

EFEITOS DO ESTRESSE DE EXPOSIÇÃO AO AR SOBRE PARÂMETROS SANGUÍNEOS DE JUVENIS DE CARANHA, *Piaractus brachypomus*

Beatriz Cardoso Roriz¹, Wagner dos Santos Mariano², Adriana Kazue Takako² Fabio de Jesus Castro², Rodrigo Garófallo Garcia³

1. Graduada em Licenciatura em Biologia pela UFT - campus Araguaína (beatrizroriz@hotmail.com); Mestranda em Zootecnia pela Universidade Federal da Grande Dourados. Pesquisadora do Núcleo de Aquicultura e Piscicultura Familiar – NAPisF/UFT.

2. Professores do curso de Licenciatura em Biologia da UFT; Doutorando em Biodiversidade e Conservação pela Universidade Federal do Amapá (UNIFAP/REDE BIONORTE) Pesquisadores do Núcleo de Aquicultura e Piscicultura Familiar – NAPisF/UFT

3 Prof. do Curso de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) – Universidade Federal da Grande Dourados. Araguaína – Brasil

Recebido em: 31/03/2015 – Aprovado em: 15/05/2015 – Publicado em: 01/06/2015

RESUMO

A exposição ao ar é uma situação estressante para os peixes, embora inevitável em práticas de rotina em pisciculturas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar alguns parâmetros sanguíneos e frequência respiratória de exemplares juvenis de Caranha (*Piaractus brachypomus*) submetidos ao estresse de exposição ao ar por um período de uma hora e 24 horas após o retorno ao meio aquático. Foram analisados a glicose sanguínea, contagem diferencial de leucócitos, contagem total de eritrócitos e frequência respiratória. Os resultados revelaram um aumento significativo nos níveis de glicose e na frequência respiratória. Em relação a contagem diferencial de leucócitos, observou-se aumento do número de linfócitos e monócitos e diminuição no número de neutrófilos. Houve homogeneidade nos valores de contagem total de eritrócitos, número de eosinófilos e leucócitos granulares PAS-positivos (LG-PAS). A hiperglicemia constituiu um bom indicador de estresse fisiológico, pois indica mobilização de uma fonte de energia extra para o animal superar o estresse. O aumento no número de alguns tipos de leucócitos circulantes como monócitos e linfócitos pode estar relacionado a possíveis lesões ou injúrias no tegumento ou epitélio branquial, provocados pela agitação ou pela própria exposição ao ar. O estresse por exposição ao ar no intervalo de 1h constituiu-se em um fator estressante para juvenis de *P. brachypomus*. No entanto, o período de 24 horas após a exposição ao ar não foi suficiente para a completa recuperação e retorno total à homeostasia dos animais, uma vez que os valores de alguns parâmetros analisados não retornaram ao seu nível basal.

PALAVRAS-CHAVE: Estresse em peixes, exposição ao ar, hematologia, *Piaractus brachypomus*

EFFECTS OF AIR EXPOSITION STRESS ON JUVENILE *Piaractus brachypomus* BLOOD PARAMETERS

ABSTRACT

Air Exposure is a stressful situation for fish, although unavoidable in routine practice in fish cultures. This study aimed to evaluate some blood parameters and respiratory frequency in juvenile specimens of Carranha (*Piaractus brachypomus* C.) subjected to air exposure stress for a period of one hour and 24 hours after returning to the aquatic environment. Blood glucose, differential leukocyte count, erythrocyte count, and respiratory frequency were analyzed. The results revealed a significant increase in blood glucose levels and respiratory frequency. In relation to differential leukocyte count, there was an increase in the number of lymphocytes and monocytes and a decrease in the number of neutrophils. There was homogeneity in the values of erythrocyte count, eosinophil count and PAS-positive granular leukocytes (LG-PAS). Hyperglycemia is a good indicator of physiological stress and it points to the mobilization of an extra power source for fish to overcome the stress. The increase in the number of some types of circulating leukocytes, including monocytes and lymphocytes, may be related to possible injury to the integument or gill epithelium caused by movements or by the air exposure itself. The air exposure for 1h showed to be stressful for *P. brachypomus* juveniles. However, 24h after air exposure were not enough for the complete recovery and return to animal homeostasis, once the values of some parameters analyzed did not return to basal levels.

