

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**SOBREVIVÊNCIA, CRESCIMENTO E PARÂMETROS
METABÓLITOS TECIDUAIS EM ALEVINOS DE
JUNDIÁ *Rhamdia quelen* EXPOSTOS A DIFERENTES
NÍVEIS DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Neiva Braun

**Santa Maria,RS, Brasil
2005**

**SOBREVIVÊNCIA, CRESCIMENTO E PARÂMETROS
METABÓLITOS TECIDUAIS EM ALEVINOS DE
JUNDIÁ *Rhamdia quelen* EXPOSTOS A DIFERENTES
NÍVEIS DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO**

por

Neiva Braun

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia**

Orientador: Professor Dr. Bernardo Baldisserotto

Santa Maria, RS, Brasil

2005

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**SOBREVIVÊNCIA, CRESCIMENTO E PARÂMETROS METABÓLITOS
TECIDUAIS EM ALEVINOS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* EXPOSTOS
A DIFERENTES NÍVEIS DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO**

elaborada por
Neiva Braun

Como requisito para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA

Dr. Bernardo Baldisserotto
(Presidente/Orientador)

Dr. Evoy Zaniboni Filho, Dr. UFSC

Dra. Maria Rosa Chitolina Schetinger, Dr.UFSM

Santa Maria, 22 fevereiro de 2005

Dedico a minha família,
pela compreensão às longas ausências,
pelo apoio e incentivo as minhas decisões,
em todos os momentos da minha vida

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador prof. Dr. Bernardo Baldisserotto pela oportunidade de participar deste grupo de estudo e principalmente pela amizade, compreensão, orientações e sugestões para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

A minha co-orientadora Dr^a. Vânia Lucia Pimentel Vieira, por me ensinar às técnicas bioquímicas, pelo incentivo desde o início e contribuições durante todas essa etapa.

A todos os professores integrantes do Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, especialmente ao professor Dr. João Radünz Neto pelos ensinamentos, incentivo, apoio e amizade.

As professoras Dr^a. Liliane Bauermann, então chefe de Departamento, por disponibilizar meios para o desenvolvimento do trabalho. Dr^a. Kátia Padilha Barreto, pelo empréstimo do laboratório e Dr^a. Marelise Burger pelo empréstimo do Espectrofotômetro.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Santa Maria, especialmente ao Sr. Francisco J. Quatrin e Sr^a. Rozane T. Rossatto, pela disponibilidade e auxílio.

A secretária Sr^a. Olirta Giuliani, pela amizade e disposição em ajudar nos trâmites burocráticos.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia de Peixes, Luciano Garcia, Alexssandro Becker e especialmente a Ronaldo Lima de Lima pela amizade, bom humor, companheirismo, apoio, incentivo e presença constante. Esta conquista também é sua!

A equipe do laboratório de Bioquímica Toxicológica, especialmente Bibiana Moraes pela ajuda nas análises teciduais.

As amigas Lenise Vargas Flores da Silva, Jaqueline Ineu Golombieski e Graciele Maldaner, pelo exemplo de profissionalismo e pelo apoio e amizade.

Aos jundiás sacrificados para o êxito deste trabalho.

As demais pessoas que, de uma forma ou outra, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

SOBREVIVÊNCIA, CRESCIMENTO E PARÂMETROS METABÓLITOS TECIDUAIS EM ALEVINOS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* EXPOSTOS A DIFERENTES NÍVEIS DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO

Autora: Neiva Braun

Orientador: Bernardo Baldisserotto

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 22 de fevereiro de 2005

Este trabalho teve como objetivo verificar a sobrevivência e o crescimento de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido, bem como o seu efeito nos níveis de glicogênio, glicose, proteína no fígado, rim, músculo e a atividade da catalase hepática. No primeiro experimento foram utilizados 10 alevinos ($2,23 \pm 0,13$ g) por unidade experimental (2 litros) para determinação da concentração letal (CL-50) em 96 horas para oxigênio dissolvido. Foram expostos a $0,40 \pm 0,05$; $0,76 \pm 0,07$; $1,04 \pm 0,14$ e $1,68 \pm 0,32$ mg/L de oxigênio dissolvido (três repetições por tratamento). No segundo experimento 10 alevinos ($4,99 \pm 0,18$ g) por unidade experimental (40 litros) foram expostos a $1,96 \pm 0,08$; $3,10 \pm 0,10$; $4,14 \pm 0,09$; $5,20 \pm 0,07$ e $6,16 \pm 0,03$ mg/L de oxigênio dissolvido (três repetições por tratamento) por 30 dias. A CL50 foi 0,52 mg/L (intervalo de confiança 0,42 - 0,61). No experimento de crescimento observou-se correlação positiva entre oxigênio dissolvido e comprimento padrão, peso, taxa de crescimento específico, biomassa e correlação negativa na conversão alimentar e catalase. Os níveis de glicogênio hepático apresentaram redução com o aumento da concentração de oxigênio. A glicose e o lactato apresentaram níveis variados. No tecido muscular, os níveis de glicogênio diminuíram com o aumento da concentração de oxigênio e a glicose e lactato apresentaram variações nos diferentes tratamentos. No tecido renal não foi observada diferença no conteúdo de glicogênio. As proteínas do tecido hepático, muscular e renal não apresentaram variações entre os tratamentos. A faixa ideal para o desenvolvimento de alevinos de jundiá é acima de 4,3 mg/L de oxigênio dissolvido.

Palavras-chaves: oxigênio dissolvido, jundiá, *Rhamdia quelen*, crescimento, parâmetros bioquímicos.

ABSTRACT

Master Dissertation
Post-Graduate course in Animal Husbandry
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

SURVIVAL, GROWTH AND BIOCHEMICAL PARAMETERS TISSUE OF SILVER CATFISH FINGERLINGS *Rhamdia quelen* EXPOSED AT DIFFERENT LEVELS OF DISSOLVED OXYGEN

Author: Neiva Braun

Adviser: Bernardo Baldisserotto

Place and date of defence: Santa Maria, February 22th, 2005

The objective of this study was to verify survival and growth of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings in different concentrations of dissolved oxygen, as well as its effect on glycogen, glucose, and protein in the liver, kidney, and muscle and activity of the hepatic catalase. In the first experiment 10 fingerlings were used (2.23 ± 0.13 g) in each experimental unit (2 liters) for determination of the lethal concentration (LC-50) in 96 hours for dissolved oxygen. Fingerlings were exposed to 0.40 ± 0.05 , 0.76 ± 0.07 , 1.04 ± 0.14 , and 1.68 ± 0.32 mg/L of dissolved oxygen (three replicates per treatment). In the second experiment 10 fingerlings (4.99 ± 0.18 g) were used for experimental unit (40 liters), and were exposed to 1.96 ± 0.08 , 3.10 ± 0.10 , 4.14 ± 0.09 , 5.20 ± 0.07 , and 6.16 ± 0.03 mg/L of dissolved oxygen (three replicates per treatment) for 30 days. LC50 was 0.52 mg/L (confidence interval 0.42 - 0.61). In the growth experiment positive correlation was observed between dissolved oxygen and standard length, weight, specific growth rate, and biomass, and negative correlation for food conversion and catalase. Levels of hepatic glycogen reduced with the increase of oxygen levels. Glucose and the lactate showed variable levels. In the muscular tissue, glycogen levels decreased with the increase of oxygen concentration and glucose and lactate presented variations in the different treatments. There was no significant difference among treatments in the renal glycogen levels, either protein levels of the studied tissues. The best oxygen level for development of silver catfish is above 4.3 mg/L of dissolved oxygen.

Keywords: dissolved oxygen, silver catfish, *Rhamdia quelen*, growth, biochemical parameters

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3. ARTIGO	15
Abstract	16
Introdução	17
Material e Metodologia	19
Experimento 1 - determinação da concentração letal (CL _{5096h}) para oxigênio dissolvido	19
Experimento 2 - crescimento de alevinos de jundiá em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido	21
Resultados	22
Discussão	23
Agradecimentos	27
Referências bibliográficas	27
Legenda das figuras	31
Figura 1	33
Figura 2	34
Figura 3	35
Figura 4	36
Tabela 1	37
4. CONCLUSÕES.....	38
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1. INTRODUÇÃO

A preocupação com a saúde humana e a busca de uma alimentação mais equilibrada incluiu, atualmente, o peixe na dieta alimentar de vários consumidores. Conseqüentemente, tornou-se necessário ampliar o conhecimento das técnicas de propagação e manejo do peixe cultivado.

Na piscicultura a água é um elemento de fundamental importância. Suas propriedades físico-químicas interferem na sobrevivência e crescimento de peixes cultivados. Quando os parâmetros de qualidade da água estão dentro dos valores adequados para o desenvolvimento das espécies, obtêm-se maior produtividade com menos custo .

Entre os parâmetros de qualidade de água que interferem diretamente no cultivo de peixes destaca-se o oxigênio dissolvido. Vários fatores, como presença de fitoplâncton, luminosidade, pressão parcial do oxigênio na atmosfera, o processo de difusão, fotossíntese e presença de matéria orgânica dissolvida na água interferem na sua disponibilidade. Por isso, os níveis de oxigênio podem variar drasticamente durante o dia, levando a uma situação de hipóxia ambiental, caracterizada pela redução da concentração de oxigênio, que causa impacto na vida aquática.

Talvez a hipóxia seja o problema mais freqüente a ser enfrentado pelos peixes tropicais de água doce, causando alteração no comportamento e afetando os processos fisiológicos e bioquímicos dos peixes, interferindo na alimentação, limitando o crescimento, a eficiência da conversão alimentar e a reprodução (Moraes et al., 1997; Parma de Croux, 1994; Karim et al., 2002; Baldisserotto & Radünz, 2004).

Algumas espécies desenvolvem estratégias adaptativas a fim de minimizar o efeito da hipóxia. O uso destes mecanismos pode implicar num gasto extra de energia e como conseqüência, uma redução nas reservas para natação, alimentação, crescimento e outras atividades.

As respostas metabólicas em resposta a situações stressantes, inclusive a hipóxia, podem variar entre as diferentes espécies de peixes, pois apresentam variação no material genético.

Entre as espécies nativas mais promissoras para o cultivo, destaca-se o jundiá, pois ele apresenta crescimento rápido, com fácil adaptação ao manejo em criações intensivas, boa produtividade em açudes e alto potencial de comercialização, além de apresentar carne saborosa e ausência de espinhos intramusculares.

