

RESPOSTAS HEMATOLÓGICAS E PLASMÁTICAS DE MATRINXÃS *Brycon amazonicus* EXERCITADOS E SUBMETIDOS AO TRANSPORTE

Gustavo Rojas*, Araceli Hackbarth, Luís Antônio Kioshi Aoki Inoue,
Guilherme Silveira Simões e Gilberto Moraes

Universidade Federal de São Carlos - Departamento de Genética e Evolução, CEP 13565-905 São Carlos, SP.
Fone: (16) 3351-8376. E-mail: matamba2@yahoo.com.br

Resumo

O objetivo deste trabalho foi o de verificar as respostas metabólicas do transporte em matrinxãs exercitadas à velocidade moderada pelo período de 60 dias. Foram utilizados 108 alevinos de matrinxãs *Brycon amazonicus*, divididos aleatoriamente em seis tanques circulares com 12 peixes cada. Três caixas realizaram o exercício à velocidade de 1 cc/seg, por 60 dias, e três caixas não realizaram qualquer tipo de atividade. Após 60 dias, os animais foram submetidos a 4 horas de transporte, sendo que um grupo exercitado e um sedentário foram sacrificados antes do início do experimento (C_{0h} e E_{0h}) e, os demais grupos foram sacrificados nas seguintes horas: C_{4h} e E_{4h} , C_{6h} e E_{6h} , C_{24h} e E_{24h} , C_{48h} e E_{48h} , C_{120h} e E_{120h} . Foram analisados os seguintes parâmetros bioquímicos: hematócrito, hemoglobina, contagem de eritrócitos, sódio, potássio, cloreto, proteína, amônia, lactato e glicose. Observaram-se todas as respostas clássicas de estresse, tanto para peixes exercitados como para sedentários: alteração dos íons, aumento do hematócrito, da glicose, lactato, amônia e proteína, sendo que os valores retornam aos valores basais ao longo da recuperação. O exercício desempenhou um papel atenuador das respostas secundárias ao estresse ao permitir o retorno mais rápido aos valores basais da maioria dos índices avaliados nos peixes exercitados. A prática de exercício moderado pode contribuir para a criação intensiva de matrinxãs ao diminuir os índices de estresse e conseqüentemente, favorecer o crescimento.

Introdução

A aqüicultura é uma atividade que está em pleno desenvolvimento, expandindo-se e intensificando-se em muitos lugares do mundo. Neste sentido, a necessidade de desenvolver tecnologias que viabilizem a produção de espécies nativas em regime intensivo com base na preservação do meio ambiente e no desenvolvimento social são desafios a vencer por parte de aqüicultores e pesquisadores. Para isso, algumas práticas de manejo devem ser aprimoradas visando melhorar a produtividade e o bem-estar animal.

O transporte de peixes é uma prática comum em todas as fazendas de piscicultura, bem como nas estações de pesquisa. No entanto, este procedimento leva a uma série de respostas fisiológicas e bioquímicas que alteram seu equilíbrio homeostático e o balanço energético (Rocha et al., 2004; Inoue et al., 2005). Na tentativa de ajustar-se a estas condições adversas, os peixes respondem com uma série de respostas primárias e secundárias, como aumento das catecolaminas e do cortisol, o que estimula a mobilização de reservas energéticas, alteração dos parâmetros sanguíneos e cardiorrespiratórios através do aumento do número de eritrócitos, da concentração de hemoglobina e do hematócrito, aumento dos batimentos operculares levando a mudanças na capacidade de trocas iônicas, além de uma pronunciada excreção nitrogenada plasmática (Iwama et al., 1997; Mommsem et al., 1999; Urbinati & Carneiro, 2001).

A utilização de condicionadores tipo sal e/ou anestésicos em diversas concentrações são estratégias empregadas que visam minimizar o impacto do transporte em peixes e diminuir as respostas ao estresse (Carneiro & Urbinati, 2001; Inoue et al., 2005). No entanto, outras alternativas podem ser consideradas viáveis e mais vantajosas para a saúde dos peixes. O exercício em peixes em velocidades moderadas - 1,0 a 1,5 comprimento corporal/segundo (cc/seg) - tem mostrado efeitos benéficos ao crescimento, qualidade da carne e performance de natação (Davison, 1997; Ogata & Oku, 2000; Hackbarth & Moraes, 2006), bem como apresentam menores taxas de mortalidade e maior homogeneidade no tamanho (Jobling, 1994; Davison, 1997).

