

³ Mestranda em Nutrição de Monogástricos - UFLA.

ESTRESSE

O conceito de estresse representa uma condição em que o animal é incapaz de manter um estado fisiológico normal devido a fatores chamados estressantes. (MelloMELLO, 1999). Segundo BARTON (2002), o estresse pode ser considerado como um conjunto de respostas não específicas do organismo a situações que ameaçam desequilibrar a sua homeostase. Os agentes de estresse ou estressores em peixes podem ser de inúmeros tipos, entre os quais contam de:

- A) Natureza física como o transporte, o confinamento ou manuseio.
- B) Natureza química como os contaminantes, o baixo teor de oxigênio ou pH da água: ácido ou alcalino, reduzido ou elevado.
- C) Percepcionados pelos peixes como, por exemplo, a presença de predadores.

Os agentes estressores também podem ser classificados como de curta (moderada) duração ou longa (prolongada) duração podendo apresentar diferentes intensidades. :

- A. A exposição moderada a estes agentes pode produzir nos peixes, uma resposta adaptativa, que restitui o equilíbrio ao organismo.
- B. Contudo, se os peixes estiverem sujeitos a agente de estresse intenso ou prolongados, a resposta pode torna-se mal adaptativa, com conseqüências negativas para o seu estado de saúde.

Em seu trabalho de pesquisa, CONTE (2004), reconheceu que o estresse pode ser considerado como um dos principais fatores responsáveis pela ocorrência de doenças e altas mortalidade em aquicultura.

Para GALHARDO e OLIVEIRA (2006), a resposta comportamental a agentes estressantes em peixes é também similar a encontrada em outros grupos de vertebrados: depende do tipo de agente de estresse a que estão submetidos e pode constituir um potente indicador da ocorrência de respostas fisiológicas.

As alterações comportamentais verificadas constituem mecanismos adaptativos que visam, em geral, reduzir ou eliminar a exposição à agentes de estresse. Quando possível, o comportamento mais imediato é a fuga ou imobilização. Se o contexto ambiental não permite a fuga, verificam-se alterações significativas do comportamento, tais como mudanças no ritmo e padrão natatório, redução ou alteração do comportamento antipredatório, disrupção do comportamento alimentar, aumento da procura de abrigo, redução do comportamento territorial (Galhardo e Oliveira, 2006).

PROCESSO DO ESTRESSE

O estresse fisiológico segue com o chamado desencadeamento da: "Síndrome de Adaptação Geral (SAG)". A resposta fisiológica a agentes estressantes em peixes é similar à verificada em outros vertebrados e tem sido descrita a três níveis por

BARTON (1997) e muitas delas têm sido usadas como indicadores de estresse em peixes.

As respostas de estresse são divididas em três categorias:

1) Primária

2) Secundária

3) Terciária.

- As respostas primárias são as hormonais (Ccatecolaminas e corticosteróides).
- As secundárias são mudanças nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos.
- As terciárias são o comprometimento no desempenho, mudanças no comportamento e aumento da suscetibilidade a doenças.

RESPOSTA PRIMÁRIA:

Para CARNEIRO (2001), de modo geral, a resposta primária, ou reação de alarme, inclui as mudanças neuroendócrinas imediatas à exposição ao agente de estresse, ou seja, os estímulos adversos são detectados por órgãos sensoriais e a partir deles, chegam ao hipotálamo, que estimula à liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) das células cromafins (homólogas da medula supra-renal dos mamíferos) através da via de Blaschko, começando com o aminoácido precursor tirosina, ocorrendo então, um aumento dos níveis dessas substâncias (catecolaminas) no plasma.

O hipotálamo também **estimula a liberação do fator liberador de corticotropina**, que provoca a **liberação da corticotropina no sangue**, a qual estimula a liberação de **corticosteróides**, principalmente **cortisol** das **células inter-renais** (homólogas do córtex supra-renal dos mamíferos), ocorrendo um aumento dos níveis dessas substâncias no plasma (Carneiro, 2001).

Esta resposta, geralmente independe do tipo de estressor, mas o aspecto quantitativo desta resposta depende da intensidade e duração do estímulo estressante (Carneiro, 2001). As catecolaminas e os hormônios corticosteróides estimularão a ocorrência de alterações bioquímicas e fisiológicas, estimulando a hidrólise das reservas de glicogênio no fígado, aumentando os níveis de glicose no sangue, diminuição da proteína muscular, aumento dos batimentos cardíacos, marcando o início do que se chama de resposta secundária (Carneiro, 2001).

A resposta endócrina inicial induz vários ajustes metabólicos, incluindo alterações nos níveis plasmáticos de glicose e eletrólitos. O Cortisol, o corticosteróide mais importante entre os teleósteos, contribui para a regulação da gliconeogênese e glicogênese (Carneiro, 2001).

Para VIJAYAN e MOON (1992), os altos níveis de cortisol favorecem a mobilização da glicose, fornecendo substrato para a demanda energética maior, comumente estimulada por um estressor.

RESPOSTA SECUNDÁRIA

A resposta secundária é classificada como uma fase de resistência e tentativa de adaptação, que é resultado dos níveis de catecolaminas e cortisol em circulação (Carneiro, 2001).

Segundo PICKERING (1993), a resposta secundária inclui uma série de alterações, entre as quais se contam:

- A) Alteração das taxas de circulação de outros hormônios (da pituitária e tireóide).
- B) Alteração das taxas de reconversão de neurotransmissores cerebrais
- C) Aumento da taxa cardio-respiratória
- D) Mobilização de energia (a partir de reservas de hidratos de carbono, lipídios e proteínas).

Para THOMAS (1990), as CATECOLAMINAS catecolaminas causam aumento dos níveis de glicose no plasma, pela mobilização das reservas de glicogênio hepático (glicogenólise), enquanto os CORTICOSTERÓIDES corticosteróides mantêm a hiperglicemia estimulando o catabolismo protéico e a gliconeogênese.