Portanto, para aprimorar o cultivo desta espécie, este trabalho teve como objetivo determinar a concentração letal 96 horas (CL_{50-96h}) de alevinos de jundias para oxigênio dissolvido e avaliar o crescimento, analisar os níveis de glicogênio, glicose, proteína no fígado, rim e músculo e atividade da catalase hepática de alevinos de jundias expostos a diferentes concentrações de oxigênio.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As concentrações de oxigênio dissolvido na água são dependentes da pressão parcial do oxigênio na atmosfera, o que varia com a altitude, temperatura da água e quantidade de substâncias nela dissolvida. O oxigênio se mistura à água quando esta bate sobre as rochas, caindo em cascatas, através da ação do vento e pelo processo de fotossíntese (fitoplâncton) (Baldisserotto, 2002). Nos tanques de cultivo as principais fontes de oxigênio são fitoplâncton e plantas aquáticas (fotossíntese), oxigênio atmosférico (difusão), oxigênio da água adicionada (renovação da água) e aeradores mecânicos (Arana, 1997).

O fitoplâncton realiza o processo de fotossíntese e respiração durante o dia, aumentando os níveis de oxigênio na água. As concentrações mais altas podem ser observadas ao entardecer. Já ao entrar a noite, a atividade fotossintética diminui rapidamente e a respiração provoca uma diminuição de oxigênio na água (Arana, 1997; Diana, 1997). Outros processos químicos e biológicos como a difusão da luz, decomposição da matéria orgânica, temperatura e salinidade interferem na disponibilidade do oxigênio na água (Davis, 1975; Diana et al., 1997; Matsuo & Val, 2003; Chippari Gomes et al., 2003).

Os níveis de oxigênio requeridos para a maioria dos peixes são ao redor de 5-6 mg/L (Boyd & Tucker, 1992; Baldisserotto, 2002). Quando o oxigênio está abaixo de 3 mg/L, a situação é estressante para muitos peixes e níveis inferiores a 1 mg/L geralmente são letais. Quando os níveis de oxigênio estão abaixo de 2 mg/L cria-se uma situação de hipóxia (Baldisserotto, 2002). Esta situação ocorre com frequência em tanques de cultivo com pouca renovação de água, podendo ser temporária ou permanente, dependendo das condições ambientais (Baldisserotto & Silva, 2004). A hipóxia também afeta milhares de km² de água marinha em todo o mundo, causando a mortalidade de animais marinhos e diminuindo a produção de peixes em muitos lugares (Wu, 2002).

Animais aquáticos estão mais facilmente sujeitos a redução nas quantidades de oxigênio dissolvido no meio, que pode conduzir a uma hipóxia ambiental (Rantin & Marins, 1984), que causa impacto na vida aquática (Karim et al., 2002). As

alterações comportamentais e fisiológicas causadas pelas modificações ambientais são consideradas como respostas ao estresse (Chrousos & Gold, 1992).

Os peixes teleósteos apresentam respostas ao estresse similares aos vertebrados terrestres, sendo afetadas principalmente as funções das células mensageiras cerebrais, interferindo na transferência e mobilização de oxigênio e energia (Wendelaar Bonga, 1997). Para sobreviverem em ambientes com baixas concentrações de oxigênio, apresentam estratégias adaptativas como respiração superficial, mudança para outro ambiente, ajustamento na transferência de oxigênio e diminuição no metabolismo (Val, 1996; Crampton, 1998; Muusze, et al., 1998; Domenici et al., 2000; Burtleson et al., 2001; 2002; Baldisserotto, 2002; Hochachka, 2004). Também foram observadas modificações bioquímicas e fisiológicas como elevação nos níveis de cortisol, glicose, lactato, enzimas lactato desidrogenase, malato desidrogenase, citrato sintase, catalase, superóxido dismutase além de aumento dos íons do plasma, circulação de eritrócitos, concentrações de hemoglobina, hematócrito e ajustamento da afinidade da hemoglobina com o oxigênio (Val, 1996; Moraes et al., 1997; Wendelaar Bonga, 1997; 2002; Chabot e Dutil, 1999; Almeida-Val et al., 1995; 2000; Affonso, 2002; Cooper, 2002; Matsuo & Val, 2003; Barcelos et al., 2004;). O uso destes mecanismos para minimizar os efeitos do estresse pode implicar num gasto extra de energia (Rantin & Marins, 1984). Como conseqüência, uma redução nas reservas para natação, alimentação, crescimento e outras atividades (Parma-de-Croux, 1994; 1995; Wood, 2001).

Diminuição no crescimento de juvenis de piapara (*Leporinus elongatus*) expostos a níveis de oxigênio abaixo de 4,2 mg O₂/L foram verificados por Meurer et al. (1998) em conseqüência da diminuição no consumo alimentar. Zaniboni Filho et al. (1998) também observou redução de peso em juvenis de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) expostos a 3,1 mg/L de oxigênio dissolvido. Maffezzolli (2001) obteve maior crescimento de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) em concentrações mais elevadas de oxigênio dissolvido e Papoutsoglou e Tziha (1996) obtiveram o mesmo resultado para tilápia azul (*Oreochromis aureus*). Moraes et al. (1997) observaram modificação no lábio de *Piaractus mesopotamicus* (pacu) em situação de hipóxia, resposta similar ao de *Colossoma macropomum* (Sundin, 2000). Chapman (2002) verificou respiração aquática superficial em resposta à progressiva hipóxia em

Aplocheilichthys pumilus, *Barbus apleurogramma*, *Barbus kerstenii*, *Barbus line*, *Barbus radiatus*, *Clarias liocephalus*, *Clarias* sp., *Ctenopoma muriei*, *Gnathonemus victoriae*, *Oreochromis leucostictus*, *Oreochromis niloticus* (tilápia nilótica), *Petrocephalus catostoma*, *Protopterus aethiopicus*, *Pseudocrenilabrus multicolor*, *Tilapia rendali* (tilápia). Parma-de-Croux (1994) observou adaptações em *Prochilodus clarias* e *Pimelodus lineatus*, como redução na taxa respiratória, diminuição da atividade locomotora, aumento da frequência respiratória e modificações hematológicas (aumentando a capacidade de transporte do oxigênio). Tagliane et al. (1992) observaram em *Rhamdia* sp. respiração aquática superficial; na família Poeciliidae alta flutuabilidade e boca voltada para superfície.

Os vertebrados, mesmo sendo essencialmente aeróbicos, utilizam o mecanismo anaeróbico da glicose (fermentação do ácido láctico) durante os períodos nos quais o oxigênio não pode ser levado ao músculo de forma suficientemente rápida para produzir o piruvato e produzir ATP. Em situação de hipóxia tecidual, o glicogênio armazenado (fígado e no músculo) é utilizado como combustível para produzir ATP através na glicólise anaeróbica, formando o lactato como produto final, que é reconvertido lentamente em glicose pelo fígado através do processo de neoglicogênese (Lehninger et al., 1995; Begum & Vijayaraghavan, 1995; Oruç & Üner, 1999).

A capacidade do organismo suportar uma alta taxa de glicólise anaeróbica dependerá das características intrateciduals, do conteúdo do glicogênio e das enzimas glicolíticas requeridas para degradar o glicogênio a lactato (Somero & Childress, 1980). As modificações nos níveis de glicogênio podem indicar uma adaptação bioquímica a qualquer tipo de estresse ambiental. Para suprir a demanda de energia necessária utilizada em situação de estresse, os peixes catabolizam rapidamente o glicogênio armazenado, resultando em perdas desta reserva energética (Gimeno et al., 1995; Bidinotto et al, 1997; Sancho et al., 1998).

Além disso, o metabolismo aeróbico forma radicais livres. Estes se caracterizam pela presença de molécula que tem um elétron ímpar na sua órbita externa e formam subprodutos como o peróxido de hidrogênio, radicais hidroxila e radicais superóxidos (Winston & Di Giulio, 1991; Olszewer, 1995; Lehninger et al., 1995).

Os sistemas biológicos se defendem contra a agressão dos radicais livres e outros derivados do oxigênio convertendo estes radicais livres em oxigênio por

fenômenos de oxidação ou redução através de sistemas antioxidantes. Estes sistemas podem ser enzimáticos (catalase, superóxido dismutase, glutathione peroxidase) ou não-enzimáticos (Winston & Di Giulio, 1991; Lehninger et al., 1995; Olszewer, 1995; Ahmad et al., 2000).

O peróxido de hidrogênio, que é um produto da dismutação dos superóxidos pode ser inativado pela catalase (enzima que contém o fator heme e utiliza o cobre como fator metálico). Na reação da catalase uma das moléculas de peróxido é oxidada a oxigênio molecular e a segunda reduzida à água (Olszewer, 1995).

O tambaqui, matrinxã, piranha e apaiari (*Astronotus ocellatus*) utilizam o metabolismo anaeróbico para tolerar os efeitos da hipóxia (Almeida-Val, 2000; Matsuo & Val, 2003). Outras adaptações foram observadas por Almeida-Val et al. (1995) como a diminuição no consumo energético, através da redução da atividade biológica, mantendo altos níveis de ATP no cérebro e coração, evitando acúmulo de lactato após 48 horas de exposição a hipóxia e maximização do transporte do oxigênio através de ajustamentos na hemoglobina e níveis de fosfatos orgânicos (ATP). Outro mecanismo observado como resposta à situação de estresse foi a diminuição dos níveis de proteína no fígado e músculo de jundiás expostos a altas temperaturas (31° C). A proteína é convertida em glicose e glicogênio através da via gliconeogênica do fígado ou utilizada na proteólise muscular, formando piruvato que é convertido em glicose sanguínea no fígado (Lermen, 2003).

O jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard, 1824, família Heptapteridae, ordem Siluriformes), é encontrado no sul do México até o centro da Argentina (Silfvergrip, 1996). É uma espécie endêmica resistente ao inverno e apresenta rápido crescimento no verão, importante para aqüicultura de clima temperado e subtropical (Barcellos et al., 2001; 2003). Esta espécie vem despertando interesse de muitos piscicultores principalmente na região sul do país, por apresentar boa taxa de crescimento e fertilização, hábito alimentar omnívoro e carne apreciada pelo consumidor devido a qualidade e ausência de espinhos intramusculares (Gomes et al., 2000a,b; Townsend & Baldisserotto, 2001). Nas diferentes fases de desenvolvimento do jundiá (ovo, larva, alevino e adulto) são necessários níveis ideais de qualidade de água. Caso estes parâmetros não estejam dentro da faixa considerada ótima, o jundiá poderá até sobreviver, mas seu crescimento e reprodução certamente serão prejudicados (Baldisserotto & Radünz Neto, 2004).