Trutas arco-íris apresentaram aumento da capacidade aeróbica do músculo branco e vermelho quando exercitadas a velocidade moderada (Richards et al., 2002) e, baixos níveis de catecolaminas, cortisol e glicose foram encontrados em salmonídeos após três semanas de treinamento (Woodward & Smith, 1985; Wood, 1991; Davison, 1997). Outra resposta metabólica positiva de peixes exercitados frente a situações de estresse agudo é que eles são metabolicamente menos sujeitos à exaustão, e o metabolismo retorna aos valores basais muito mais rapidamente que em peixes não treinados (Lackner et al., 1988; Young & Cech, 1994; Davison, 1997). Como o exercício tem se mostrado promissor em diminuir as respostas ao estresse e promover a recuperação mais rápida, acredita-se que as conseqüências metabólicas causadas pelo transporte possam ser atenuadas em peixes que se exercitam à velocidade moderada. O objetivo deste trabalho foi verificar as respostas metabólicas em matrinxãs exercitadas à velocidade moderada pelo período de 60 dias e submetidos ao transporte.

Material e Métodos

Foram utilizados 108 alevinos de matrinxãs *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz, 1829), com peso e comprimentos iniciais de 40 ± 5 g e 15 ± 2 cm. Os peixes foram “chipados” com “transponders” de identificação (Animall TAG) e separados em seis tanques circulares com capacidade de 200L cada, dotados de abastecimento contínuo e aeração constante. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia até a saciedade, com dieta comercial extrusada contendo 36% de proteína bruta e 4000 kcal/kg de ração de energia bruta, durante um período experimental de 60 dias. Temperatura, oxigênio dissolvido, pH e amônia foram monitorados em dias intercalados. A velocidade de correnteza de água em cada tanque foi feita regulando-se a entrada de água, sendo esta medida em comprimentos corporais/segundo (cc/seg), e determinada por fluxômetro mecânico (General Oceanics Inc). A velocidade foi reajustada a cada 21 dias, juntamente com a realização da biometria.

O experimento foi realizado com triplicata e os peixes foram aleatoriamente divididos em seis tanques, perfazendo um total de 12 peixes por caixa. Em três caixas foi imposto o exercício com velocidade de 1 cc/seg, por 60 dias e, nos outros tanques restantes, os peixes não realizaram qualquer tipo de exercício durante o período experimental. Após o tempo de exposição ao exercício, os animais foram expostos ao seguinte experimento de transporte: inicialmente, três animais de cada caixa foram imediatamente sacrificados, totalizando 9 peixes controle e 9 peixes exercitados, os quais foram chamados respectivamente de C_{0h} e E_{0h} . Os animais restantes foram colocados em 10 sacos aerados contendo 9 peixes em cada um e transportados por um período de 4 horas. Finalizado o transporte, sacrificaram-se 9 peixes do controle e 9 peixes do exercício, que foram nomeados C_{4h} e E_{4h} . Os demais peixes passaram pelo tempo de recuperação, contado desde o momento que o experimento iniciou, ou seja, desde 0h. Então 9 peixes do controle e 9 peixes do exercício foram amostrados nas diferentes

horas. Os grupos de recuperação são nomeados de acordo com o tempo de recuperação atingido: C_{6h} e E_{6h}, C_{24h} e E_{24h}, C_{48h} e E_{48h}, C_{120h} e E_{120h}.

Em todos os animais amostrados foram feitas coletas de sangue e tecidos para análises posteriores. Analisaram-se os seguintes parâmetros hematológicos: hematócrito (Ht), hemoglobina (Hb) e contagem de eritrócitos (RBC). Foram realizadas as seguintes determinações plasmáticas: sódio, potássio, cloreto, proteína, amônia, lactato e glicose. As análises de variância e o pós-teste de Tukey para comparação das médias foram realizados com o auxílio do Graph Pad InStat (Version 3.0, Win 95/NT, 1997).

Resultados e Discussão

Em relação aos dados hematológicos, pode-se observar que o hematócrito aumentou para os dois grupos expostos ao transporte (C_{4h} e E_{4h}) e, em seguida, retornou aos valores basais (Tabela 1). O RBC apresentou-se maior para os grupos exercitados E_{0h} e E_{120h}, enquanto que a hemoglobina diminuiu para os grupos C_{6h} e E_{6h}, retornando aos valores basais em E_{24h} e C_{48h} (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros hematológicos, iônicos e metabólitos de plasma de matrinxã não-exercitado e exercitado exposto a transporte por 4 horas.