Segundo McDONALD e MILLIGAN (1997), a hipersecreção de catecolaminas e corticosteróides também induz mudanças hematológicas. Estes pesquisadores comentam que o estresse causa hemodiluição ou hemoconcentração em muitas espécies de peixes teleósteos, alterando os valores de hematócritos e outros parâmetros hematológicos.

Segundo CHEN et al (1995), a diminuição do hematócrito tem sido observada em várias espécies submetidas a estímulos estressantes agudos.

Além disso, atenção tem sido dada aos distúrbios osmorregulatórios induzidos pelo estresse, o qual desordena o balanço aquoso e mineral. MAZEUD et al (1977), citam que o estresse pode afetar o peso dos peixes, ocorrendo perda de peso em espécies marinhas e ganho de peso em peixes de água doce. Os distúrbios osmóticos e iônicos levam ao decréscimo da osmolaridade em peixes de água doce.

CECH et al (1996) citam que a elevação dos níveis de adrenalina induz o aumento da permeabilidade do epitélio branquial à passagem da água, levando a mudanças nos níveis de eletrólitos sanguíneos em ambientes hiper ou hipotônicos (Fig. 1).

McDONALD e MILLIGAN (1997) comentam que cada espécie de peixe tem a capacidade de regular as concentrações internas de seus fluídos dentro de certos limites, sendo uma característica do estresse à extrapolação destes limites. Os fluídos corporais devem ser regulados o tempo todo e mudanças em sua composição podem ser induzidas por uma grande gama de fatores ambientais.

É difícil identificar o momento exato em que o efeito causado por um estímulo começa a afetar a condição normal do peixe. Contudo, no momento em que os efeitos na regulação osmótica e eletrolítica são aparentes, a saúde dos peixes já pode estar severamente comprometida (McDonald e Milligan, 1997).

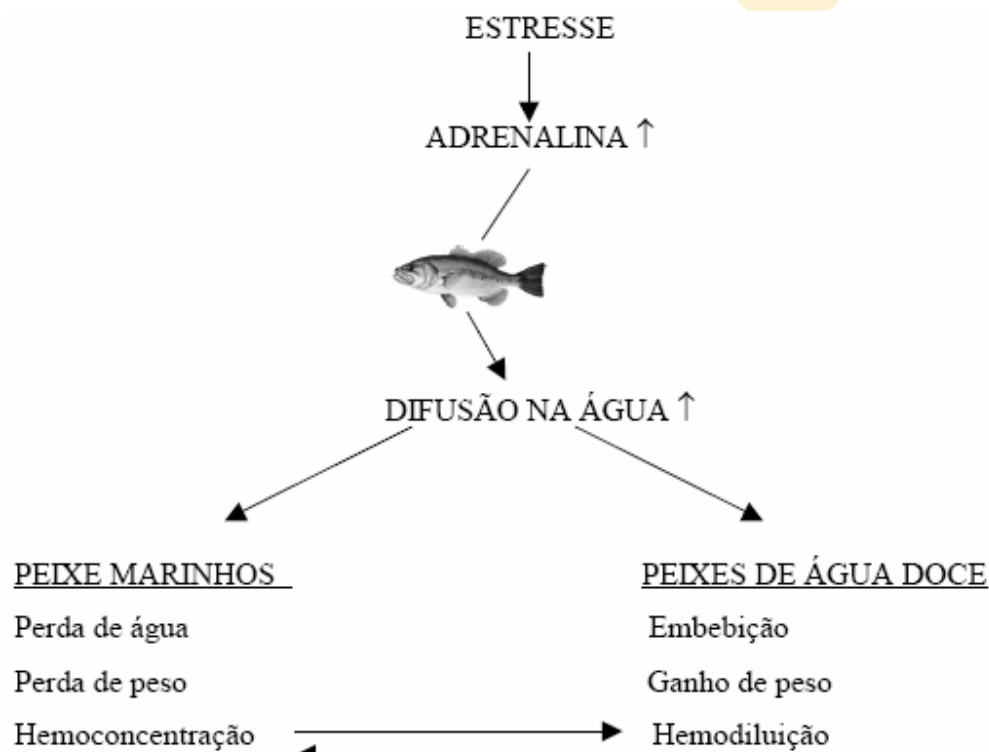


Figura 1: Efeito do estresse no balanço osmótico

RESPOSTA TERCIÁRIA

Para CARNEIRO (2001), a resposta terciária ocorre numa fase de exaustão do organismo, quando a exposição a agentes estressores se torna crônica e inclui alterações na função imune e da resistência às doenças e aos agentes infecciosos, podendo inclusive comprometer a resistência natural dos peixes aos parasitas normalmente presentes nos corpos d'água. Os mecanismos de defesa podem torna-se comprometidos devido ao decréscimo de células vermelhas circulantes. Ocorrem também mudanças na taxa de crescimento e na reprodução. Este nível de resposta já excedeu a capacidade de adaptação do organismo, sendo por isto considerada mal adaptada.

COSTA (1998) cita que, quando o fator estressante é severo, pode levar o peixe à perda da capacidade de realizações de adaptações, chegando a um estado de exaustão, muitas vezes conduzindo à morte.

MONITORAMENTO DO ESTRESSE.

BARTON (2002) cita que o monitoramento do estresse em peixes por meio do acompanhamento das condições fisiológicas dos animais é uma ferramenta muito útil na aquicultura. CARNEIRO (2001) cita que existem muitos bioindicadores para a avaliação do estresse e da saúde dos peixes. Entretanto, o emprego de apenas um indicador, analisado isoladamente, pode não ser suficiente para avaliar o estresse em uma espécie.

BARTON (2002) o cortisol, principal corticosteróide em peixes, é considerado um bom indicador para avaliação de estresse primário (BARTON, 2002). Os resultados de dos níveis glicêmicos de cortisol podem ser facilmente comparados com outras espécies, uma vez que existe vasta vastos valores que podem servir de referência na literatura especializada sobre este indicador.

Um bom indicador para resposta secundária é a glicose do sangue ou plasma, pois esta avaliação pode ser realizada nano local da criação, com medidores de glicose de simples utilização e facilmente encontrados no mercado. O lactato também é um bom indicador de estresse, e indica o acúmulo de ácido lático decorrente do aumento físico à medida que os animais são expostos a agentes estressores (Fig. 2).