Trabalhos desenvolvidos indicam que as larvas e alevinos desta espécie apresentam aversão à luz e melhor desenvolvimento em ambientes escuros (Piaia et al., 1999). O pH ideal para melhor crescimento e sobrevivência de larvas é entre 8,0 e 8,5 (Lopes et al., 2001) e dureza entre 30 e 70 mg.L⁻¹ CaCO₃ (Townsend et al., 2003). Dureza até 600 mg.L⁻¹ CaCO₃ em pH 4,0 a 9,5 num período de 96 h não interfere na sobrevivência de alevinos desta espécie. No entanto, o aumento da dureza na água em pH 3,75, 10 e 10,5 melhora a sobrevivência (Townsend et al., 2001). Níveis de NH₃ acima de 0,4-2,0 mg/L (depende do pH) provocam morte no jundiá em poucos dias (Miron, 2004), enquanto níveis de nitrito acima de 0,46 mg.L já são prejudiciais ao crescimento desta espécie (Lima, 2005). Jundiás teoricamente podem sobreviver a temperaturas tão baixas como 3°C e a partir de 31-32 °C ocorre mortalidade (Chippari-Gomes et al., 1999). A melhor temperatura para o transporte de alevinos em embalagens plásticas é 15° C, numa densidade de 168 g L⁻¹ (Golombieski et al., 2003). Densidade de 2 a 4 peixes/m² rendem 600 a 800g de peso em 8 meses (Barcellos et al., 2001; 2004). Uma alta concentração de oxigênio torna o jundiá ativo, o que resulta em disputas territoriais entre os alevinos, onde os maiores tentam estabelecer um território perseguindo os outros, atacando-os nas nadadeiras. Estes morrem por inanição e posteriormente são devorados (Maffezzolli, 2001).

A crescente dependência humana do peixe cultivado em lugar do peixe selvagem, como fonte de proteína na dieta, tem elevado o nível de esforços científicos dirigidos às técnicas de propagação e manejo (Urbinati & Carneiro, 2004). Para a exploração racional obter sucesso são necessários conhecimentos do funcionamento e organização do organismo (Loures et al., 2001). Considerando as características do jundiá e seu potencial para a piscicultura, Gomes et al. (2000) sugere trabalhos referentes à alimentação artificial, crescimento em cativeiro e parâmetros físicos-químicos da água a fim de potencializar o cultivo desta espécie.

3. ARTIGO

Sobrevivência, crescimento e parâmetros metabólitos teciduais em alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* expostos a diferentes níveis de oxigênio dissolvido

Neiva Braun¹, Ronaldo Lima de Lima¹, Bibiana Moraes², Vania Lucia Pimentel Vieira², Bernardo Baldisserotto¹

Departamentos de Fisiologia (1) e Química (2), Universidade Federal de Santa Maria - 97105.900. Santa Maria, RS, Brasil

Autor para correspondência:

Bernardo Baldisserotto, e-mail: bernardo@smail.ufsm.br

Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Santa Maria - Santa Maria, RS, Brasil 97105.900. Telefone: 55 – 220 – 9382. Fax: 55 - 220 – 8241

(Artigo em fase de preparação para ser submetido à publicação na Revista Aquaculture Research)

Abstract

The objective of this work was to verify the lethal concentration (CL50-96 h) of dissolved oxygen for silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings. In addition, the effect of different dissolved oxygen levels (1.96 ± 0.08 ; 3.10 ± 0.10 ; 4.14 ± 0.09 ; 5.20 ± 0.07 e 6.16 ± 0.03 mg.L⁻¹) on growth and biochemical parameters were also investigated. CL50-96 h is 0.52 mg.L⁻¹ of dissolved oxygen. In a growth experiment of 30 days positive correlation was observed between dissolved oxygen and standard length, weight, specific growth rate, biomass, and negative correlation for catalase activity and food conversion. The other biochemical analyses did not present significant correlation with dissolved oxygen levels. The ideal levels for silver catfish fingerlings growth is above 4.3 mg.L⁻¹ of dissolved oxygen.

Keywords: dissolved oxygen, silver catfish, *Rhamdia quelen*, growth, biochemical parameters

Introdução

O oxigênio dissolvido é um parâmetro muito importância para a aqüicultura (Zweig et al., 1998). Manter níveis adequados de oxigênio dissolvido na água é fundamental para a produtividade em tanques de cultivo (Middleton & Reeder, 2003). Vários fatores interferem na sua disponibilidade e por isso, os níveis de oxigênio dissolvido podem mudar drasticamente no decorrer do dia (Diana et al., 1997).

Quando o organismo entra em contato com o oxigênio, principalmente quando existem modificações importantes na sua concentração, seja para níveis mais altos ou para níveis de hipóxia, há formação de agentes oxidativos teciduais. Sendo assim, podemos dizer que o oxigênio pode ser tóxico, através de seus metabólitos intermediários afetando os tecidos, como a formação de radicais livres. Estes radicais livres se caracterizam pela presença de molécula que tem um elétron ímpar na sua órbita externa e formam subprodutos como o peróxido de hidrogênio, radicais hidroxila e radicais superóxidos (Lehninger et al., 1995; Olszewer, 1995).

A exposição prolongada a baixas concentrações de oxigênio também pode afetar os processos fisiológicos dos peixes (Parma de Croux, 1994), interferindo na alimentação, limitando o crescimento (Jobling, 1994; Parma-de-Croux, 1995; Chabot & Dutil, 1999; Karim et al., 2002; Wu, 2002), a ventilação branquial, taxa respiratória (Parma-de-Croux, 1995; Wu, 2002), a eficiência da conversão alimentar (Jobling, 1994) e a reprodução (Karim et al., 2002). Algumas espécies de peixes desenvolveram mecanismos e estratégias adaptativas para sobreviver em ambiente de hipóxia, incluindo modificações comportamentais, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (Almeida-Val et al., 1995; Moraes, et al., 1997; Wu, 2002).

Diante das flutuações nas condições ambientais acontece o processo de aclimação, que é caracterizada pela reestruturação bioquímica do organismo, de tal forma que as moléculas apropriadas são produzidas em quantidades adequadas e em tempo certo para assegurar as funções biológicas (Hochachka & Somero, 1973). Variações nas condições ambientais, como baixas concentrações de oxigênio, podem induzir a utilização da via anaeróbica (Wu, 2002; Cooper, 2002) e

diminuição do uso da via aeróbica (Cooper, 2002). A glicólise anaeróbica é o caminho básico fermentativo, no qual o carboidrato é convertido a lactato ou etanol (Story, 1985).

Os peixes dependem do metabolismo anaeróbico e seus músculos esqueléticos (40 a 60% da massa corporal) são compostos predominantemente de fibras brancas anaeróbicas pobremente vascularizadas (75-100% massa muscular total) (Bennet, 1978; Cornish & Moon, 1985). O fígado de peixes tem uma capacidade metabólica pronunciada e crítica para a homeostase interna e sobrevivência do organismo. Ele regula o metabolismo através da redistribuição de nutrientes e remoção dos resíduos metabólicos e, eventualmente, excreção de compostos (Moon & Foster, 1995; Hinton et al., 2001). O rim, por sua vez, especialmente nas espécies de água doce, é um órgão primário para a eliminação de água e da reabsorção iônica (Larsen & Perkins, 2001)

Comparado com os mamíferos, os peixes teleósteos geralmente possuem baixas taxas metabólicas e alta proteína, porém foram registradas baixas captações de carboidrato no fígado. Uma taxa de oxidação de glicose comparativamente baixa sugere que os carboidratos não são importantes fontes combustíveis nestes animais (Walton & Cowey, 1982).

Os sistemas biológicos se defendem contra a agressão dos radicais livres e outros derivados do oxigênio convertendo estes radicais livres em oxigênio por fenômenos de oxidação ou redução através de sistemas antioxidantes. Estes sistemas podem ser enzimáticos (catalase, superóxido dismutase, glutathione peroxidase) ou não-enzimáticos. O peróxido de hidrogênio, que é um produto da dismutação dos superóxidos pode ser inativado pela catalase (enzima que contém o fator heme e utiliza o cobre como fator metálico). Na reação da catalase uma das moléculas de peróxido é oxidada a oxigênio-molecular e a segunda reduzida à água (Winston & Di Giulio, 1991; Lehninger et al., 1995; Olszewer, 1995; Ahmad et al., 2000).

O conhecimento do comportamento da espécie frente às variações de oxigênio dissolvido e análises bioquímicas são dados muito importantes para o aprimoramento do cultivo de peixe, pois a concentração de oxigênio dissolvido é um dos fatores de qualidade de água que mais afetam as espécies cultivadas.

O jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard, 1824, Heptapteridae), é encontrado no sul do México até o centro da Argentina (Silfvergrip, 1996). É uma espécie endêmica resistente ao inverno e apresenta rápido crescimento no verão (Barcellos et al.; 2003; 2004). Esta espécie vem despertando interesse de muitos piscicultores principalmente na região sul do país, por apresentar boa taxa de crescimento e fecundidade, hábito omnívoro e sua carne é apreciada pelo consumidor devido à qualidade e ausência de espinhos intramusculares (Gomes et al., 2000; Townsend & Baldisserotto, 2001), apresentando características ideais para regiões de clima temperado e subtropical (Barcellos et al., 2004). Contudo, são necessários mais trabalhos referentes aos parâmetros físicos-químicos da água, alimentação artificial e crescimento em cativeiro (Gomes et al., 2000), para potencializar o cultivo desta espécie.

O presente trabalho teve como objetivo estudar a sobrevivência em curto prazo (concentração letal 96 h) e longo prazo (30 dias), bem como o crescimento de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) em diferentes níveis de oxigênio dissolvido e analisar os níveis de glicogênio, glicose e proteína nos tecidos hepáticos, muscular, renal e a atividade da catalase do fígado destes alevinos.

Material e metodologia

Alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) foram adquiridos de uma Piscicultura próxima a Santa Maria, transportados ao Laboratório de Fisiologia de Peixes da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS, Brasil, e aclimatados por um período de três semanas em tanques de 250 litros, numa temperatura de 25 °C, oxigênio dissolvido 5,9 mg.L⁻¹, recebendo ração comercial Supra Juvenil Gaiola com 42% de proteína. Permaneceram em jejum 24 horas antes do início de cada experimento.

Experimento 1 - determinação da concentração letal - 96 horas (CL_{50 - 96 h}) para oxigênio dissolvido

Alevinos ($5,28 \pm 0,09$ cm e $2,23 \pm 0,13$ g) foram transferidos para recipientes fechados com capacidade de 2 litros de água, tendo aberturas apenas para aeração e medidas de qualidade de água, evitando assim o contato dos peixes com a interface água/ar e reduzindo as trocas gasosas.

Os peixes foram distribuídos na proporção de 10 alevinos por recipiente, onde permaneceram por quatro dias (96 h) para testes de sobrevivência expostos a 4 diferentes concentrações de oxigênio dissolvido (em mg.L^{-1}): $0,40 \pm 0,05$; $0,76 \pm 0,07$; $1,04 \pm 0,14$ e $1,68 \pm 0,32$ ou respectivamente 5,0; 9,6; 13,1 e 21,2 % de oxigênio dissolvido, com três repetições por tratamento. Os níveis do oxigênio foram mantidos através de aeração e/ou nitrogênio. Os alevinos não foram alimentados durante este período.