KEYWORDS: Stress in fish. Air exposure. Hematology. *Piaractus brachypomus*

INTRODUÇÃO

A aquicultura no Brasil é uma atividade que vem se destacando nos últimos anos graças ao potencial hídrico do país, à riqueza de espécies e ao aumento do mercado neste setor. Um dos requisitos mais importantes para o bom desenvolvimento da atividade de aquicultura é o conhecimento adequado da biologia das espécies utilizadas para cultivo, onde a fisiologia das espécies, o funcionamento dos sistemas e as interações e respostas permitem melhores condições de cultivo. Em piscicultura intensiva, a situação de estresse está constantemente presente e pode afetar o desempenho produtivo dos peixes, prejudicando o estado de saúde e aumentando a suscetibilidade a doenças. Desde meados de 1970 estudos envolvendo estresse têm sido frequentemente realizados no campo da fisiologia de peixes, com enfoque em peixes de cultivo (SILVEIRA et al., 2009).

Entre os vários autores que o definem, WENDELAAR BONGA (1997) aponta estresse como sendo uma condição em que a homeostase (estado estacionário) de um organismo animal é ameaçado ou perturbado, como resultado das ações de estímulos intrínsecos e/ou extrínsecos, definidos como estressores. Os agentes de estresse em peixes podem ser de vários tipos, entre os quais estão: os de natureza química como contaminantes, pH da água ou baixo teor de oxigênio, os de natureza física como transporte, confinamento e manuseio e ainda os perceptíveis pelo peixe, como a presença de predadores (DINIZ & HONORATO, 2012).

Os estressores também podem ser de curta ou de longa duração e podem possuir intensidades distintas. A exposição moderada a estes agentes é capaz de produzir uma resposta adaptativa nos peixes, que restitui a homeostase ao organismo, no entanto, se estes estiverem sujeitos aos agentes de estresse intensos

ou prolongados, a resposta pode tornar-se mal adaptativa, com consequências negativas para o seu estado de saúde (GALHARDO & OLIVEIRA, 2006).

De acordo com a literatura, a resposta ao estresse em peixes apresenta três níveis, sendo eles, primário, secundário e terciário, que se iniciam no sistema endócrino e apresentam um aumento sucessivo até atingir o nível do organismo como um todo (OBA, et al., 2009). A resposta primária é compreendida como a ativação dos centros cerebrais, resultando em liberação de catecolaminas e corticosteróides; a resposta secundária é entendida como a canalização das ações e dos efeitos imediatos desses hormônios em nível sanguíneo e tecidual, incluindo o aumento da frequência cardíaca e da tomada de oxigênio, a mobilização de substratos de energia e, ainda, a perturbação do balanço hidromineral; e a resposta terciária manifesta-se em nível de população, traduzindo-se em inibição do crescimento, da reprodução e da resposta imunológica. A limitação da capacidade do animal em tolerar estressores subsequentes ou adicionais também é atribuída a uma manifestação da resposta terciária (LIMA et al., 2006).

As respostas aos estressores são evidenciadas primeiramente em nível molecular (ou bioquímico), seguida por respostas fisiológicas e, finalmente, se manifestando em nível morfológico. Desse modo, alterações em todos estes níveis são indicativos de estresse e, portanto, parâmetros como cortisol e glicose plasmática são importantes indicadores fisiológicos de níveis de estresse em peixes e mamíferos, em geral (WENDELAAR BONGA, 1997). As variações nos parâmetros sanguíneos são também amplamente utilizadas para a mesma finalidade. É o caso, por exemplo, de alterações nos valores de hematócrito e na concentração de hemoglobina, que podem aumentar ou diminuir, dependendo do tipo de agente estressor aos quais as espécies íctias são submetidas. Devido às conexões do sistema imunológico com o endócrino, condições de estresse podem levar a uma imunossupressão, que por sua vez, pode ser refletida nos valores numéricos de leucócitos circulantes. Assim, variações nos valores absolutos ou relativos destas células de defesa podem indicar a influência do estresse sobre o sistema imunológico (TAVARES-DIAS & MORAES, 2004).

