

## Respostas de tambaquis ao estresse por transporte após alimentação com dietas suplementadas com $\beta$ -glucano

Edsandra Campos Chagas <sup>1</sup> \*

Lucelle Dantas de Araújo <sup>2</sup>

Cheila de Lima Boijink <sup>1</sup>

Luis Antônio Kioshi Aoki Inoue <sup>1</sup>

Levy de Carvalho Gomes <sup>3</sup>

Flávio Ruas Moraes <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Amazônia Ocidental, Rodovia AM-10, km 29  
Caixa Postal 319, CEP 69036-630, Manaus – AM, Brasil

<sup>2</sup> Programa de Capacitação, Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus – AM, Brasil

<sup>3</sup> Centro Universitário Vila Velha, Vila Velha – ES, Brasil

<sup>4</sup> Departamento de Patologia Animal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP, Brasil

\* Autor para correspondência

edsandra.chagas@cpaa.embrapa.br

Submetido em 19/03/2012

Aceito para publicação em 15/08/2012

### Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar as respostas fisiológicas de estresse de tambaquis (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas suplementadas com  $\beta$ -glucano e submetidos ao transporte em sistema fechado. Para isso, tambaquis (35,06 $\pm$ 0,80g; 11,8 $\pm$ 0,09cm) foram alimentados com dieta suplementada com  $\beta$ -glucano (0; 0,1; 0,2; 0,4; e 0,8%.kg<sup>-1</sup>) por 60 dias. Após esse período, os peixes foram transportados em rodovia por 3h em sistema fechado. Foram avaliadas as respostas de estresse por meio de indicadores hormonais, bioquímicos e hematológicos nos seguintes períodos: antes do transporte, imediatamente após o transporte, e 24 e 48h depois do transporte. Houve, imediatamente após o transporte, aumento significativo da concentração plasmática de cortisol e de glicose em todos os tratamentos comparados à concentração antes do transporte; houve elevação da concentração de hemoglobina nos peixes que receberam dieta não suplementada com  $\beta$ -glucano; e houve elevação da hemoglobina corpuscular média nos peixes que receberam dietas não suplementada ou suplementada com 0,1 e 0,2% de  $\beta$ -glucano. Os resultados permitiram estabelecer que as alterações hormonais, bioquímicas e hematológicas ocorreram imediatamente após o transporte, com retorno às concentrações basais após 24h. A suplementação de  $\beta$ -glucano na dieta do tambaqui não foi eficiente para mitigar as respostas ao estresse por transporte.

**Palavras-chave:** *Colossoma macropomum*; Fisiologia; Imunoestimulantes; Piscicultura

### Abstract

**Tambaqui responses to stress due to transport after feeding with  $\beta$ -glucan supplemented diets.** This study aimed to evaluate the physiological responses to stress of tambaquis (*Colossoma macropomum*) fed with  $\beta$ -glucan supplemented diet undergoing transportation in a closed system. To do so, tambaquis (35.06 $\pm$ 0.80g;

11.8±0.09cm) were fed with a  $\beta$ -glucan supplemented diet (0; 0.1; 0.2; 0.4; and 0.8%.kg<sup>-1</sup>) for 60 days. After this period, fishes were transported on road for 3h in a closed system. Responses to stress were evaluated through hormonal, biochemical, and hematological indicators within the following periods: before transportation, immediately after transportation, and 24 and 48h after transportation. Immediately after transportation, there was a significant increase in the plasma concentrations of cortisol and glucose in all treatments when compared to the concentration before transportation; there was an increase in the hemoglobin concentration in fishes fed without a  $\beta$ -glucan supplementation diet; and there was an increase in the mean corpuscular hemoglobin in fishes fed without supplementation or supplemented with 0.1 and 0.2% of  $\beta$ -glucan. The results allowed us to establish that the hormonal, biochemical, and hematological changes occurred immediately after transportation, with return to the basal concentrations after 24h.  $\beta$ -glucan supplementation in the tambaqui diet wasn't effective to relieve the responses to stress due to transport.

