

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS**

**USO DA ZEOLITA E DO EUGENOL NO TRANSPORTE  
DE JUVENIS DE MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*)**

**FRANMIR RODRIGUES BRANDÃO**

**MANAUS  
2009**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS  
TRÓPICOS**

**FRANMIR RODRIGUES BRANDÃO**

**USO DA ZEOLITA E DO EUGENOL NO TRANSPORTE  
DE JUVENIS DE MATRINXÃ ( *Brycon amazonicus* )**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre.

**ORIENTADOR: Dr. Luís Antonio Kioshi Aoki Inoue**

**CO-ORIENTADOR: Dr. Gilberto Moraes**

**Manaus**

**2009**

Ficha Catalográfica  
(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

Brandão, Franmir Rodrigues

*B817u*      Uso da zeolita e do eugenol no transporte de juvenis de matrinxã  
(*Brycon amazonicus*) / Franmir Rodrigues Brandão. - Manaus:  
UFAM, 2009.

68 f. : il. color; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Ciências Pesqueiras nos Trópicos) —  
Universidade Federal do Amazonas, 2009

Orientador: Dr. Luís Antonio Kioshi Aoki Inoue

Co-orientador: Prof. Dr. Gilberto Moraes.

1. Matrinxã (Peixe) 2. Peixe - Transporte 3. Peixe – Efeito do  
stress I. Inoue, Luís Antonio Kioshi Aoki (Orient.) II. Universidade  
Federal do Amazonas III. Título

CDU(1997): 639.33(811)(043.3)

## **FRANMIR RODRIGUES BRANDÃO**

### **USO DA ZEOLITA E DO EUGENOL NO TRANSPORTE DE JUVENIS DE MATRINXÃ ( *Brycon amazonicus* )**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Pesqueira, na área de concentração Uso Sustentável de Recursos Pesqueira nos Trópicos.

**Aprovado em 6 de julho de 2009**

#### **BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dra. Marle Angelica Villacorta Corrêa Presidente  
Universidade Federal do Amazonas

Dra. Cheila Lima Boijik  
Empreza de Pesquisa agropecuária Amazônia Ocidental

Prof. Dr. Paulo Aride  
Centro Universitário Nilton Lins

## **Dedicação**

***Aos meus pais,***

***Meus irmãos,***

***Meus avos, tios e primos.***

## ***Agradecimentos***

*A Deus pela minha existência.*

Aos Meus orientadores Luís Antonio Aoki Kioski Inoue e Gilberto Moraes pela orientação, amizade e ajuda dura esses anos de mestrado.

Ao Dr. Levy de Carvalho Gomes e Dra. Edsandra Campos Chagas e M.sc Roger Crescencio, pelos seus ensinamentos e pela suas amizades que foram de maior valia para que eu continuasse no caminho da pesquisa.

A Dra. Cheila Boijink pela amizade e as palavras de incentivos.

Aos meus pais Francisco Odomil Brandão e Maria do Perpetuo Socorro Rodrigues Brandão. Aos meus irmãos Patrícia e Rodrigo, tia Luiza Rodrigues e ao meu primo Emanuel Rodrigues. Aos meus avos Mario Rodrigues, Maria Izabel, Leonilda Bentes e Almir (*inMemoria*) pela força, apoio e torcida, que mesmo distante fisicamente, sempre estiveram presentes me incentivando durante esta fase da minha vida.

Aos meus amigos do Aqualab pelos anos que passamos juntos em muitos momentos feliz e tristes. Amigos foram a minha família durante os 7 anos . Agradeço-lhe pelo apoio que nos momentos difíceis que pensei em desistir estiveram me dando o maior força e me ajudaram nas realizações dos experimentos durante esses anos. São eles: Diva Carvalho minha amiga inseparável, Irani Moraes pelas palavras doces e sabias, William Sandro, Lucelle Dandas, Clichenner Rodrigues e André Ferreira pelos trabalhos realizados juntos.

Aos amigos do Laboratório de Bioquímica Adaptativa do departamento de Genética e Evolução ( DGE-UFSCAR) pela assistência durante a execução dos experimentos que fizeram parte dessa dissertação são eles: Juliana Figueireido, Fernanda Moraes, Fernando, Joyce, Livia Barbosa, Lícia Lundstedt, Rodrigo Camilo, Lucas Cortela , Cleojocy, Claucia Honorato, Aracelia Hackbarth , Gustavo Rojas , Francini ,Priscila, Japinha.

Aos meus amigos do Curso Ciências Pesqueiras nos trópicos pela amizade e a força durante as disciplinas e outras atividades ardam da pós-graduação.

À Dona Maria pela acolhida e pelo carinho em São Carlos-SP durante os meus experimentos e análises das amostras.

Aos meus amigos de todos os dias Rodrigo Pinheiro, Bruno Azedo, Bruna Azedo, Generina Gonçalves, Alexandre Cardoso, Adria Cardoso, Mario Nilo e os demais que por ventura tenha me esquecido.

Ao Toninho pelo apoio nos experimentos para realização de um bom trabalho.

Ao José Pereira pelos ensinamentos e ajuda durante anos de estagio na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária da Amazônia Ocidental. Ajudando em todos os experimentos por mim realizados foi o maior colaborador para o sucesso de todos.

A todos os professores da Pós-graduação que passaram seus conhecimentos de forma incessante para contribuir para a nossa formação e obtenção do titulo de mestre.

À EMBRAPA pelos anos que fui estagiário, pode ceder suas instalações para realizações de muitos experimentos durante os 7 anos de estágios nos diversos tipos como: iniciação científica, graduado e agora como alunos de pós-graduação.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pelo apoio durante o Mestrado.

A Fundação de Amparo a Pesquisa (FAPEAM), pela concessão da bolsa para a manutenção dos estudos durante todo o Mestrado.

A SELTA Brasil pelo fornecimento da zeolita para realização do trabalho.

## **ZEOLITA E EUGENOL NO TRANSPORTE DE JUVENIS DE MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*)**

### **Resumo**

O *Brycon amazonicus*, genericamente conhecido como matrinxã, é um dos peixes com maior potencial para a piscicultura na Amazônia. Porém por ser um peixe naturalmente agitado, movimenta-se de forma intensa durante o manejo sendo mais suscetível aos efeitos indesejáveis das diversas práticas como biometria, classificação e transporte, podendo ocorrer ferimentos na superfície do corpo, manifestação de doenças e até altas mortalidades. Os objetivos do proposto trabalho foram avaliar as possibilidades de uso da zeolita durante o transporte de matrinxã, associado ao uso de um anestésico alternativo, o eugenol, também na água de transporte, para reduzir a movimentação dos animais, a fim de aumentar com esses dois produtos as chances de sucesso do transporte. Foram realizados três estudos: 1) análise de amônia liberada pelo matrinxã na água durante o transporte; 2) análise do poder de absorção da amônia pela zeolita; 3) Efeito da adição de zeolita e eugenol à água de transporte nas respostas metabólicas ao estresse do matrinxã submetido ao transporte. Foram retiradas amostras de água das embalagens de transporte para análises de temperatura, oxigênio, pH, amônia e nitrito. Amostras de sangue e tecido muscular e hepático foram coletadas para realização das análises de hematócrito, lactato, glicose plasmática, lactato, amônia plasmática, proteína total, cloretos, sódio, glicogênio hepático e glicogênio muscular. No primeiro experimento determinou-se que a liberação de amônia na água de transporte de 4 horas apresentou um aumento exponencial. No segundo experimento de absorção da amônia pela zeolita, todas as concentrações mostraram-se eficientes para o fim proposto. No terceiro experimento a influência da zeolita conjuntamente com o eugenol nas respostas metabólicas ao estresse foram satisfatórias para amenizá-las. A concentração de zeolita determinada como adequada foi de 7,5 mg/L levando-se em consideração o custo-benefício ao produtor. O tratamento zeolita + eugenol foi o mais eficiente mostrando bons resultados para melhorar a



qualidade do transporte com respostas fisiológicas e tissulares ao estresse menores.

**Palavras Chaves:** peixe, metabolismo, amônia, clinoptilolita, estresse, anestésico.

## **ABSTRACT**

*Brycon amazonicus*, commonly known as matrinxã, is one of the most potential species for commercial fish farming in the Western Amazon. Nevertheless this is a very aggressive fish, and excessive movements in handling may lead animals to undesired consequences as body wounds, diseases or even mortality. The objective of this work was to evaluate zeolite in the transport in order to reduce excreted ammonia on water transport that may represent absence of one acute transport stressor. Additionally we evaluated the use an alternative anesthetic, eugenol, also in the transport water to tranquilize fish and together with zeolite increase the chances of the transport success. Three experiments were held: 1) matrinxã excreted ammonia in the transport water; 2) capacity of zeolite to absorb water ammonia; 3) Effects of zeolite and eugenol addition on the transport water on the metabolic stress responses of matrinxã. Water samples were taken during transport to measure temperature, oxygen, pH, ammonia and nitrite. Blood samples were also taken to measure hematocrit, lactate, glucose, ammonia, protein, chlorides and sodium. Glycogen tissues contents were still measured. Transportation of fish during 4 h accumulated ammonia in the water in concentration of 1,39 mg/L, and pH  $6,45 \pm 0,43$ , oxygen  $13,5 \pm 0,24$  mg/L and temperature  $27,1 \pm 0,13$  °C. In the second experiment, zeolite in concentration of 7,5 mg/L absorbed properly ammonia transport water. In the third study zeolite and eugenol decreased metabolic stress responses of matrinxã to transport. Plasma glucose was around 65,62 mg/dL and cortisol 4,1 ng/dL.

**Key words:** fish, metabolism, ammonia, stress, anesthetic, clinoptilolite.

## Sumário

1.	Introdução	1
2.	Piscicultura na Amazônia	2
3.	Transporte de peixes vivos no Amazonas	3
3.1	Transporte em sistema aberto	4
3.2	Transporte em sistema fechado	5
4.	Qualidade de água de Transporte de peixes vivos	5
4.1	Oxigênio dissolvido na água	6
4.2	Temperatura da água	6
4.3	Potencial hidrogênio de água (pH)	7
4.4	Alcalinidade	7
4.5	Dióxido de carbono	8
4.6	Resíduos nitrogenados	8
5.	Transporte de peixes vivos e estresse	9
6.	Estresse: conceito e mecanismo	10
7.	Mitigação de estresse ao transporte por substâncias adicionadas na água	13
7.1	Eugenol	14
7.2	Zeolita	15
8.	Matrinxã	17
9.	Delimitação do Tema	20
9.1	Objetivo do presente trabalho	20
9.2	Objetivos específicos	20
10.	Materiais e métodos	20
10.1	Aquisição e preparo do material biológico	20
10.2	Experimento I	
	Análise de amônia liberada na água durante o estresse do transporte	21
10.3	Experimento II	

	Análise do efeito absorvivo da zeolita	21
10.4	Experimentos III	22
	Efeito da adição de zeolita e eugenol à água de transporte nas respostas metabólicas ao estresse do matrinxã durante o transporte	
11.	Colete e processamentos de material biológico	23
11.1	Parâmetros Hematológicos	23
11.2	Parâmetros Plasmáticos	23
11.3	Glicose	23
11.4	Lactato Plasmático	23
11.5	Amônia Plasmática	24
11.6	Íons (Na, K, Cl)	24
11.7	Parâmetros tissulares	24
11.7.1	Glicogênio hepático e muscular	24
12.	Parâmetros de qualidade de água	25
12.1	Oxigênio, temperatura e pH	25
12.2	Amônia da água	25
12.3	Nitrito	25
13.	Análise estatístico	25
14	Resultados e discussão	26
14.1	Mensuração da amônia liberada na água de transporte pelo matrinxã	26
14.2	Absorção da amônia pela zeolita	27
14.3	Absorção da amônia em diferentes quantidades de zeolita	28
14.4	Efeito da adição da zeolita e eugenol à água de transporte nas respostas metabólicas ao estresse do matrinxã submetido ao transporte.	31
14.5	Parâmetros metabólicos do matrinxã submetido ao transporte	33
14.5.1	Hematócrito	33
14.5.2	Cortisol	34
14.5.3	Glicose	36
14.5.4	Lactato	38
14.5.5	Amônia plasmática	39

14.5.6	Cloretos	41
14.5.7	Sódio	42
14.5.8	Glicogênio hepático	43
14.5.9	Glicogênio muscular	44
14.5.10	Proteína plasmática	46
15.	Conclusões	48
16.	Referencias bibliográficas	49

## Lista de figuras

Figura 1.	Transporte de peixes vivos em sistema aberto	4
Figura 2.	Sistema fechado de transporte de peixes	5
Figura 3.	Esquema dos efeitos do estresse	12
Figura 4.	Botões floríferos do cravo (A) Cravo-da-Índia comercializado (B) e matéria prima para extração do óleo de cravo	14
Figura 5.	Zeolita, produto comercial	16
Figura 6.	Matrinxã ( <i>Brycon Amazonicus</i> )	18
Figura 7.	Excreção de amônia durante o transporte de juvenis de matrinxã durante 4 horas de transporte	27
Figura 8.	Resultado da absorção da amônia pela zeolita em varias concentrações de amônia : 0,5mM, 1mM, 2mM, 4mM e fixada a concentração de zeolita a 5mg/L	28
Figura 9.	Resultado da absorção da amônia a (1mM) pela zeolita nas seguintes concentrações : 2,5g/L, 5g/L, 7,5g/L, 10g/L, 15g/L durante 4 horas	29
Figura10.	Valores de hematócrito de juvenis de matrinxã submetidos ao transporte com adição de redutor de amônia na água, zeolita, e um anestésico alternativo, eugenol	36
Figura 11.	Valores de cortisol em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte com adição de redutor de amônia na água, zeolita, e um anestésico alternativo, eugenol	38
Figura 12.	Valores de glicose plasmática em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte sob ação da adição de zeolita e eugenol à água de transporte	39

- Figura 13. Valores de lactato plasmático em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte sob influência da zeolita e eugenol adicionados à água de transporte 41
- Figura 14. Valores de amônia plasmática em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte sob influência da zeolita e eugenol adicionados à água de transporte 42
- Figura 15. Valores de cloreto plasmático em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte sob influência da zeolita e eugenol adicionados à água de transporte 43
- Figura 16. Valores de sódio ( $\text{Na}^+$ ) plasmático em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte sob influência da zeolita e eugenol adicionados à água de transporte 45
- Figura 17. Valores de glicogênio hepático em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte sob influência da zeolita e eugenol adicionados à água de transporte 46
- Figura 18. Valores de glicogênio muscular em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte sob influência da zeolita e eugenol adicionados à água de transporte 47
- Figura 19. Valores de proteína plasmáticos em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte sob influência da zeolita e eugenol adicionados à água de transporte 48

## Lista de tabelas

Tabela 1	Qualidade de água do transporte de juvenis de matrinxã sob influencia da zeolita (7,5g/L) e eugenol (5mg/L)	32
----------	---	----

## 1. Introdução

A piscicultura é uma das atividades zootécnicas mais promissoras para se incrementar a produção de alimentos ricos em proteína. Dentre as principais vantagens, que apresenta, destaca-se sua repercussão econômica para o aproveitamento de áreas improdutivas ou de baixo rendimento agropecuário (Galli & Torloni, 1989). A piscicultura, além de movimentar um setor muito importante e crescente na produção de alimentos, pode gerar empregos e renda também em outros segmentos do Agronegócio como as indústrias de rações, medicamentos, equipamentos e processamento (Inoue, 2005).

Dentre as muitas espécies de peixes amazônicos, o matrinxã destaca-se como uma de grande valor econômico e apresenta grande potencial para criação intensiva em cativeiro pelo crescimento rápido sob regimes de alimentação artificial e completa (Graef, 1995; Honczaryk, 2000; Arabeláez-Rojas *et al.*, 2002; Fim, 2002; Brandão *et al.*, 2005; Oliveira, 2008). Porém o matrinxã por ser um peixe agitado movimenta-se de forma intensa durante o manejo, sendo bastante sensível às diversas práticas, principalmente o transporte, perdendo muco e escamas, havendo muitas vezes mortes massivas de animais após o manejo, causando prejuízos sérios aos empresários rurais.

Na piscicultura intensiva, a principal fonte de compostos nitrogenados incorporado à água é a traves da alimentação. No início das criações, a biomassa é ainda pequena, observam-se baixos níveis de amônia – compostos resultantes do catabolismo das proteínas, que aumentam proporcionalmente ao aumento da quantidade de alimentos fornecido. Na criação de peixes carnívoros, essa situação pode ser agravada pelos elevados níveis de proteína das rações, essas altas concentrações do íon amônia podem influenciar diretamente a dinâmica do oxigênio dissolvido no meio ( Hurvitz *et al.*1997, Pereira & Mercante, 2005)

O presente trabalho foi elaborado com a finalidade de se verificar a possibilidade do uso de dois produtos em conjunto, a zeolita e o eugenol, no transporte de juvenis de matrinxã, gerando informações básicas para o



aperfeiçoamento de uma das práticas de manejo mais críticas no dia-dia nas unidades de piscicultura, o transporte. Dessa forma espera-se contribuir com informações aos técnicos da área para o aumento das chances de sucesso dessa prática de manejo.

## **2. Piscicultura na Amazônia**

A piscicultura na região Amazônica teve início na década de 80, com a implantação do Programa de Desenvolvimento da Aquicultura pelo governo do estado do Amazonas. A região possui algumas particularidades que revelam o grande potencial da Amazônia para o desenvolvimento da atividade, destacando a grande abundância de recursos hídricos, o clima quente o ano todo com pequena amplitude térmica (apenas 3 a 4°C nos grandes corpos d'água), a demanda de interesse para este ramo, mais a ampla variedade de espécies de peixes de alto valor comercial (Roubach *et al.*, 2003; Ono, 2005).

A abundância de peixes na bacia amazônica era causa de inviabilidade da piscicultura comercial até início da década de 70 no Amazonas, especialmente nos arredores da cidade de Manaus, quando essa cidade tinha pouco mais de 200 mil habitantes. Com a criação da Zona Franca de Manaus pelo governo militar, a cidade sofreu forte expansão demográfica (hoje Manaus tem quase 2 milhões de habitantes) e conseqüentemente aumentou a demanda por alimentos de alta qualidade, como o tambaqui e a matrinxã, peixes nobres da cozinha amazonense. O esforço de pesca foi intensificado e os cardumes dos peixes economicamente mais valiosos rapidamente escassearam perto das cidades, sendo atualmente necessário que os barcos de pesca se desloquem cada vez mais longe, elevando os custos de captura. A sazonalidade do pescado oriundo da captura é também um fator que favorece a piscicultura, pois essa é capaz de fornecer pescado de qualidade de maneira regular durante o ano inteiro (Pereira-Filho, 1995).

Os sistemas de cultivo mais utilizados na Amazônia são: tanques escavados, barragens e canal de igarapé. A criação em tanque escavado e barragem são divididas em duas etapas: recria e engorda, essa divisão é fundamental para o sucesso da criação. Na recria do matrinxã, os peixes são

criados em viveiros chamados berçários, por 60 dias, na densidade de 10 peixes/ m<sup>2</sup> essa fase a finalidade é engordar os juvenis de 2 a 4 cm até o tamanho de 10 a 12 cm. (Gomes & Urbinati, 2005; Brandão *et al.*,2005)

Na engorda em viveiro, a densidade utilizada é de 5.000 peixe/ha. Após nove meses de criação, os peixes apresentam peso médio de 1,4kg, com sobrevivência de até 100%. A produção é de mais ou menos 7,5 ton/h ano (Izel & Melo, 2004).