EIXO HIPOTALÂMICO- PITUITÉRIA- INTERRENAL (HPI)

Segundo PICKERING (1993), o eixo hipotalâmico-pituitéria-interrenal (HPI) é estimulado em resposta à maioria, senão todas, as formas de estresse. O efeito catabólico do cortisol em estresse crônico pode ser responsável pela supressão do crescimento. Esta conclusão é fortemente suportada por resultados proveniente de estudos com o uso do cortisol em peixes com condições normais, uma vez que estudos têm demonstrado que o cortisol pode estimular a liberação do hormônio do crescimento (Pickering, 1993).

Por outro lado, há evidências de que as taxas de crescimento continuam a ser afetadas em peixes estressados, com níveis de cortisol no plasma, já recuperados. Supõe-se, uma vez que outros componentes do sistema endócrino estão envolvidos no crescimento. Alguns estudos têm demonstrado que o cortisol pode estimular a liberação do hormônio do crescimento (Pickering, 1993).

O hormônio do crescimento (GH) está envolvido no crescimento, pois aumenta o apetite e a eficiência na conversão do alimento. Porém a secreção deste hormônio pela glândula pituitária é inibida pelos peixes em condições de estresse, fenômeno este, demonstrado pelaem truta arco-íris, que em 24 horas de confinamento apresentou diminuição do nível de GH no plasma. PICKERING (1993) observou que, em confinamento, ocorreu uma diminuição nos níveis de testosterona e 11-ketosterona em machos de truta arco-íris, sendo tal efeito igualado ao efeito do tratamento com cortisol em peixes não submetidos à situação de estresse. O cortisol atua na pituitária, inibindo a secreção de gonadotropina e na gônada diminuindo a produção de esteróides. Em fêmeas, o cortisol atua no fígado, reduzindo, reduzindo o número de receptores hepáticos para o estradiol.

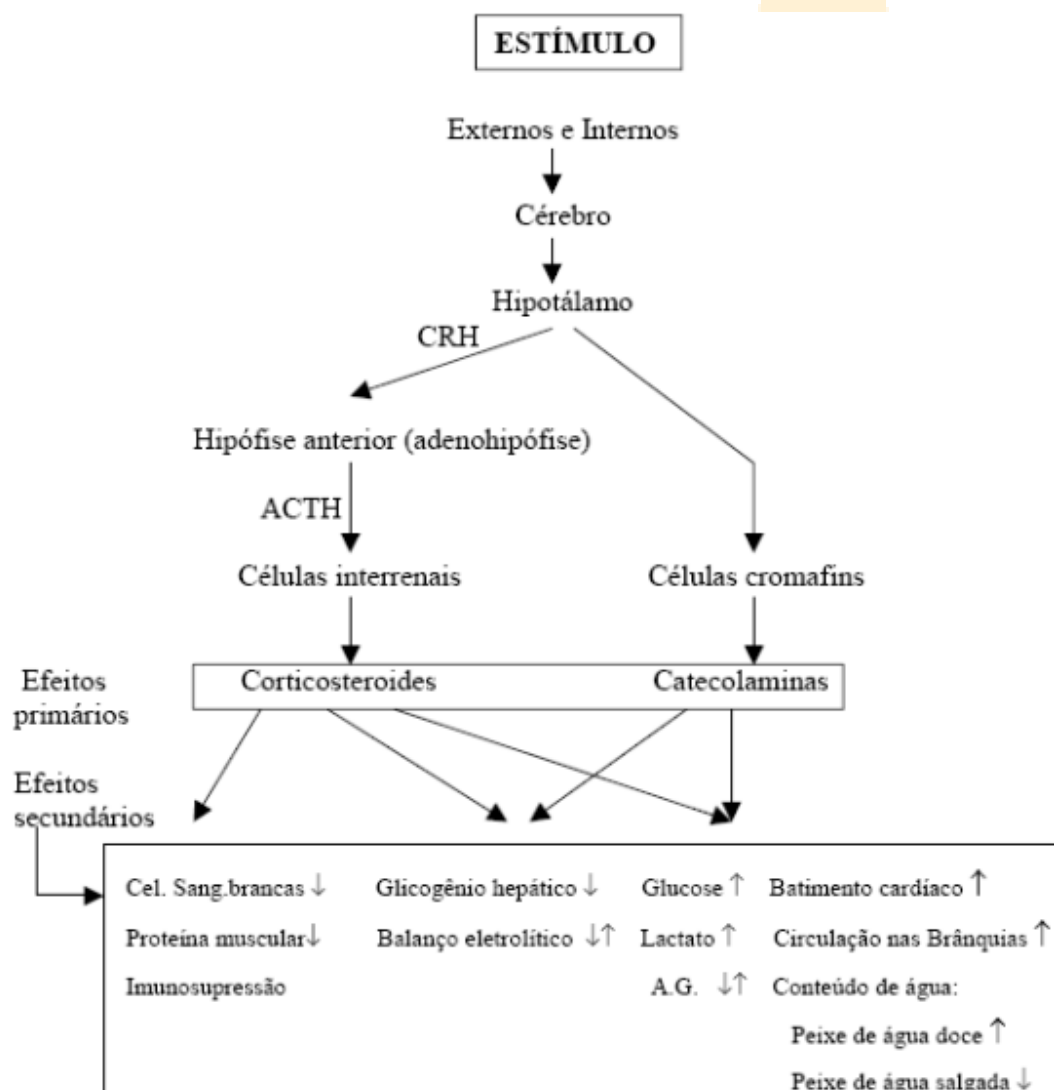


Figura 2: Efeitos primários e secundários ao estresse (MAZEUDMazeud et al, 1977).

CARNEIRO e URBINATI (1999) observaram que o estresse também pode exercer efeitos inibitórios do crescimento através da diminuição dos níveis plasmáticos dos hormônios T3 e T4, através da alteração do estado nutricional causada pela redução na quantidade de alimento ingerida induzida pelo estresse, também sendo observada influência do cortisol neste processo.