Parâmetro hematológico e plasmático	Condição experimental					
	C _{0h}	E _{0h}	C _{4h}	E _{4h}	C _{6h}	E _{6h}
RBC	2,1±0,5 ^a	2,5±0,2 ^b	2,4±0,3 ^a	2,5±0,2 ^{a,b}	2,1±0,3 ^a	2,3±0,3 ^a
Ht	32±3 ^a	33±1,4 ^a	39,1±5,4 ^b	40±4,4 ^b	26,4±2 ^c	27,6±5,9 ^c
Hb	9,5±0,6 ^a	9,5±0,7 ^a	10,3±1 ^a	10,4±3,1 ^a	8,1±0,6 ^b	8,3±1,3 ^b
Sódio	173,9±6,5 ^a	167,6±8,3 ^a	167,1±7,3 ^{a,b}	172,4±8,4 ^{a,b}	158,3±14,3 ^b	156,5±16,2 ^b
Potássio	3,3±0,7 ^a	3±0,7 ^b	8,1±3,5 ^b	8,6±1,5 ^a	3±0,9 ^a	2,8±1,2 ^a
Cloreto	1,35±0,1 ^a	1,33±0,1 ^a	1,2±0,1 ^b	1,2±0,1 ^b	1,3±0,1 ^a	1,2±0,2 ^a
Amônia	3,7±1,3 ^a	3,5±0,5 ^a	7,2±1,7 ^b	7,1±0,9 ^b	5,1±0,6 ^a	4,6±0,7 ^a
Lactato	1,6±0,5 ^a	1,6±0,3 ^a	15,6±4,7 ^b	14,2±4,1 ^b	2,02±0,5 ^a	2,9±2,3 ^a
Proteína	0,3±0,1 ^a	0,4±0,07 ^a	0,4±0,05 ^a	0,4±0,06 ^a	0,5±0,1 ^b	0,5±0,05 ^b
	C _{24h}	E _{24h}	C _{48h}	E _{48h}	C _{120h}	E _{120h}
RBC	2,1±0,3 ^a	2,2±0,3 ^a	2,08±0,1 ^a	2,02±0,2 ^a	1,8±0,2 ^{a,c}	2,4±0,1 ^{a,b}
Ht	27,3±3,3 ^a	28,9±3,5 ^a	28,5±3,1 ^a	30,3±3,3 ^a	38,1±3,2 ^{a,c}	3,19±3,1 ^b
Hb	7,8±0,5 ^b	9,7±0,9 ^a	9,1±1,4 ^a	9,2±1,4 ^a	8,4±1 ^b	9,7±1,2 ^a
Sódio	160,8±7,3 ^b	204,3±24,4 ^c	210±12,4 ^c	222,6±9,3 ^d	225,3±8,1 ^c	214±13 ^c
Potássio	2,1±0,7 ^a	2,2±0,8 ^a	2,8±0,9 ^a	2,8±0,9 ^a	2,8±0,7 ^a	2±0,8 ^a
Cloreto	1,3±0,06 ^a	1,3±0,1 ^a	1,4±0,09 ^c	1,4±0,05 ^c	1,4±0,03 ^c	1,4±0,04 ^c
Amônia	4,9±0,8 ^a	4,4±0,9 ^a	4,6±0,4 ^a	3,9±0,4 ^c	3,8±0,5 ^a	4,03±0,9 ^a
Lactato	2,2±0,4 ^a	2,6±1,1 ^a	1,9±0,5 ^a	2,1±0,7 ^a	1,9±0,3 ^a	1,6±0,7 ^a
Proteína	0,6±0,08 ^{b,c}	0,6±0,06 ^b	0,5±0,04 ^b	0,6±0,06 ^c	0,5±0,07 ^b	0,5±0,06 ^b

Letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05), na linha.

Os eritrócitos são as células responsáveis pelo transporte da hemoglobina no sangue e seu número aumentado nos peixes exercitados sugere que o exercício moderado exigiu maior consumo de oxigênio. Considerando-se que o grupo exercitado apresentava esta elevação

antes do transporte, é possível associar seu número não ao manejo imposto mas ao exercício realizado. Valores de hemoglobina alterados pelo transporte são relatados em diferentes espécies (Tavares-Dias et al., 2001; Caruso et al., 2005). Entretanto, observa-se uma recuperação mais rápida dos valores de hemoglobina nos peixes exercitados, o que em conjunto com o RBC aumentado, reflete uma adaptação metabólica desta espécie ao exercício, indicando que os animais exercitados podem lidar com determinadas condições de estresse recuperando-se mais efetivamente do que os não treinados.