Uma alternativa recente para engorda de matrinxã é a criação intensiva em canais de igarapés na Amazônia (Abeláez-Rojas *et. al.*, 2002). São construídos reservatórios em sentido paralelo ao curso natural do igarapé e fechando com telas e as margens sendo reforçadas por paredes de madeira, concretos ou sacos de areia, formando uma espécie *raceway* natural, e os resultados mostram que o matrinxã vem se adaptando muito bem a este sistema atualmente.

### **3. Transporte de peixes vivos**

O transporte de peixes vivos é uma prática rotineira nos sistemas de criação como os estabelecimentos de produção de alevinos, no caso larvas e juvenis, e estabelecimentos voltados à engorda, pesca esportiva e a indústria processadora, no caso peixes com tamanho para abate (Piper *et. al.*, 1982; Carmichel *et. al.*, 2001; Gomes & Urbinati 2005). No norte do Brasil, o transporte de peixes vivos vem aumentando consideravelmente e as principais finalidades são o comércio de peixe vivo em feiras para o consumo, fornecimento para fazendas e sítios de pesque-pague e formação de plantel de reprodutores (Gomes *et. al.*, 2003a).

Segundo Gomes (2002), embora o transporte seja uma das práticas de manejo mais importantes e indispensáveis da piscicultura, pouca atenção tem sido dada ao assunto no Amazonas. Os procedimentos e técnicas utilizados durante o transporte são importantes para o sucesso desta operação. Sua escolha deve levar em conta os aspectos relacionados aos peixes, à água, aos

equipamentos e ao manejo envolvido na operação. Entre esses aspectos estão: espécies, tamanho do peixe, condição nutricional e a saúde, além da qualidade de água usada no transporte que deve ser mantida a melhor possível, controlando-se a temperatura e a concentração de oxigênio, gás carbônico e amônia. Existem dois tipos de transporte: transporte em sistema aberto e transporte em sistema fechado (Grottum *et al.*, 1997).

### **3.1. Transporte em sistema aberto**

O sistema de transporte aberto é o sistema mais utilizado para peixes com mais de 100 gramas. Em geral são utilizadas caixas rígidas com tampa, o que exerce uma função isolante do ar atmosférico, importante para se evitar variações bruscas de temperatura. Nestas caixas são colocadas a água e os peixes a serem transportados. Essas caixas são equipadas por sistemas de difusão de oxigênio por borbulhamento durante todo o transporte, mas, alternativamente em algumas situações, são utilizados compressores de ar como fonte de oxigênio. Essas caixas são manufaturadas especialmente para o transporte de peixes vivos com diversos materiais tais como fibra, plástico e alumínio, com capacidade que variam de 100 a 4.000 litros de água. Sendo as mais utilizadas no Amazonas são as de 500 e 1.000 litros. O transporte em sistema aberto é normalmente realizado por via rodoviária. Para peixes com mais de 500 gramas este sistema também é utilizado para o abastecimento de fazendas e sítios de pesque-pague, restaurante e para venda de reprodutores. Peixes entre 100 e 500 gramas são transportados nesse sistema para povoamento de viveiros, tanque-rede e projetos de repovoamento (Gomes, 2002).



Figura 1. Transporte de peixes vivos em sistema aberto.

### 3.2. Transporte em sistema fechado

No sistema de transporte fechado são utilizados sacos plásticos. Neste é adicionada água, os peixe e em seguida injetado oxigênio puro. Após a adição de oxigênio o saco é lacrado. O tamanho do saco pode variar com a finalidade do transporte e com o tamanho dos peixes. Em fazendas de criação de juvenis utilizam-se sacos de 30 a 60 litros, sendo que em 20% do volume é adicionada água e no restante é injetado o oxigênio. O saco pode ser diretamente transportado ou colocado em caixas de papelão ou isopor, que oferecem proteção adicional contra choques, evitando dessa forma que as mesmas rasguem ou estourem, e variação térmica da água.

Esse é o sistema mais utilizado no mundo para o transporte de juvenis por via rodoviária e é o sistema padrão para o transporte por via aérea, muito utilizado principalmente para peixes ornamentais (Gomes, 2002).



Figura 2. Sistema fechado de transporte de peixes.

#### 4. Qualidade da água de transporte de peixes vivos

Durante o transporte, a deteriorização na qualidade de água pode exercer impacto negativo sobre o bem-estar geral dos peixes, com reflexos negativos para a etapa seguinte do sistema de produção como perdas na reprodução (no caso do transporte de reprodutores de uma estação para outra), sanidade (manifestação de doenças no pós-transporte) e sobrevivência (mortalidade em alta no pós-transporte). Os efeitos da qualidade de água inadequada durante o transporte variam consideravelmente em função da espécie, tamanho, idade e histórico de exposição a cada elemento que caracteriza físico-quimicamente o meio. Dentre os principais parâmetros que devem ser monitorados são: oxigênio dissolvido, temperatura, pH, alcalinidade, gás carbônico e concentração de resíduos metabólicos nitrogenados (amônia e nitrito). Muitos destes parâmetros interagem entre si e influenciam uns aos outros, algumas vezes de forma muito complexas (Boyd, 1982; Gomes & Urbinati, 2005).

##### 4.1. Oxigênio dissolvido

O oxigênio dissolvido (OD) é apontado como um dos fatores limitantes do transporte de peixes. A quantidade de oxigênio existente na água não é suficiente para suportar as densidades utilizadas durante o transporte, sendo necessário o fornecimento de oxigênio suplementar. Para sistemas fechados

de transporte é necessário adicionar o oxigênio no saco plástico e depois lacrá-los, assim ele fica pressurizado e o gás é dissolvido na água vagarosamente pelo balanço ocasionado no transporte (Berka, 1986). Para sistemas aberto o ideal é que oxigênio seja adicionado por borbulhamento ao longo de todo o transporte.

A exigência de oxigênio durante o transporte vai depender da espécie a ser transportada e o tamanho dos peixes. Segundo Berka (1986); Gomes & Urbinati (2005), espécies muito ativas e sem tolerância hipóxicas (pouco oxigênio dissolvido no ambiente), como os salmonídeos, requerem uma quantidade de oxigênio alta. Por outro lado, espécies não muito ativas e que possuem tolerância a hipoxia em seus ambientes naturais, como as carpas, requerem menos oxigênio. Normalmente, peixes maiores consomem menos oxigênio por peso do que peixes menores (Johnson, 1979). Por não existir valores de exigência de oxigênio para todas as espécies transportadas, existe uma padronização no campo de que o valor do oxigênio fique em torno de 5 mg/L durante o transporte, para que essa variável não seja limitante (Boyd, 1981).

#### **4.2. Temperatura**

A temperatura da água tem grande importância no estabelecimento de um ambiente ótimo para as espécies aquáticas. Como todos os animais ectotermos, os peixes apresentam variação na temperatura corporal em função da temperatura da água, pois esta influencia diretamente o metabolismo do peixe e, conseqüentemente, outras variáveis como oxigênio e a toxicidade da amônia. O consumo de oxigênio pelos peixes aumenta com a temperatura, sendo este mais solúvel na água com a diminuição da temperatura (Boyd, 1982). Altas temperaturas favorecem a manutenção da amônia em seu estado mais tóxico ( $\text{NH}_3$ ). Preferencialmente a temperatura da água do transporte de peixes amazônicos deve ficar entre 25-30°C (Gomes *et. al.*, 2003b).

#### **4.3. Potencial hidrogeniônico da água (pH)**

O pH da água é regulado pelo sistema tampão carbônico-bicarbonato. E o pH pode ser influenciado também pela temperatura. Exemplo prático é observado que em pH ácido a ação tóxica amônia ( $\text{NH}_3$ ) é menor, já que uma água que tenha um valor de pH de 9 e onde se encontra 1 mg/L de amônia total, contém realmente 0,25 mg/L de amônia livre (não ionizada) que está muito acima dos níveis de tolerância para a maioria dos peixes cultivados. Na prática isto significa que uma quantidade de 5 ppm a um pH 6 é inócua para os peixes, mas a pH 9 pode rapidamente resultar em elevada mortalidade no sistema. Por esta razão, é necessário medir sempre os dois parâmetros, pH e amônia. Ao trocar de água no meio de um transporte, devem-se medir os valores de pH da água nova e da antiga para assegurar que não haverá variação brusca desse parâmetro que pode repentinamente favorecer a liberação de grandes quantidades de amônia na água pelos peixes. O pH da água do transporte deve ficar entre 5-7 (Baldisserotto, 2002; Gomes *et al.*, 2003b; Gomes & Urbinati, 2005).

#### **4.4. Alcalinidade**

A alcalinidade é a indicação da capacidade tampão ou de neutralização da acidez na água. Ela pode ser causada pela presença de vários compostos, mas principalmente por carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) e bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) em águas naturais. A alcalinidade é ligada diretamente aos níveis de dióxido de carbono e pH da água, podendo ser corrigida a partir da variação do pH, com  $\text{CaCO}_3$ , cal virgem e cal hidratada. Está estabelecido que, para o transporte de peixes de água doce, os valores adequados de alcalinidade devem ser maiores que 20 mg/L  $\text{CaCO}_3$  (Wedemeyer, 1997; Gomes & Urbinati, 2005).

#### **4.5. Dióxido de carbono**

O dióxido de carbono presente nos sistemas de transporte é proveniente principalmente da respiração dos peixes e da decomposição da matéria orgânica. O aumento do dióxido de carbono é devido à baixa concentração de carbonato que faz com que haja uma acidificação da água do transporte. A elevação da concentração de dióxido de carbono no meio pode ser um fator limitante no transporte. Quando as concentrações de oxigênio são adequadas,

os peixes suportam bem o estresse do dióxido de carbono. Se, no entanto, as concentrações de oxigênio forem baixas, as concentrações altas de dióxido de carbono podem ser letais. O dióxido de carbono geralmente é mais problemático quando se transportam peixes em sistema fechado. Nesse sistema, todo dióxido de carbono produzido fica acumulado no meio e aumenta gradativamente com o tempo do transporte. No sistema de transporte aberto, o dióxido de carbono poder ser volatilizado pela agitação da água durante o transporte e pelo borbulhamento do oxigênio. As concentrações de dióxido de carbono na água do transporte não devem ser superiores a 100mg/L. Durante o transporte, o aumento da concentração de dióxido de carbono causa diminuição do pH da água e concentração na fração de amônia tóxica, (Gomes *et al.*,2003b; Gomes & Urbinati, 2005).

#### **4.6. Resíduos nitrogenados**

Os compostos nitrogenados de maior interesse nos sistemas de cultivo incluem amônia, nitrito e nitrato. O nitrogênio é um nutriente essencial para todos os organismos vivos, em pequena quantidade. Em geral, o problema é a presença de uma quantidade excessiva deste composto na água. A amônia ocorre em duas formas: amônia não-ionizada ( $\text{NH}_3$ ) e íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ). A amônia não-ionizada é a forma mais tóxica e sua concentração é afetada pelo pH. No processo de nitrificação, a amônia é convertida em nitrito e depois em nitrato por bactérias. O mecanismo primário de toxicidade da amônia primária não esta bem esclarecida, mas sabe-se que altos níveis de amônia reduzem o pH sanguíneo devido ao acúmulo de metabólicos ácidos resultantes da supressão do ciclo do ácido cítrico, que provocam danos nas brânquias e nos processos osmorreguladores, afetando vários outros processos fisiológicos (Baldisserotto, 2002). No caso dos peixes de água doce, os limites de tolerância para amônia, não-ionizada são valores menores que 0,025 mg/L. Concentrações de amônia total que contêm esta quantidade de amônia não-ionizada oscilam de 19,6 mg/L (pH 7, 0,5°C) a 0,12 mg/L (pH 8,5, 30 °C). Em transporte de juvenis de matrinxã foram encontrados valores de amônia total de 5,07 mg/L a 5,75 mg/L (pH em torno de 7,3 e temperatura em torno de 27°C), em trabalho de Gomes & Urbinati, (2005).O nitrito pode ser estressante para os



peixes na concentração de 0,1 mg/L. Com uma concentração de 0,5 mg/L, o sangue pode adquirir uma cor chocolate, conhecida como doença do sangue marrom. Esta mudança se deve provavelmente a concentração de ácido nítrico que oxida o íon ferroso da hemoglobina, formando a metahemoglobina, que não é capaz de transportar o oxigênio, matando os peixes por asfixia. É por este motivo que, mesmo com uma concentração ideal de oxigênio, pode-se não obter o desenvolvimento esperado dos peixes ou peixes muito debilitados ou até mesmo com uma alta mortalidade (Baldisserotto, 2002).

## **5. Transporte de peixes vivos X estresse**

O estresse está presente em todas as fases envolvidas no cultivo de organismos aquáticos. Os desafios naturais se somam àqueles impostos pelas práticas de manejo impostas pelo piscicultor, como, por exemplo, biometria, transporte, banhos terapêuticos, altas densidades de estocagem e a exposição às condições extremas de qualidade de água. Desse modo, os animais precisam encontrar meios de lidar com esses desafios, a fim de confrontá-los e de superá-los, para garantir sua sobrevivência. O somatório das mudanças fisiológicas desencadeadas quando o peixe reage a desafios químicos, físicos e biológicos juntamente com as tentativas de compensação são comumente referidas como respostas ao estresse (Wedemeyer *et al.*, 1990; Gomes *et al.*, 2003a; Lima *et al.*, 2006).

Durante o transporte e o adensamento, o principal precursor do estresse é a abrasão mecânica causada pelo inevitável contato entre os peixes e também os equipamentos como redes e puçás, além da exposição dos animais a condições de qualidade de água baixa nas embalagens e containeres (Ross & Ross, 1999; Gomes *et al.*, 2003a). Os peixes respondem ao estresse de forma a refletir a severidade e a duração do agente estressor (Barton, 1997). Conseqüentemente, as reações fisiológicas dos peixes a esses tipos agudos de estresse necessitam ser consideradas, tanto em relação ao tipo de resposta, como a caracterização no qual se encontra (Krieger-Azolini *et al.*, 1989). Estas respostas preparam o organismo para a chamada luta e fuga, ou seja, a tentativa de escapar da adversidade. Essas podem variar de acordo

com a intensidade e duração do estressor (Morgan & Iwama, 1996; Urbinati *et al.*, 2004a; Brandão *et al.*, 2006).

Em adição, a caracterização dos indicadores de estresse está restrita principalmente às espécies de clima temperado, as quais são bastante distintas dos peixes tropicais, principalmente quanto à tolerância aos diferentes agentes estressantes (Fletcher, 1984). As reações fisiológicas dos peixes de clima tropical como o matrinxã a diversos estressores agudos, inclusive o transporte, necessitam ser mais estudadas, em relação ao perfil das respostas, para melhor caracterização, compreensão e aperfeiçoamento das técnicas de manejo (Urbinati & Carneiro, 2004)

## **6. Estresse: conceito e mecanismos**

Segundo Wendeelar-Bonga (1997), o estresse pode ser definido como uma condição em que o equilíbrio dinâmico do organismo, ou homeostase, é ameaçado ou perturbado em decorrência da ação de estímulos intrínsecos denominados estressores. Devido ao seu íntimo contato com o ambiente aquático e à sua condição de animal pecilotérmico, peixes enfrentam constantes desafios, os quais vão desde aspectos físico-químicos da água até conflitos de animais dominantes dentro do cardume ou da população (Barton, 1988; Adams, 1990; Wedemeyer, 1996; Lima *et al.*, 2006). O estresse fisiológico segue com o desencadeamento da Síndrome de Adaptação Geral (SAG), dividida em três respostas: primária, secundária e terciária (Carmichael *et al.*, 1984; Moyle & Cech, 1998; Staurnes *et al.*, 1994).

A resposta neuroendócrina, ou primária, ocorre segundos após o estímulo, o sistema nervoso simpático estimula diretamente as células cromafins que liberam catecolaminas (especialmente adrenalina) com função de aumentar os batimentos operculares, estimular o fluxo de sangue nas brânquias e aumentar a capacidade de transporte de oxigênio (Fabbri *et al.*, 1998; Bendhack, 2004), além de disponibilizar glicose rapidamente. Ao mesmo tempo, a hipófise estimulada pela secreção de CRH (hormônio liberador de corticotrofina) do hipotálamo, libera ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) na corrente sanguínea que por sua vez, provoca a liberação de cortisol nas células secretoras do rim cefálico (Barton & Iwama, 1991). Nessas condições a hiperglicemia, induzida

inicialmente pelas catecolaminas, é resultante de glicogenólise hepática. Sua manutenção ocorre graças a mecanismos neoglicogênicos resultantes do aumento da concentração plasmática de cortisol, sendo esta uma importante resposta secundária ao estresse (Mommsen *et al.*, 1999). A hiperglicemia tem o papel de proporcionar energia para os peixes na fuga ou enfrentamento da situação adversa (Wendelaar Bonga, 1997). Outro subsídio para tais respostas é a captação de maior quantidade de oxigênio, através do aumento dos batimentos cardíacos e operculares. Ao mesmo tempo em que ocorre maior ventilação, os hormônios liberados atuam sobre o epitélio branquial provocando aumento na sua permeabilidade, causando desequilíbrio osmótico nos peixes de água doce que estimulam a hidrólise das reservas de glicogênio no fígado, aumentando os níveis de glicose no sangue, diminuição da proteína muscular, aumento do batimento cardíaco, marcando o início da resposta secundária.

A resposta secundária pode ser definida como a canalização das ações e dos efeitos imediatos desses hormônios em nível sanguíneo e de tecidos, incluindo o aumento dos batimentos cardíacos e da absorção de oxigênio, e a mobilização de substratos de energia e, ainda, a perturbação do balanço hidromineral.

A resposta terciária é marcada também pela diminuição da resistência dos peixes às doenças, pois ocorre uma diminuição no número de leucócitos, ocorrendo linfocitopenia (diminuição do número de linfócitos) e neutrofilia (aumento do número de neutrófilos circulantes) em inibição do crescimento, da reprodução e da resposta imune. A limitação da capacidade do animal de tolerar estressores subseqüentes ou adicionais também é atribuída a uma manifestação da resposta terciária de acordo com Mazeuad *et al.*,(1977); Barton *et al.*(2002), Mommsen *et al.*,(1999).