As concentrações de oxigênio dissolvido e temperatura ($25,5 \pm 0,12^\circ\text{C}$) foram monitoradas diariamente de 30 em 30 minutos, com oxímetro YSI (modelo Y 5512). A temperatura foi mantida com ar condicionado. Os níveis de pH ($7,34 \pm 0,11$) foram verificados duas vezes ao dia com pHmetro DMPH-2. A amônia total ($1,34 \pm 0,06$ mg.L^{-1}) foi determinada duas vezes ao dia de acordo com Boyd e Tucker (1992) e amônia não ionizada ($0,017 \pm 0,015$ mg.L^{-1}) calculada de acordo com Piper et al. (1982). A dureza da água ($37,9 \pm 1,5$ mg.L^{-1} CaCO_3) foi analisada pelo método titulométrico com EDTA, alcalinidade ($40,2 \pm 0,3$ mg.L^{-1} CaCO_3) e nitrito (máximo $0,01$ mg.L^{-1}) segundo Boyd e Tucker (1992), todos no início e ao término do experimento. Em intervalos de 12 horas foram feitas as retiradas de alevinos mortos e troca dos alevinos sobreviventes para recipientes com 2 litros de água, com parâmetros de qualidade de água (pH, temperatura, dureza, alcalinidade, amônia total, amônia não ionizada e nitrito) ideais e oxigênio dissolvido nas concentrações dos respectivos tratamentos. O número de mortos foi registrado para estimativa da percentagem de sobrevivência e concentração letal. Foram feitas observações do comportamento alimentar (alimentavam-se ou não), natação (posição na coluna de água) e abertura opercular neste período. A percentagem de mortalidade foi determinada após exposição de 12, 24, 48, 72 e 96 horas às diferentes concentrações de oxigênio dissolvido. A $\text{CL}_{50 - 96 \text{ h}}$ foi calculada pelo método dos probitos de acordo com Finney (1971).

Experimento 2 - crescimento de alevinos de jundiá em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido

Alevinos ($6,90 \pm 0,09$ cm e $4,99 \pm 0,18$ g) foram transferidos para caixas de polipropileno com capacidade de 40 litros de água numa proporção de 10 alevinos/caixa, permanecendo por um período de 30 dias para avaliação do crescimento em 5 concentrações de oxigênio dissolvido (em mg.L^{-1}): $1,96 \pm 0,08$; $3,10 \pm 0,10$; $4,14 \pm 0,09$; $5,20 \pm 0,07$ e $6,15 \pm 0,03$ ou respectivamente 24,7; 39,1; 52,2; 65,6 e 77,5% de oxigênio dissolvido (com três repetições por tratamento).

Os níveis de oxigênio dissolvido foram mantidos através de aeração com ar e/ou nitrogênio. Os alevinos foram alimentados uma vez ao dia (5% da biomassa) com uma ração comercial (42% de proteína – Supra Juvenil Gaiola). As concentrações de temperatura ($22,4 \pm 0,3$ °C), pH ($7,5 \pm 0,04$), amônia total ($3,0 \pm 0,04$ mg.L^{-1}), amônia não ionizada ($0,09 \pm 0,04$ mg.L^{-1}) e nitrito ($0,08 \pm 0,02$ mg.L^{-1}) foram monitoradas duas vezes ao dia; dureza ($39,25 \pm 0,34$ mg.L^{-1} CaCO_3) e alcalinidade ($26,00 \pm 1,90$ mg.L^{-1} CaCO_3) uma vez por semana utilizando-se os mesmos procedimentos citados no experimento anterior. Diariamente foi feita a retirada dos resíduos e renovação de 70% da água, sendo esta substituída por outra nas mesmas condições de oxigênio dissolvido.

A cada 10 dias os alevinos foram pesados, medidos e recolocados nas respectivas caixas experimentais. O coeficiente de variação para peso/comprimento padrão e a taxa de crescimento específico (G) foram calculados de acordo com Jobling (1994), conversão alimentar (CA) de acordo com Gomes et al. (2000) e a biomassa total pela multiplicação do peso médio aos 30 dias pelo número de sobreviventes finais. Foram feitas observações do comportamento alimentar (alimentavam-se ou não).

Após 30 dias de experimento os peixes foram sacrificados e retirados os tecidos (fígado, rim e músculo) para análise da atividade da catalase, de acordo com a técnica descrita por Nelson & Kiesov (1972), os níveis de glicogênio de acordo com Bidinotto et al. (1997), glicose conforme Duboi (1956), proteína segundo Lowrey et al. (1951) e lactato de acordo com Harrower & Brown (1972).

Foram feitas análises de correlação entre a concentração de oxigênio dissolvido e o peso, comprimento, taxa de crescimento específico, biomassa total, conversão alimentar e catalase, através do programa Slide Write Plus 4.0 (1996).

A homogeneidade das variâncias entre os grupos foi verificada com o teste de Levene. Os dados de coeficiente de variabilidade, proteína e glicogênio apresentaram variâncias homogêneas, de modo que as comparações entre os diferentes tratamentos foram efetuadas por análise de variância de dois fatores (tempo x concentração de oxigênio dissolvido) e teste de Tukey. Os dados de glicose e lactato não apresentaram variância homogênea e portanto, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido do Mann-Whitney. Todos os testes foram feitos com o programa Statistica versão 5 (1997), e o nível mínimo de significância foi de 95% ($P < 0,05$).

Resultados

A mortalidade nos experimentos da CL_{50-96h} foi 70%, 43,33% e 6,66% nos tratamentos com 0,40, 0,76 e 1,04 $mg.L^{-1}$ de oxigênio dissolvido, respectivamente, ao final de 96 horas. Não ocorreu mortalidade no tratamento 1,68 $mg.L^{-1}$ de oxigênio dissolvido. Nas três concentrações mais baixas deste experimento observou-se subida freqüente dos alevinos para a superfície da água. Apresentaram perda de equilíbrio, aumento da abertura opercular e posterior morte. Os alevinos mortos apresentavam grande abertura opercular. A CL_{50-96h} para oxigênio dissolvido foi 0,52 $mg.L^{-1}$, com intervalo de confiança entre 0,42 e 0,61 $mg.L^{-1}$ (Figura 1).

No experimento de crescimento verificou-se que na concentração mais baixo de oxigênio dissolvido os alevinos buscavam a ração com menor voracidade que os alevinos dos outros tratamentos. Nos resultados da biometria observou-se correlação entre oxigênio dissolvido e comprimento padrão, peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar e biomassa. Considerando-se as equações ajustadas e o eixo de inclinação das curvas, verificou-se uma redução do comprimento em concentrações inferiores a 5,6 $mg.L^{-1}$ em 10 dias e aos 20 e 30 dias nas concentrações menores que 4,3 $mg.L^{-1}$ oxigênio dissolvido (figura 2A). Não foi observada correlação entre oxigênio dissolvido e peso aos 10 dias. Aos 20 e 30

dias houve correlação, verificando-se no primeiro menor peso nas concentrações inferiores a $4,9 \text{ mg.L}^{-1}$ e no segundo em concentrações inferiores a $4,3 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido (figura 2B). Obteve-se taxa de crescimento específico e biomassa menor em concentrações inferiores a $4,3 \text{ mg.L}^{-1}$ oxigênio dissolvido aos 30 dias (figuras 3 A e C) e melhor conversão alimentar nas concentrações acima de $3,9 \text{ mg.L}^{-1}$ oxigênio dissolvido aos 30 dias (figura 3B).

Nas análises do tecido hepático verificou-se correlação significativa entre oxigênio e a atividade da catalase, evidenciando uma redução na atividade enzimática com o aumento das concentrações de oxigênio (figura 4). Os níveis de glicogênio hepático em $1,96 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido foram significativamente mais altos que $3,1$, $4,1$ e $6,16 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido, enquanto que os níveis mais elevados de glicose no fígado foram observados nas concentrações $3,1$ e $4,1 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido. Os níveis de lactato hepático foram significativamente maiores nas concentrações de $3,1$ e $4,1 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido que nas concentrações $5,2$ e $6,16 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido (Tabela 1). No tecido muscular observou-se maior nível de glicogênio nas concentrações mais altas, $6,16$, $5,20$ e $4,10 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido e nível menor na menor concentração $1,96 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido. Os níveis mais altos de glicose deste tecido foram verificados nas concentrações $1,96$, $4,1$, $5,2 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido e o nível mais baixo na concentração $6,16 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido. Os níveis de proteína muscular foram significativamente maiores em $1,96 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido que nas outras concentrações. Os níveis de lactato muscular foram significativamente menores em $3,1 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido comparado com as outras concentrações (Tabela1). No tecido renal não foi observada diferença significativa nos níveis de glicogênio e proteína (Tabela1).

Discussão

As concentrações de oxigênio dissolvido utilizadas neste trabalho influenciaram no comportamento, sobrevivência e crescimento dos alevinos de jundiá. No primeiro experimento (CL_{50-96h} para oxigênio dissolvido) os alevinos apresentaram estratégias adaptativas para minimizar o efeito da hipóxia,

caracterizadas pela busca do oxigênio na superfície e aumento da amplitude opercular. Comportamento similar foi verificado em outras espécies (Parma Croux, 1994; Tagliane et al., 1992; Chapman, 2002; Delaney, 2004; Burleson, 2002).

Os resultados deste experimento indicam que a espécie possui resistência a baixas concentrações de oxigênio, uma vez que alevinos submetidos a níveis extremos de hipóxia ($0,40 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido) após 96 horas de exposição apresentam 30% de sobreviventes e em $1,68 \text{ mg.L}^{-1}$ (hipóxia) apresentaram 100% de sobreviventes. *Leiostomus xanthurus* apresentaram 100% de mortalidade em $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido após 3 horas de exposição (Cooper, 2002), portanto, menos resistentes. A média da concentração letal para o jundiá foi $0,52 \text{ mg.L}^{-1}$ oxigênio dissolvido ou 6,7 % de oxigênio dissolvido, um pouco maior que os valores encontrados para *Hoplias malabaricus* 5,0%, *Pimelodus c. maculatus* 4,7% e *Prochilodus lineatus (curimbatá)* 5,5% de oxigênio dissolvido (Parma-de-Coux, 1994). As variações na resistência a situações de estresse entre as espécies e entre os indivíduos da própria espécie podem ocorrer por causa da variação individual na expressão genética das enzimas, exposição histórica do indivíduo a hipóxia (pré-condicionamento) ou exposição individual a outros estressores (Cooper, 2002).