**Key words:** *Colossoma macropomum*; Fish culture; Immunostimulants; Physiology

## Introdução

O crescimento da aquicultura mundial tem sido constante e estimulado pela crescente demanda por produtos de alta qualidade, alcançando 55.701.859 toneladas em 2009 (FAO, 2011). No Brasil, a produção total aquícola foi de 365.367 toneladas no ano de 2008 e de 415.649 toneladas em 2009, representando um acréscimo de 13,8% (BRASIL, 2010). O tambaqui (*Colossoma macropomum*) atingiu uma produção de 46 mil toneladas em 2009, o que representa 14% do total de pescado proveniente da piscicultura continental (BRASIL, 2010), sendo a espécie mais criada na região Norte do Brasil em diferentes sistemas de criação intensiva (GOMES et al., 2010).

Nos sistemas de criação uma das práticas de manejo mais comuns é o transporte de peixes vivos, que vem crescendo pelo aumento das atividades de produção e de comercialização. O transporte é considerado um procedimento traumático por expor os peixes a uma série de procedimentos como captura, confinamento, manuseio, adensamento e o transporte propriamente dito, que culminam em alterações hormonais, metabólicas, iônicas e hematológicas (ACERETE et al., 2004; BRANDÃO et al., 2006).

Nesse contexto vários estudos têm sido realizados com a avaliação de substâncias com características imunoestimulantes no sentido de minimizar o efeito de agentes estressores e melhorar a condição fisiológica dos peixes, sendo o  $\beta$ -glucano um dos imunoestimulantes mais estudados para fins de aquicultura (SAKAI, 1999; DALMO; BOGWALD, 2008; GOPALAKANNAN; ARUL, 2010).

Os  $\beta$ -glucanos são macromoléculas formadas por blocos de glicose unidos por ligações  $\beta$  (1-3) e  $\beta$  (1-6), encontrados na parede celular de levedura e fungos, funcionando como imunoestimulante em peixes (SAKAI, 1999; DALMO; BOGWALD, 2008; GOPALAKANNAN; ARUL, 2010). Sua administração mostrou-se benéfica na prevenção dos efeitos negativos do estresse em peixes, ressaltando a importância do seu emprego como medida profilática (ANDERSON, 1992; SELVARAJ et al., 2005). Em *Oncorhynchus mykiss* houve supressão das respostas primárias e secundárias do estresse de transporte, sugerindo que baixos níveis de  $\beta$ -glucano poderiam ser administrados na dieta antes do transporte para prevenir esses efeitos negativos (JENEY et al., 1997).

O objetivo deste estudo foi avaliar as respostas fisiológicas de estresse de tambaquis alimentados com dietas suplementadas com  $\beta$ -glucano após transporte em sistema fechado.

## Material e Métodos

Juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*, n = 225) pesando 35,06±0,80g e com comprimento total de 11,8±0,09cm foram aclimatados em viveiro de 200m<sup>2</sup>, durante 30 dias, onde receberam ração comercial para peixes onívoros com 28% de proteína bruta (PB). Após esse período, foram distribuídos em quinze tanques (n = 15), perfazendo cinco tratamentos com três repetições, num delineamento inteiramente casualizado.

Os peixes foram alimentados com dieta (28% PB) suplementada com a preparação comercial de  $\beta$ -glucano (Betamune®, Biorigin, São Paulo, Brasil)

nas concentrações de 0; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8%.kg<sup>-1</sup> da dieta. A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia até a saciedade aparente, durante 60 dias. Nesse período, os parâmetros de qualidade de água como temperatura (25,22 ± 0,02°C) e oxigênio dissolvido (7,25 ± 0,02mg.L<sup>-1</sup>) foram monitorados três vezes por semana, por meio de um monitor YSI 55, e quinzenalmente, foram avaliados alcalinidade por titulação (0,54 ± 0,02mg.L<sup>-1</sup>), pH (7,00 ± 0,92) com pHmetro Quimis Q400M2 e amônia total (0,60 ± 0,02mg.L<sup>-1</sup>) pelo método de endofenol.