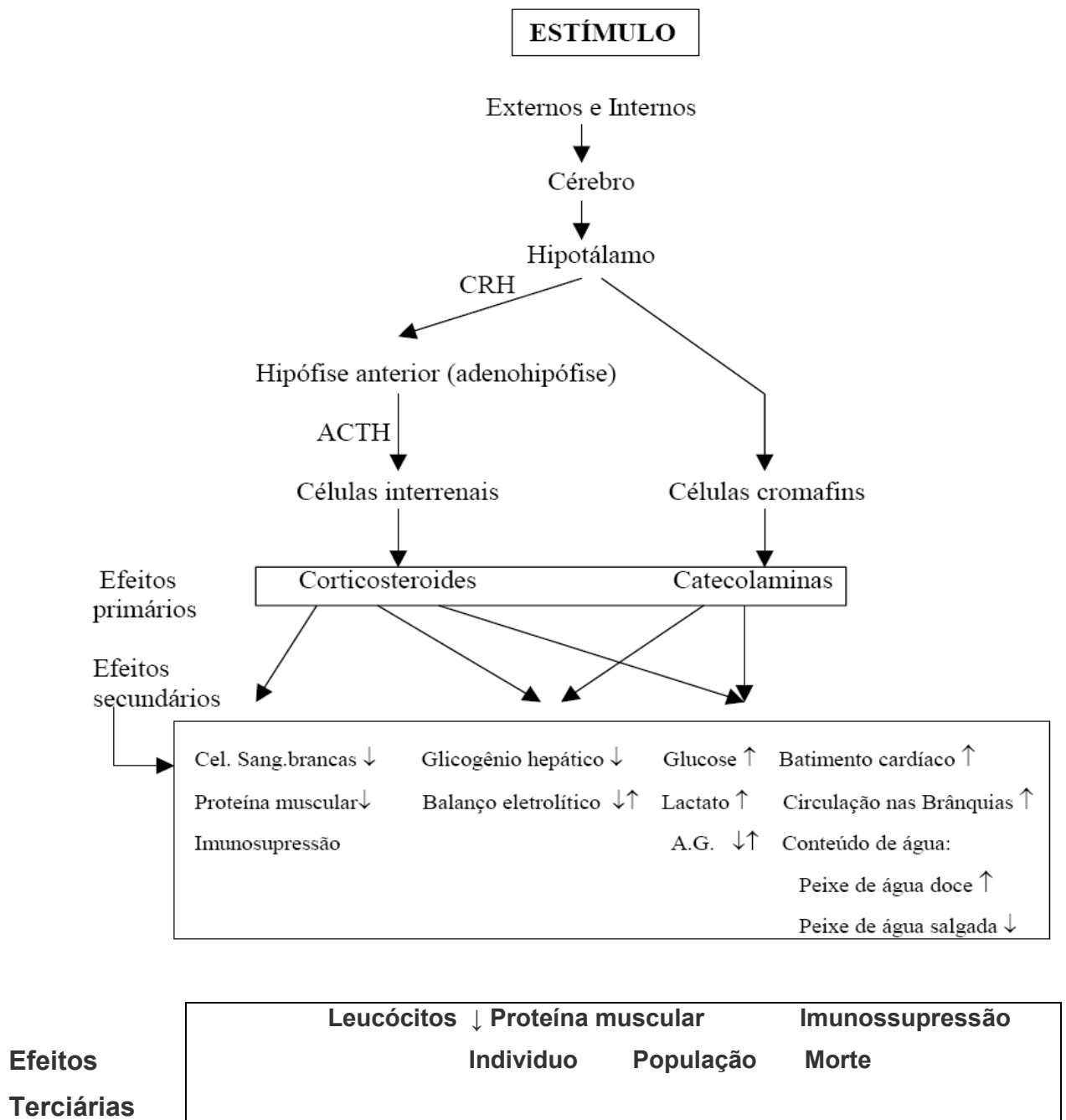


Figura 3. Esquema dos efeitos de estresse

A resposta ao estresse em peixes inclui uma considerável taxa de absorção de oxigênio pelas brânquias, em função do aumento da taxa de ventilação, da estimulação do fluxo branquial e da elevada capacidade de difusão do oxigênio. A maior parte desses efeitos é causada pelas catecolaminas circulantes agindo por meio de mecanismos beta adrenérgicos

(Randal & Perry, 1992). A hiperglicemia relacionada ao estresse e relatada para vários teleósteos (Barton & Iwama, 1991) também é principalmente mediada pelos efeitos das catecolaminas e da liberação de glicose hepática, o principal carboidrato reserva do peixe. Há, ainda, evidências para o envolvimento de catecolaminas na mobilização de ácidos graxos livres, que são importantes fontes de energia para os peixes (Van der Boon *et al.*, 1991; Pickering & Pottinger, 1995; Lima *et al.*, 2006).

## **7. Mitigação do estresse ao transporte por substâncias adicionadas na água**

O uso de anestésico durante o transporte ainda é discutível, pois em alguns casos, os anestésicos são benéficos por diminuir a excitação dos animais, evitar injúrias físicas, reduzir a excreção de amônia e gás carbônico na água de transporte, diminuindo assim a deterioração da qualidade da água. Entretanto em outros, estas substâncias parecem provocar as mesmas alterações fisiológicas causadas pelo próprio transporte (Wurtz, 1995; Gomes & Urbinati, 2005).

Nos últimos anos, as técnicas para o transporte de várias espécies de peixes de água doce têm sido melhoradas por procedimentos simples como a restrição alimentar antes do transporte o uso de substâncias como sal de cozinha (NaCl), gesso (CaSO<sub>4</sub>), cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>), anestésicos adicionados na água de transporte, além de trocas de água ao longo das viagens (Wurtz , ,1995; Grottum *et al.*, 1997; Kubitzka ,1997; Ross & Ross, 1999; Gomes & Urbinati, 2005). Diversos trabalhos descrevem técnicas para minimizar os efeitos do estresse no matrinxã decorrente destas atividades, como jejum, que pode variar de 24 a 48 horas antes do transporte (Carneiro & Urbinati, 2001; Urbinati *et al.*, 2004), ou a utilização de produtos na água de transporte, como sal (Carneiro & Urbinati, 2001a), anestésicos como: Benzocaína (Carneiro & Urbinati ,2001 b; Inoue *et al.*, 2002), fenoxietanol (Inouel *et al.*, 2004); tricaína metanosulfozação MS222 (Rouback *et al.*, 2001) e eugenol (Inoue *et al.*, 2005; Barbosa *et al.* ,2007).

Entre as substâncias que podem ser utilizadas no transporte, a zeolita é um mineral que tem um efeito adsorvivo de substâncias tóxicas da água como a amônia (Silapajarn *et al.*, 2006). Seu uso parece ser interessante no transporte de peixes, pois são observados teores menores de amônia na água de transporte. Dessa forma, o uso de um anestésico (o eugenol) em associação com a zeolita pode reduzir os efeitos do estresse no transporte, pois, nessas condições, os peixes apresentariam metabolismo reduzido pela ação do eugenol e menor teor de amônia na água pela zeolita.

### 7.1 Eugenol

O eugenol (Eg) (4-*alil*-2-metoxifenol) é um composto fenólico cuja concentração no óleo essencial do cravo chega a 95%. Esse óleo volátil é obtido através da destilação por arraste de vapor dos botões floríferos e pedúnculos florais do cravo da família das mirtáceas. Tem como isômero o isoeugenol, no qual a dupla ligação migra para uma posição conjugada com o anel benzênico (Figura 4). Os produtos dessa reação têm aplicações farmacêuticas e cosméticas em uma variedade de composições florais para fragrâncias (Tangerino, 2006).



Figura 4. Botões floríferos do cravo (A) Cravo-da-índia comercializado (B) e matéria prima para extração do óleo de cravo.

O eugenol é um produto de uso clássico na odontologia, uma vez que misturada ao óxido de zinco, formam um excelente material de preenchimento

temporário aos dentes. O eugenol apresenta ainda outros usos na odontologia, devido a suas propriedades anti-sépticas com aplicações, na composição de muitos produtos odontológicos. Na indústria alimentícia, é componente da baunilha a partir de substâncias diversas dos quais um derivado do eugenol o isoeugenol, faz parte desse conjunto (National toxicology Program, 2002).

O eugenol, principal componente do óleo de cravo, é um anestésico alternativo para peixes, composto orgânico natural e não mutagênico, sendo totalmente eliminado da corrente sanguínea e do tecido muscular comestível em menos de 2 dias após o seu uso em peixes. Inclusive, alguns trabalhos já foram realizados sobre o uso do óleo de cravo nas práticas de manejo do matrinxã (Inoue *et al.*, 2005; Barbosa *et al.*, 2007), indicando-o como preventivo ao estresse (Kildea *et al.*, 2004; Sladky *et al.*, 2001; Woody *et al.*, 2002; Inoue *et al.*, 2005; Munday & Wilson, 1997; Cho & Heath, 2000; Woody *et al.*, 2002; Inoue *et al.*, 2003; Roubach *et al.*, 2005). Até o momento, não foram encontrados traços tóxicos desse produto em animais aquáticos previamente expostos a ele, além do fato de que outras áreas como a odontologia, a indústria de alimentos e a fabricação de perfumes têm vasto uso desse produto para humanos, sem a constatação de riscos, inclusive ambientais.

## **7.2. Zeolitas**

A Zeólita (Figura 5) é um produto a base mineral tipo aluminossilicatos hidratados altamente cristalinos do grupo dos metais alcalinos e alcalinos terrosos, que tem efeito adsorvente, ou seja, as substâncias tóxicas do meio ambiente e os produtos putrefatos são diretamente atraídos e retidos pelo sistema de cavidades através de fortes campos eletrostáticos que reduzem o conteúdo de fósforo (fonte de energia para proliferação de algas) (Silapajarn *et al.*, 2006), cujo arranjo estrutural apresenta cavidades e canais interconectados nos quais estão presentes íons de compensação, como por exemplo Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> e H<sub>2</sub>O. As zeolitas são compostas de uma rede tridimensional de tetraedros AlO<sub>4</sub> e SiO<sub>4</sub>, ligados entre si pelos átomos de oxigênio, cada um

deles comum a dois tetraedros vizinhos, originando assim uma estrutura microporosa.



Figura 5. Zeólita, produto comercial.

As cargas negativas dos tetraedros  $AlO_4$  são compensados por cátions alcalinos, que podem ser substituídos por outros cátions por troca iônica. Os átomos de Al ou Si ocupam o centro do tetraedro e os átomos de oxigênio ocupam os vértices. O fato dos átomos de oxigênio serem compartilhados com os átomos de Al ou Si vizinhos faz com que, na estrutura da zeólita, existam duas vezes mais átomos de oxigênio do que átomos de Al ou Si. As mesmas apresentam ainda, propriedades de troca catiônica, adsorção/dessorção e elevada seletividade pelo íon  $NH_4^+$  (Sawer, 2000; Dumitru, 1976; Wilson, 2002). Suas principais propriedades, a capacidade de troca de cátions, capacidade de retenção de água livre nos canais e a habilidade na absorção, conferem-lhes grande interesse para uso na agricultura. A zeólita pode atuar na melhoria da eficiência do uso de nutrientes através do aumento da disponibilidade de fósforo da rocha fosfática e redução das perdas por lixiviação dos cátions trocáveis (especialmente  $K^+$ ). Tem sido utilizada também no cultivo zeopônico de plantas em substrato artificial composto por minerais zeolíticos misturados a rochas fosfáticas, o qual funciona como um sistema de liberação controlada e renovável de nutrientes para as plantas (Falcão & Paiva, 2005).



Suas principais propriedades, a capacidade de troca de cátions, capacidade de retenção de água livre nos canais e a habilidade na adsorção, conferem-lhes grande interesse para uso na agricultura, como trocadora de íons. Estes processos são normalmente cíclicos, permitindo a recuperação do metal e a regeneração da zeólita. A troca iônica é influenciada por diversos fatores, dentre eles: concentração e natureza dos íons em solução, temperatura, pH e estrutura cristalina de zeólita (Rodríguez-Iznaga *et al.*, 2002; Marquez, 2000). Metais, como por exemplo, cobre e chumbo, são substâncias tóxicas e, portanto, devem ser removidos dos efluentes industriais antes destes serem lançados aos corpos d'água (Inglezakis *et al.*, 2000). Os métodos mais comuns para a remoção destes metais são troca iônica e precipitação química. A vantagem do uso da troca iônica baseia-se na possibilidade de recuperação do metal e reduzida ou nenhuma geração de resíduos. Sob esta premissa, o emprego de zeólitas naturais tem proporcionado o desenvolvimento de sistemas de tratamento de baixo custo.

A produção mundial de zeolitas sintética é estimada em 1,5 milhões de toneladas ano, sendo, que grande parte se destina à manufatura de detergentes, e cerca de 1/3 aos processos catalíticos. A produção brasileira (Fabrica Carioca de Catalisadores), da ordem de 25 mil toneladas ano, é destinada ao craqueamento catalítico de petróleo. A produção de zeolitas como catalisadores ácidos sólidos (catalise heterogêneo) tornou-se uma tecnologia promissora devido principalmente por suas vantagens em relação aos tradicionais catalisadores ácidos homogêneos. Tendo em vista todos esses fatores, as zeolitas podem ser utilizadas para diminuição de poluentes (Afonso, *et. al.* 2003).

## **8. Matrinxã**

O matrinxã, o *Brycon amazonicus*, genericamente conhecida como matrinxã, pertence à classe Actinopterygii, ordem Characiformes, família Characidae e gênero *Brycon*(Figura 6). O matrinxã é muito apreciado para a criação em cativeiro por aceitar rapidamente bem as rações artificiais e completa, apresentando crescimento rápido e índices desejáveis de conversão

alimentar, além de alcançar bons preços nos mercados de peixes, principalmente da Amazônia. Nas regiões mais ao sul a espécie é bastante valorizada para os estabelecimentos de pesque-pague (Brandão *et al.*, 2005). Pesquisas envolvendo o matrinxã estão relacionados em sua maioria aos aspectos da reprodução (Carvalho, 2001; Sanabria, 2002; Camargo; 2003), larvicultura (Vasquez, 2003), alevinagem, engorda (Mendonça, 1993) e transporte (Urbinati & Carneiro 2001; Carneiro & Urbinati ,2001b; Carneiro *et al.*, 2002, Bendhack 2004, Inoue , 2005).



Figura 6. Matrinxã (*Brycon amazonicus*)

As primeiras tentativas de produção em larga escala do matrinxã foram frustradas no passado, devido à baixa taxa de sobrevivência de larvas nas incubadoras. As larvas apresentam taxa de canibalismo alta, principalmente entre 12 e 72 horas de idade. Pesquisadores na época trabalharam intensamente, solucionando tal entrave, através do fornecimento de larvas forrageiras de outras espécies de menor valor comercial (*Piractus mesopotamicus*, *Prochilodus scrofa* e *Cyprinus carpio*) às larvas de matrinxã.

O matrinxã é um peixe onívoro que aproveita satisfatoriamente muitos alimentos. Os itens alimentares encontrados em seu conteúdo estomacal na natureza são: sementes, frutos, flores, restos vegetais, plantas herbáceas, restos de peixes como escama e vísceras, aracnídeos, anelídeos e insetos (Pizango-Paima *et al.*, 2001). Segundo (Goulding,1980; Gottsberger ,1978), o habito alimentar da espécie evidencia que as matas alagadas (igapó) e matas ciliares são os seus principais fornecedores de energia. Os autores relatam ainda que o matrinxã possui um duplo papel de predador e dispersor das sementes e frutos que se alimenta. Apresenta assim índices zootécnicos

favoráveis frente ao fornecimento de alimentos tanto de origem animal e quanto vegetal (Cyrino *et al.*, 1986; Mendonça *et al.*, 1993). Mesmo sendo bastante exigente quanto à qualidade da água para o seu crescimento adequado, o matrinxã é uma espécie com relativa tolerância a baixos teores de oxigênio na água. De forma semelhante a outras espécies de peixes amazônicos como o tambaqui, o matrinxã mostra expansão do lábio inferior quando em condições de hipoxia. Essa característica adaptativa propicia que o peixe capte água mais rica em oxigênio ao nadar nas camadas superficiais da coluna de água (Baldisseroto, 2002).

A taxonomia do gênero é muito confusa, pois carece de uma ampla revisão que abranja um grande número de espécies, que sejam representativas no que diz respeito da distribuição geográfica do gênero na América Latina (Borges, 1986; Gomes & Urbinati, 2005). Lima, (2003) verificou que a espécie *Brycon cephalus*, que ocorre na Amazônia brasileira, amplamente criada no país é, na verdade, *Brycon amazonicus*. A distribuição do *B. cephalus* restringe-se ao alto rio Amazonas no Peru e na Bolívia.

De acordo com Gomes & Urbinati, (2005); Howes, (1982), a distribuição da espécie *Brycon amazonicus* é restrita à bacia amazônica e utiliza diversos *habitats* durante sua vida. Segundo Leite & Araújo Lima (2002), as larvas e juvenis de matrinxã são encontrados em lagos e florestas alagadas. Na época em que os rios estão enchendo, os peixes formam grandes cardumes e migram pelo rio principal até o sítio de desova. Após a desova, o cardume se dirige para floresta inundada para se alimentar, onde permanece por 4 a 6 meses (Goulding, 1979). Neste período, os peixes entram nos igarapés até que os níveis de água comecem a baixar. Com a descida da água, os matrinxãs são obrigados a sair para os afluentes, onde se concentram para uma nova migração reprodutiva. Normalmente essa fase dura até outubro ou novembro.

Atualmente é a segunda espécie de peixe mais cultivada na região amazônica, perdendo apenas para o tambaqui. O matrinxã tem sido criado em viveiros escavados, barragens e canais de igarapé. A criação é dividida em duas etapas: recria e engorda. Essa divisão é fundamental para o sucesso

econômico da criação, pois colocar peixes maiores na fase de engorda diminui a mortalidades e previne prejuízos no final do ciclo. A recria é feita em viveiros por 60 dias até o tamanho de 10 à 12 cm (Brandão *et al.*, 2004). Na engorda em viveiro, a densidade utilizada é de 5.000 peixe/ha. Após nove meses de criação, os peixes apresentarem peso médio de 1,4kg com sobrevivência de 100% (Izel & Melo, 2004).

O transporte é uma atividade que envolve riscos, sendo necessários todos os cuidados possíveis para se evitar estresse excessivo e mesmo injurias que resultarão em prejuízos ou até mesmo na morte dos animais (Carneiro & Urbinati, 2001; Carneiro & Urbinati, 2002; Urbinati *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2003b). Desta forma o presente trabalho vem com a proposta da utilização dos produtos zeolita e eugenol como forma de otimizar a qualidade da água e aumentar as chances do sucesso do transporte, já que o manejo inadequado pode ter conseqüências desastrosas com todo o lote transportado.

**9. Delimitação do tema:** Avaliação de substâncias condicionadoras para o transporte de juvenis de matrinxã.

### **9.1 Objetivo:**

Avaliar o uso em conjunto dos produtos zeolita e eugenol no transporte de juvenis de matrinxã em sacos plásticos, como forma de aumentar as chances de sucesso dessa prática de manejo.

### **9.2 Objetivos Específicos:**

- Avaliar o efeito redutor de  $\text{NH}_3$  na água de transporte com uso da zeolita;
- Avaliar a associação da zeolita e o eugenol no transporte do matrinxã para redução da amônia na água de transporte e do estresse;

## **10. Material e métodos**

### **10.1 Aquisição e preparo do material biológico**

Os juvenis de matrinxã foram doados por um estabelecimento comercial de produção de alevinos, localizado no Município de Mococa, SP. Os peixes foram transportados para o Laboratório de Bioquímica do Departamento de Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos, UFSCAR. Os peixes foram estocados em caixas de polietileno com capacidade de 2000L, com abastecimento de água em sistema fechado de circulação para filtragem com aeração constante e aquecimento central durante 60 dias. Os peixes foram alimentados três vezes ao dia com ração comercial com 32% de proteína bruta até atingirem cerca de 50 g.

### **10.2 Experimento I - Análise de amônia liberada na água pelos juvenis de matrinxã durante transporte em sacos plásticos**

Os animais ficaram em jejum por 24 h antes do experimento, para realização do experimento foram utilizados 45 juvenis ao acaso para realização do transporte em três sacos plásticos. Foram acondicionados 15 peixes em cada saco plástico com a capacidade de 60L, sendo utilizado somente 10L de água em cada embalagem para possibilitar injeção de gás oxigênio. Os tratamentos foram os tempos de abertura dos sacos a cada hora, sendo os tempos de amostragem de água: 1, 2, 3 e 4 horas. O transporte foi realizado em uma caminhonete que se deslocou ao acaso em rodovia durante 4 horas do experimento e medição de temperatura e oxigênio dissolvido da água. A cada hora o veículo parava e eram abertos os três sacos para coleta de amostra de água para medição da quantidade de amônia excretada pelo matrinxã durante o transporte. De cada embalagem foi retirada amostra de 100 mL por coleta, então novamente era fechada e injetado oxigênio puro em cada saco plástico.