Os alevinos de jundiá apresentaram aumento em comprimento, peso, crescimento específico e biomassa diretamente proporcional às concentrações de oxigênio dissolvido e a conversão alimentar inversamente proporcionais as concentrações de oxigênio dissolvido. Observou-se menor consumo de ração na concentração mais baixa, sugerindo que o consumo alimentar esta diretamente ligada aos níveis de oxigênio. Alguns trabalhos têm citado resultados semelhantes em condições de hipóxia. Chabot & Dutil (1999) verificaram que o bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*) apresenta menor peso, comprimento e massa em concentrações de 45 e 56% de oxigênios dissolvidos comparadas às concentrações 65, 75, 84 e 93 % de oxigênio dissolvido. Thetmeyer (1999) estudou “European sea bass” (*Dicentrarchus labrax L.*) e concluiu que na menor saturação de oxigênio testada (40%) houve um menor consumo alimentar, crescimento e fator de condição comparado ao controle (86%). Buentello (2000) estudou *Ictalurus punctatus* e verificou maior ganho de peso em 100% de oxigênio dissolvido.

A baixa eficiência na conversão alimentar em baixas concentrações de oxigênio pode ser explicada pela concomitante diminuição do consumo da ração.

Além disso, o aumento do custo da ventilação numa situação de hipóxia pode resultar em menor energia disponível para o crescimento (Chabot & Dutil, 1999).

Nas análises bioquímicas, as diferentes concentrações de oxigênio dissolvido utilizadas não influenciaram proporcionalmente nos metabólicos estudados, exceto a catalase, que apresentou redução na atividade enzimática com o aumento das concentrações de oxigênio, diferindo dos resultados de Cooper (2002), que não observou mudança na atividade da catalase em *Leiostomus xanthurus* expostos a níveis entre 0,8 e 8,0 mg.L⁻¹ de oxigênio dissolvido. O resultado obtido evidencia que existem diferenças na atividade da catalase entre estas duas espécies e sugere que para o jundiá baixas concentrações de oxigênio induzem a produção de radicais livres, levando à ativação da catalase.

Em relação ao glicogênio renal não foi verificada diferença entre os tratamentos. No glicogênio hepático, os valores mais altos foram encontrados na concentração 1,96 e 5,2 mg.L⁻¹ de oxigênio dissolvido, diferindo dos níveis verificados em *Piaractus mesopotamicus* (pacu) e *Colossoma macropomum* (*tambaqui*), que apresentaram níveis de glicogênio hepático constante, mesmo em situação de hipóxia (Moraes et al., 1997; Affonso et al., 2002). Os níveis de glicogênio do músculo apresentaram valores menores na concentração mais baixa de oxigênio, similar ao pacu após 6 horas de exposição a hipóxia (Moraes et al., 1997).

Considerando este resultado, poderíamos ser induzidos a afirmar que o jundiá utiliza o glicogênio armazenado no músculo para produzir ATP através da glicólise anaeróbica e, conseqüentemente, ocorrer aumento dos níveis de lactato. Porém, os níveis de lactato no músculo permaneceram iguais nas diferentes concentrações, exceto em 3,1 mg.L⁻¹ de oxigênio dissolvido, que apresentou menor valor, comparado as demais concentrações, inviabilizando a afirmação citada anteriormente. Os níveis de lactato hepático no jundiá não apresentaram diferenças significativas nos tratamentos extremos, apresentando valores mais elevados nas concentrações intermediárias (3,1 e 4,1 mg.L⁻¹ de oxigênio dissolvido), não caracterizando o uso da via anaeróbica, mesmo em situação de hipóxia. Valores diferentes foram encontrados para exemplares de *Gadus morhua* (*bacalhau*), os quais apresentaram menor nível de lactato na concentração mais baixa de oxigênio dissolvido quando comparado com a maior concentração (Chabot & Dutil, 1999). Moraes et al. (1997) verificaram diminuição do lactato hepático em pacu exposto à

hipóxia nas primeiras 4 horas quando comparado com 6 horas de exposição, sugerindo uma gliconeogênese neste período. As respostas metabólicas diferenciadas podem estar relacionadas, além das diferenças entre as espécies, com o tempo de exposição à hipóxia. O jundiá permaneceu em diferentes concentrações de oxigênio por um período mais longo (30 dias), comparado com o pacu (6 horas), indicando que o jundiá passou por um período de aclimação e provavelmente já se apresentava adaptado, não apresentando respostas metabólicas ao agente estressor.

Os níveis de glicose hepática no jundiá foram mais elevados nas concentrações intermediárias (3,1 e 4,1 mg.L⁻¹ de oxigênio dissolvido). Contudo, a glicose hepática de pacu aumentou ao longo de 6 horas de exposição a hipóxia (Moraes et al, 1997). O menor nível de glicose muscular no jundiá foi encontrada na concentração mais alta (6,16 mg.L⁻¹) (de oxigênio dissolvido). No entanto, a glicose do músculo branco de pacu apresentou aumento após 6 horas de exposição à hipóxia, seguido do aumento dos níveis de lactato e diminuição dos níveis de glicogênio, evidenciando o uso da via anaeróbica (Moraes et al., 1997). Os níveis de proteína muscular no jundiá foram menores nos tratamentos com maior concentração de oxigênio dissolvido (3,1, 4,4, 5,2 e 6,16 mg.L⁻¹), sugerindo uma proteólise muscular, que poderia formar piruvato e esse ser convertido em glicose sanguínea no fígado, através da via gliconeogênica. Porém, são necessários mais dados, especialmente dos parâmetros hematológicos, para poder compreender o mecanismo compensatório deste peixe.

Analisando os resultados, verifica-se que os jundiás expostos a hipóxia no período de 30 dias não apresentaram respostas metabólicas características do uso da via anaeróbica nos parâmetros estudados. No entanto, os níveis de oxigênio dissolvido influenciaram no comportamento, sobrevivência e crescimento dos alevinos, sendo que nas condições em que se realizou este experimento, concentrações acima de 4,3 mg.L⁻¹ (ou 54,2% de oxigênio dissolvido) são indicadas para obter-se melhor crescimento e desenvolvimento desta espécie.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPQ pelo auxílio financeiro ao desenvolvimento do trabalho (processo número 475017/03-0) e pela bolsa produtividade a B. Baldisserotto.

Referências Bibliográficas

- Almeida-Val V.M.F., Farias I.P., Silva M.N.P., Ducan W.P. & Val A.L. (1995) Biochemical adjustments to hypoxia by Amazon cichlids. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **28**, 1257-1263.
- Affonso E.G., Polez V.L., Corrêa C.F., Mazon M.R.R., Moraes G. & Rantin F.T. (2002) Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* **133**, 375-382.
- Barcellos L.J.G., Kreutz L.C., Rodrigues L.B., Fioreze I., Quevedo R.M., Cericato L., Conrad J., Soso A.B., Fagundes M., Lacerda L. A. & Terra S. (2003) Haematological and biochemical characteristics of male jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard Pimelodidae): changes after acute stress. *Aquaculture Research* **34**, 1565-1469.
- Barcellos L.J.G., Kreutz L.C., Quevedo R.M., Fioreze I., Cericato L., Soso A.B., Fagundes M., Conrad J., Baldissera R.K., Bruschi A. & Ritter F. (2004) Nursery rearing of jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. *Aquaculture* **232**, 383-394.
- Bennett A.F. (1978) Activity metabolism of lower vertebrates. *Annual Review of Physiology* **40**, 447-469.
- Bidinotto P.M., Moraes G. & Souza R.H.S. (1997) Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: a procedure for field determinations of micro samples. *Boletim Técnico CEPTA* **10**, 53-60.

- Boyd C.E. & Tucker C.S. (1992) *Water quality and pond soil analyses for aquaculture*. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama, USA. 183pp.
- Buentello J.A., Gatlin III D.M. & Neil W.H. (2000) Effects of water temperature and dissolved oxygen on daily feed consumption, feed utilization and growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) *Aquaculture* **182**, 339-352.
- Burleson M.L., Carlton A.L. & Silva P.E. (2002) Cardioventilatory effects of acclimatization to aquatic hypoxia in channel catfish. *Respiratory Physiology & Neurobiology* **131**, 223-232.
- Chabot D. & Dutil J.D. (1999) Reduced growth of Atlantic cod in non-lethal hypoxic conditions. *Journal of Fish Biology* **55**, 472-491.
- Chapman L.J., Chapman C.A., Nordlie F.G. & Rosenberger A.E. (2002) Physiological refugia: swamps, hypoxia tolerance and maintenance of fish diversity in the Lake Victoria region. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* **133** (9), 421-437.
- Cooper R.U., Clough L.M., Farwell M.A. & West T.L. (2002) Hypoxia-induced metabolic and antioxidant enzymatic activities in the estuarine fish *Leiostomus xanthurus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **279**, 1-20.
- Cornish I. & Moon T.W. (1985) Glucose and lactate kinetics in American eel *Anguilla rostrata* *American Journal of Physiology* **249** 67-72.
- Delaney M.A. & Klesius P.H. (2004) Hypoxic conditions induce Hsp70 production in blood, brain and head kidney of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L). *Aquaculture* **236**, 633-644.
- Diana J. S., Szyper J.P., Batterson T.R., Boyd C.E. & Piedrahita R.H. (1997) Water quality in ponds. In: *Dynamics of pond aquaculture*. (ed. by Egna, H.S., Boyd, C.E. pp. 53-71. United States, CRC Press, 437 pp.
- Duboie M., Gilles K.A. & Hamilton J.K. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. **28**, 350-358.
- Finney D.J. (1971) *Probit Analysis*. Cambridge, England., Cambridge University Press. 333 pp.
- Gomes L.C., Baldisserotto B. & Senhorini J.A. (2000) Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of the matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. *Aquaculture* **183**, 73 – 81.

- Harrower J.R. & Brown C.H. (1972) Blood lactic acid. A micromethod adapted to field collection of microliter samples. *Journal of Applied Physiology* **32** (5), 224-228.
- Hinton D.E., Segner H. & Braunbeck T. (2001) Toxic responses of the liver. In: Schleenk D. & Benson W.H. *Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts*. London and New York: Taylor & Francis.
- Hochachka P.W & Somero G.N. (1973) *Strategies of biochemical adaptation* Philadelphia: Saunders E.B.
- Jobling M. (1994) *Fish bioenergetics*. London: Chapman & Hall, 309 p.
- Karim Md.R., Sekine M. & Ukita M. (2002) Simulation of eutrophication and associated occurrence of hypoxic and anoxic condition in a coastal bay in Japan. *Marine Pollution Bulletin* **45**, 280-285
- Larsen B.K. & Perkins Jr. E.J. (2001) *Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts*. London and New York: Taylor & Francis.
- Lehninger A. L., Nelson D. L. & Cox M. M. (1995) *Princípios de bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 839p.
- Lowrey O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. & Randal R.J. (1951) Protein measurement pholin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* **193**, 265-275.
- Middleton R.J. & Reeder B.C. (2003) Dissolved oxygen fluctuations in organically and inorganically fertilized walleye (*Stizostedion vitreum*) hatchery ponds. *Aquaculture* **219**, 337-345.
- Moraes G., Chippari A.R., Guerra C.D.R., Gomes L.C. & Souza R.H.S. (1997) Immediate changes on metabolic parameters of the freshwater teleost fish *Piaractus mesopotamicus* (pacu) under severe hypoxia. *Boletim Técnico CEPTA Pirassununga* **10**, 45-52.
- Moon T.W. & Foster G.D. (1995) Tissue carbohydrate metabolism, gluconeogenesis and hormonal and environmental influences. In: *Biochemistry and molecular biology of fish*. Metabolic Biochemistry (ed by Hochachka P.W. & Mommsen T.O. New York: Elsevier Sciences B.V.
- Olszewer E. (1995) *Radicais livres em medicina*. São Paulo: ByK, 204 p.
- Nelson D.P. & Kiesov L.A. (1972) *Analytical Biochemistry* **49**, 474-478.