FATORES ESTRESSANTES EM PEIXES

As alterações bioquímicas no organismo dos peixes ocorridas após a ação de um fator estressante dependem, principalmente, da natureza deste fator. PICKERING e

POTTINGER (1995) consideram que se ocorrer uma fonte de estresse de natureza respiratória, essas alterações envolveram o aumento da dopamina, um neurotransmissor, precursor natural da adrenalina e da noradrenalina, que tem como função a atividade estimulante do sistema nervoso central, estimulando os receptores adrenérgicos do sistema nervoso simpático e atuando sobre os receptores dopaminérgicos nos leitos vasculares renais, mesentéricos, coronarianos e intracerebrais, produzindo vasodilatação. A dopamina aumentará os níveis de adrenalina e noradrenalina no plasma, a elevação da concentração de hemoglobina no sangue e de glicose no plasma, reduzindo a concentração de glicogênio no fígado e nos músculos.

HIPÓXIA EM PEIXES

Incluída na categoria de fatores estressantes químicos, a falta de oxigênio dissolvido na água é considerada a principal causa da mortalidade de peixes em viveiros de piscicultura. De acordo com BOYD (1996), a quantidade de oxigênio exigida pelos animais aquáticos depende da espécie, tamanho, consumo de alimento, atividade, temperatura da água, da concentração de oxigênio dissolvido na água etc.

A hipóxia pode acontecer quando o número de peixes no tanque está acima da capacidade de suporte do viveiro, o que aumenta a demanda por oxigênio na água. O problema também ocorre à noite, quando todos os seres do reservatório, como as algas e as plantas macrófitas consomem oxigênio ao mesmo tempo. Segundo padrão de recomendação, o nível ideal da concentração de oxigênio dissolvido esteja entre os valores de 2,0 a 7,0 mg/litro. Abaixo disto apenas espécies mais rústicas e tolerantes como a tilápia, *Oreochromis sp*, apresenta maior resistência a hipoxia. Embora algumas espécies apresentem tolerância a hipoxia, a intensidade e a duração do problema iram fatalmente comprometer o desenvolvimento do peixe, a produtividade do viveiro, podendo ocasionar a mortalidade total do plantel. Uma indicação de que há pouco oxigênio dissolvido é quando o peixe começa a procurar a superfície da água, pois esta é a fração mais rica em oxigênio. O lábio inferior do peixe inicia um processo de expansão, canalizando a água diretamente para as brânquias. Durante períodos de 12 horas expostos à hipoxia, os peixes têm os parâmetros como cortisol plasmático e lactato alterados no sangue.

BOYD (1996), relata que os níveis de CO₂ nos sacos plásticos de transporte podem chegar a 300mg/L, sendo o normal observado em viveiros de alta produtividade níveis de 10 mg/L. Em altas concentrações, o CO₂ desacelera o metabolismo dos peixes, reduzindo o consumo de oxigênio, diminui a utilização de glicose, elevando a concentração da mesma no sangue. Outro problema relacionado ao CO₂ é que o aumento dos níveis na água reduz a velocidade de eliminação através da redução do gradiente de difusão do CO₂ através das brânquias, resultando em um aumento do CO₂ no sangue, afetando o equilíbrio ácido-base e o transporte de oxigênio das brânquias para os tecidos. O aumento dos níveis internos de CO₂ afeta a afinidade do oxigênio no sangue (efeito Bohr) e o aumento da acidez do sangue devido ao aumento do CO₂ também reduz a saturação do oxigênio no sangue (efeito Root). Os efeitos são mostrados na Tabela 1.

STEFFENS (1989) cita que o estresse causado por problemas de baixos níveis de oxigênio na água resulta em um aumento da excreção de vários íons. Imediatamente após uma situação de hipoxia, em trutas arco-íris, ocorre um aumento na excreção de urina, com um aumento na concentração de ácido láctico, Na, K, Mg, Cl e PO₄ na urina. Esta manifestação deve ocorrer em combinação ao aumento da eliminação de

glicocorticóides (cortisol) e pode possivelmente ser compensado pelo aumento destes íons via brânquias.

Tabela 1: Características do plasma de largemouth bass expostos a altas e baixas concentrações de O₂, altas concentrações de CO₂ e elevadas concentrações de NH₃

Testes	Concentrações mg/L	Corticosteróides (µg/100 ml)		Glicose (mg/dl)	
		Não confinados	Confinados	Não confinados	Confinados
Controle		0,7	8,5	61	124
Dissolvido					
Após breve exposição	< 1	2,9	4,6	132	137
Após 24 h recuperação	5-6	0,7	11,9	42	116
Após 24 h exposição	11	1,3	9,5	60	116
Após 24 h recuperação	5-6	0,8	11,2	39	121
CO₂					
Após 24 h exposição	135	3,3	13,1	289	194
Após 24 h recuperação	35	0,7	12,3	62	130
NH₃					
Após 24 de exposição	0.04	0.2	6,6	80	200
Após 24 h recuperação	Não medido	0,3	8,8	114	210

O2

INFECÇÃO E INFLAMAÇÃO

Segundo ROTTA (2003), em situações de estresse ou de saúde debilitada, os peixes ficam propensos às infecções bacterianas. Sua primeira defesa contra estes patógenos é através das barreiras naturais como a pele e o epitélio das membranas. Após a invasão do patógenos, ocorrem respostas do sistema imunológico, principalmente respostas não específica através da atividade dos leucócitos (células brancas do sangue), os quais possuem uma elevada atividade fagocítica, destruindo os organismos patogênicos.

De acordo com FREITAS (2001), os processos infecciosos, inflamatórios e cicatríciais e seus mecanismos de controle são bem conhecidos em mamíferos, mas pouco se conhecem desses processos em outras classes, principalmente os peixes.