### **10.3 Experimento II - Análise do efeito adsorptivo da zeolita**

#### Teste I

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bioquímica do Departamento de Genética e Evolução da Universidade federal de São Carlos, SP. A partir de solução estoque de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  a 10 mM foram obtidas diluições de

NH<sub>4</sub>Cl a 0,5, 1, 2 e 4 mM . O teste consistiu em colocar 50 mL das respectivas soluções de NH<sub>4</sub>Cl em beakers de 100 mL e posteriormente foram adicionados 5g de zeolita. Esse teste teve a duração de 4 horas. Foram retiradas amostras de 100 µL de cada beaker a cada hora para a análise da concentração de amônia.

#### Teste II

A partir de solução estoque com base no teste I de NH<sub>4</sub>Cl a 10 mM, foi obtida a concentração final de 1mM. Após cinco beakers de 100 mL receberam 50 mL dessa solução diluída de NH<sub>4</sub>Cl a 1mM e colocadas as quantidades de 2,5g, 5g, 7,5g, 10g e 15g de zeolita. Esse experimento teve a duração de 4 horas, sendo retiradas amostras de 100 µL de cada beaker a cada uma hora para a análise da concentração de amônia.

**10.4. Experimento III** – Efeito da adição de zeolita e eugenol à água de transporte nas respostas metabólicas ao estresse do matrinxã submetido ao transporte

Os animais utilizados neste experimento foram distribuídos em 12 tanques de cimento com a capacidade de 200L cada em densidade de 15 peixes por tanque (peso de 34g), para aclimação durante uma semana. Nesse período de aclimação os peixes foram alimentados duas vezes ao dia até a saciedade aparente com ração comercial com 32% de proteína bruta. Vinte e quatro horas antes do transporte foram suspensas à alimentação dos peixes, caracterizando o jejum pré-transporte. O monitoramento dos parâmetros físico-químicos da água como temperatura, oxigênio, pH e amônia foram monitorados. Os tanques foram numerados e sorteados para se obter um arranjo de um delineamento inteiramente casualizado, onde tivemos quatro tratamentos: 1) controle representado pelos peixes que não foram transportados; 2) peixes sob estresse do transporte de 4 horas, 3) peixes sob estresse do transporte na presença da zeolita e 4) peixes sob estresse do transporte na presença da zeolita e eugenol. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata. A concentração da zeolita utilizada foi obtida a partir do Experimento II anteriormente descrito. A concentração do eugenol utilizada foi

determinada segundo Inoue *et al.* (2005), 5 mg/L. Após o período de aclimação e jejum pré-transporte, os peixes dos tratamentos 2, 3 e 4 foram acondicionados em nove sacos plásticos de igual maneira no Experimento I. O transporte foi realizado em rodovia durante 4 horas. Após o transporte, os peixes voltaram para as mesmas caixas onde estavam para a recuperação. Foram amostrados animais nos tempos: AT= antes do transporte, DT= imediatamente depois do transporte e nos tempos 24 h e 48 h DT. A cada coleta foram sacrificados três peixes de cada tanque. Os peixes foram previamente anestesiados com solução de eugenol para coleta de sangue, seguida de sacrifício do animal por hipotermia para coleta de pedaços do músculo branco e fígado.

## **11. Coleta e processamento do material biológico**

O sangue dos peixes foi retirado por punção caudal com seringas previamente heparinizadas. O sangue foi centrifugado a 12000 RPM por 3 minutos para separação do plasma. Os animais foram pesados e medidos. As amostras de fígado e músculo branco foram coletadas e devidamente armazenadas em nitrogênio líquido para posteriores análises.

### **11.1 Parâmetros hematológicos**

A porcentagem de células vermelhas foi determinada pela técnica de centrifugação do micro-hematócrito (Collier, 1944). Foram utilizados tubos capilares fechados em uma das extremidades com massa e colocados em centrífuga de micro hematócrito 12000 RPM por 3 minutos. Os valores de hematócrito foram lidos em cartão de leitura de hematócrito da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas. Os valores de hematócrito foram expressos em %.

### **11.2 Parâmetros Plasmáticos**

As dosagens do cortisol plasmático foram realizadas, utilizando-se kit analítico (Cayman Chemical). A obtenção da absorbância foi em leitora de micro placa “Molecular Device”, munida de filtro de 450 nm.

### **11.3 Glicose**

As concentrações de glicose plasmática foram determinadas pelo método glicose-oxidase (Trinder, 1969) em “microplate reader” com leitura de absorbância a 525 nm. Os cálculos de concentração em mg/dL foram feitos pelo programa Softmax Pro. Os ensaios foram feitos com adição de 10 µl de plasma em cada poço seguindo da adição de 190 µl de reagente reconstituído para determinação de glicose plasmática Sigma®. Curvas padrão a partir de soluções com concentrações conhecidas de glicose foram realizadas nos ensaios.

#### **11.4 Lactato plasmático**

A amostra de plasma (100 µl) foram desproteinizadas em 1 ml de ácido tricloroacético (TCA) a 20% e centrifugado por três minutos a 12000 RPM. Alíquotas do sobrenadante foram adicionados de sulfato de cobre a 4% e ácido sulfúrico com agitação lenta. Em seguida, foi adicionado p-fenifenol 1,5% em NaOH 0,5N com agitação vigorosa e após 15 minutos, os tubos foram incubados em banho-maria a 100°C e resfriados em gelo. A densidade óptica foi determinada a 570 nm em espectrofotômetro, segundo Harrower & Brown (1972).

#### **11.5 Amônia Plasmática**

Primeiramente, amostras de plasma (100µl) foram desproteinizadas em 1ml de TCA a 20% e centrifugado a 2000 RPM por 3 minutos. Alíquotas de sobrenadante foram submetidas aos ensaios colorimétricos pela adição do reativo Nessler (Imbralab), com incubação a temperatura ambiente por 20 minutos. Seguiu-se então a leitura de absorbância a 420 nm, comparada com curva padrão de concentrações conhecidas de NH<sub>4</sub>Cl (Gentzkow & Masen, 1942).

#### **11.6 Íons (Na, K e Cl)**

Amostras de plasma (100 µl) foram diluídas em água deionizada (1:100) e os teores de sódio (Na) e potássio (K) plasmáticos determinados em fotômetro de chama (Digimed, modelo DM-61), calibrado com solução padrão (DMS-13 A ), contendo 140 mEq de Na<sup>+</sup> e 5 mEq de K<sup>+</sup>.



Alíquotas menores do restante dos ensaios de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  foram submetidos aos ensaios de cloreto através de método colorimétricos adaptado da APHA (1980). O ensaio consiste na reação de alíquotas de plasma diluído com tiocianato de mercúrio diluído em etanol, nitrato de ferro e ácido nítrico, seguida de leitura de absorvância a 480 nm. Alíquotas de concentração conhecidas de NaCl foram também ensaiadas para obtenção dos valores de absorvância utilizados nos cálculos da concentração de cloreto no plasma.

## **11.7 Parâmetros tissulares**

### **11.7.1 Glicogênio hepático e muscular**

O glicogênio hepático foi determinado segundo Bidinotto *et al* (1997). A determinação consiste em digerir a amostra de fígado (50 mg) ou músculo (100mg) em condições alcalinas extremas (1ml de KOH 6 N) a 100° C por 2 a 3 minutos. Após a digestão, alíquotas são retiradas e adicionadas de 2ml de etanol PA mais 0,1ml de sulfato de potássio 10% para precipitação do glicogênio por centrifugação a 3000 RPM por 3 minutos. O álcool é descartado e o precipitado ressuspenso com 2 ml de água destilada. Alíquota dessa ressusensão é submetida ao ensaio do teor de açúcares totais, segundo Dubois *et al.* (1960), podendo-se assim expressar o glicogênio em  $\mu\text{moles}$  de glicosil-glicose/ MG de tecido.

## **12. Parâmetros de qualidade de água**

### **12.1 Oxigênio, temperatura e pH.**

Os valores de oxigênio e temperatura foram determinados eletrometricamente com um oxímetro YSI-55 e o pH com um pH-metro de bancada modelo Oreon 710 A.

### **12.2 Amônia da água**

A amônia foi quantificada pelo método de nesslerização, método modificado de Gentzkow & Masen (1942), tendo sido utilizados 2,0 mL da amostra e 0,5 mL do reativo de Nessler. Após 20 minutos, a leitura óptica foi realizada a 420 nm. A concentração de amônia foi estimada contra um padrão de amônia contendo 100 nmols.

### **12. 3 Nitrito**

O Nitrito foi determinado segundo Tavares (1994) utilizando-se 5 mL da amostra da água . Foram adicionados nas amostras 100 µl de sulfanilamina (58,07 mM) seguindo de agitação e repouso por 10 minutos. Após este período adicionou-se 100 µL de solução de bicloridrato N-1 naftilenodiamina (3,86 mM), o produto da reação, de coloração rosa escura, foi determinado coloricamente em 540 nm. A concentração de nitrito foi estimada a partir de um padrão de nitrito contendo 50 nmols.

### **13. Análises estatísticas**

Nos experimentos I e II os dados foram analisados pelo ajuste de regressão.

Os resultados do Experimento III foram submetidos a uma ANOVA, quando detectada diferenças significativas, o Teste de Tukey ( $P < 0,05$ ) para comparação das médias.

### **14. Resultados e Discussão**

#### **14.1 Mensuração da amônia liberada na água de transporte pelo matrinxã**

Os valores de concentração de amônia na água de transporte, observados no primeiro estudo, para análise de amônia liberada pelos juvenis de matrinxã durante transporte em sacos plásticos, foram cumulativos ao longo do experimento (Figuras 7). Os valores tiveram tendência exponencial de aumento, não sendo, entretanto, observado o ponto de inflexão da curva no experimento. O aumento da concentração de amônia na água de transporte foi maior nas duas primeiras horas de transporte. Os valores de temperatura e oxigênio permaneceram constantes durante o transporte.

Os peixes transportados em sistema fechado estão acondicionados em menor quantidade de água. A alta densidade de peixe proporciona aumento dos níveis dos produtos nitrogenados, devido a ausência de renovação da água durante o transporte. Além do mais, outros fatores externos e/ou resultantes do metabolismo dos peixes propiciam ainda mais o acúmulo dos produtos da excreção na água de transporte como: temperatura, pH, oxigênio e CO<sub>2</sub>. O monitoramento dessas variáveis pode ser culminante para o sucesso dessa prática (Pereira & Mercante. 2005). No proposto trabalho foram

transportados 15 peixes em cada embalagem com três repetições durante 4 horas em rodovia. O tamanho médio dos animais foi de  $34,06 \pm 1,35$  g e  $13,74 \pm 0,50$  cm. Ao final do transporte foi observado sobrevivência de 100% dos animais, sendo ao final do trabalho os níveis da amônia na água de transporte de 1,39 mg/L, pH  $6,45 \pm 0,43$ , oxigênio  $13,5 \pm 0,24$  mg/L e a temperatura  $27,1 \pm 0,13$  °C. No transporte de alevinos de matrinxã foram encontrados valores de amônia total de 5,07 a 5,75 mg/L, pH em torno de 7,3 e temperatura em torno de 27°C (Urbinati *et al.*, 2004). Inoue *et al.* (2005) encontraram valores de amônia total  $7,97 \pm 0,52$  mg/L, pH  $6,8 \pm 0,06$  e temperatura  $24,1 \pm 0,1$  °C durante o transporte de juvenis de matrinxã em torno de 100 g, seguindo densidade de transporte de 160 g/L.

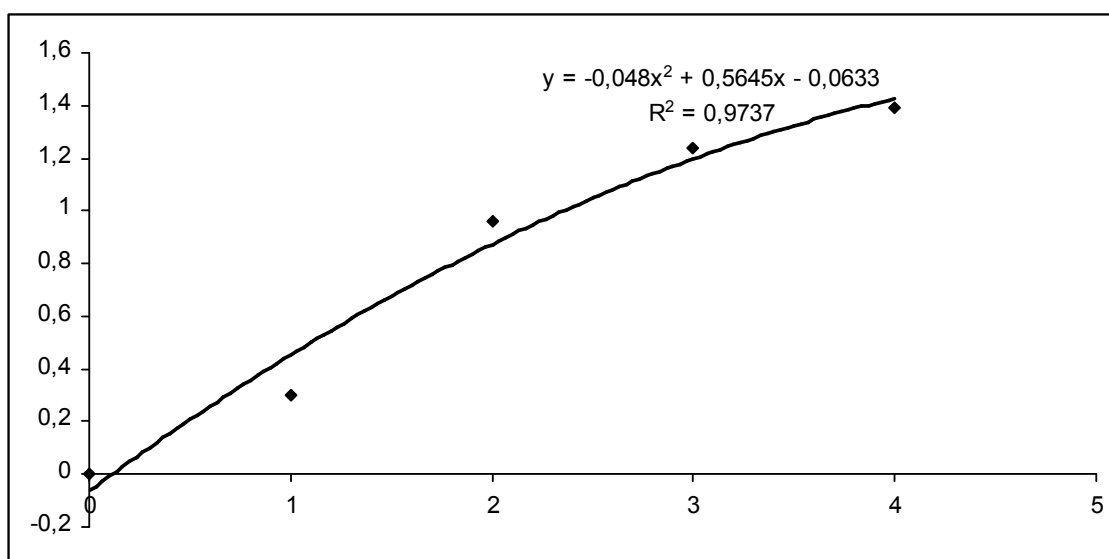


Figura 7. Excreção de amônia durante o transporte de juvenis de matrinxã durante 4 horas de transporte.

#### 14.2 Absorção da amônia pela zeolita

As amostras coletadas durante as quatro horas mostram que houve diminuição gradativa dos teores de amônia, independente da concentração inicial de amônia durante todo o experimento. A eficácia da zeolita ficou demonstrada já pelas primeiras amostras coletadas com uma hora de experimento. No final do experimento, a concentração de 0,5 mM a sua eficácia ficou em torno de 86%, a concentração de 1 mM a sua eficácia foi em torno de 89,4%, a concentração de 2 mM a sua eficácia ficou em torno de 92,1% e a

concentração de 4 mM a sua eficácia ficou entorno de 85,75% (Figura 8). É muito provável que todos os beakers chegassem a uma concentração semelhante de amônia ao final de um período de tempo maior. Emadi *et al.*, (2001) observaram essa tendência quando estudaram a absorção da amônia pela zeolita em comparação ao carvão ativado num período de 24 horas em diferentes salinidades. A concentração inicial de 4 mM de amônia foi propositalmente extrapolada no presente trabalho, já que nas condições de campo dificilmente se encontra esses valores durante o transporte do matrinxã, o que corresponderia a 72 mg/L de amônia excretada (Urbinati & Carneiro, 2001a; Urbinati *et al.*, 2004; Inoue *et al.*, 2005; Inoue & Moraes, 2006).

As zeolitas são catalisadores eficientes, pois a aproximação forçada entre moléculas reagentes sob a influência dos fortes potenciais eletrostáticos existentes no interior dos canais e cavidades provoca a diminuição da energia de ativação necessária ao fenômeno da catálise. Estudos com a zeolita mostram que a mesma é muito eficiente na absorção de produtos indesejáveis no meio, que são prejudiciais para o sistema de produção ou o transporte de peixes vivos (Emadi, *et al.*, 2001; Afonso *et al.*, 2003; Fachini *et al.*, 2004; Fachini & Vasconcelos, 2006; Silapajarn *et al.*, 2006).

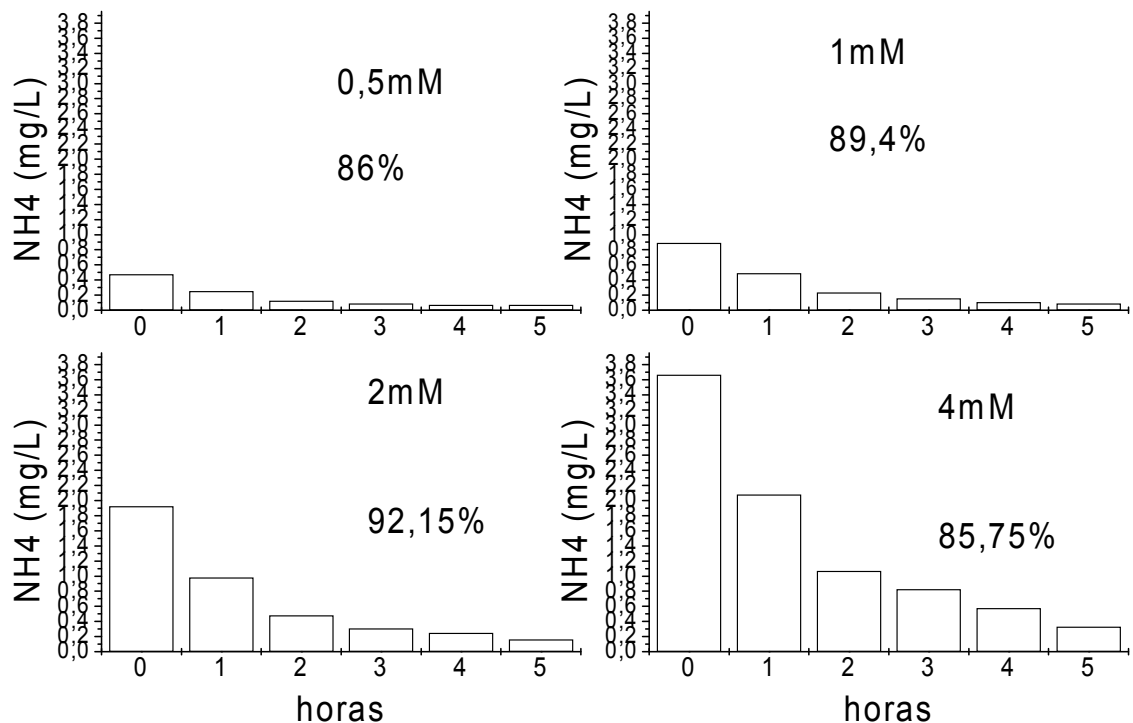


Figura 8. Resultados da absorção da amônia pela zeolita, em varias concentrações de amônia 0,5 mM, 1 mM, 2 mM e 4 mM e com o valor de zeolita fixada em 5 mg/L.

### 14.3 Absorção da amônia em diferentes quantidades de zeolita

Alíquotas de diluição de 1 mM a partir da solução mãe 10 mM de NH<sub>4</sub>Cl foram expostas a diferentes quantidades de zeolita para o teste das concentrações de 2,5 g/L, 5 g/L, 7,5 g/L, 10 g/L e 15g/L. Os resultados mostram que todas as concentrações de zeolita absorveram a amônia de forma que no final do experimento de quatro horas os valores ficaram entre 0,28 mg/L para o tratamento de zeolita a 2,5 g/L e 0,12 mg/L de amônia para o tratamento da zeolita a 7,5 g/L . Todas as concentrações testadas foram eficazes na absorção da amônia ficando acima de 95,65%. Entretanto, levando-se em consideração a eficiência da zeolita na absorção da amônia da água e o valor econômico do produto, as concentrações de 10 g/L e 15 g/L proporcionaram praticamente o mesmo benefício que a concentração de 7,5 g/L (Figura 9), já que as quantidades maiores de zeolita testadas no presente trabalho como as

de 10 g/L e 15 g/L até absorveriam mais rápido a amônia da água inicialmente, mas com o passar de aproximadamente uma hora os valores de concentração de amônia na água já estariam similares aos obtidos com 7,5 g/L de zeolita. Em adição o transporte de peixes vivos em sacos plásticos realizado no campo geralmente leva mais de uma hora ou pelo menos próximo a isso (Piper *et al.*, 1982; Kubitzka, 1999; Carmichel *et al.*, 2001; Gomes & Urbinati, 2005).