Com o auxílio das brânquias, os peixes realizam as trocas gasosas por difusão direta entre o sangue e a água. Quanto maior a pressão parcial de oxigênio e menor a de gás carbônico na água, mais facilmente se processa a respiração nos peixes (KUBITZA, 2009). Um dos estressores diretamente ligados à respiração em peixes é a exposição ao ar, situação que ocorre com grande frequência em peixes de cultivo. BILLER e colaboradores (2008) apontam que no transporte de peixes, por exemplo, estes são submetidos a repetidas exposições ao ar, inicialmente por serem retirados do tanque, durante a captura, e depois ao serem acondicionados de volta. Embora haja vasta literatura sobre os vários tipos de estressores, pouco ainda se sabe sobre os efeitos da exposição aérea em peixes juvenis, uma vez que estudos com estressores em peixes adultos são mais comuns em vista dos poucos trabalhos que descrevem as repostas ao estresse em peixes jovens.

A espécie *Piaractus Brachypomus*, conhecido popularmente como Pirapitinga ou Caranha, ocorre nas bacias Amazônica e Araguaia-Tocantins, podendo atingir 80 centímetros e pesar até 20 quilos. Esta espécie possui escamas e alimenta-se principalmente de frutas e plantas aquáticas, mas come também peixes menores e apresenta grande importância na pesca comercial, como peixe ornamental e na gastronomia (PESSOA, 2009). Apesar de ser comum em piscicultura, ainda não há

estudos que relacionem estresse e exposição área nesta espécie.

Sabendo-se que os parâmetros sanguíneos são eficientes indicadores de níveis de estresse em peixes, e de que ainda há carência de estudos relatando o estresse por exposição ao ar, principalmente em peixes juvenis, o presente trabalho teve como objetivo investigar as respostas de estresse induzido pela exposição ao ar na espécie Amazônica *Piaractus brachypomus*, através de análises de alguns parâmetros sanguíneos em animais experimentais.

MATERIAL E METODOS

Manutenção dos Espécimes Biológicos em Laboratório

Para o desenvolvimento dos experimentos, exemplares juvenis de *Piaractus brachypomus* pertencente à família Characidae (Figura 1) pesando em média 3,3g (comprimento padrão = 4,4 cm; comprimento total = 5,7 cm), foram adquiridos em uma piscicultura local e mantidos no Laboratório de Biologia EaD da Universidade Federal do Tocantins, *Campus* Universitário de Araguaína - Cimba. Os peixes foram acomodados em dois aquários de vidro de 42 cm de altura e capacidade de 100L, com sistema de filtros para manutenção da qualidade de água e aeração constante.

A temperatura ambiente foi mantida em torno de 25°C, através de sistema de climatização de ar, e o fotoperíodo foi regulado para 12L:12D. Os animais foram diariamente alimentados com ração comercial. Os experimentos tiveram início após o período de aproximadamente 15 dias de aclimação a estas condições. Os parâmetros de qualidade de água foram constantemente monitorados durante este período e a dieta foi suspensa 12 horas antes do início do experimento.



FIGURA 1: Exemplar juvenil de *P. brachypomus*.
(Imagem: Beatriz Cardoso Roriz)

Protocolo Experimental

Após o período de aclimação às condições laboratoriais, os peixes foram submetidos à exposição ao ar. Um grupo de animais (N=8) foi amostrado imediatamente ao início do experimento (grupo controle), sendo os exemplares retirados do aquário Nº 1. Outro grupo (N=8) foi exposto ao ar, onde cerca de 40

animais foram colocados em um balde, deixando-se apenas uma fina camada de água para evitar a dessecação dos mesmos durante o período de uma hora (grupo exposição, Figura 2). Após a amostragem de oito animais deste grupo, os animais restantes foram colocados em um segundo aquário (aquário N° 2), retornando às condições iniciais do experimento, sendo então amostrados 24 horas após a exposição ao ar, como grupo recuperação em meio aquático (N=8).