Antes do início do protocolo de transporte, os juvenis de tambaqui passaram por um período de 24h de privação alimentar para depuração dos animais em caixas com capacidade para 2.000L, com fluxo de água constante. O transporte foi realizado em sistema fechado utilizando sacos plásticos com capacidade para 60L, nos quais foram adicionados 20L de água e, posteriormente, oxigênio puro. Foram transportados 15 peixes de cada tratamento com  $\beta$ -glucano em cada saco plástico (três repetições). O transporte foi realizado por rodovia durante 3h. Após o transporte os peixes foram distribuídos igualmente em quinze tanques (um tanque por repetição), onde permaneceram por 48h, para amostragens periódicas.

Para avaliação das respostas de estresse, por meio de indicadores hormonais, bioquímicos e hematológicos, foram colhidas amostras de sangue dos peixes pertencentes aos diferentes tratamentos com  $\beta$ -glucano antes do transporte (AT; na caixa de depuração); depois do transporte (DT; logo após a abertura do saco de transporte) e 24, 48h depois do transporte (24DT e 48DT; no tanque onde os peixes foram colocados após o transporte). Em cada momento foram coletados três peixes de cada repetição, totalizando nove por amostragem; sendo estes peixes retirados das caixas para evitar estresse adicional.

A coleta de sangue foi realizada com os peixes previamente anestesiados (100mg.L<sup>-1</sup> de benzocaína), mediante punção de vasos caudais com o auxílio de seringas contendo heparina (5.000 UI), sendo o plasma obtido por centrifugação (3.000rpm, 10min).

O cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>) foi determinado pela técnica de imunoenensaio enzimático por competição (EIA, Kit 55050, Human®) com leitura realizada em leitor de placa Biotrack II. A glicose sanguínea (mg.dL<sup>-1</sup>) foi medida em leitor digital (Advantage™), cujo método foi validado para

uso com tambaquis (GOMES et al., 2005). Os parâmetros hematológicos determinados foram o hematócrito (Ht, %), depois da centrifugação do sangue (12.000 rpm, 10 min), em tubos microcapilares heparinizados, e leitura em escala padronizada; a concentração de hemoglobina (Hb, g.dL<sup>-1</sup>), segundo o método da cianometahemoglobina; e a contagem do número de eritrócitos (RBC, 10<sup>6</sup>.mm<sup>-3</sup>), realizada em câmara de Neubauer, depois da diluição do sangue em solução de formol citrato. Equações hematimétricas (WINTROBE, 1934) foram utilizadas para determinação das constantes corpusculares, como o volume corpuscular médio (VCM,  $\mu$ m<sup>3</sup>), a hemoglobina corpuscular média (HCM, pg) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM, %).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

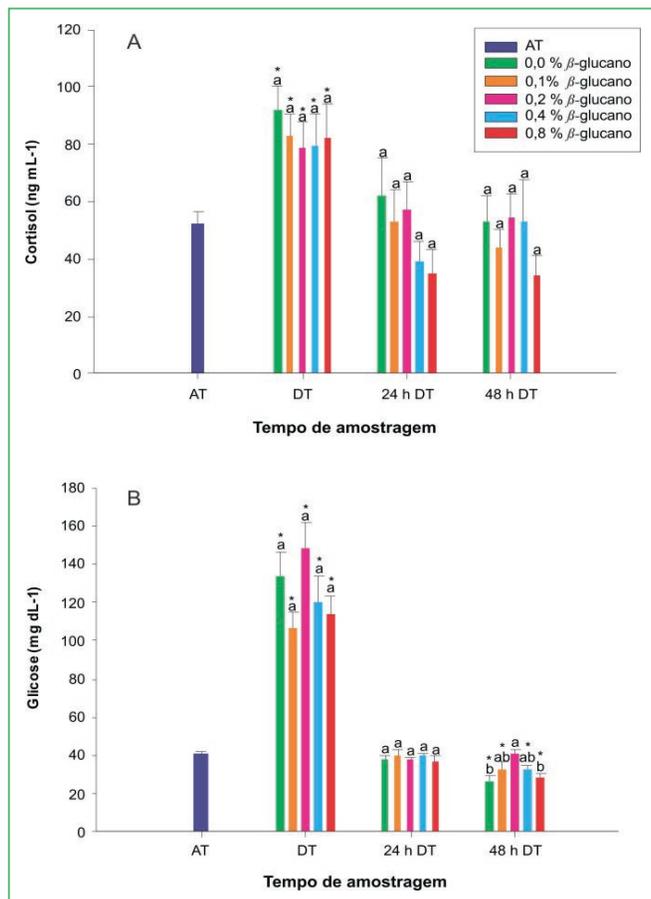
## Resultados

Não foi observada mortalidade dos tambaquis durante o período experimental.