- Parma-de-Croux M.J. (1994) Metabolic rate and oxygen consumption requirements of some fish species from the middle Parana river *Acta Biol. Venez.* **15**, (2) 1-10.
- Parma-de-Croux M.J. (1995) Tolerancia respiratoria de *Prochilodus lineatus* (Pisces, Curimatidae) a condiciones críticas de oxígeno *Ilheringia, Sér. Zool.* **79**, 135-140.
- Piper R.G., Mcelwain I.B., Orme L.E., McCraren J.P., Fowler L.G. & Leonard J.R. (1982) *Fish Hatchery Management*. Washington: United States Department of the Interior Fish and Wildlife Service, 517p.
- Silfvergrip A.M.C. (1996) A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae). 1996, 156 p. PhD (Thesis – Department of Zoology, Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, Stockholm, Sweden.
- Storey K.B. (1985) A re-evaluation of the Pasteur effect: new mechanism in anaerobic metabolism. *Molecular Physiology* **8**, 439-461.
- Tagliane P.R.A., Barbieri E. & Neto A.C (1992) About a sporadic phenomenon of fish mortality by environmental hypoxia in the Senandes streamlet, State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Ciência e Cultura (Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science)* **44** (6), 404-406.
- Thetmeyer H., Waller U., Black K.D., Inselmann S. & Rosenthal H. (1999) Growth of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under hypoxic and oscillating oxygen conditions. *Aquaculture* **174**, 355-367.
- Townsend C.R. & Baldisserotto B. (2001) Survival of silver catfish exposed to acute changes of water pH and hardness. *Aquaculture International* **9**, 413-419.
- Zweig R.D., Morton J.D. & Stewart M.M. (1998) Source water quality for aquaculture: a guide for assessment. *Environmentally and socially sustainable development. Rural development*. pp 1-21.
- Walton M.J. & Cowey C.B. (1982) Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish. *Comparative Biochemistry and Physiology* **73** (B), 59-79.
- Wu R.S.S. (2002) Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses. *Marine Pollution Bulletin* **45**, 35-45.

Legenda das figuras

Figura 1. Sobrevivência de alevinos de jundias (*Rhamdia quelen*) após 96 horas de exposição a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido. Circulo aberto indica a média da concentração letal.

Figura 2. Comprimento padrão (A) e peso (B) de exemplares de *Rhamdia quelen* expostos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido por 30 dias. Equações ajustadas aos dados:

- A. 10 dias: $Y = 7,036 + 0,243 / 1 + e^{-(x - 5,226 / 0,056)}$ $r^2 = 0,94$
 20 dias: $Y = 7,345 + 0,274 / 1 + e^{-(x - 4,207 / 0,055)}$ $r^2 = 0,90$
 30 dias: $Y = 7,465 + 0,435 / 1 + e^{-(x - 4,159 / 0,052)}$ $r^2 = 0,96$
 Onde Y = comprimento padrão (cm)

X = concentração de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1})

- B. 20 dias: $Y = 6,020 + 1,182 / 1 + e^{-(x - 4,191 / 0,243)}$ $r^2 = 0,97$
 30 dias: $Y = 6,595 + 1,555 / 1 + e^{-(x - 4,134 / 0,053)}$ $r^2 = 0,97$
 Onde Y = peso (g)

X = concentração de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1})

Figura 3. Taxa de crescimento específico (G) - (A), conversão alimentar (CA) - (B) e biomassa (C) de exemplares de *Rhamdia quelen* expostos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido por 30 dias. Equações ajustadas aos dados:

- A. $Y = 0,955 + 0,654 / 1 + e^{-(x - 4,138 / 0,058)}$ $r^2 = 0,97$

Onde Y = taxa de crescimento específico (%/dia)

X = concentração de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1})

- B. $Y = 2,54 + 2,015 / 1 + e^{-(x - 4,118 / -0,050)}$ $r^2 = 0,99$

Onde Y = conversão alimentar (gramas de ração / gramas de biomassa)

X = concentração de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1})

- C. $Y = 65,95 + 15,6150 / 1 + e^{-(x - 4,133 / 0,059)}$ $r^2 = 0,97$

Onde Y = biomassa (g)

X = concentração de oxigênio dissolvido (mg.L)

Figura 4. Atividade da catalase no fígado de exemplares de *Rhamdia* quelen expostos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido por 30 dias.

Equação ajustada aos dados:

$$Y = 36,76 + (-4,268) * X$$

Onde Y = atividade enzimática da catalase (3 E/min. mg de proteína)

X = concentração de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}) $r^2 = 0,90$