Para amostragem, o sangue foi imediatamente coletado por punção da veia caudal, em seringas heparinizadas. Amostras de sangue foram utilizadas para análises dos parâmetros sanguíneos, conforme descritos abaixo. Também foi estimada a frequência respiratória de todos os grupos amostrados, através da contagem dos batimentos operculares em um intervalo de 30 segundos, sendo os valores depois multiplicados por dois, para que os resultados fossem expressos em batimentos por minuto (bpm).



FIGURA 2: Exemplos de *P. brachypomus* expostos ao ar atmosférico. (Imagem: Beatriz Cardoso Roriz)

Análises Sanguíneas

Foram determinados os seguintes parâmetros sanguíneos:

- **Glicose Sanguínea.** O nível de glicose sanguínea foi determinado através de um glicosímetro, em amostras de sangue imediatamente coletadas dos animais experimentais. Os valores de glicose sanguínea foram expressos em mg/dL.
- **Número de Eritrócitos (RBC).** Para determinação do número de eritrócitos (RBC), o sangue foi diluído na proporção de 1:200 em solução salina 0,7% e a contagem efetuada em câmara hematimétrica de Neubauer, sob microscópio de luz. A contagem foi realizada nos dois retículos e o resultado expresso em número de células $\times 10^6/\text{mm}^3$ de sangue.

- **Contagem Diferencial de Leucócitos.** Extensões sanguíneas em lâminas histológicas foram preparadas imediatamente após a coleta de sangue, secas à temperatura ambiente, fixadas e coradas com o corante panótico rápido (Laborclin), que se constitui numa coloração baseada em soluções de corantes eosina e azul de metileno. Os diferentes tipos celulares de leucócitos foram identificados e contados (FIGURA 3). As contagens foram efetuadas sob microscópio de luz e os valores expressos em porcentagem dos diferentes tipos celulares em relação ao número total de células contadas (contagem relativa). Foi contado um total de 100 células por lâmina.

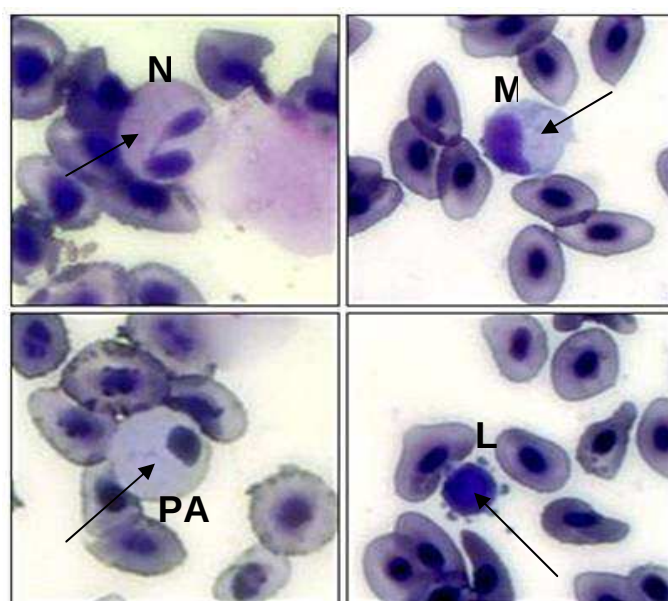


FIGURA 3: Contagem diferencial de células. N = Neutrófilo, M = Monócito, PAS=LGPAS, L = Linfócito (Imagem: Beatriz Cardoso Roriz)