Os valores de cortisol plasmático não diferiram entre os tratamentos com  $\beta$ -glucano (Figura 1A). Entretanto, imediatamente após o transporte (DT), observou-se aumento significativo nos valores de cortisol em comparação ao tempo inicial (AT), sendo os maiores valores observados nos peixes alimentados com dieta não suplementada com  $\beta$ -glucano. Após 24h, os valores retornaram às concentrações próximas das registradas em AT (Figura 1A).

Houve um aumento significativo nos valores de glicose sanguínea em todos os tratamentos com  $\beta$ -glucano após o transporte (DT) quando comparado ao momento AT, com retorno a valores próximos aos observados antes do procedimento de transporte (AT) após 24h (Figura 1B). Entretanto, após 48h observou-se redução significativa nos valores de glicose dos peixes que não receberam a suplementação e nos que receberam 0,8% de  $\beta$ -glucano em relação aos peixes que receberam 0,2% de  $\beta$ -glucano, além desta diferença entre os tratamentos verificou-se a ocorrência de diferença significativa dos tratamentos em relação ao tempo inicial (Figura 1B).

FIGURA 1: Cortisol plasmático (A) e glicemia (B) de tambaquis alimentados com  $\beta$ -glucano (0; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8%.  $\text{kg}^{-1}$ ), nos momentos antes do transporte (AT), depois do transporte (DT), 24 e 48h após o transporte (24DT e 48DT).

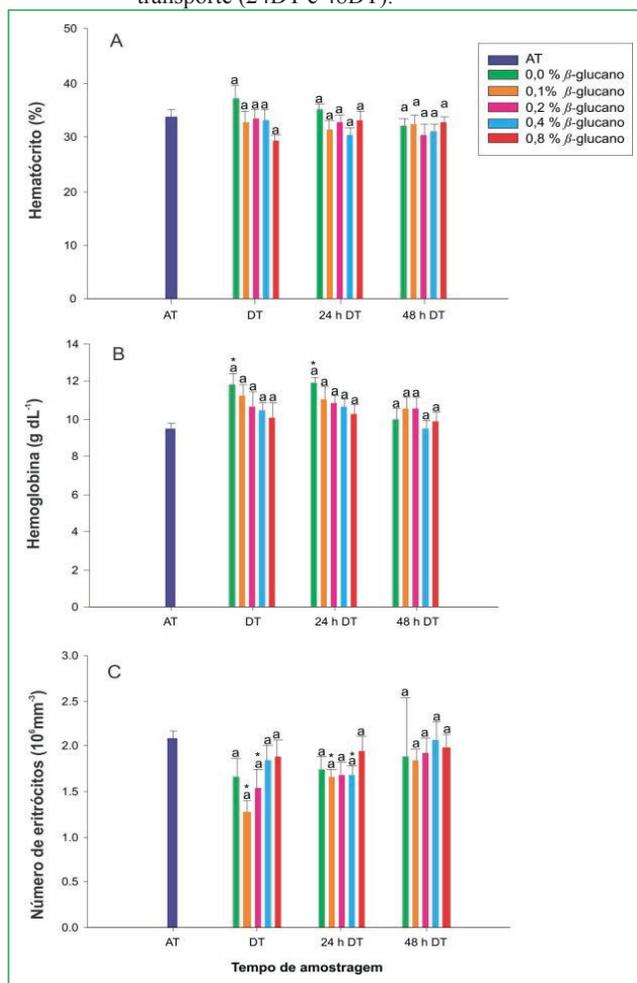


Letras diferentes demonstram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos dentro de cada tempo de amostragem. \* indica diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos e os valores iniciais (AT).