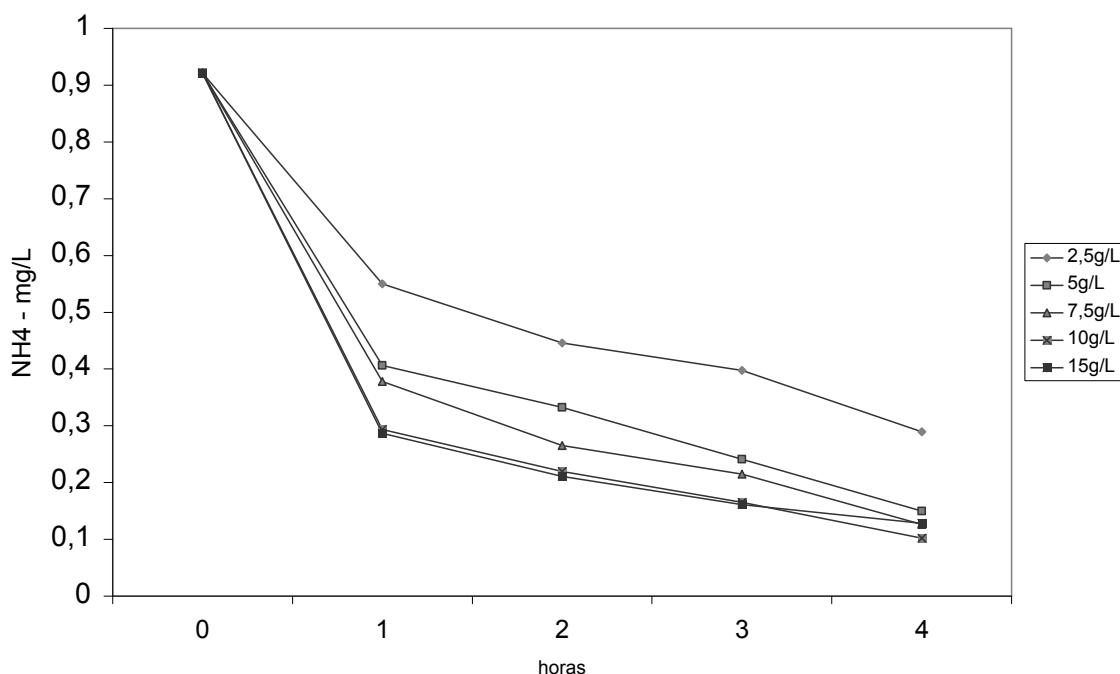


Figura 9. Resultados da absorção da amônia a (1 mM) pela zeolita nas seguintes concentrações: 2,5 g/L, 5 g/L, 7,5 g/L, 10 g/L e 15 g/L durante 4 horas do experimento.

#### 14.4 Efeito da adição da zeolita e eugenol à água de transporte nas respostas metabólicas ao estresse do matrinxã submetido ao transporte.

Não foi observada mortalidade de peixes em todas as fases do experimento, ou seja, no período de aclimatação dos animais, transporte e recuperação. A qualidade da água de transporte foi menos deteriorada através do uso da zeolita, aumentando as chances do sucesso do transporte de juvenis de matrinxã em sacos plásticos (Tabela 1).

Tabela 1. Qualidade de água no transporte do matrinxã sob influência da zeolita (7,5 g/L) e eugenol (5mg/L).

Condição	Oxigênio mg/L	Temperatura °C	pH	Amônia mg/L	Nitrito mg/L
INICIAL	7,1±0,53a	27,1±0,65a	6,75±0,5a	0,006±0,002a	0,017±0,002a
CONTROLE	6,33±0,42a	26,4±0,9a	6,65±0,9a	0,014±0,001a	0,019±0,004a
TRANSP.	13,18±1,94b	27,1±0,06a	6,39±0,5a	2,065±0,004b	0,165±0,05c
ZEOLITA	12,40±2,1b	27,1±0,1a	6,52±0,2a	0,121±0,019c	0,123±0,018b
ZEOLITA + EUGENOL	12,46±0,86b	27,1±0,1a	6,42±0,2a	0,140±0,002c	0,139±0,001b

Medias sujeitas de mesma letra não diferenciam entre si ao nível de 5% de significância.

Os valores de oxigênio dissolvido estiveram elevados em todos os tratamentos dos peixes transportados devido ao emprego da supersaturação da água com oxigênio puro nas embalagens, prática comum no transporte de peixes vivos em sistema fechado. Aparentemente, contudo com essa espécie a concentração elevada de oxigênio dissolvido na água de transporte do matrinxã não foi deletéria aos animais, porém muito cuidado deve ser tomado no uso dessa prática, pois há recomendações de que concentrações muito elevadas de oxigênio podem queimar os tecidos branquiais dos peixes (Kubitiza, 1998). O oxigênio apresentou diferença significativa nos tratamentos em relação às condições dos tanques sem imposição do estresse de transporte, também de acordo ao observado por Urbinati *et al.* (2004) e Inoue *et al.* (2005), que realizaram transporte de juvenis de matrinxã em sacos plásticos e não observaram mortalidade de animais pelo uso do oxigênio puro para inflar as embalagens.

A temperatura da água apresentou-se praticamente constante durante todo o experimento, não apresentando diferenças significativas. Nos trabalhos realizados por Gomes *et al.* (2003a) com transporte de tambaqui e Bendhack (2004) e Oliveira (2008) com transporte de matrinxã a temperatura da água também não variou significativamente, também devido aos cuidados tomados durante o transporte para acomodar as embalagens nos carros de forma a não

sofrer exposição excessiva aos raios solares, utilizando-se assim, coberturas com lona, capotas, ou caixas de isopor. O cuidado para se evitar as variações bruscas (principalmente aumento) de temperatura da água durante o transporte é um fator essencial durante essa prática de manejo, já que a interação da temperatura com os outros parâmetros da qualidade da água como amônia e pH, além do aumento do metabolismo dos peixes transportados (excreção e respiração), são de grande risco para o fracasso desta prática de manejo (Gomes, *et al.*, 2003a; Sampaio *et al.*, 2006).

O pH da água de transporte apresentou uma tendência de queda durante transporte do matrinxã, mas as diferenças não foram significativas. Os valores observados nesse trabalho estão na faixa considerada ideal para o transporte dos peixes amazônicos (Gomes, 2003). A diminuição do pH da água, em sistemas de transporte fechado, está ligada a excreção de CO<sub>2</sub> pelos peixes e a capacidade de neutralizar ácidos da água (alcalinidade). O pH é um importante parâmetro a ser monitorado durante o transporte por sua relação direta com a temperatura e toxicidade da amônia excretada pelos peixes (Vinatea, 2004). Trabalhos realizados por Bendhack (2004) e Oliveira (2008) também não observaram diferenças significativas para o pH da água de transporte do matrinxã, mesmo utilizando-se o gesso (CaSO<sub>4</sub>) dissolvido na água de transporte.

A amônia apresentou aumento significativo no grupo de peixes transportados sem a adição de zeolita à água de transporte. Esse aumento é devido ao acúmulo maior da excreção nitrogenada do matrinxã durante o transporte no volume de água relativamente baixo. A ausência de troca de água nas embalagens durante o transporte em sistema fechado é um fator que determina os valores altos de amônia ao final do transporte (Sampaio *et al.*, 2006) O uso da zeolita durante o transporte de juvenis de matrinxã em sacos plásticos confirmou as observações realizadas em laboratório durante a análise do seu efeito adsorvente da amônia (Experimento II). Diferenças significativas das concentrações de amônia na água de transporte foram observadas com relação aos peixes transportados sem zeolita. Os valores de amônia na água dos grupos de peixes transportados com zeolita estiveram próximos aos



observados nos tanques do tratamento controle. O poder de absorção da amônia excretada pelo matrinxã durante o transporte pela zeolita foi evidenciado, praticamente eliminando uma fonte de risco elevado durante o transporte. No tratamento dos peixes transportados sem zeolita, a amônia total ficou em torno de  $2,06 \pm 0,004$  mg/L, enquanto que nos tratamentos com zeolita a redução foi de quase 15 vezes menor.

Em trabalho realizado por Inoue *et al.* (2005) com transporte de matrinxã, foram encontrados valores de amônia total altos, em torno de 8,07 e 7,97 mg/L. Urbinati *et al.* (2004) em trabalho similar encontraram valores de 5,07 a 5,75 mg/L, entretanto no trabalho realizado por Bendhack (2004) mostrou valores menores de amônia total variando entre 1,5 a 2,7 mg/L.

Os valores de nitrito na água apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Os valores ficaram entre 0,017 a 0,165 mg/L. O nitrito foi mensurado devido ser um produto nitrogenado que em altas concentrações pode ser letal. Avilez *et al.*, (2004) observou que a toxicidade do nitrito para o matrinxã é de 2 mg/L, e neste trabalho os níveis de nitrito foram bem mais baixos (Tabela 1), sendo que os níveis de nitrito foram mais altos no tratamento que não recebeu nenhum produto, mostrando que os produtos ajudam a diminuir esse níveis de nitrito na água. A diferença de toxicidade do nitrito entre diferentes espécies de peixes deve estar baseada na capacidade que possui de acumular esta substância. Espécies com valores elevados de CL50 parecem eliminar facilmente o nitrito (Tomasso, 1994; Sampaio *et al.*, 2006). Em virtude disso, é preciso ter cautela quando se compara sua toxicidade entre diferentes espécies, devido, as características da água que podem influenciar a toxicidade (Weirich *et al.*, 1993). Como há uma competição entre nitrito e o  $\text{Cl}^-$  pelo mesmo transportador, altas concentrações de  $\text{Cl}^-$  também reduzem a toxicidade do nitrito. O  $\text{Cl}^-$  em altas concentrações, ocupa o transportador e impede a entrada do nitrito, de modo que, na água do mar, a tolerância ao nitrito é maior. Segundo Baldisserotto (2002) a adaptação da espécie *Sciaenops ocellatus*, na água doce, a concentração letal (48h) é de 2,8 mg/L de nitrito, e , na água do mar 85,7 mg/L de nitrito. Para *P. orbignyana*, a diferença não é tão grande, pois a concentração letal (96h) é 24,1 mg/L de nitrito na água

doce e 30,57 mg/L de nitrito na água do mar. Peixes expostos a concentrações elevadas de nitrito podem apresentar uma redução, na concentração de hemoglobina, devido a sua transformação em metahemoglobina (Urrutia & Tomasso, 1987 ; Sampaio *et. al.*, 2006).

## **14. 5 Parâmetros metabólicos do matrinxã submetido ao transporte**

### **14.5.1 Hematócrito**

Os valores de hematócrito apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos empregados. As diferenças foram detectadas logo após o transporte. Houve aumento do hematócrito nos peixes transportados sem a adição de produtos na água. O uso da zeolita proporcionou uma tendência menor dos valores de hematócrito do matrinxã logo após o transporte, mas as diferenças não foram significativas. O uso de um anestésico dissolvido à água de transporte proporcionou valores menores de hematócrito após o transporte. A recuperação dos valores de hematócrito, porém, só foram observadas após 48 h de recuperação (Figura 10). Os parâmetros hematológicos têm sido usados amplamente como índice de estresse (Barton & Iwama, 1991; Svobodová *et al.*, 1994; Affonso, 2001; Affonso *et al.*, 2007; Tavares-Dias & Moraes, 2004; Menezes *et al.*, 2006; Oliveira, 2008). Bendhack (2004) com transporte de juvenis de matrinxã sob influência do sulfato de cálcio, o tratamento de peixes transportados sem adição do produto teve valores altos de hematócrito após o transporte. Resultados semelhantes foram observados por Gomes (2002) no transporte de tambaqui, e Brandão *et al.*, (2006) em transporte de pirarucu. No tempo 24 h de recuperação aumentos significativos se mantiveram nos tratamentos zeolita e zeolita + eugenol, sendo necessário para a espécie o tempo de 48 horas para o retorno dos tratamentos aos valores basais.

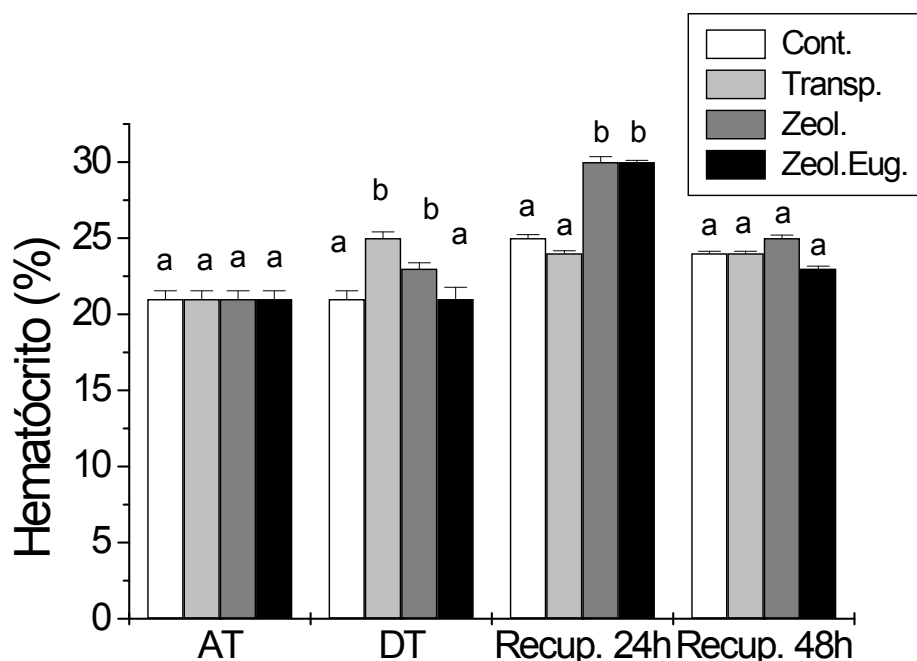


Figura 10. Valores de hematócrito de juvenis de matrinxã submetidos ao transporte com zeolita e eugenol. AT= antes do transporte, DT= depois do transporte, Recup. 24h= recuperação 24h e Recup. 48= recuperação 48h. Médias com mesma letra não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 14.5.2 Cortisol

Os valores de cortisol no tempo antes do transporte (AT) não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, o tratamento no tempo depois do transporte (DT) apresentou diferença significativa entre os tratamentos quando comparado com o controle, nos tratamentos zeolita e zeolita + eugenol apresentaram diferença significativa quando comparado com o tratamento transportados, no tempo de recuperação de 24 horas apresentou diferença significativa quando comparado com o tratamento transportado com os demais e no tempo recuperação 48h apresentou o mesmo comportamento (Figura 11). Após o transporte os níveis de cortisol aumentaram em todos os tratamentos, mais nos tratamentos zeolita e zeolita + eugenol foram menores, mostrando que os dois produtos tiveram influência nas respostas primárias ao estresse, sendo que os tratamentos utilizando zeolita e eugenol parecem ser mais eficientes. O uso do eugenol diluído na água de transporte reduziu as

respostas do cortisol plasmático do matrinxã (Inoue *et al.*, 2005). Os estudos sobre os efeitos da zeolita na piscicultura são incipientes. Segundo Silapajan *et al.*, (2006) a utilização desse mineral na carcinicultura tem mostrado bons resultados e também vem sendo utilizado para peixes ornamentais na absorção da amônia excretada pelo peixe. Os estudos sobre os efeitos do eugenol nas respostas de estresse já foram observadas por Inoue, (2005), Iversen *et al.*, (2003), Small, (2004), Woody *et al.*, (2002), Keene *et al.*, (1998), os quais evidenciaram que algumas respostas do cortisol plasmático pode ser reduzidas. O salmão do atlântico (*Salmo solar*) quando exposto a concentrações de 20 a 100 mg/L ao eugenol durante 10 minutos, não apresentou elevação dos valores de cortisol plasmático em resposta ao manejo e anestesia (Iversen *et al.*, 2003). De forma semelhante, o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) anestesiado em 100 mg/L de eugenol apresentou menores elevações do cortisol plasmático (Small, 2004). Iversen *et al.*, (2003) e Inoue (2005), especularam que o eugenol bloqueia parcialmente a transmissão dos impulsos nervosos para o hipotálamo, onde são desencadeadas as demais reações do sistema nervoso central nas respostas de estresse, entre elas o cortisol. No presente trabalho, o tratamento que não foi adicionado nenhum produto na água de transporte, foram mais altos após o transporte e nos tempos de recuperação continuaram altos e nos tratamentos que foi adicionado produtos quando comparado entre si, apresentaram resultados semelhante foram descritos por Oliveira, (2008) e Bendhack (2004) no transporte de matrinxã.

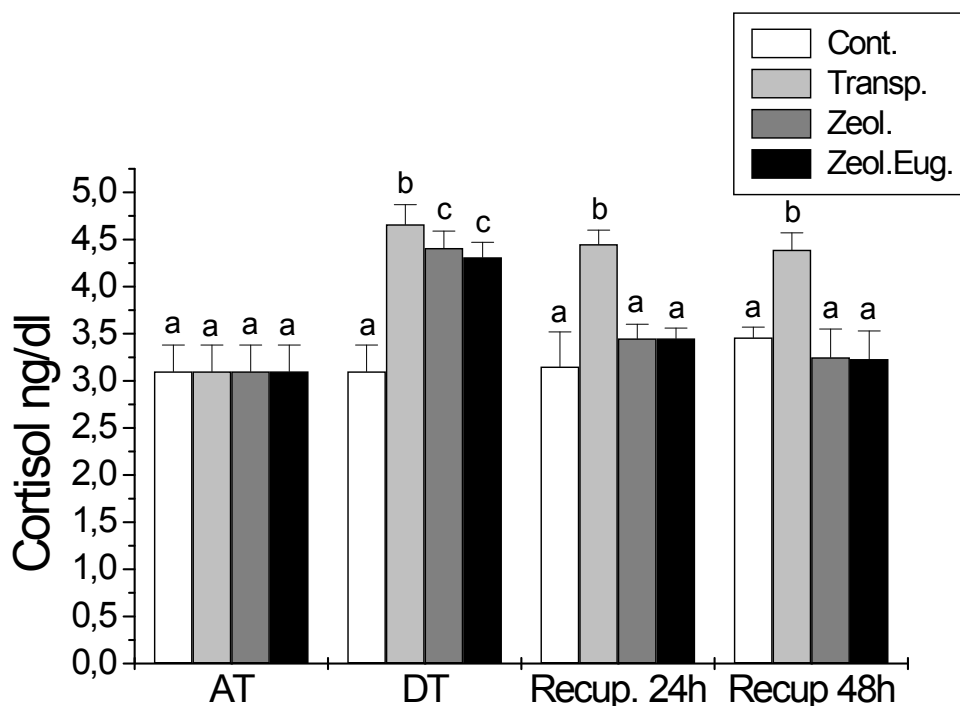


Figura 11. Valores de cortisol em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte com zeolita e, eugenol. AT= antes do transporte, DT= depois do transporte, Recup. 24h= recuperação 24h e Recup. 48= recuperação 48h. Médias com mesma letra não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

### 14.5.3 Glicose

A glicose sanguínea apresentou aumento significativo após o transporte (DT) nos tratamentos de peixes transportados, mostrando que essa prática de manejo é bastante estressante, mesmo com o uso de produtos mitigadores como podemos ver na (Figura 12). A elevação dos níveis glicêmicos indica a necessidade de energia extra para o organismo suportar situações adversas. Este aumento, nos casos do estresse, tem origem glicogenolítica proveniente da ação das catecolaminas e corticosteróides (Mommensen *et al.*, 1999), sendo esse aumento excelente indicador de estresse em estudos com peixes (Wendelaar Bonga, 1997). O tratamento zeolita + eugenol, mesmo com aumento, foi o mais baixo dos peixes transportados, essa diminuição se aplicou em virtude do uso do eugenol do que da zeolita, sendo que os peixes levemente sedados ficam menos agitados visto que o matrinxã é um peixe que

se movimenta em excesso. O tratamento em que foi utilizado a zeolita os valores não tiveram diferença significativa do tratamento que não foi exposto nenhum produto, mostrando que o eugenol é um produto mitigador de estresse no transporte. No trabalho de Inoue *et al.*, (2005) com transporte de matrinxã o eugenol na concentração de 5 mg/L foi mais eficiente na diminuição da glicose. Os peixes levemente sedados responderam tentando interferir na resposta de estresse. Nos demais tempos de recuperação de 24h e de 48h os peixes retornaram aos valores basais como observado por Bendhack (2004); Urbinati *et al.* (2004); Inoue (2005); Oliveira (2008).