Análises Estatísticas

Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média, para $n = 8$ peixes em cada tratamento ou tempo de amostragem. Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média para $n = 8$. Foi aplicado teste paramétrico one-way ANOVA com pós-teste de Tukey. O programa utilizado foi GraphPad Instat.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhuma morte foi registrada durante a execução dos experimentos. MARIANO e colaboradores (2009; 2011) descreveram que em seus trabalhos que foram observadas mudanças comportamentais nos animais expostos ao ar, como agitação inicial, seguida por posterior redução na movimentação. Os peixes utilizados no presente estudo não possuíam respiração aérea, no entanto

apresentaram o mesmo comportamento de peixes como o jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) que possuem respiração aérea facultativa (MARIANO et al., 2009). Sugere-se que tal comportamento de diminuição da movimentação dos peixes deve-se a uma estratégia para economia de energia, e que ocorre tanto em peixes que possuem apenas respiração aquática quanto em peixes que apresentam respiração aérea facultativa. Em águas normalmente aeradas, peixes de respiração aérea não-obrigatória podem utilizar tanto as brânquias como seus órgãos de respiração aérea, em proporções variáveis (BALDISSEROTO, 2002)

Além das mudanças comportamentais, foi verificado também alterações na frequência respiratória (fR) de *Piaractus brachypomus* após a exposição ao ar (grupo recuperação). Houve uma tendência à elevação na fR do grupo exposto ao ar, no entanto, aumento significativo deste parâmetro foi evidenciado no grupo recuperação, em relação ao controle (Figura 3).

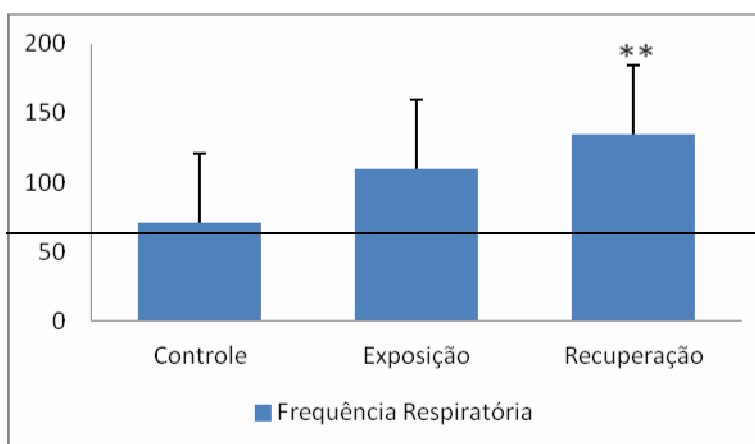


FIGURA 4: Valores médios de frequência respiratória (bpm $\pm$ EPM) em *P. Brachypomus* expostos ao ar (Exposição) e após este procedimento (Recuperação): ** indica diferença estatística tanto em relação ao grupo Controle, quanto ao grupo Exposição.

Graças às suas adaptações à vida aquática, os peixes apresentam dificuldade em aproveitar o maior teor de oxigênio existente no ar, fazendo com que a maioria dos peixes morra fora d'água devido ao colapso das brânquias. Uma das alternativas dos peixes para adaptar-se à pressão parcial de oxigênio na água é o aumento da ventilação branquial, no intuito de elevar a frequência respiratória do animal. Desse modo, sugere-se que o aumento da frequência respiratória em razão da exposição ao ar se dê pela tentativa do animal de ampliar a respiração, aumentando assim a ventilação branquial (BALDISSEROTTO, 2002). Uma possível explicação para a elevação significativa na fR nos animais do grupo recuperação, seria uma provável manutenção nos níveis elevados de catecolaminas, mesmo após a exposição ao ar. Segundo WENDELAAR-BONGA (1997), estes hormônios desencadeiam as respostas secundárias ao estresse, como os ajustes no sistema cardiorrespiratório, resultando em bradicardia (redução na frequência cardíaca) e hiperventilação branquial (aumentos na frequência e volume respiratórios). Por outro lado, estes resultados podem também indicar que o período de 24 horas não seja

suficiente para a completa recuperação e retorno total à homeostasia dos animais após o estresse de exposição ao ar.