Os valores de hematócrito nas diferentes concentrações de  $\beta$ -glucano não indicaram diferença significativa, assim como em relação ao tempo inicial (Figura 2A). Para os valores de hemoglobina não houve diferença significativa entre os tratamentos com  $\beta$ -glucano nos tempos DT, 24h DT e 48h DT. Contudo, observou-se aumento significativo nos valores desse indicador nos peixes alimentados com a dieta não suplementada com  $\beta$ -glucano nos tempos DT e 24h DT comparado aos valores registrados em AT (Figura 2B). A contagem de eritrócitos não mostrou diferença significativa entre os tratamentos nos tempos DT, 24h DT e 48h DT. Entretanto, observou-se uma redução significativa no número de eritrócitos nos

grupos alimentados com dieta suplementada com 0,1 e 0,2% de  $\beta$ -glucano no momento DT bem como nos grupos que receberam 0,1 e 0,4% de  $\beta$ -glucano no momento 24h DT, ambos em comparação ao momento AT. Após 48h, o número de eritrócitos retornou a níveis próximos aos observados na condição inicial (Figura 2C).

FIGURA 2: Valores médios de hematócrito (A), concentração de hemoglobina (B) e número de eritrócitos (C) de tambaquis alimentados com  $\beta$ -glucano (0; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8%.  $\text{kg}^{-1}$ ), nos momentos antes do transporte (AT), depois do transporte (DT), 24 e 48h após o transporte (24DT e 48DT).

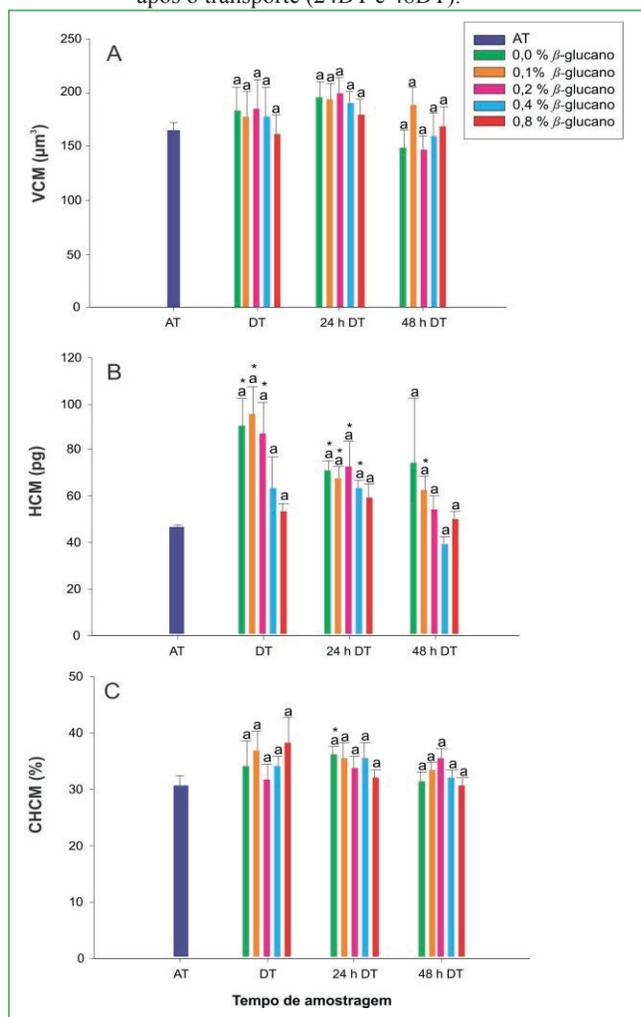


Letras diferentes demonstram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos dentro de cada tempo de amostragem. \* indica diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos e os valores iniciais (AT).