As primeiras observações sobre a infecção e a inflamação em peixes foram realizadas por METCHINIKOFF (1893) apud FREITAS (2001) referente aos estudos sobre fagocitose de eritrócitos de cobaias injetados na cavidade peritoneal de goldfish. Daí por diante, iniciaram-se os vários estudos com diferentes modelos experimentais de inflamação induzida pela inoculação de agentes biológicos e químicos em diferentes espécies de peixe como lesão induzida por micobactérias, terebenzina, *Aeromonas hydrophila*, *flavobactérias*, adjuvante completo de Freund, *Staphylococcus aureus* morto por calor, carragenina, agentes químicos como querosene, glicogênio entre outros.

Estes estudos tentaram caracterizar morfológica e cineticamente a inflamação, tanto de caráter exudativo como as características crônicas e proliferativas. Quando o organismo consegue, pela inflamação aguda ou mesmo crônica, remover o agente agressor segue-se à fase de demolição com a eliminação de restos celulares para que o processo de reparo tenha início.

Adicionalmente, CARNEIRO (2001) cita que as situações estressantes podem proporcionar uma condição mais propícia ao desenvolvimento de organismos patógenos, favorecendo sua proliferação. O estresse pode comprometer a resistência natural dos peixes aos parasitas normalmente presentes nos corpos d'água, afetando componentes específicos e não específicos do sistema imunológico.

BALM (1997) relata que devido ao fato dos processos celulares e humorais de defesa dos peixes dependerem do metabolismo energético para o bom funcionamento fisiológico, qualquer alteração no fornecimento de energia pode causar efeitos deletérios no organismo. Em peixes, este processo acontece em duas etapas: a primeira inicial e precoce, que é a eliminação do tecido lesado e a reepitelização da ferida, e a segunda, mais tardia, compreende a reorganização do tecido conectivo dérmico.

De acordo com BEREITERHAHN et al (1986) apud FREITAS (2001), o processo de reepitelização em teleósteos ocorre em cinco estágios:

- A) Preenchimento da cavidade por debris celulares e muco
- B) Destacamento da epiderme da lâmina basal, que ocorre poucos minutos após a injúria.
- C) Migração das células epiteliais para a cavidade da ferida com perda do contato celular.
- D) Migração convergente, vinda de diversas regiões, refazendo a continuidade celular
- E) Crescimento diferenciado e remodelamento das células novas até alguns dias após a injúria.

Na derme de peixes, o processo de reparo tem início com a ruptura dos capilares, ocorrendo eventos em cascata de coagulação, como o aumento da permeabilidade celular e migração de células inflamatórias até a região central e avascular da ferida. O processo continua com a proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno e matriz extracelular e de células endoteliais.

Segundo ROSS et al (1995) apud FREITAS (2001), uma das principais funções da vitamina C é a sua ação na síntese de colágeno, permitindo a hidroxilação da prolina e lisina, elementos fundamentais na formação e estabilização desta substância. Esta hidroxilação ocorre ainda dentro da célula, no retículo endoplasmático rugoso. A síntese de colágeno é dependente da atividade celular de fibroblastos e a vitamina C tem papel fundamental na maturação destas células nos peixes. A demora na cicatrização de ferimentos, em peixes alimentados com dietas isenta de vitamina C, pode ser atribuída à baixa síntese de colágeno. Na figura 3 é demonstrada a participação da vitamina C na síntese de colágeno.

Segundo HAVER (1972) apud ROTTA (2003), peixes alimentados com ácido ascórbico mostraram que esta vitamina é rapidamente absorvida pelas áreas onde o colágeno é fortemente formado, isto é, na pele, nadadeira caudal, cartilagens da cabeça e do maxilar, cartilagens que suportam brânquias e os ossos.

Muitos autores citam os benefícios da suplementação dietética com vitamina C e relatam a importância dessa suplementação para prevenir infecções. Trabalhos de DURVE e LOVELL (1982), LI e LOVELL (1985) e LI et al (1993), apud FREITAS (2001), com catfish (*Ictalurus punctatus*) observaram 100% de infecção com bactéria patogênica *Edwardsiella tarda* e *Edwardsiella ictaluri* (Tabela 2) em peixes que não receberam

vitamina C na dieta e 0% em peixes suplementados com 300 mg de vitamina C por kg de ração.

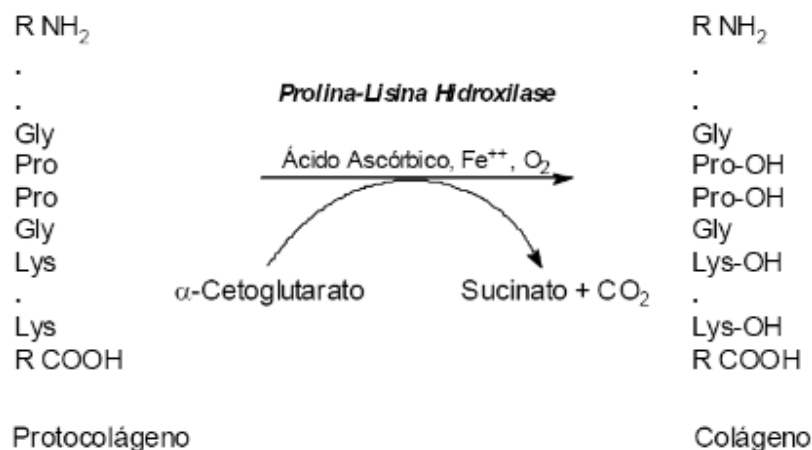


Figura 3: Síntese de colágeno (ROTTA, 2003)

Tabela 2: Porcentagem da mortalidade do catfish alimentado com níveis crescentes de vitamina C e infectados com a bactéria *Edwardsiella ictaluri*

Nível de vitamina C (mg/kg)	Porcentagem da mortalidade (8 dias após a infecção)
0	100
30	70
60	70
150	35
300	15
3.000	0

Fonte: LI & Lovell (1985).

Também WAHLI et al (1986) e HARDIE et al (1991) apud FREITAS (2001), demonstraram que infecções por protozoários podem ser evitadas ou diminuídas pela suplementação de vitamina C. Os peixes apresentaram maior resistência às doenças, *Icthyophthirius multifiliis* e *Cryptocaryon irritans*, quando sua dieta foi suplementada com 5000 mg vitamina C / kg.