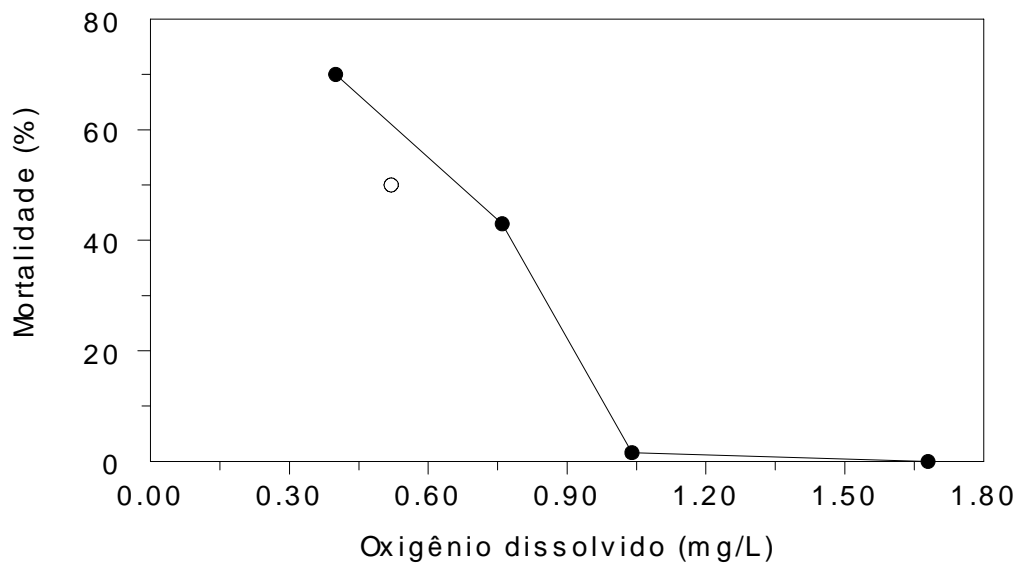


Figura 1

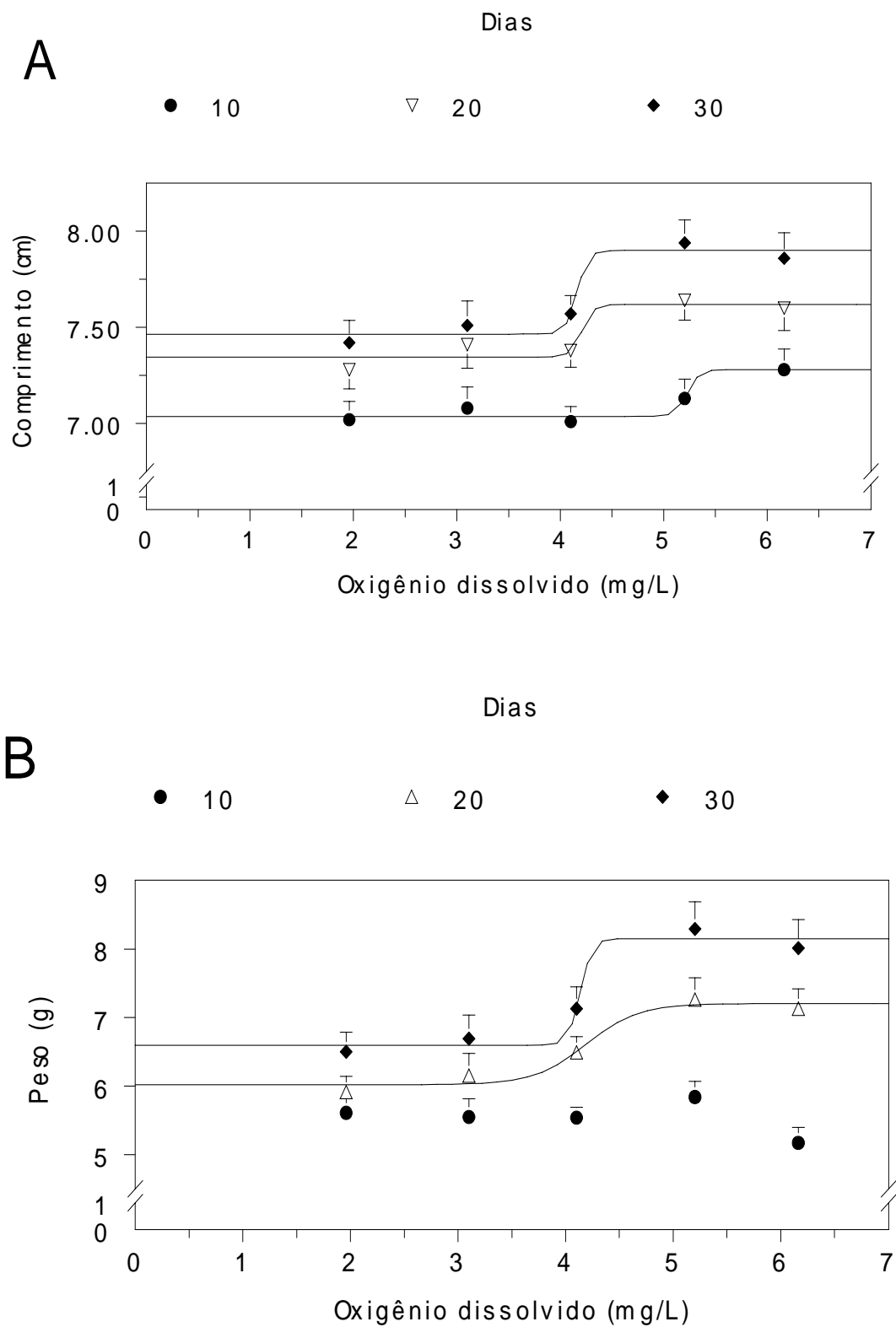


Figura 2

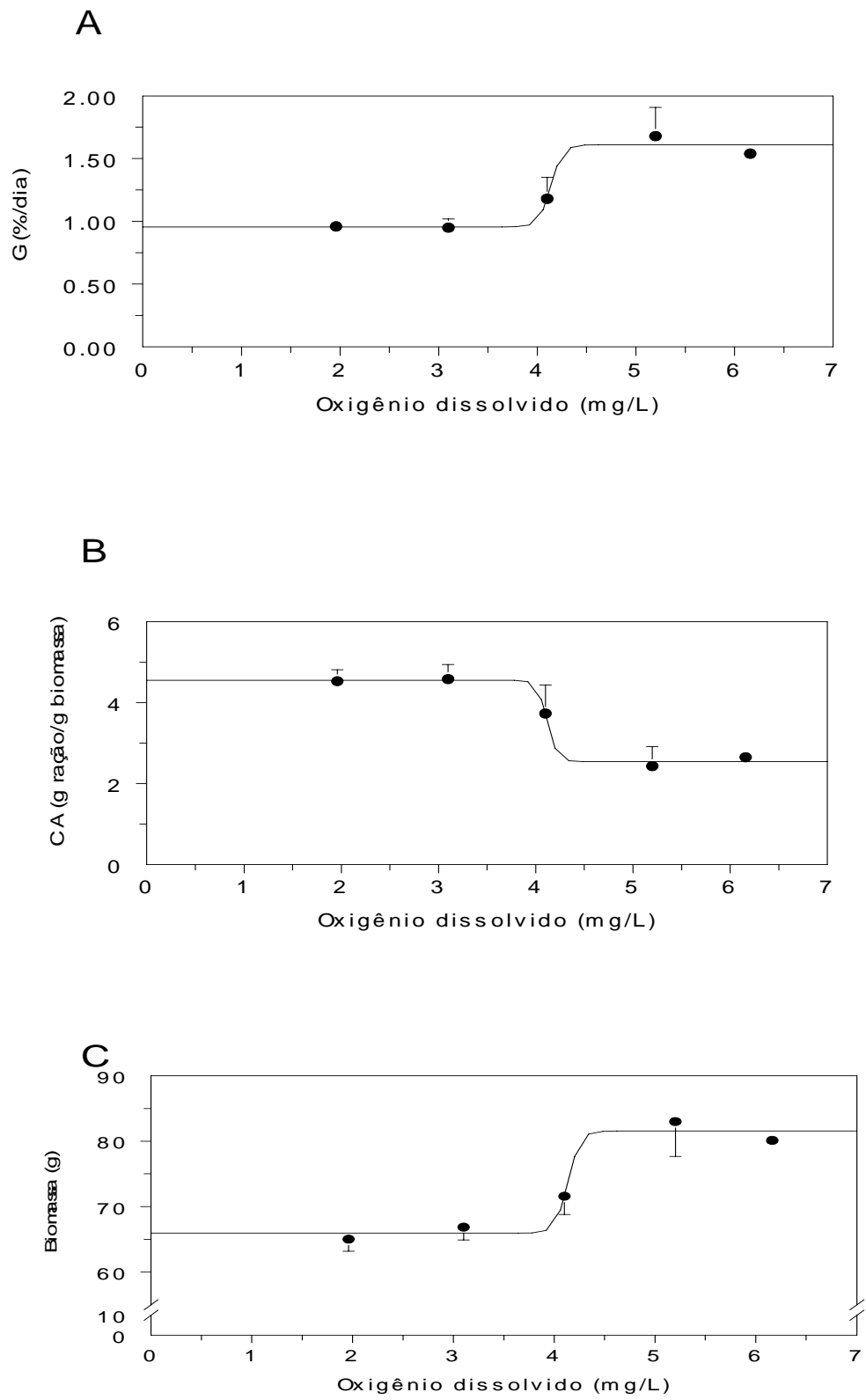


Figura 3

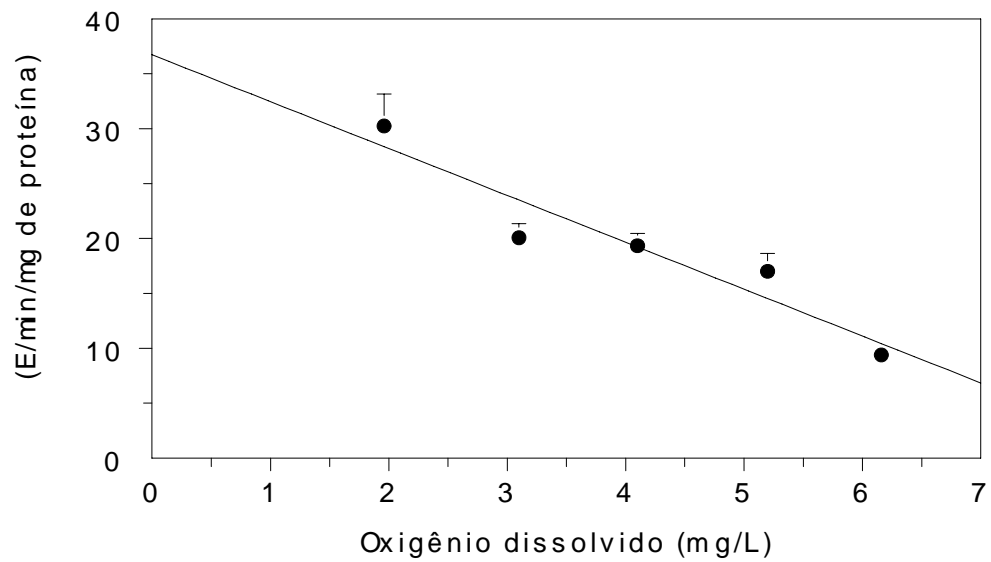


Figura 4

TABELA 1. Efeitos das concentrações de oxigênio dissolvido sobre parâmetros metabólicos em fígado, músculo e rim de alevinos de *Rhamdia quelen* (jundiá)

Oxigênio dissolvido (mg.L)	1,96	3,1	4,1	5,2	6,16
Fígado					
Glicogênio (µmol/g tecido)	37,8±1,4 ^a	27,3±1,3 ^b	27,3±1,2 ^b	31,4±1,8 ^{ab}	28,2±1,7 ^b
Glicose (µmol/g tecido)	51,4±0,6 ^a	56,0±0,4 ^b	55,4±0,9 ^b	51,9±0,8 ^a	51,6±0,2 ^a
Proteína (mg proteína/g tecido)	124,7±10,6 ^a	175,2±4,4 ^a	138±7,7 ^a	134±16,5 ^a	169,2±14,3 ^a
Lactato (µmol/g tecido)	9,2±0,4 ^{ab}	11,4±0,7 ^{abc}	12,1±0,7 ^c	8,3±0,7 ^a	7,2±0,7 ^a
Músculo					
Glicogênio (µmol/g tecido)	7,1 ± 0,4 ^a	8,9 ± 0,3 ^b	9,9 ± 0,4 ^{bc}	11,2 ± 0,4 ^c	10,2 ± 0,3 ^{bc}
Glicose (µmol/g tecido)	8,3±0,5 ^{ac}	6,6±0,1 ^b	6,7±0,2 ^{ab}	8,1±0,5 ^c	5,8±0,2 ^d
Proteína (mg proteína/g tecido)	132,4±9,4 ^a	105,3±4,8 ^b	103,3 ± 5,2 ^b	100,7±3,2 ^b	101,8±8 ^b
Lactato (µmol/g tecido)	34,7±1,9 ^a	26,3±1,15 ^b	40,3±1,7 ^a	38,0±2,8 ^a	35,53±1,6 ^a
Rim					
Glicogênio (µmol/g tecido)	19,1 ± 1,6 ^a	23,6 ± 2,2 ^a	20,4 ± 2,1 ^a	19,7 ± 0,5 ^a	12,0 ± 1,4 ^a
Proteína (mg proteína/g tecido)	104,4±12 ^a	133,6±13 ^a	105,6±11,7 ^a	128,25±17,8 ^a	142,2±16,7 ^a

Valores são expressos com média ± Se (n = 3). Letras diferentes nas linhas apresentam diferença significativa pelo teste de Mann Whitney (glicose) ou Tukey (P < 0,05)

4. CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que:

1. A média da concentração letal de oxigênio dissolvido para alevinos de jundiá, em 96 horas, foi 0,52 mg/L de oxigênio dissolvido.
2. A concentração ideal de oxigênio dissolvido para o desenvolvimento de alevinos de jundiá foi acima de 4,3 mg/L de oxigênio dissolvido, considerando as condições em que se realizou o experimento.
3. Numa situação de hipóxia há um aumento da atividade da enzima catalase.
4. As diferentes concentrações de oxigênio dissolvido utilizado neste trabalho não influenciaram proporcionalmente os níveis de glicogênio, glicose, proteína e lactato dos tecidos analisados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFONSO, E. G. et al. Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed do sulfide or hypoxia. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**. v.133, p.375-382, 2002.

ALMEIDA-VAL, V. M. F. et al. Biochemical adjustments to hypoxia by Amazon cichlids. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v.28, p.1257-1263, 1995.

_____. Scaling effects on hypoxia tolerance in the Amazon fish *Astronotus ocellatus* (Perciformes: Cichlidae): contribution of tissue enzyme levels. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**. v.125, p.219-226, 2000.

AHMAD, et al. Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus bloch*) is biomarker of paper mill exposure. **Biochimica et Biophysica Acta**. V. 1523, p. 37-48, 2000.

ARANA, L. V. **Princípios químicos de qualidade de água em aquicultura: uma versão para peixes e camarões**. Florianópolis: Ed. UFSC, 1997.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2002.

BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá. In: BALDISSEROTTO, B. & RADÜNZ NETO, J. **Criação de jundiá**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2004. p.67-71.

BALDISSEROTTO, B. & SILVA, L. V. F. Qualidade de água. In: BALDISSEROTTO, B. & RADÜNZ NETO, J. **Criação de jundiá**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2004. p.73-92.

BARCELLOS, L. J. G. et al. Haematological and biochemical characteristics of male jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard Pimelodidae): changes after acute stress. **Aquaculture Research**. v.34, p.1565-1469, 2003.

_____. Nursery rearing of jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. **Aquaculture**, v.232, p.383-394, 2004.

_____. Steroid profiles in cultured female jundiá, the Siluridae *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, Pisces Teleostei), during the first reproductive cycle. **General and Comparative Endocrinology**. v.121, p.325-332, 2001.