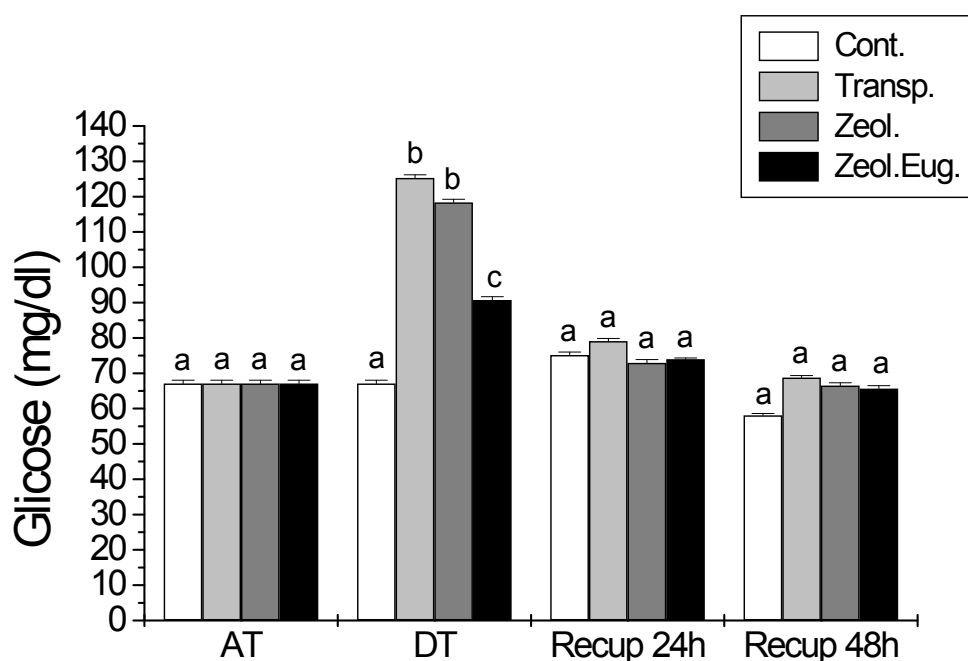


Figura 12. Valores de glicose plasmática em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte sob ação da adição de zeolita e eugenol à água de transporte. AT= antes do transporte, DT= depois do transporte, Recup. 24h= recuperação 24h e Recup. 48= recuperação 48h. Médias com mesma letra não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 14.5.4 Lactato

O lactato apresentou um aumento significativo após o transporte (DT) no tratamento transportado. No tempo de recuperação 24 h foi observado

aumentos nos tratamentos zeolita e diminuição nos valores de lactado no tratamento transportado e no tempo de recuperação 48h o tratamento zeolita apresentou um aumento significativo e os demais retornaram aos valores basais (Figura 13). Durante o transporte dos peixes, a disponibilidade de oxigênio nas células pode muitas vezes ser diminuída por ocasião da elevada atividade muscular, resultante do intenso esforço da atividade natatória dos peixes para manutenção da posição normal dentro dos sacos (Barton *et al.*, 1998; Inoue, 2005). Foi observada uma grande elevação do lactato com reflexo do exercício, ao qual o peixe foi exposto ao transporte, sendo que os peixes transportados no tratamento com a zeolita até ao final do experimento de 48 horas não havia retornado a valores basais. Resultados obtidos por (Barnett & Pankhurst, 1997) com *Rhombosolea tapirina* mostram que houve um aumento nas concentrações de lactato após exposição ao agente estressor, sendo que esta espécie de peixe demora até dois dias para voltar aos seus valores basais.

Segundo Inoue (2005) o óleo de cravo (eugenol) age como agente atenuante e, o acúmulo de lactato plasmático no matrinxã provavelmente se dá devido à menor movimentação nas embalagens ou sacos que continham essa substância, já que os peixes apresentavam-se sedados. A exposição dos peixes ao anestésico provoca alterações na taxa respiratória, sendo, assim maior acúmulo de lactato plasmático (Iversen *et al.*, 2003).

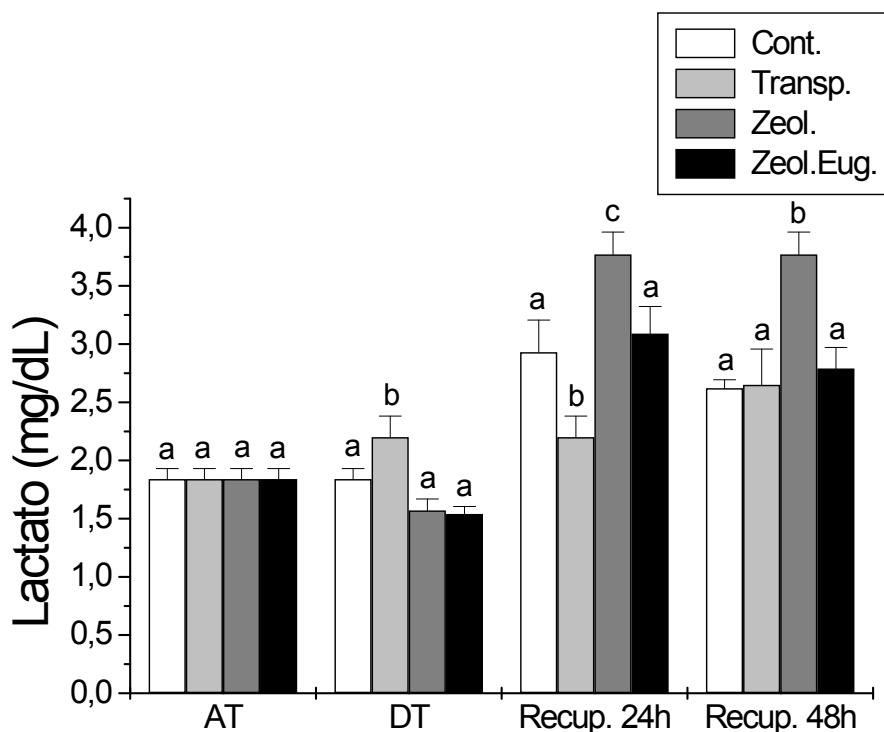


Figura 13. Valores de lactato plasmático em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte sob influência da zeolita e eugenol adicionados à água de transporte. AT= antes do transporte, DT= depois do transporte, Recup. 24h= recuperação 24h e Recup. 48= recuperação 48h. Médias com mesma letra não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 14.5.5 Amônia Plasmática

A amônia Plasmática apresentou um aumento significativo no tempo (DT) nos peixes transportados. Nos demais tempos de amostragem os valores de amônia retornaram aos valores basais (figura 14). O aumento dos níveis da amônia plasmática após o transporte no tratamento transportado é provavelmente devido ao fato de que no mesmo não foi condicionado nem um produto zeolita e zeolita + eugenol mitigador de estresse. No tratamento que utilizou a zeolita há uma tendência de diminuição significativa, mostrando que a zeolita tem a propriedade de absorver os produtos indesejáveis, essa



diminuição pode indicar possivelmente ausência de danos pelo acúmulo de  $\text{NH}_4$  na água do transporte. No tratamento zeolita + eugenol os níveis de amônia foram baixos devido à utilização dos produtos mitigadores que possibilitaram essa redução nos níveis da amônia plasmática. A excreção nitrogenada em peixes ocorre através das brânquias por difusão da amônia (Wright, 1993, Baldisserotto, 2002). Durante o transporte, os gradientes da concentração da amônia entre o sangue e a água do transporte tendem a diminuir intensamente com o passar das horas dificultando assim a excreção nitrogenada. Nesse trabalho os resultados foram semelhantes ao de Inoue (2005) no transporte de matrinxã, já que a amônia plasmática foi maior no tratamento de peixes transportados em que as concentrações de amônia na água foram maiores.

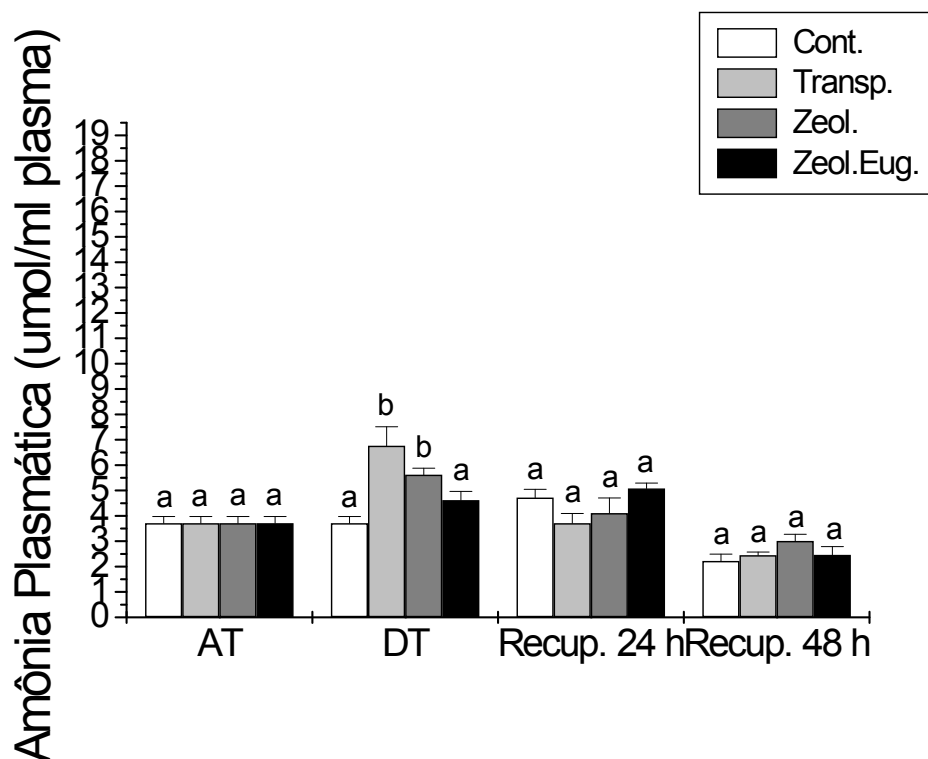


Figura 14. Valores de amônia plasmática em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte da zeolita e eugenol. AT= antes do transporte, DT= depois do transporte, Recup. 24h= recuperação 24h e Recup. 48= recuperação 48h. Médias com mesma letra não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

### 14.5.6 Cloretos

Os valores de cloreto plasmático sofreram uma leve diminuição após o tempo (DT) nos tratamentos dos peixes transportados. Na coleta de recuperação 24 horas houve uma diferença entre os tratamentos quando comparado com o controle, na coleta recuperação 48 horas houve uma diferença entre os tratamentos controle e zeolita + eugenol (Figura 15). Diversos trabalhos têm demonstrado que as concentrações plasmáticas de cloreto, em peixes de água doce, diminuem após manejos estressantes (Carmichael, 1983; Iversen, 1998; Carneiro & Urbinati, 2001b; Forsberg, 2001; Bendhack, 2004, Inoue, 2005), sendo necessárias pelo menos 24 horas para o reestabelecimento dos valores basais (Carneiro & Urbinati, 2001b; Urbinati *et al.*, 2003). O eugenol age de certa forma contra as perdas de cloretos plasmáticos durante o transporte. A característica do eugenol em diminuir as perdas de íons cloretos durante o transporte não deve ser generalizado para todas as espécies.

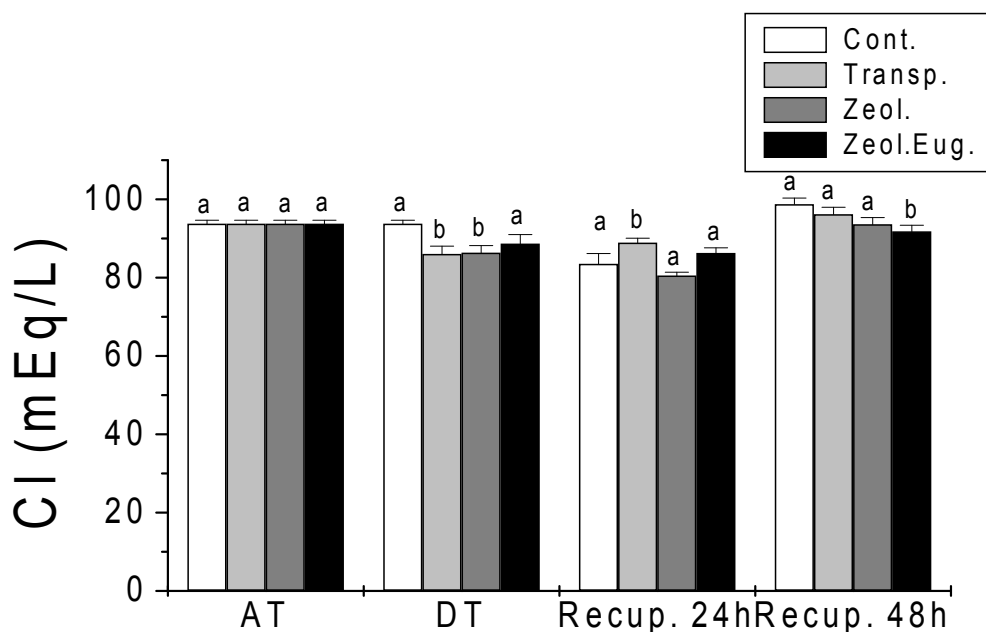


Figura 15. Valores de cloreto plasmático em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte por 4h com a zeolita e eugenol . DT= depois do transporte, Recup. 24h= recuperação 24h e Recup. 48= recuperação 48h. Médias com mesma letra não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

### 14.5.7 Sódio

Nos valores de sódio não houve significativas diferenças entre os tratamentos, levando em consideração os tempos de amostragem, mas foi observado nos tempos de recuperação 24 horas e 48 horas que os valores foram maiores em todos os tratamentos (Figura16). Foram observados nos trabalhos realizados por Bendhack, (2004; Brandão *et al.*, (2004), Inouel, (2005) com transporte de peixes que após o transporte os peixes tiveram uma redução nas concentrações  $\text{Na}^+$ , além da elevação do também  $\text{Na}^+$  nos tempos de recuperação em todos os tratamentos inclusive no tempo controle, resultados semelhantes foram encontrado nesse trabalho. Oliveira, (2008) com transporte de matrinxã utilizando levamisol verificou que os valores de  $\text{Na}^+$  não apresentaram diferença significativa em todos os tempos de amostragem, sendo que os valores continuaram constantes. (Porém, isso não é uma regra geral para todos os peixes transportados.)

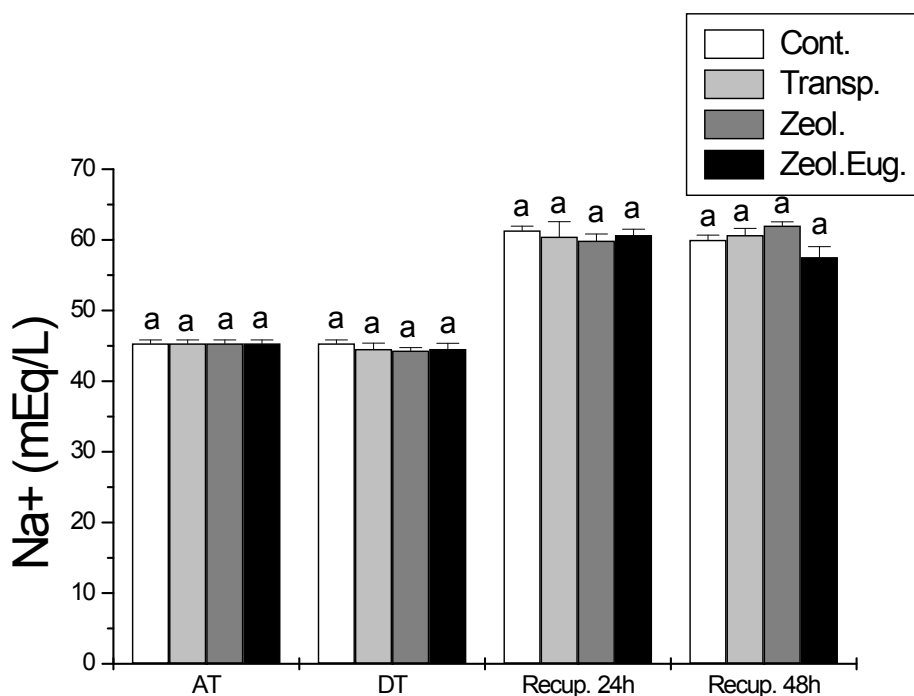


Figura 16. Valores de sódio ( $\text{Na}^+$ ) plasmático em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte da zeolita e eugenol. AT= antes do transporte, DT= depois do transporte, Recup. 24h= recuperação 24h e Recup. 48= recuperação 48h. Médias com mesma letra não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 14.5.8 Glicogênio hepático

O glicogênio do fígado apresentou uma diminuição após o transporte, quando comparado com o controle, nos tratamentos transportados, zeolita, zeolita + eugenol, no tempo de recuperação 24 horas houve uma diminuição significativa nos tratamentos: controle, transportado, zeolita + eugenol e um aumento significativo no tratamento zeolita e no tempo de recuperação 48 horas apresentou aumentos nos níveis de glicogênio em todos os tratamentos (Figura 17). Inoue, (2005) em transporte de matrinxã observou que após o transporte houve uma diminuição dessas concentrações, resultados que corroboram os encontrados neste trabalho, esta diminuição pode ser

resultado do fator jejum a que os peixes estavam submetidos. A presença de glicose-6-fosfatase neste órgão permite a formação de glicose que é convertida na corrente sangüínea, sendo consumida pelos tecidos extra-hepático para outros tecidos, quando a glicemia baixa durante o jejum (Rui Fontes, 2001). Nos tempos de recuperação de 24 horas e 48 horas, onde foi observado aumentos do glicogênio, provavelmente pode ser devido a alimentação dos peixes durante a recuperação.