NAVARRE e HALVER (1989) apud FREITAS (2001) observaram que a produção de anticorpos e a sobrevivência de trutas (*O. mikiss*) infectadas por *Vibro anguillarum* aumentaram quando os peixes foram alimentados com rações suplementadas com vitamina C, em quantidades superiores ao requerido para o crescimento.

TRANSPORTE

O transporte de peixes é uma etapa muito importante na piscicultura. Os peixes vivos são transportados para diversos destinos, incluindo a indústria processadora e os

estabelecimentos que tem a atividade voltada principalmente para a pesca esportiva amadora. Em ambos os casos, os peixes devem chegar com boas condições fisiológicas para satisfazer os critérios exigidos pelo comprador (Wurts, 1995).

A tolerância ao transporte está relacionada à habilidade do peixe em resistir ou adaptar-se a mudança e situações adversas. O Como exemplo, o matrinxã, *Brycon cephalus*, peixe teleósteo nativo da bacia do rio Amazonas, é uma espécie muito importante para a aquicultura brasileira. Foi introduzido com sucesso na região sudeste do país, onde tem sido criada comercialmente, principalmente para atender a demanda pelo setor voltado a pesca desportiva. Entretanto, esta espécie tem-se mostrado muito sensível ao estresse de transporte, sendo que altas taxas de mortalidade são comumente observadas após esta operação (Kubitza, 1997). O transporte é um procedimento traumático que consiste de uma sucessão de estímulos adversos, incluindo a captura, o carregamento das unidades de transporte, o transporte, o descarregamento e a estocagem dos peixes no viveiro de destino.

Para CARNEIRO (2001), o transporte é uma importante fonte de estresse que juntamente com o estresse causado pela captura e carregamento, torna o peixe muito susceptível ao ataque de parasitas e doenças infecciosas. Estudos prévios têm demonstrado que o efeito do estresse é muito mais pronunciado durante a captura, o carregamento e a primeira hora de transporte, do que durante o transporte ao todo propriamente dito. Os procedimentos e técnicas utilizados durante a despesca são muito importantes para o sucesso do transporte de peixes. Uma grande variedade de métodos tem sido usada para reduzir os efeitos adversos causados pelas operações envolvidas no transporte. Para EMATA (2000), o transporte de várias espécies de peixes de água doce tem sido facilitado por técnicas como a restrição alimentar pré-transporte e o uso de substâncias como anestésicos e cloreto de sódio na água de transporte.

JEJUM ALIMENTAR NO TRANSPORTE

Para TUCKER (1985), o jejum ou a restrição alimentar antes do transporte são procedimentos importantes, porque reduzem o consumo de oxigênio e a excreção de amônia e gás carbônico pelos peixes. Segundo JARBOE (1995), recomenda-se um jejum de 48 horas antes do transporte, pois os peixes se recuperam mais rapidamente do estresse, além de que os peixes depurados entram nos tanques de transporte com trato digestivo praticamente vazio, reduzindo impacto do material fecal na água de transporte e contato com a pele dos peixes (Tabela 3).

Tabela 3: Efeito do jejum de 48 horas na qualidade da água no transporte de tilápias em tanques (26°C, 575 kg/1000L, 5 horas de transporte) ou em sacos plásticos (27°C, 270 g/L, 20 horas de transporte)

Parâmetros	Sacos Plásticos – 20 horas		Tanques – 8 horas	
	jejum	sem jejum	jejum	sem jejum
Condição do peixe				
Amônia total (mg/L)	83	132	43	53
Gás carbônico (mg/L)	131	307	72	102

Fonte:JARBOE 1995

USO DE SAL COMUM (NaCl) E ANESTÉSICO NO TRANSPORTE

O uso de sal e anestésico, sozinhos ou combinados, tem sido recomendado para reduzir o estresse de várias espécies de peixes. Os anestésicos são benéficos para diminuir a excitação dos peixes, evitando injúrias físicas durante o transporte. Estas substâncias podem contribuir para a redução da excreção de amônia e gás carbônico, assim como do consumo de oxigênio, diminuindo a deterioração da qualidade da água.

Para WURTS (1985), o sal comum é o principal aditivo recomendado para o transporte de peixes destinados ao consumo humano. O sangue dos peixes entra em contato muito íntimo com o ambiente externo quando ele é bombeado através dos capilares presentes no epitélio branquial. Os íons passam por difusão de regiões de alta concentração (sangue) para locais de baixa concentração (água doce), sendo os íons, principalmente sódio e cloreto, continuamente perdidos para o ambiente. Esta perda de sais é reposta pela reabsorção durante a ingestão de alimentos ou diretamente do ambiente, através de processos dependentes de energia em células especializadas presentes no epitélio branquial e em outros órgãos dos peixes de água doce.

As brânquias e a pele dos peixes são revestidas por uma fina camada de muco que auxilia na redução da perda de sais para o ambiente externo. A captura ou o manejo dos animais remove parte desta camada protetora. O estresse causado pelas operações de transporte e a perda de muco provocam aumento da demanda energética nos peixes, que já estavam debilitados. A perda excessiva de sais pode causar falhas no batimento cardíaco, assim como espasmos musculares. A adição de cloreto de sódio pode minimizar as perdas de íons do sangue durante o transporte pela diminuição do gradiente osmótico entre plasma e o ambiente, reduzindo o custo energético dos processos osmorregulatórios (Wurts, 1995).

RESULTADOS OBSERVADOS COM SAL E ANESTÉSICOS

Uma melhor qualidade da água de transporte permite o aumento da densidade de peixes transportados, possibilitando o transporte por períodos mais longos (Carneiro, 2001), . mas Contudo, WURTS (1995) cita que muitos trabalhos têm demonstrado que o uso de anestésicos durante o transporte pode provocar as mesmas alterações fisiológicas causadas pelo estresse de manejo. Na verdade, existem resultados contraditórios sobre os efeitos de diferentes anestésicos, diluídos na água de transporte, nas respostas fisiológicas de diferentes espécies de peixes.