Não foi observada diferença significativa para o VCM, HCM e CHCM comparando-se os tratamentos com  $\beta$ -glucano nos tempos DT, 24h DT e 48h DT (Figura 3A). Entretanto, observou-se aumento nos valores de

HCM no tratamento não suplementado com  $\beta$ -glucano e naqueles suplementados com 0,1 e 0,2% de  $\beta$ -glucano no tempo DT, no tratamento não suplementado com  $\beta$ -glucano e nos tratamentos 0,1; 0,2 e 0,4 % de  $\beta$ -glucano no tempo 24h DT e no tratamento 0,1% de  $\beta$ -glucano no tempo 48h DT, todos em comparação ao tempo AT (Figura 3B). A CHCM aumentou no tratamento não suplementado com  $\beta$ -glucano no tempo 24h DT em relação ao tempo AT (Figura 3C).

FIGURA 3: Volume corpuscular médio (VCM) (A), hemoglobina corpuscular média (HCM) (B) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (C) de tambaquis alimentados com dietas com  $\beta$ -glucano (0; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8%.kg<sup>-1</sup>), nos momentos antes do transporte (AT), depois do transporte (DT), 24 e 48h após o transporte (24DT e 48DT).



Letras diferentes demonstram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos dentro de cada tempo de amostragem. \* indica diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos e os valores iniciais (AT).

## Discussão

O transporte de peixes é considerado um procedimento traumático que induz respostas de estresse em função da sucessão de estímulos adversos. Em espécies nativas como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), o pirarucu (*Arapaima gigas*), a matrinxã (*Brycon amazonicus*), o pacu (*Piaractus mesopotamicus*), o pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e o jundiá (*Rhamdia quelen*) várias alterações hormonais, metabólicas, iônicas e hematológicas, em decorrência do estresse de transporte, foram registradas (GOMES et al., 2003; 2006; URBINATI; CARNEIRO, 2006; TAKAHASHI et al., 2006; FAGUNDES; URBINATI, 2008; CARNEIRO et al., 2009).

O cortisol é um dos indicadores primários mais utilizados para a caracterização do estresse em peixes (BARTON; IWAMA, 1991; WENDELAAR BONGA, 1997; ACERETE et al., 2004; GOMES et al., 2006). No experimento com  $\beta$ -glucano, os níveis de cortisol aumentaram significativamente imediatamente após o transporte para todos os tratamentos, refletindo a resposta primária descrita por Iwama et al. (2004), sendo este resultado semelhante aos obtidos por Gomes et al. (2003) com tambaquis e por Urbinati e Carneiro (2006) com matrinxãs, que apresentaram elevação do cortisol imediatamente após o transporte. Já em espécies como o pirarucu (*Arapaima gigas*), há grande latência nas respostas do cortisol, onde após o transporte este indicador permanece sem alteração e somente 24h após o transporte é que ocorre a elevação dos níveis de cortisol, o que é atribuído, em parte, ao seu estilo de vida (BRANDÃO et al., 2006; GOMES et al., 2006). No presente estudo, os tambaquis de todos os tratamentos com  $\beta$ -glucano apresentaram um retorno aos níveis iniciais de cortisol plasmático nas primeiras 24h após o transporte, demonstrando que o tambaqui pode restabelecer sua condição normal relativamente rápido uma vez que o estresse agudo é removido.

Uma das respostas secundárias mais utilizadas para quantificação de estresse em peixes é o nível elevado da concentração de glicose sanguínea (BARTON; IWAMA, 1991; McDONALD; MILLIGAN, 1997; WENDELAAR BONGA, 1997). Neste estudo, a

glicose sanguínea apresentou aumento significativo em todos os tratamentos com  $\beta$ -glucano no tempo de amostragem DT, retornando para valores semelhantes aos registrados antes do transporte após 24h. Em resposta ao estresse, a mobilização da glicose ocorre como meio para fornecer energia extra ao animal, para que este possa superar o distúrbio imposto (BARTON; IWAMA, 1991; WENDELAAR BONGA, 1997). Após 48h, nos tratamentos com  $\beta$ -glucano, com exceção do grupo alimentado com dieta suplementada com 0,2%, houve redução significativa nos valores de glicose em relação à condição inicial, o que pode ser decorrente do jejum imposto aos animais nesse período de avaliação. No experimento com  $\beta$ -glucano pode ser comprovado que a hiperglicemia observada foi mantida pelos altos níveis de cortisol registrados no momento DT, a qual pode ser originada pela glicogenólise no fígado (MOMMSEN et al., 1999). A análise em conjunto do perfil de cortisol e glicose nos permite a compreensão da condição fisiológica dos peixes frente a uma situação de estresse, como o procedimento de transporte empregado neste estudo.