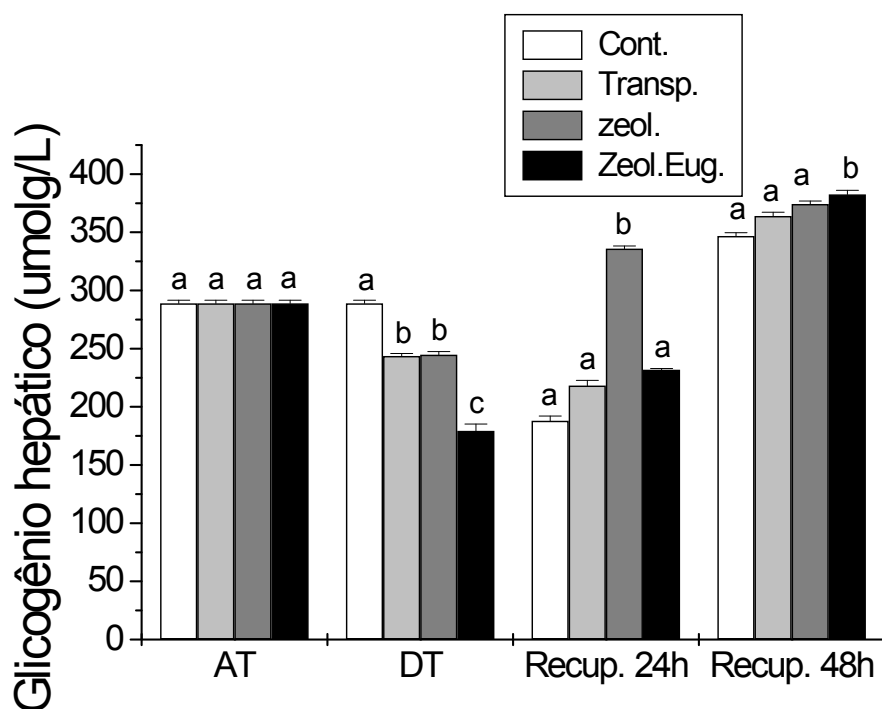


Figura 17. Valores de glicogênio hepático em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte da zeolita e eugenol adicionados à água de transporte. AT= antes do transporte, DT= depois do transporte, Recup. 24h= recuperação 24h e Recup. 48= recuperação 48h. Médias com mesma letra não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 14.5.9 Glicogênio músculo

Glicogênio muscular não apresentou diferença entre os tratamentos no tempo AT. No tempo DT houve diferença significativa entre o controle e o tratamento (zeolita) onde apresentou diminuição em seus níveis de glicogênio.

No tempo recuperação 24 horas não houve diferença significativa entre os tratamentos, e no tempo recuperação 48 horas houve diminuição no tratamento transportado quando comparado com o controle (Figura 18). A diminuição das concentrações de glicogênio no tratamento zeolita no tempo DT pode ser pelo aumento do exercício muscular intenso o consumo de ATP pode exceder a capacidade de síntese da fosforilação oxidativa, nessa circunstância, a glicólise anaeróbica é muito importante como mecanismo de formação de ATP. E o aumento pode ser em virtude do período de recuperação ter diminuído atividade natatória com isso ocorre o aumento do glicogênio durante o repouso e a sua degradação é uma consequência da atividade muscular (Rui Fontes, 2001).

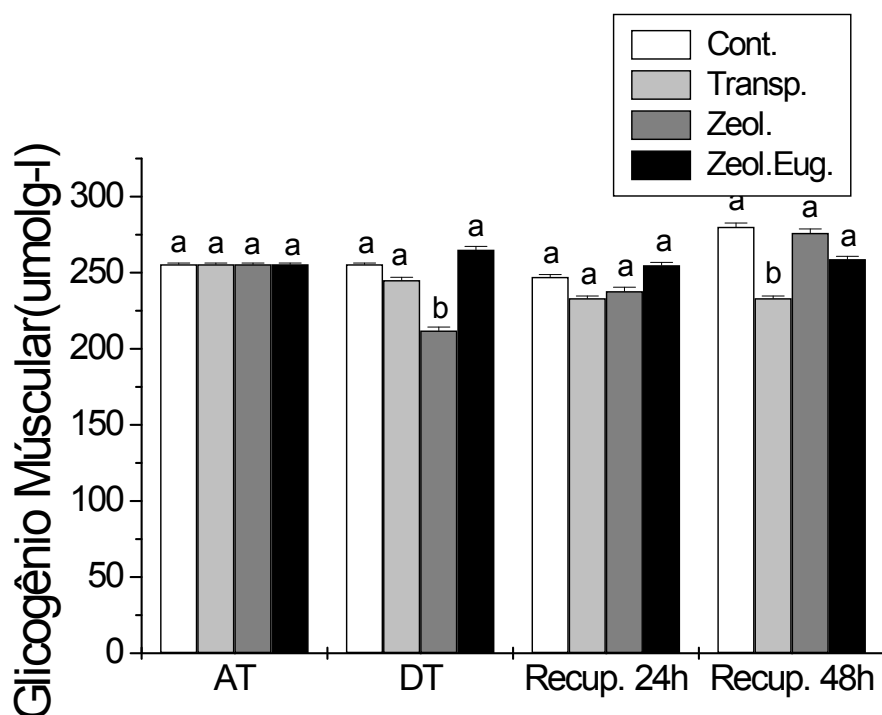


Figura 18. Valores de glicogênio muscular em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte da zeolita e eugenol adicionados à água de transporte. AT= antes do transporte, DT= depois do transporte, Recup. 24h= recuperação 24h e Recup. 48= recuperação 48h. Médias com mesma letra não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

#### **14.5.10 Proteína plasmática**

A proteína plasmática no tempo AT não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, no tempo DT houve um aumento significativo nos tratamentos transportados, zeolita, zeolita + eugenol quando comparado com o controle, no tempo recuperação 24 horas houve um aumento nos tratamentos zeolita, zeolita + eugenol quando comparado com o controle. No tempo recuperação 48 horas houve uma diminuição na concentração de proteína nos tratamentos transportado, zeolita e zeolita + eugenol quando comparado com o controle (Figura 19). (Inoue, 2005) os valores de proteína plasmática foram significativamente diferentes após o transporte de matrinxã e nos tempos de recuperação, quando retornaram aos valores basais, e neste trabalho foi inversamente o contrário após o transporte os valores da proteína plasmática aumentaram, e no tempo de recuperação 48 horas os valores diminuíram. (Figueiredo, 2008) estudando o pacu, verificou que após ser exposto ao estresse não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, mostrando assim que o matrinxã é mais sensível as práticas rotineiras nos sistemas de manejo.

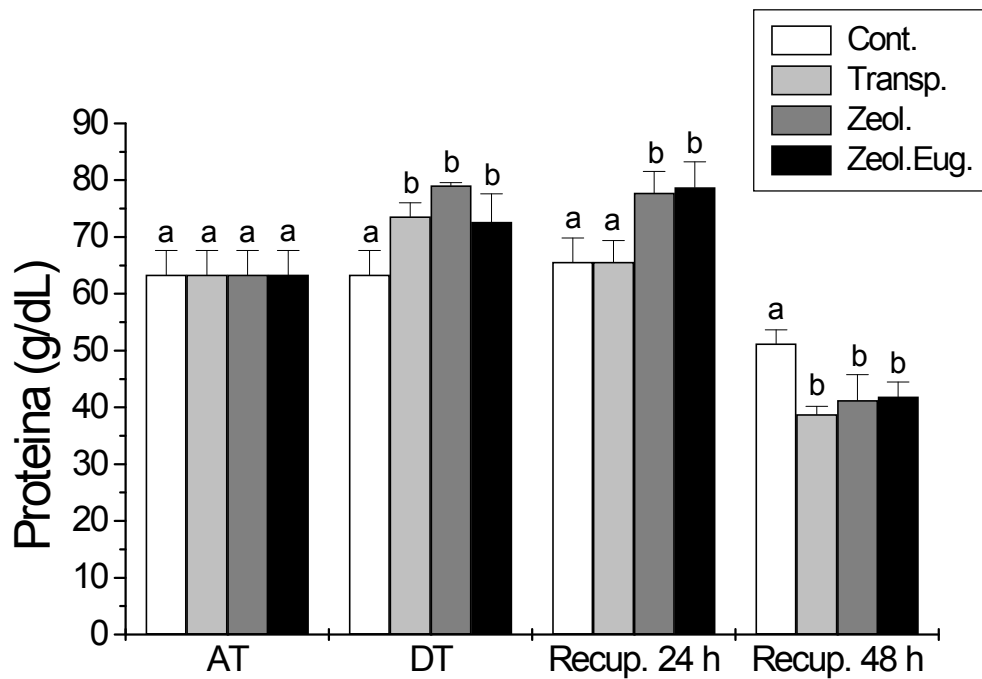


Figura 19. Valores de proteína plasmáticos em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte da zeolita e eugenol adicionados à água de transporte. AT= antes do transporte, DT= depois do transporte, Recup. 24h= recuperação 24h e Recup. 48= recuperação 48h. Médias com mesma letra não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).



## 15. CONCLUSÕES

O matrinxã é um bom modelo para estudos de respostas de estresse. É uma espécie bastante responsiva a estímulos adversos impostos no decorrer dos protocolos experimentais

No experimento da absorção da amônia em diferentes concentrações de zeolita, a concentração ideal encontrada foi de 7,5 mg/L, levando considerações de benefício ambiental/custo da zeolita.

No experimento do transporte de juvenis de matrinxã utilizando a melhor concentração de zeolita determinada no experimento II (7,5mg/L) e eugenol (5mg/L) a água de transporte, o tratamento mais eficiente foi a associação desse à zeolita, mostrando bons resultados para a qualidade da água de transporte e das respostas fisiológicas e tissulares ao estresse.

Devemos levar em consideração, entretanto que devem ser realizados mais estudos para o aperfeiçoamento e a validação da tecnologia para a sua utilização em campo com resultados satisfatórios ao produtor rural.

## 16. Referências Bibliográficas

- ADAMS S. **Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish.** In: Adams SM. (Ed.). *Biological indicators of stress in fish.* Bethesda, MD: American Fisheries Society, (American Fisheries Symposium, 8. p.1-8, 1990.
- AFONSO, J. C.; PONTES, A. B.; SANTOS, E. S.; MENEZES, M. S.; AGUIAR, R. M. **Recuperação de elementos de zeolitas desativadas,** Boletim Técnico Petrobras, V. (3/4), p. 365, Rio de Janeiro, 2003.
- AFFONSO, E. G. **Respiratory characteristics of hoplosternum tittorale (Siluriformes, Callichthyidae).** Acta Amazonica, 31 (2): 251-257, 2001.
- AFFONSO, E. G.; SILVA, E. C.; TAVARES-DIAS, M.; MENEZES, G. C.; CARVALHO, C. S. M.; NUNUS, E. S. S.; ITUASSU, D. R. ROUBACH, R.; ONO, E. A. FIM, J. D. I.; MARCON, J. L. **Effect of hing levels of vitamim C blood responses of matrinxã (Brycon amazonicus)** .Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 147: 383-388, 2007.
- ALBELAÉZ-ROJAS, G. A.; FRACALOSSO, D. M.; FIM, J. I. **Composição corporal de tambaqui, Colossoma macropomum, e matrinxã, Brycon cephalus, em sistema de cultivo intensivo, em igarapé, e semi-intensivo, em viveiros,** Revista Brasileira de Zotecnia, Viçosa, v. 31. p. 1059-1069, 2002.
- AVILEZ, I. M.; AQUIAR, L. V. F.; MORAES, G. **Acute toxidity of nitrite to matrinxã, Brycon cephalus (Gunther, 1969), ( Teleostei-Characidades).** Ciência Rural, 34 (6): 1753- 1756, 2004.
- APHA, **Standard methods for determinations of water and waster.** 12 ed. Washington, DC: Join Editorial board, 1980.

- BALDISSEROTO, B. **Fisiologia de Peixes aplicada à Piscicultura**. Santa Maria: Ed. USFM, 212 p. 2002.
- BARBOSA, L. G.; MORAES, G. INOUE, L. A. K. A. **Respostas metabólicas do matrinxã submetido a banhos anestésicos de eugenol**. Acta sci. Biologia Sci. Maringá, v. 29, n. 3, p. 255-260, 2007.
- BARNWTT, P. **The effects of common laboratory and husbandry practices on the strss response of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* (Gunther, 1862)**, Aquaculture , 1997.
- BARTON, B. A. **Endocrine and metabolic responses of fish to stress**. *Int Assoc Aquat Anim Med Proc*, v.19, p.41-55, 1988.
- BARTON, B. A. **Physiological stress responses of the freshwater chondrosteian poddle fish (*Polyodon spathula*) to caute physical disturbance**. *Comparative Biochemistry and Physiology A*. v. 120, n. 2, p. 355-363, 1998.
- BARTON, B. A. **Stress in finfish: past, present and future a historical perspective**. *In: IWAMA, G.K., PICHERING, A.D., SUMPTER, J.P., SCHRECK, C.B. (Eds.)*. Fish stress and health in aquaculture. Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge University Press, New York, NY. p.1-33, 1997.
- BARTON, B.A., IWAMA, G.K.,. **Physiological changes in fish fron stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids**. *Reviews of Fish Disease* 1, 3-26. 1991.
- BARTON, B. A.; MORGAN, J.D.; VIJAYAN, M.M. **Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish**. *In: Adams (ed.)*. Biological indicator of aquatic ecosystem stress, Bestherda, Maryland, American Fisheries Society, p.289-320, 2002.

- BENDHACK, F. **Uso do sulfado de cálcio como redutor de estresse no transporte de matrinxãs (*Brycon cephalus*)**. Dissertação (Mestrado), CAUNESP- Jaboticabal – SP, 2004.
- BERKA, R. **The transporto f live fish: a review**. Rome: EIFAC technical Papers 48, 45 p. 1986.
- BIDINOTTO, P.M. *et al.* **Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of microsamples**. *Boletim Técnico do Cepta*, Pirassununga, v.10, p.53-60, 1997.
- BRANDÃO, F. R.; GOMES, L. D.; CHAGAS, E. C.; de ARAÚJO, L. D. **Stocking density of tambaqui juveniles during second growth phase in cages**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39 (4): 357-362, 2004.
- BRANDÃO, F. R.; GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C. **Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante praticas de rotina em piscicultura**. *Acta Amazônica*. v. 36 (3), p. 349- 356, 2006.
- BRANDÃO, F. R.; GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C. ARAÚJO, L. D.; SILVA, A. L. F. **Densidade de estocagem de matrinxã ( *Brycon amazônicos*) na recria em tanque-rede**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB)*,v. 40,n.3, p. 299-303. 2005
- BOYD, C. E. **Water quality in warmwater fish culture**. Auburn: Auburn University, 359 p., 1981.
- BOYD,C. E. **Water quality management for pond fish culture**. *Developments in aquaculture an fisheries Science*, v. 9 Amsterdam, Elsevier, 318 p., 1982.
- BORGES, G. A. **Ecologia de tres especies do genero *Brycon* (Muller-troschel, 1844) (*Pises*, *Chararidade*), no rio negro\_ Amazonas, com ênfases na caracterização taxonômica e alimentação**. 150 f.

Dissertação (Mestrado) Instituto Nacional da Pesquisa da Amazônia, Manaus, 1986.

CAMARGO, A. C. S.; KOCHENBORGER, J. R.; URBINATI, E. C. **Efeito da restrição alimentar moderada aplicada à fêmea de matrinxã ( *Brycon cephalus*) no desempenho da progênie** . In: Urbinati, E. C.; Cyrino, J. E. P. Anais XII SIMBRAQ v. 2. Jaboticabal: Aquabio, , p. 149- 159. 2003.

CARMICHEL, G. J.; WEDEMEYER, G. A.; MCCRAEN, J. D. MILLARD, J. L. **Physiological effects of handling and hauling stress on smallmouth bass**. Progress in fish culture, 45: 110-113, 1983.

CARMICHAEL, G. J.; TOMASSO, J. R.; SIMCO, B. A.; DAVIS, K. B. Confinement and water quality induced stress in largemouth bass. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.113, p. 767-777, 1984.

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

CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. **Salt as a stress response mitigator of matrinxã *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) during transport**. Aquaculture Research, Oxford, v. 32, p. 297-304, 2001a.

CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. **Electrolyte disturbance in matrinxã *Brycon cephalus* following transport stress under benzocaine effect**. Journal of Applied Aquaculture, Binghamton, v. 11, p. 1-13, 2001b.

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

- CARVALHO, E.G. **Redução na oferta de ração: Metabolismo energético e na maturação gonadal do matrinxã (*Brycon cephalus*, TELEOSTEI: Characidae) em cativeiro.** Tese (Doutorado), CAUNESP- Jaboticabal – SP, 2001.
- COLLIER, H. B. **The standardization of blood haemoglobin determinations.** Can. Med. Ass. J. 50:550-552, 1944.
- CHO, G.K.; HEATH, D.D. **Comparison of tricaine methanesulphonate (MS222) and clove oil anaesthesia effects on the physiology of juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum).** *Aquaculture Research*, Oxford, v. 31, p.537-546, 2000.
- CYRINO, J. E. P.; CASTAGNOLI, N. PERREIRA-FILHO, M. **Digestibilidade de proteína de origem animal e vegetal pelo matrinxã ( *Brycon cephalus* 1869.)** In: Simpósio Brasileiro de Aquicultura , Cuiabá, p. 49-62. 1986.
- DUBOIS, M. **Colorimetric method for determination of sugars and related substances.** Anal. Chem, v. 28, p. 350- 358, 1956.
- DUMITRU, T. **Thermal Analysis of Minerals.** ABACSU PRESS, Romênia, 1976.
- EMADI, H.; NEZHAD, J. E.; POURBAGHER, H. **In vitro comparison of zeolita (Clinoptilolite) and activated carbon as ammonia absorbants in fish culture.** Naga, The Iclarm quarterly, v. 24, p. 1-2 , January-June,2001.
- FACHINI, A.; LEAL, M. F.C.; VASCONCELOS, M. T. S. D. **Are zeolites capable of modifying the yield of marine micro-algae culture. A case study with *Emiliani buxleyi* and products of zeolitic nature.** *Aquaculture*, n. 237, p. 407-419, 2004.

- FACHINI, A.; VASCONCELOS, M. T. S. D. **Effects of zeolites on culture of marine micro-algae**. *Environ Sci Pollut Res*, n. 13(6), p. 414-417, 2006.
- FALÇÃO, G. F.; PAIVA, P. R. P. **Caracterização de zeólita e sua aplicação como absorvente de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**. XIII Jornada de iniciação científica-CETAM. 2005.
- FABBRI, E.; CAPUZZO, A.; MOON, T. W. **The role of circulating catecholamines in the regulation of fish metabolism: An overview**. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 120, p. 177-192, 1998.
- FIM, J.D.I. **Criatório de Matrinã em Igarapé**. *Revista Agro Amazônia*. n. 01. p. 56, 2002.
- FIGUEREIDO, J. S. **Estudo do metabolismo antioxidativo, a biotransformação hepática e as alterações histológicas do pacu( )**. Dissertação de Mestrado. UFSCAR, São Carlos, p. 123, 2008.
- FLETCHER, D. J. **Plasma glucose and plasma fatty acid levels of *Limanda limanda* in relation to season, stress, glucose cords and nutritional state**. *Journal of Fish Biology*, 25: 629-648, 1984.
- FORSBERG, J.A., SUMMERFELT, R.C., BARTON, B.A. **Physiological and behavioural stress responses of walleyes transported in salt and buffered-salt solutions**. *North American Journal of Aquaculture* 63, 191-200, 2001.
- GALLI, L. F.; TORLONI, C.E. **Criação de peixes**. Ed. Nobel, 119 p. São Paulo, 1989.
- GRAEF, E.W. **As espécies de peixes com potencial para criação no Amazonas**. In: *Criando Peixes na Amazônia*.: Eds. Val. A. L. & Honczaryk. A. Manaus, 1995.