CARNEIRO (2001), cita destacou que há pesquisas indicando que CARMICHAEL et al (1984) observaram que a taxa de sobrevivência após o transporte pode ser aumentada para largemouth bass, *Micropterus salmoides*, se a água utilizada no transporte conter pequenas concentrações de anestésicos e concentrações de sal (NaCl) próximo ao nível de soro fisiológico (0,6%), que TOMASSO et al (1980) relataram que a combinação de sal e anestésico na água de transporte erapodenso ser a forma mais eficiente para o sucesso da operação de transporte. Por outro lado, e comenta que DAVIS et al (1982) encontraramdestaca que o uso do sal combinado com certos tipos de anestésicos pode aumentar os níveis séricos de cortisol nos peixes. Desta forma, o uso de determinados anestésicos deve ser bem avaliado para se evitar problemas mais graves como mortalidade e injúrias físicas, causados pelo uso de concentrações inadequadas no striped bass, *Morone saxatilis*.

PROBLEMA DA AMÔNIA NO TRANSPORTE

De acordo com BOYD (1996), o principal mecanismo de excreção da amônia é através de fluxo passivo, onde a amônia passa do sangue circulante, nos vasos capilares branquiais, para a água. Porém, quando os níveis de amônia estão altos, comum no transporte, ocorre troca dos íons amônio (NH_4^+) por íons sódio, elevando a concentração de sódio e mantendo constante a concentração de amônia no sangue. Este fato ocorre sob condições de pH alcalino entre 7,0 e 8,0. No caso da adição de sal (NaCl) na água, aumenta a disponibilidade de sódio e pode favorecer a excreção ativa de amônia (Fig. 4).

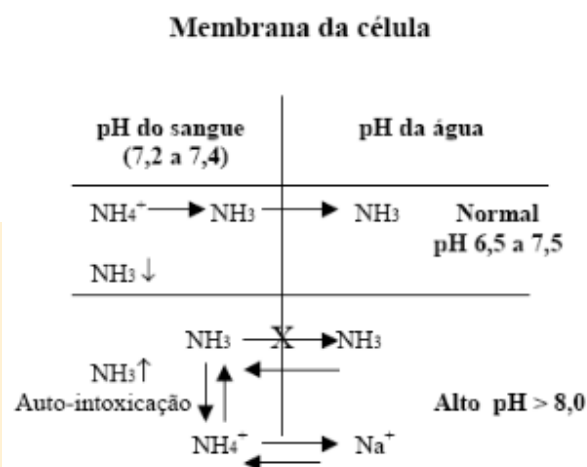


Figura 4: Mecanismos de excreção de amônia: Efeitos do pH na excreção e na auto-intoxicação dos peixes por amônia.

A VITAMINA C E A RESPOSTA AO ESTRESSE

Sabe-se que a vitamina C tem ação positiva no tratamento de doenças e na resistência ao estresse. A disponibilidade de vitamina C e o estado nutricional podem influenciar na dispersão da infecção por afetarem a produção e manutenção dos tecidos de reparo.

ROTTA (2003) cita que um crescimento substancial na atividade proteolítica plasmática não-específica pode ser estimulado por bactérias patogênicas que produzem endotoxinas ou por certos tipos de situações estressantes. Condições de estresse crônico, como o que ocorre quando há baixo oxigênio dissolvido nas unidades de criação, tendem a diminuir a atividade dos lisossomos, enquanto que situações de estresse agudo, como ocorre no transporte e no confinamento, levam ao aumento do mesmo.

Portanto Com base nisso, MONTERO et al (1999) cita que é possível que o estresse agudo possa agir sinergicamente com a deficiência em vitamina C, para facilitar a dispersão dos patógenos invasores nos tecidos dos peixes.

Os corticosteróides estão associados com o rim anterior, onde funções adrenais estão localizadas nos tecidos inter-renais, que estão sobre controle do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), e que é rico em ácido ascórbico, refletindo mudanças na sua concentração conforme o nível de vitamina C na dieta.

Pesquisas com o salmão prateado indicaram que após duas horas de pequeno estresse, o salmão prateado apresentou verificou-se uma diminuição nos níveis de ácido ascórbico nos rins durante os primeiros 20 minutos, seguidos de uma recuperação após duas horas a, praticamente, o mesmo nível inicial.

Como não houve um aumento concomitante do nível plasmático de ácido ascórbico, WEDEMEYER (1969) apud ROTTA (2003), sugere que o ácido ascórbico possa ser utilizado na biossíntese de esteróides, pois o cortisol sérico aumentou enquanto a concentração de ácido ascórbico diminuiu.

DABROWSKI et al (1994) apud ROTTA (2003) também afirmam que o ácido ascórbico é um co-fator na biossíntese de hormônios esteróides e de neuro-hormônios. Foi observado que um nível significativamente menor de hormônios esteróides e neuro-hormônios em trutas arco-íris que foram alimentadas com dietas deficientes em vitamina C.

KITABCHI (1967) apud ROTTA (2003), contudo, afirma destaca que altos níveis de ácido ascórbico possuem uma função inibitória na síntese de esteróides, pois previnem a conversão dos ácidos graxos insaturados em ésteres de colesterol, os quais são incorporados nos esteróides. Esta foi a conclusão que levou a sugerir que o aumento da disponibilidade de ácido ascórbico possa prevenir a severidade da resposta ao estresse nos peixes.

Ainda é controversa a função do ácido ascórbico na biossíntese de cortisol. O ácido ascórbico possui uma função específica na biossíntese de catecolamina (adrenalina e noradrenalina), que é outro hormônio relacionado ao estresse.

A enzima dopamina B-hidroxilase necessita da forma reduzida do íon cobre (Cu) como co-fator, tendo o ácido ascórbico uma ação efetiva na manutenção deste co-fator na sua forma ativa reduzida, como pode ser visto na figura 5.