O hematócrito aumentado nos grupos C_{0h} e E_{0h} é um indicador de estresse bem documentado (Iwama et al., 1997; Urbinati & Carneiro, 2001; Inoue et al., 2005), e não demonstra ter sido afetado pelo exercício, já que os valores são similares para os peixes sedentários e treinados. Esta resposta deve-se talvez ao fato de o matrinxã exercitado responder mais eficazmente com a variação de RBC e hemoglobina.

O equilíbrio iônico também sofreu alteração pelo transporte observando-se um aumento nas concentrações de sódio nos grupos C_{4h} e E_{4h} , diminuição para aquém dos valores basais em C_{6h} e E_{6h} e aumento para além dos valores iniciais em C_{48h} e E_{48h} , permanecendo assim até o final da recuperação (Tabela 1). A concentração de potássio aumentou nos grupos C_{4h} e E_{4h} e o cloreto aumentou nos grupos C_{4h} e E_{4h} , retornando aos valores basais em C_{6h} e E_{6h} . Porém, aumentou além dos valores iniciais em C_{48h} e E_{48h} e C_{120h} e E_{120h} , tal como o sódio (Tabela 1).

Sabe-se que, sob estresse, o equilíbrio iônico é afetado pelo cortisol, desequilibrando o balanço iônico nas brânquias e causando significativas mudanças da capacidade de trocas iônicas das lamelas. Assim, as concentrações de Na^+ , Cl^- e K^+ ficam prejudicadas sob estresse (McDonald & Milligan, 1997; Mommsen et al., 1999). Tais alterações são evidentes em ambos os grupos, treinados e sedentários, quando expostos a 4 horas de transporte. Pode-se observar que a partir do momento em que eles foram expostos ao transporte, os três íons sofreram aumentos nas suas concentrações e somente o potássio retornou aos valores basais. Fica evidente que o transporte causou modificações iônicas nos matrinxãs, tal como esperado, e que os peixes exercitados não retornaram aos valores iniciais mais rapidamente devido ao fato de terem feito atividade moderada. Como as alterações iônicas se devem à mobilização de catecolaminas e cortisol, pode-se dizer que o exercício não atenuou as modificações desses hormônios, já que seus resultados com relação ao balanço iônico são semelhantes aos peixes não treinados.

Com relação às repostas plasmáticas, observou-se alterações nas concentrações de lactato plasmático somente para os grupos C_{4h} e E_{4h} , retornando em seguida para os valores basais em todos os grupos (Tabela 1). A glicose plasmática aumentou nos grupos C_{4h} e E_{4h} e retornou aos valores iniciais em E_{6h} e C_{24h} (Figura 1). A concentração de amônia também aumentou nos dois grupos expostos ao transporte (C_{4h} e E_{4h}), retornando em seguida aos valores basais (Tabela 1). A concentração de proteína plasmática aumentou após o transporte e no período de recuperação permaneceu alta (Tabela 1).

Esses resultados mostram que matrinxã exposto ao transporte aumenta as concentrações de lactato, glicose e amônia, que são alterações comuns em processos de estresse, já que peixes estressados iniciam a produção de catecolaminas, que estimulam a liberação de glicocorticóides, em especial o cortisol (Iwama et al., 1997; Mommsen et al., 1999; Urbinati & Carneiro, 2001; Inoue et al., 2004; Inoue et al., 2005). Sob efeito do cortisol, o metabolismo do peixe começa a alterar-se, aumentando a glicose plasmática para

mobilizar energia para os tecidos do corpo, assim como a mobilização de aminoácidos para o plasma através do catabolismo de proteínas no fígado, liberando amônia para o plasma. O lactato plasmático aumentado provavelmente é originado no músculo branco, também resultado de uma cortisolemia (Mommsen et al., 1999).

Os peixes exercitados também apresentaram a diminuição na concentração de glicose, após o transporte, muito mais rápida do que os peixes sedentários, assim como a amônia, ficando evidente que o exercício atenuou as respostas plasmáticas do estresse, como observado para outras espécies (Davison, 1997; Lackner et al., 1988).

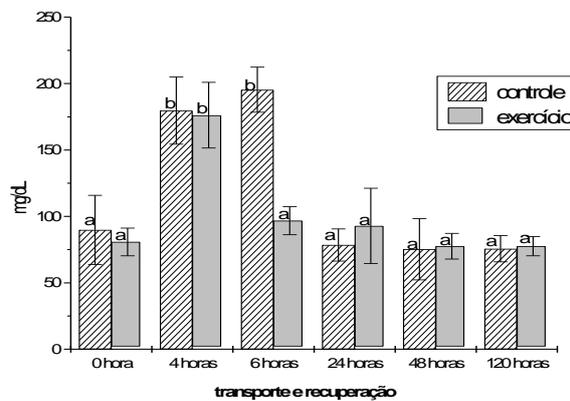


Figura 1. Glicose plasmática de matrinxãs exercitadas expostas ao transporte. Letras indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

Observou-se que peixes exercitados e sedentários apresentaram o mesmo padrão de respostas de estresse ao transporte, o que poderia sugerir que os níveis de catecolaminas circulantes são os mesmos, independente da realização do exercício. Entretanto, fica claro que o exercício desempenha um papel atenuador das respostas secundárias ao estresse, ao permitir o retorno mais rápido aos valores basais da maioria dos índices avaliados.