- GENTZKOW, C.J.; MASEN, J.M. **An accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization.** Journal of Biological Chemistry, Bethesda, v.143, p.531-544, 1942.
- GOTTSBERGER, G. **Seed dispersal by fish in the inundated regions of Humaitá, Amazonia.** Biotrópica, Lawrence, v.10, n. 4, p. 170-183, 1978.
- GOMES, L. C.. **Transporte de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* (CUVIER 1818) (Teleostei, Characidae).** Tese de Doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas. Manaus, 101 p. 2002.
- GOMES, L. C.; ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; ROUBACH, R.; CHIPPARIGOMES, 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, 34:76-84, 2003a
- GOMES, L. C.; ROUBACH, R.; CAVERO, B. A. S.; PEREIRA-FILHO, M.; URBINATI, E. C. **Transport of pirarucu *Arapaima gigas* juveniles in plastic Bag.** Acta Amazônica. 33: 631-636. 2003 b.
- GOMES, L. C.; URBINATI, E. C. **Matrinxã *Brycon amazonicus*.** In: BALDISSEROTTO, B., GOMES, L. C. (Orgs.). ***Espécies nativas para piscicultura no Brasil.*** Ed. UFSM, p. 149-174. Santa Maria, 2005.
- GROTTUM, J. A.; STAURNES, M.; SIGHOLT, T. **Effect of oxygenation, aeration and pH control on water quality and survival of turbot, *Scophthalmus maximus* (L), kept at high during transport.** Aquaculture Research. v. 28, p.159-164. 1997.
- GOULDING, M. **Ecologia da pesca do Rio Madeira.** Manaus: INPA, 172 p.1979.



- GOULDING, M. **The fishes and florest: exploration in Amazonian Natural History**. Berkeley: University of California, p. 280, 1980.
- HARROWER, J.R.; BROWN, C.H. **Blood lactic acid. A micromethod adaptes to field collection of microliter samples**. Journal of Applied Physiology, Bethesda, v. 32, n.5, p.224-228, 1972.
- HONCZARYK. A. **O Potencial da Matrinxã *Brycon cephalus* na piscicultura da Amazônia**. In: INQUE. M. T. Anais da conferencia internacional "AMAZÔNIA NO TERCEIRO MILÊNIO:"atitudes desejáveis ". 1999 Manaus. Anais, São Paulo: Associação Brasil SGI. CD-ROM, 2000.
- HOWES, M. **Review of the genus *Brycon* ( Teleostei: Characoidei)**. *bulletin br.* Museum natural history (zool), Cambridge, v. 43, n. 1, p. 1-14, 1982.
- HURVITZ, A.; BERCOVIER, H.; RIJN, J. van. **Effect of ammonia on the survival and the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) vaccinated against *Streptococcus iniae***. Fish & Shellfish Immunology, v.7, p.45-53, 1997.
- INOUE, L. A. K. A.; SANTOS-NETO, C.; MORAES, G. **Benzocaina como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*)** . Boletim Tenico do Cepta. Pirassununga, v.15, p. 23-30, 2002.
- INOUE, L.A.K.A.; CECARELLI, P.S.; SENHORINI, J.A. **Efeitos da cal na qualidade da água e suas implicações na produção do pintado *Pseudoplatystomacorruscans* (agassiz, 1829) durante a alevinagem**. Biodiversidade Pampeana, PUCRS, Uruguaiana, v.1 (1), p. 3-11. 2003.

- INOUE, L.A.K.A.; HACKBARTH, A.; MORAIS, G. **Avaliação dos anestésicos 2-phenoxyethanol e benzocaína no manejo do matrinxã *Brycon cephalus* (Günter 1869)**. Biodiversidade Pampeana, PUCRS, Uruguaiana, 2: 10-15, 2004.
- INOUE, L.A.K.A.; AFONSO, L. O.B.; IWAMA, G.K.; MORAES, G. **Effects of clove oil on the estress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport** .Acta Amazonica, Manaus , v.35 (2), p. 289 -295. 2005.
- INOUE, L.A.K.A. **Resposta do matrinxã (*Brycon cephalus*) a anestésicos estressores**. Tese (Doutorado) Universidade Federal de São Carlos 135 p, São Carlos, 2005.
- INOUE, L.A.K.A.; MORAES, G. **Stress responses of matrinxã (*Brycon cephalus*) submitted to transport in plastic bags**. J. Fish. Aquat. Sci., Washington, D.C., v. 1, n. 1,p. 1-9, 2006.
- INGLEZAKIS, V.J., PAPADEAS, C.D., LOIZIDOU, M.D. and GRIGOROPOULOU, H.P. **Effects of pretreatment on physical and ion exchange properties of natural clinoptilolite**. Environmental Technology, 22(1), p. 75-82, 2000.
- IVERSEN, M.; FINSTAD, B.; NISSEN, K. J. **Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts**. Aquaculture 168, 387-394, 1998.
- IVERSEN, M. et al. **The efficacy of metomidate, clove oil, aqui-s and benzoak as anesthetics in atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity**. Aquaculture, Amsterdam, v. 221, p. 549-566, 2003.
- IZEL, A. C. U. & MELO, L. A. S. **Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em tanques escavados no Estado do Amazonas**.

- Embrapa Amazônia Ocidental (Série Documentos 32), Manaus. 19 p., 2004.
- JOHNSON, S. K. **Transporto f live fish**. Texas: Texas A&M University, p. 13, 1979.
- LEITE, R. G.; ARAUJO-LIMA, C. A. R. M. **Feeding of the Brycom cephalus, Triportheus elongatus and Semprochilas insignis (Osteichthyes, Characiformes) larvae in Solimões Amazonas river and floodplain áreas**. Acta Amazonicca, Manaus, v. 32, n. 3, p. 499- 515, 2002
- LIMA, F. C. T. Subfamília rycocoinae ( Characins, Tetras). In : Reis, R. E., Kulander, S. O.; Ferraris Jr., C. J. ( Orgs.). **Check List of the freshwater fishes of south and Central Ameica**. Porto Alegre: Ed. PURCS, p. 174-181, 2003.
- LIMA, L. C.; RIBEIRO, L. P.; MELO D. C. **Estresse em peixes**. Revista Brasileira de Reprodução de Animal, v.30, n.3/4, p.113-117, Belo Horizonte, 2006.
- MARQUES, E. **Características físico-química de las zeolitas Naturales como Medio Filtrante**. XVIII Congresso Internacional de Ingenieria Sanitária ey Ambiental Asociación Brasileira de Ingenieria Sanitária y Ambiental, 2000.
- MAZEAUD, M.M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E.M. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 106, p.201- 212. 1977.
- MENDONÇA, J. O. J. ; SENHORINI, J. A.; AFONSO, S. A.; CANTELMO, O. A. **Influência da fonte protéica no crescimento do matrinxã Brycon cephalus, em viveiros**. Boletim Técnico do CEPTA, Pirassununga, v.6, n. 1, p. 51-58, 1993.

- MENEZES, G. C.; TAVARES-DIAS, M.; ONO, E. A.; ANDRADE, J. I.; BRASIL, E. M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E. C.; MARCON, J. L.; AFFONSO, E. G. **The influence of dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of pirarucu, *Arapaima gigas*, in net culture.** *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 145 (2) : 274-279, 2006.
- MOMMSEN, T.P.; VIJAYAN, M.M., T.W. **Cortisol in teleost: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation.** *Fish Biology and Fisheries*. v. 9, p. 211-268, 1999.
- MORGAN, J.D.; IWAMA, G.K. **Cortisol induces changes in oxygen consumption and ionic regulation in coastal cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki clarki*) parr.** *Fish Physiology and Biochemistry*. v. 15, n. 5, p. 385-394, 1996.
- MOYLE, P. B., and J. J. CECH, Jr. **Fishes: An introduction to ichthyology.** 2ed. Prentice Hall. Englewood Cliffs, NJ, USA. 559p. ,1998.
- MUNDAY, P.L.; WILSON, S.K. **Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinesnsis*, a coral reef fish.** *Journal of Fish Biology*, Oxford, v. 51, p. 931-938, 1997.
- National Toxicology Program. Clove oil. Captured on May 23. Online. Available on the Internet <http://ntpserver.niehs.nih.gov/> ,2002.
- KEENE, J. L.; NOAKES, D. L.; MOCCIA, R. D.; SOTO, C. G. **The efficacy of clove oil as an anesthetic for rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum).** *Aquaculture Research*, v. 29, n. 2, p. 89-101, 1998.
- KILDEA, M.; ALLAN, G.; KEARNEY, R. **Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and Aquil-STM from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*).** *Aquaculture*, 232: 265-277. 2004.

- KRIGER-AZOLINI, M. H.; CAROSFELD, J.; DELLATTRE, E.; CECCARELLI, P. S. **Determinação dos indicadores endócrinos e metabólicos no estresse no manejo em pacu juvenil, *Piractus mesopotamicus* Homlberg**, Boletim Técnico do CEPTA. 2:35-42. 1989.
- KUBITZA, F. **Técnicas de transporte de peixes vivos**. Campo Grande: Conceito, p. 44, 1998.
- KUBITZA, F. **Técnicas de transporte de peixes vivos**. Jundiaí, p. 51, 1999.
- KUBITZA, F.; LOVSHIN, L. L. **The use of freeze-dried krill to feed train largemouth bass (*Micropterus salmoides*): feeds and training strategies**. *Aquaculture*, Amsterdã, v.148, p. 299-312, 1997.
- OLIVEIRA, S. R. **Efeito do levamisol sobre o desempenho produtivo e como mitigador do estresse ao transporte em matrinxã ( *Brycon amazonicus*)**. Dissertação (mestrado), INPA, Manaus, 101 p., 2008.
- ONO, E. A. **Cultivar peixes na Amazônia: possibilidades ou utopia? Panorama da aqüicultura**, 90:41-48, 2005.
- PEREIRA, L. P.F. MERCANTE, C. T. J. **A Amazônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos a qualidade da água**. Boletim Instituto de Pesca, São Paulo, n. 31(1), p.81-88, 2005.
- PERREIRA-FILHO, M.; CASTACNOLLI, N.; STORTI FILHO, A.; OLIVEIRA-PERREIRA, M.I. **Efeito de diferentes níveis de proteína e de fibra bruta na alimentação do matrinxã, *Brycon cephalus***. *Acta Amazônica*, Manaus, v. 25, n.1, p. 137-144, 1995.
- PICKERING, A.D, POTTINGER, T. G. **Biochemical effects of stress. In: Hochachka PW, Mommsen TP. *Environmental and ecological biochemistry*. Amsterdam: Elsevier, p.349-379, 1995.**

- PIPER, G. R.; McELWAIN, I. B.; ORME, L. E.; McCRAREN, J. P.; FOWLER, L. G.; LEONARD, J. R. **Fish hatchery management**. Washington: United States Department of the Interior, 517 p,1982.
- PIZANGO-PAIMA, E. G.; PERREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA-PERREIRA, M. I. **Composição corporal e alimentar do matrinxã *Brycon cephalus*, na Amazônia central**. Acta Amazônica, Manaus, v. 31, n.3, p. 509-520, 2001.
- RANDALL, D.J. ; PERRY, S.F. Catecholamines. In: ***Fish Physiology***(edited by Hoar, W.S., Randall, D.J. and Farrell, A.P.) Academic Press, San Diego, CA. XIIB: p. 255-300, 1992.
- RUI FONTES, M. G. **Glicose-6-fosfatase, Arquivos de Medicina**. v. 5 p. 10-12. Editora da Universidade do Porto, 2001.
- ROUBACK, R; GOMES, L. C. **Uso de anestésicos durante o manejo de peixes**. Panorama da Aqüicultura, v. 11, n. 66, p, 37-40, 2001.
- ROUBACH, R., Correia, E.S., Zaiden, S., Martino R.C. & Cavalli, R.O. **Aquaculture in Brazil**. World Aquaculture, v. 34(1): p. 28-35, 2003.
- RODRIGUES-IZNAGA, L., GÓMEZ, A., RODRIGUEZ-FUENTE, G., BENÍTEZ-AGUILARN , A. and SERRANO-BALLAN , J. **Natural clinoptilolite as na exchanger of Ni<sup>2+</sup> and Nh<sup>4+</sup> ions under hydrothermal conditions and high ammonia concentration**. Microporous and Mesoporous Materials, 53, p. 71-80, 2002.
- ROUBACH, R. , GOMES, L. C., FONSECA, F.A. L., VAL, L. A. **Eugenol as an efficacious anesthetic for tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. *Aquaculture Research*, Oxford, v. 36, p. 1056-1061, 2005.
- ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. Blackwell Science, Oxford. 159p,1999.

- SAMPAIO, L. A.; PISSETTI, T. L.; MORENA, M. Toxicidade aguda do nitrito em larvas do peixe-rei marinho *Odontesthes argentinensis* (Teleostei, Atherinopsidae). *Ciência Rural*, Santa Maria, v.36, n3 p. 1008-1010, 2006.
- SANABRIA, A. I. O. **Efeito da restrição alimentar no desempenho reprodutivo de machos de matrinxã, *Brycon cephalus***. Dissertação (Mestrado)- Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, 60 f., 2002.
- SAWYER CI- **Química para Ing. Ambiental**, 4° Edicion. Mc Grawhill-Colombia. p. 295-297, 2000
- SLADKY, K.; SWANSON, C.; STOSKOPF, M.; LOOMIS, M. LEWBART, G. **Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetic in red pacu (*Piaractus brachypomus*)**. *American Journal of Veterinary Research*, 62(3): 337-342, 2001.
- SILAPAJARN, O.; SILAPAJARN, K.; BOYD, C. E. **Evaluation of zeolite products used for aquaculture in Thailand**. *Word Aquaculture Society*. V. 37, n. 1, p. 136-138, 2006.
- SMALL, B. C. **Effect of dietary cortisol administration on growth and reproductive success of channel catfish**. *J. Fish Biol*, v.64, p.589-596, 2004.
- STAURNES, M.; SIGHOLT, T.; PEDERSON, H.P.; RUSTAD, T. **Physiological effects of simulated high density transport of atlantic cod (*Gadus morda*)**. *Aquaculture*, v.119,p. 381-391, 1994.
- SVOBODOVÁ, Z.; VYKUSOVÁ, B.; MÁCHOVÁ, A. **The effect of pollutants on selected haematological and biochemical parameters in fish**. In: MULLER, R.; LLOYD, R. (Eds). *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish*. FAO- Fishing News Books, Cambridge, p. 39-52, 1994.
- TANGERINO, L. M. B. **Estudo das propriedades antimicrobianas de copolímeros derivados do eugenol**. Dissertação (Mestrado)

- Departamento de física e química, Universidade federal de Itajubá, 172 f., 2006.
- TAVARES, L. H. S. **Liminologia aplicada à aqüicultura**. Jaboticabal, SP: FINEP, p. 70, 1994.
- TAVARS-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Riberão Preto, São Paulo. P. 144, 2004.
- TRINDER, P. **Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor**. *Analytical Clinical Biochemistry*, Amsterdam, v.6, p.24-27, 1969.
- TOMASSO, J. R. **Toxicity of nitrogenous waster to aquaculture animals**. *Reviews in Fisheries Science*, London, v. 2, p. 291-314, 1994.
- URBINATI, E.C.; CARNEIRO, P. C. F. **Metabolic and hormonal responses of matrinxã, *Brycon cephalus*, (Teleostei: Characidae) to transport stress under influence of benzocaine**. *Journal Aquaculture in the Tropics* 16(1), 75-85, 2001.
- URBINATI, E.C., ABREU, J.S., CAMARGO, A.C.S., PARRA, M.A.L.,. **Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at various densities**. *Aquaculture* (in press), 2003.
- URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F.. **Práticas de manejo e estresse dos peixe em piscicultura**. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Eds.). *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. Sociedade Brasileira de Aqüicultura e biologia Aquática. Editora Tecart, São Paulo, p. 171-193. 2004.



- URBINATI, E. C.; ABREU, J.S.; CARMARGO, A. C. S.; LANDINES, M. A. b.  
**Loading and transport stress in juveniles matrinxã (*Brycon cephalus*) at various densities.** *Aquaculture*. 229:389-400, 2004.
- URRUTIA, M. L.; TOMASSO, J. R. **Acclimation of channel catfish to environmental nitrite** . *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 18, p. 175-179, 1987.
- VAN DER BOON J.; VAN DEN THILLART, G.; ADDINKddink, A. **The effects of cortisol administration on intermediary metabolism in teleost fish.** *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*, v.100, p.47-53, 1991.
- VARQUES, L. H. **Participação do hormônio triiodotironina (T3) no desenvolvimento inicial do matrinxã ( *Brycon cephalus*).** Tese (Doutorado)- Centro de Aqüicultura da UNESP, Jaboticaba, 150 F. 2003.
- VINATEA, L. **Princípios químicos de qualidade da água em aqüicultura.** 2º Ed. Editora UFSCAR, v.1 p. 345, 2004.
- ZANIBONI-FILHO, E.; CARVALHO, J. L.; VILLACORTA-CORREA, M. A.; Resende, E. K. **Caracterização morfológica do matrinxã, *Brycon cephalus* ( Gunther, 19869) (Teleostei: Characidae).** *Revista Brasileira de Biologia*, São Carlos, v. 48, n. 1, p. 41-50, 1988.
- WENDELAAR BONGA, S.E., 1997. **The stress response in fish. Physiological** .*Reviews*77(3), p. 591-625, 1997.
- WEDEMEYER, G. A; BARTON, B.; MC LEAY D. **Stress and acclimation.** *In:* Schreck C, Moyle P. (Ed.). *Methods for fish biology*. Bethesda, MD: American Fisheries Society, p. 451-489, 1990.

- WEDEMEYER, G.A. ***Physiology of fish in intensive culture systems.*** Chapman and Hall, New York. 232 p.
- WOODY, C.A. *et al.* **Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trails.** *Journal of Fish Biology*, Oxford, v. 60, n. 2, p. 340-347, 1996.
- WEDEMEYER, G.A. **Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture.** In: IWAMA, G.K.; PICKERING, A.D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B. *Fish stress and health in aquaculture.* Cambridge: University Press, p. 35- 71, 1997.
- WEIRICH, C. R. **Toxicity of ammonia and nitrite to sunshine bass in selected environments.** *Journal of Aquatic Animal Health*, v. 5, p.64-72, 1993.
- WILSON, M. J. **Clay Mineralogy: Spectroscopic and Chemical Determinative Methods** Head , Division of Soils, FRSE, New YORK, p. 45- 49, 2002.
- WRIGHT, P. A. **Nitrogen excretion and enzyme pathways for ureagenesis in freshwater tilapia (*Oreochromis niloticus*).** *Physiology zoology.*, v. 66, p. 881-901, 1993.
- WOODY, C.A.; NELSON, J.; RAMSTAD, K. **Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trails.** *Journal of Fish Biology*, 60(2): 340-347, 2002.
- WURTS, W.A. **Using salt to reduce handling stress in channel catfish.** *World Aquaculture.* v. 26, n. 3, p. 80-81, 1995.