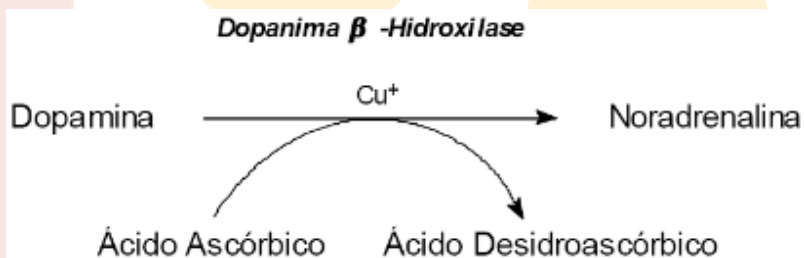


Figura 5: Biossíntese da noradrenalina

FLETCHER (1997) apud ROTTA (2003) cita que não parece haver qualquer estudo bioquímico que confirme o envolvimento do ácido ascórbico na biossíntese dos corticosteróides ou catecolaminas nos peixes.

Mesmo que o ácido ascórbico não tenha sido provado como sendo um atenuante das respostas dos peixes a certos tipos de estresse, WAAGBO (1994) comenta que parece haver pouca dúvida de que o aumento dos níveis dietéticos de vitamina C contribui para aumentar a resistência para doenças e para o aumento da resposta imunológica nos peixes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALM, P.H.M. Immune-endocrine interaction. In: IWAMA, G.W.; et al. (Ed). **Fish stress and health in aquaculture**. Cambridge: University Press, p. 195-221, 1997.
- BARTON, B. A. Stress in finfish: Past, present and future – A historical perspective. In G. K. Iwana, A. D. Pickering, J. P. Sumpter, & C. B. Schreck (Eds.), **Fish stress and health in aquaculture** (pp. 1-33) (Society for Experimental Biology, Seminar Series, 62) Cambridge: Cambridge University Press. 1997
- BARTON, B. A. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, p. 517-525, 2002
- BOYD, C.E. **Water quality in ponds for aquaculture**. Hatyai: Shrimp Mart, 1996. 482 p.
- CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. Stress e crescimento de peixes em piscicultura intensiva. In: **III SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES**, Anais, Campinas: 1999. p.25-40..
- CARNEIRO, P.C.F. Estresse provocado pelo transporte e respostas fisiológicas do matrinxã, *Bricon cephalus* (Teleostei: Characidae). Jaboticabal, UNESP, 2001, 136 p. (Tese, Doutorado)
- CECH, J.J.R.; et al. Striped bass exercise and handling stress in freshwater: physiological responses to recovery environment. **Trans. Am. Fish Soc.**, v.125, p. 308-320, 1996.
- CHEN, R.G.; et al. Characteristic of blood in common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to low temperatures. **J. Appl. Aquac.**, v.5, p. 21-31, 1995.
- CONTE, F. S. Stress and the welfare of cultured fish. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 86, p. 205-223, 2004.
- COSTA, A.B. Ictiopatologia e manejo sanitário em piscicultura intensiva. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 2, Piracicaba, 1998. Anais, p.73-96.
- EMATA, A.C. Live transport of pond-reared milkfish *Chanos chanos* broodstock. **J. World Aquacult. Soc.** v. 31, p. 279-2382, 2000.
- FREITAS, J.B. Cinética do processo inflamatório e reparação tecidual em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com ração suplementada com diferentes concentrações de vitamina C. Jaboticabal, UNESP, 2001. 45 p. (Dissertação mestrado) .
- GALHARDO, L.; OLIVEIRA, R. Bem-estar Animal: um conceito legítimo para peixes? **Revista de Etologia**, v.8, n.1, p. 51-61, 2006.
- JARBOE, H.H. Diel dissolved oxygen consumption and total ammonia nitrogen production by fingerling channel catfish following feeding at different times. **The Progressive Fish Culturist**, v.57, p. 156-160, 1995.
- KUBITZA, F. Transporte de peixes vivos. Parte 1. **Panorama da Aqüicultura**, v.7, p. 20-26, 1997.
- MAZEAUD, M.M.; ET AL. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. Transactions of the American Fisheries Society, v. 106, p. 201-212, 1977.
- McDONALD, G.; MILLIGAN, L. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: IWAMA, G.W.; et al., (Eds): **Fish stress and health in aquaculture**. Cambridge: University Press. 1997, p. 119-144.

MELLO, R.F. Influência da suplementação da dieta com vitamina C no crescimento e resistência à hipoxia em alevinos de piaussú (*Leporinus obtusidens*). Piracicaba, USP, 1999. 41 p. (Dissertação mestrado)

MONTERO, D.; et al. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. **Aquaculture**, v.171, p. 269-278, 1999.

PICKERING, A.D. Growth and stress in fish production. **Aquaculture**, v. 111, p. 51-63, 1993.

PICKERING, A.D.; POTTINGER, T.G. Biochemical effects of stress. In: HOCHACHKA, P>W.; MOMMSEN, T.P. (Ed.) **Environmental and ecological biochemistry**. Amsterdam: Elsevier, 1995. c.17. p. 349-376.

ROTTA, M. A. **Utilização do ácido ascórbico (vitamina C) pelos peixes** EMBRAPA Pantanal, 54 P. 2003.

STEFFENS, W. Principles of fish nutrition. Chichester: Ellis Horwood Limited, 1989. 384 p.

THOMAS, P. Molecular and biochemical response of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring. In: ADAMS, S.M. (Ed.) **Biological Indicators of Stress in Fish**. Bethesda: American Fisheries Society, 1990. p.9-28.

TUCKER, C.S. Channel catfish culture. Amsterdam: Elsevier, 1985, 657 p.

VIJAYAN, M.M.; MOON, T.W. Acute handling stress alters hepatic glycogen metabolism in food-deprived rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Can. J.Fish Aquat. Sci.**, v.49, p. 2260-2266, 1992

WAAGBO, R. The impact of nutritional factors on the immune system in Atlantic salmon *Salmo salar* L.: a review. **Aquaculture and Fisheries Management**, Oxford, v. 25, p. 175-197, 1994.

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