As análises hematológicas são utilizadas largamente na avaliação do estado de saúde de peixes (TAVARES-DIAS et al., 2009), sendo uma ferramenta complementar para quantificação do estresse ocasionado por práticas de manejo como o protocolo de transporte. No experimento com  $\beta$ -glucano as alterações hematológicas observadas incluem elevação da concentração de hemoglobina nos peixes isentos da suplementação de  $\beta$ -glucano e da HCM nos tratamentos de 0; 0,1 e 0,2% de  $\beta$ -glucano. O aumento da concentração de hemoglobina, por sua vez, sugere aumento da necessidade de transporte de oxigênio pelo sangue, na tentativa de suprir o aumento da demanda energética do organismo em condição de estresse (MONTERO et al., 1999; WOJTASZEK et al., 2002).

Alguns estudos mostram que a administração de dietas suplementadas com  $\beta$ -glucano é benéfica na prevenção dos efeitos negativos do estresse em peixes (ANDERSON, 1992; VOLPATI et al., 1998; SELVARAJ et al., 2005), apresentando supressão das respostas primárias e secundárias do estresse de transporte em *Oncorhynchus mykiss* (JENEY et al., 1997). Por

outro lado, em pacus expostos ao estresse de captura, observou-se que a administração do  $\beta$ -glucano, por injeção intraperitoneal ou adicionado à ração, não afetou os parâmetros hematológicos do pacu e não minimizou as alterações provocadas pelo estresse (ABREU, 2007). Neste estudo, a suplementação de  $\beta$ -glucano na dieta do tambaqui, da mesma forma que o observado com pacus, não minimizou as respostas de estresse na espécie.

## Referências

- ABREU, J. S. **Suplementação alimentar de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) com  $\beta$  1,3 glicano**: atividade respiratória de leucócitos, lisozima e estresse por captura. 2007. 123 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2007.
- ACERETE, L.; BALASCH, J. C.; ESPINOSA, E.; JOSA, A.; TORT, L. Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 237, n. 1-4, p.167-178, 2004.
- ANDERSON, D. P. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. **Annual Review of Fish Diseases**, Amsterdam, v. 2, p. 281-307, 1992.
- 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**, Amsterdam, v. 1, p. 3-26, 1991.
- BRANDÃO, F. R.; GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C. Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 36, n. 3, p. 349-356, 2006.
- BRASIL. **Produção pesqueira e aquícola** – Estatística 2008 e 2009. Brasília: Ministério da Pesca e Aquicultura, 2010. 30 p.
- CARNEIRO, P. C. F.; KAISELER, P. H. S.; SWAROFKY, E. A. C.; BALDISSEROTTO, B. Transport of jundiá *Rhamdia quelen* juveniles at different loading densities: water quality and blood parameters. **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 7, n. 2, p. 283-288, 2009.
- DALMO, R. A.; BOGWALD, J.  $\beta$ -glucans as conductors of immune symphonies. **Fish Shellfish Immunology**, London, v. 25, n. 4, p. 384-396, 2008.
- FAGUNDES, M.; URBINATI, E. C. Stress in pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) during farming procedures. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 276, n. 1-4, p. 112-119, 2008.
- FAO. **Fishery Statistical Databases** (Fishstat Plus, atualizado em março/2011). 2011. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/statistics/programme/3,1,1,>>. Acesso em: 2 set. 2011.
- GOMES, L. C.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; ROUBACH, R.; CHIPARI-GOMES, A. R.; LOPES, N. P. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 34, n. 1, p. 76-84, 2003.

- GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C.; BRINN, R. P.; ROUBACH, R.; COPPATI, C. E.; BALDISSEROTTO, B. Use of salt during transportation of air breathing pirarucu juveniles (*Arapaima gigas*) in plastic bags. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 256, n. 1-4, p. 521-528, 2006.
- GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C.; CRECÊNCIO, R.; PESSOA, M. A.; SILVA, A. L. F.; CARVALHO, E. S.; ANDRADE-JUNIOR, G.; BRITO, M. V. T.; PORTO, M. S. A. Validation of a simple portable instrument for measurement of blood glucose in four Amazon fishes. **Journal of Aquaculture in the Tropics**, Calcutta, v. 20, n. 2, p. 101-109, 2005.
- GOMES, L. C.; SIMÕES, L. N.; ARAUJO-LIMA, C. A. R. M. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2. ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2010. p. 175-204.
- GOPALAKANNAN, A.; ARUL, V. Enhancement of the innate immune system and disease-resistant activity in *Cyprinus carpio* by oral administration of  $\beta$ -glucan and whole cell yeast. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 41, n. 6, p. 884-892, 2010.
- IWAMA, G.; AFONSO, L.; MATHILAKATH, V. **Stress in fish**. Campbell River: AquaNet Workshop on Fish Welfare, 2004. 278 p.
- JENEY, G.; GALEOTTI, M.; VOLPATTI, D.; JENEY, Z.; ANDERSON, D. P. Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 154, n. 1, p. 1-15, 1997.
- MCDONALD, D. G.; MILLIGAN, C. L. Ionic, osmotic and acidbase regulation in stress. In: IWAMA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B. (Ed.). **Fish stress and health in aquaculture**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997. p. 119-144.
- MOMMSEN, T. P.; VIJAYAN, M. M.; MOON, T. W. Cortisol in teleost: dynamics, mechanism of action, and metabolic regulation. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, London, v. 9, n. 3, p. 211-268, 1999.
- MONTERO, D.; MARRERO, M.; IZQUIERDO, M. S.; ROBAINA, L.; VERGARA, J. M.; TORT, L. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Spaurus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 171, n. 3-4, p. 269-278, 1999.
- SAKAI, M. Current research status of immunostimulants. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 172, n. 1-2, p. 63-92, 1999.
- SELVARAJ, V.; SAMPATH, K.; SEKAR, V. Use of glucan from *Saccharomyces cerevisiae* as an immunostimulant in carp: impact on hematology, phagocyte function and infection with *Aeromonas hydrophila*. **The Israeli Journal of Aquaculture**, Bamidgheh, v. 57, n. 1, p. 39-48, 2005.
- TAKAHASHI, L. S.; ABREU, J. S.; BILLER, J. D.; URBINATI, E. C. Efeito do ambiente pós-transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, *Piaractus mesopotamicus*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 28, n. 4, p. 469-475, 2006.
- TAVARES-DIAS, M.; ISHIKAWA, M. M.; MARTINS, M. L.; SATAKE, F.; HISANO, H.; PÁDUA, S. B.; JERÔNIMO, G. T.; SANT'ANA, A. R. Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo. In: SARAN-NETO, M.; POZZOBON-SORIA, W. S. (Ed.). **Tópicos especiais em saúde e criação animal**. São Carlos: Pedro & João Editores, 2009, p. 43-72.
- URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Sodium chloride added to transport water and physiological responses of Matrinxã *Brycon amazonicus* (Teleost: Characidae). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 36, n. 4, p. 569-572, 2006.
- VOLPATTI, D.; D'ANGELO, L.; JENEY, G.; JENEY, Z.; ANDERSON, D. P.; GALEOTTI, M. Nonspecific immune response in fish fed glucan diets prior to induced transportation stress. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 14, n. 3-4, p. 201-206, 1998.
- WENDELAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, Washington, v. 77, n. 3, p. 591-625, 1997.
- WINTROBE, M. M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematologica**, Leipzig, v. 51, n. 32, p. 32-49, 1934.
- WOJTASZEK, J.; DZIEWULSKA-SZWAJKOWSKA, D.; LOZINSKA-GABSKA, M.; ADAMOWICZ, A.; DZUGAJ, A. Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio* L.): cortisol effect on the carp blood. **General and Comparative Endocrinology**, New York, v. 125, n. 2, p. 176-183, 2002.