BEGUM, G. & VIJAYARAGHAVAN, S. Carbohydrate metabolism in hepatic tissue of freshwater catfish *Clarias batrachus* L. during dimethoate exposure. **Chemistry Toxicology**. v.33, n.5, p.423-426, 1995.

BIDINOTTO P. M.; MORAES G. & SOUZA R. H. S. Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: a procedure for field determinations of micro samples. **Boletim Técnico CEPTA**. v.10, p.53-60, 1997.

BOYD, C. E. & TUCKER, C. S. **Water quality and pond soil analyses for aquaculture**. Auburn: Alabama: Auburn University, 1992.

BURLESON, M. L.; CARLTON, A. L. & SILVA P. E. Cardioventilatory effects of acclimatization to aquatic hypoxia in channel catfish. **Respiratory Physiology & Neurobiology**. v.131, p. 223-232, 2002.

BURLESON, M. L., WILHELM, D. R.; SMATRESK, N. J. The influence of fish size on the avoidance of hypoxia and oxygen selection by largemouth bass. **Journal of fish Biology**. v.59, p.1336-1349, 2001.

CHABOT, D. & DUTIL, J. D. Reduced growth of Atlantic cod in non-lethal hypoxic conditions. **Journal of Fish Biology**. v. 55, p.472-491, 1999.

CHAPMAN, L. J. et al. Physiological refugia: swamps, hypoxia tolerance and maintenance of fish diversity in the Lake Victoria region. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**. v.133, p.421-437, 2002.

CHIPPARI-GOMES, A. G. et al. Hypoxia tolerance and adaptations in fishes: the case of Amazon Cichlids. In: VAL, A. L. & KAPOOR, B. G. (Eds). **Fish adaptations**. New Hampshire: Science Publishers, 2003. p.37-49.

CHIPPARI-GOMES, A. R.; GOMES, L. C.; & BALDISSEROTTO, B. **Lethal temperatures for silver catfish, *Rhamdia quelen*, fingerlings. Journal of Applied Aquaculture.** V.9, n.4, p.11-21, 1999.

CHROUSOS, G. P. & GOLD, P. W. The concepts of stress and stress system discords. **JAMA.** v.267, p.1244-1252, 1992.

COOPER, R. U. et al. Hypoxia-induced metabolic and antioxidant enzymatic activities in the estuarine fish *Leiostomus xanthurus*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.** v.279, p.1-20, 2002.

CRAMPTON, W. G. R. Effects of anoxia on the distribution, respiratory strategies and electric signal diversity of gymnotiform fishes. **Journal of Fish Biology.** v.53, p.307-330, 1998.

DAVIS, J. C. Minimal dissolved oxygen requirements of aquatic life with emphasis on Canadian species: a review. **Journal fish research board Canada.** v.32, p.2295-2332, 1975.

DIANA, J. S. Water quality in ponds. In: EGNA, H. S. & BOYD, C. E. (Eds). **Dynamics of pond aquaculture.** United States: CRC Press, 1997, p. 53-71.

DOMENICI, P.; STEFFENSEN, J. F. & BATTY, R. S. The effect of progressive hypoxia on swimming activity and schooling in *Atlantic herring*. **Journal of Fish Biology.** v.57, p.1526-1538, 2000.

GIMENO et al. Pesticide effects on eel metabolism. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** V.31, p.153-157, 1995.

GOLOMBIESKI J. I. et al. Transport of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings at different times, load densities, and temperatures. **Aquaculture.** v.216, p. 95–102, 2003.

GOMES, L. C., BALDISSEROTTO, B. & SENHORINI, J. A. Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of the matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. **Aquaculture.** v.183, p.73–81, 2000a.

GOMES, L. C. et al. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural.** v.30, n.1, p.179–185, 2000b.

HOCHACHKA, P. W. Oxygen sensing and metabolic regulation: short, intermediate, and long term roles. In: VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL V. M. F & RANDALL, D. J. (Eds). **Physiology and Biochemistry of the Fishes of the Amazon**. Manaus: INPA, 1996. p.233-253.

KARIM, MD. R.; SEKINE, M.; UKITA, M. Simulation of eutrophication and associated occurrence of hypoxic and anoxic condition in a coastal bay in Japan. **Marine Pollution Bulletin**. v.45, p.280-285, 2002.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Ed. Sarvier, 1995.

LERMEN, C. L. **Efeito da temperatura e do tempo de aclimação sobre parâmetros hematológicos, metabólicos e enzimáticos de *Rhamdia quelen***. 2003. 119f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Toxicológica) -Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

LIMA, R. L. **Efeito do nitrito com níveis de cloreto de sódio na dieta sobre o crescimento e sobrevivência de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*)**. 2005. 54f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

LOPES, J. M.; SILVA, L. V. F.; BALDISSEROTTO, B. Survival and growth of silver catfish larvae exposed to different water pH. **Aquaculture International**. v.9, 73-80, 2001.

LOURES B. R. R. & LIMA, S. Anatomia de peixes. In: MOREIRA, H. L. M. et al. (ORG). **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Canoas: Ed. ULBRA, 2001. p.17-22.

MAFFEZZOLI, G. **Efeito da concentração de oxigênio dissolvido sobre o desenvolvimento de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae)**. 2001. 26p. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura)-Universidade Federal de Santa Catarina, 2001.

MATSUO A. Y. O. & VAL, A. L. Fish adaptations to Amazonian blackwaters. In: VAL, A. L. & KAPOOR, B. G. (Eds). **Fish adaptations**. New Hampshire:Science Publisheres, 2003. p.37-49.

MEURER, et al. Efeito de diferentes concentrações de oxigênio dissolvido sobre o crescimento de juvenis de “piapara” *Leporinus elongatus* (Cuvier & Valenciennes, 1864). In: RESUMO DO 1^o CONGRESSO SUL AMERICANO DE AQUICULTURA, 1. 1998. Recife. **Resumo ...** 1998. p. 137.

MIRON, D. S. **Efeito da amônia em diferentes níveis de pH da água na sobrevivência e no crescimento de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* (Heptateridae)**. 2004. 41f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) -Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

MORAES, G. et al. Immediate changes on metabolic parameters of the freshwater teleost fish *Piaractus mesopotamicus* (pacu) under severe hypoxia. **Boletim Técnico CEPTA**. v.10, p.45-52, 1997.

MUUSZE, B. et al. Review: hypoxia tolerance of Amazon fish respirometry and energy metabolism of the cichlid *Astronotus ocellatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**. v.120, n.2, p.151-156, 1998.

OLSZEWER, E. **Radicais livres em medicina**. São Paulo: ByK, 204 p. 1995.

ORUÇ, E. Ö. & ÜNER, N. Effects of 2,4 Diamin on some parameters of protein and carbohydrate metabolisms in the serum, muscle, and liver of *Cyprinus carpio*. **Environmental Pollutiuon**. V. 105, p. 267-272, 1999.

PAPOUTSOGLU, S. E. & TZNHA, G. Blue tilapia (*Oreochromis aureus*) growth rate in relation to dissolved oxygen concentration under recirculated water conditions. **Aquacultural Engineering**. v. 15, n.3, p.181-192, 1996.

PARMA-DE-CROUX, M. J. Metabolic rate and oxygen consumption requirements of some fish species from the middle Parana river. **Acta Biology Venez.** v.15, p.1-10, 1994.

PARMA-DE-CROUX, M. J. Tolerancia respiratoria de *Prochilodus lineatus* (Pisces, Curimatidae) a condiciones críticas de oxígeno. **Ilheringia, Série Zoologia**. v. 79, p.135-140, 1995.

PIAIA R.; TOWNSEND, C. R.; BALDISSEROTTO, B. Growth and survival of fingerlings of silver catfish exposed to different photoperiods. **Aquaculture International**. v.7, p. 201-205, 1999.

RANTIN, F. T.; MARINS, M. A. Como os teleósteos respondem à hipóxia ambiental – uma revisão. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 3, 1984, São Carlos. **Anais ...** São Carlos: 1984. p. 673-691.

SANCHO, E; FERRANDO, M. D.; ANDREU, E. Sublethal effects of an organophosphate insecticide on the European eel, *Anguilla anguilla*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v.36, p. 57-65, 1997.

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

SOMERO, G. N. & CHILDRESS, J. J. A violation of the metabolismsize scaling paradigm: activities of glycolytic enzymes in muscle increase in larger-size. **Physiological Zoology**. V.53, p. 322-347, 1980.

SUNDIN, L. et al. Branchial receptors and cardiorespiratory reflexes in a neotropical fish, the tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Exp. Biology**. v.203, p.1225-1239, 2000.

TAGLIANE, P. R. A.; BARBIERI, E.; NETO, A. C. About a sporadic phenomenon of fish mortality by environmental hypoxia in the Senandes streamlet, State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência e Cultura (Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science)**. v. 44, n.6, p.404-406, 1992.

TOWNSEND, C. R. & BALDISSEROTTO, B. Survival of silver catfish fingerlings exposed to acute changes of water pH and hardness. **Aquaculture International**. v.9, p.413-419, 2001.

TOWNSEND C. R.; SILVA, L. V.; BALDISSEROTTO, B. Growth and survival of *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Pimelodidae) larvae exposed to different levels of water hardness. **Aquaculture**. v.215, p.103-108, 2003.

URBINATI, E. C. & CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J. E. P. ET AL. (Eds). **Tópicos especiais em**

piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: Ed. TecArt, 2004. p.171-194.

VAL, A. L. Surviving low oxygen levels: lessons from fishes of the Amazon. In: VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL V. M. F & RANDALL, D. J. (Eds). **Physiology and Biochemistry of the Fishes of the Amazon.** Manaus: INPA, 1996. p.233-253.

ZANIBONI FILHO, E.; WEINGARTNER, M.; CASTRO-PEREZ, C. A. Efeito da temperatura e da concentração de oxigênio dissolvido sobre o crescimento e desenvolvimento alimentar da piracanjuba, *Brycon orbignyanus*. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DE AQUICULTURA, 1, 1998, Recife. **Resumos ...**Recife, 1998. p. 136.

WENDELAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. **Physiology Review.** v.77, n.3, p. 591-625, 1997.

WENDELAAR BONGA, S. E. et al. Individual and species differences in the endocrine responses to toxicants in fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A.** v.132, n.2, p.s1-s12, 2002.

WINSTON, G. W. & DI GIULIO, R. T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. **Aquatic Toxicology.** V.19, p.137-161, 1991.

WOOD C. M. Toxic responses of the gill. In: SCHLENK, D., & BENSON, W. H. (Eds). **Target organ toxicity in marine and freshwater teleost.** London. Taylor & Francis, 2001. p.1-89.

WU, R. S. S. Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses. **Marine Pollution Bulletin.** V.45 , p.35-45, 2002.