Conclusão

Os matrinxãs apresentaram as respostas clássicas de estresse após o transporte de 4 horas, porém, o retorno aos valores basais foi mais rápido que nos peixes não exercitados. A prática de exercício moderado pode contribuir com a criação intensiva de matrinxãs ao diminuir os índices de estresse e, conseqüentemente, favorecer o crescimento.

Referências

- CARUSO, G.; GENOVESE, L.; MARICCHIOLO, G.; MODICA, A. 2005. Haematological, biochemical and immunological parameters as stress indicators in *Dicentrarchus labrax* and *Sparus aurata* farmed in off-shore cages. **Aquaculture international**. 13: 67-73.
- DAVISON, W. 1997. The effects of exercise training on Teleost Fish, a review of recent literature. **Comp. Biochemistry Physiology**. 117: 67-75.
- HACKBARTH, A. & MORAES, G. 2006. Biochemical responses of matrinxãs *Brycon cephalus* (Günther, 1869) after sustained swimming. **Aquaculture Research**. 37: 1070-1078.

INOUE, L. A. K. A.; AFONSO, L. O.; IWAMA, G. K.; MORAES, G. 2005. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport. **Acta Amazônica**. 35(2): 289 - 295

IWAMA, G., PICKERING, A.D., SUMPTER, P.J., SCHRECK, C.B. 1997. **Fish stress and Health in Aquaculture**. Cambridge University Press, 432p.

JOBLING, M. 1994. **Fish Bioenergetics**. Chapman & Hall: London, 309 p.

LACKNER, R., WIESER, W., HUBER, M., DALLA VIA, J. 1988. Responses of intermediary metabolism to acute handling stress and recovery in untrained and trained *Leuciscus cephalusi* (Cyprinidae, Teleostei). **J. Exp. Biol.** 140: 393-404.

MCDONALD, G., MILLIGAN, L. 1997. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: Iwama, G., Pickering, A.D., Sumpter, P.J., Schreck, C.B. 1997. **Fish stress and Health in Aquaculture**. Cambridge University Press, 432p.

MOMMSEN, T.P.; VIJAYAN, M.M.; MOON, T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. **Reviews in Fish Biology and Fisheries** 9: 211–268.

OGATA, H.Y. & OKU, H. 2000. Effects of water velocity on growth performance of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. **J. World Aqua. Soc.** 31: 225-231.

RICHARDS, J.G.; MERCADO, A.J.; CALYTON, C.A.; HEIGENHAUSER, G.J.F. & WOOD, C.M. 2002. Substrate utilization during graded aerobic exercise in rainbow trout. **Experimental Biology**. 205: 2067-2077.

ROCHA, R.M.; CARVALHO, E.G.; URBINATI, E.C. 2004. Physiological responses associated with capture and crowding stress in matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1869), Teleostei: Characidae. **Aquaculture research**. 35: 245-249.

TAVARES-DIAS, M.; SANDRIM, E.F.S.; MORAES, F. R.; CARNEIRO, P. C. F. 2001. Physiological responses of “tambaqui” *Colossoma macropomum* (Characidae). **Boletim do Instituto de Pesca**. 27 (1): 43 – 48.

URBINATI, E.C.; CARNEIRO, P.C. 2001. Metabolic and hormonal responses of matrinxã, *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) to transport stress under influence of benzocaine. **Journal of aquaculture in the tropics**. 16: n.1, 75-85.

WOOD, C.M. 1991. Acid-base and ion balance, metabolism, and their interactions, after exhaustive exercise in fish. **J. Exp. Biol.** 160: 285-308.

WOODWARD, J.J., SMITH, L.S. 1985. Exercise training and the stress response in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, **J. Fish. Biol.** 26: 435-447.

YOUNG, P.S. & CECH JR, J.J. 1994. Effects of different exercise conditioning velocities on the energy reserves and swimming stress responses in young-of-the-year striped bass (*Morone saxatilis*). **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 51: 1528-1534.