Em relação à glicemia, houve um aumento significativo no nível de glicose dos animais expostos ao ar em relação ao grupo controle. No entanto, 24 horas após a exposição ao ar, os valores da glicemia retornaram ao nível basal, sugerindo a recuperação dos animais (Figura 5).

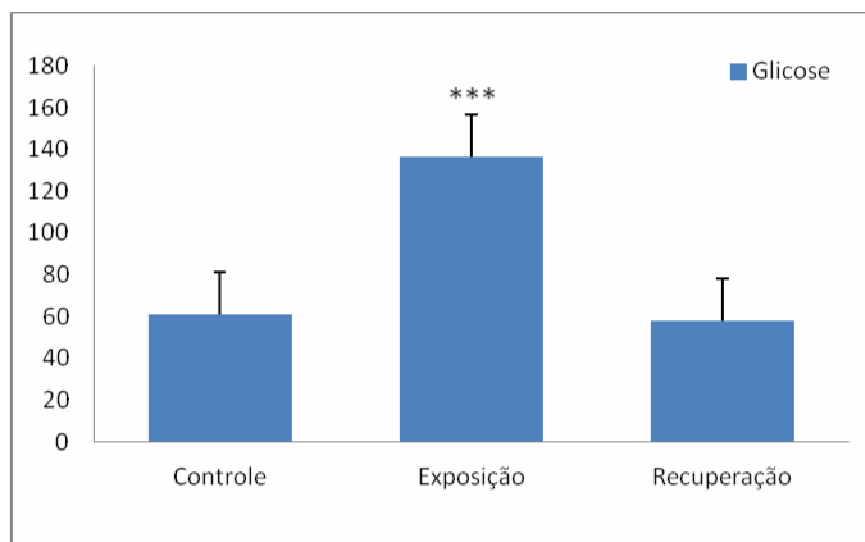


FIGURA 5: Valores médios de glicose plasmática (mg/dL ± EPM) em *P. brachypomus* expostos ao ar (Exposição) e após este procedimento (Recuperação): *** indica diferença estatística tanto em relação ao grupo Controle, quanto ao grupo Recuperação.

A elevação nos níveis de glicose é uma das respostas típicas aos estressores em peixes e demais vertebrados (WENDELAAR-BONGA, 1997). A glicose sanguínea constitui-se em uma fonte extra de energia que possibilita ao animal superar os distúrbios causados pelo agente estressor (MARIANO et al., 2011). A hiperglicemia relacionada ao estresse é principalmente mediada pelo efeito das catecolaminas que estimulam a glicogenólise, liberando glicose do fígado para o sangue já que o glicogênio é uma das muitas formas de armazenamento da energia consumida como alimento pelo peixe e é encontrado em grande quantidade nos tecidos do fígado e músculo dos peixes (CYRINO et al., 2000). Desse modo, a concentração de glicose sanguínea pode ser utilizada como parâmetro para determinar níveis de estresse em peixes (LIMA et al., 2006; CASTRO, 2006). Assim, os resultados apresentados no presente trabalho mostram que a exposição ao ar provocou respostas de estresse em *P. brachypomus*, evidenciada pela hiperglicemia provocada pela ativação do sistema nervoso simpático.

Em relação aos parâmetros hematológicos, não foram observadas mudanças significativas no número de eritrócitos (RBC) de *P. brachypomus* expostos ao ar, havendo apenas uma tendência à elevação no número destas células circulantes nos animais sob esta condição estressora (FIGURA 6). Os eritrócitos são as células mais numerosas do sangue, e sua função consiste no transporte de oxigênio e gás carbônico, desempenhado pelo seu componente principal, a hemoglobina (TAVARES-DIAS & MORAES 2004). Esse resultado corrobora com ABREU et al.,

(2009), que expôs exemplares juvenis de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) ao ar atmosférico.

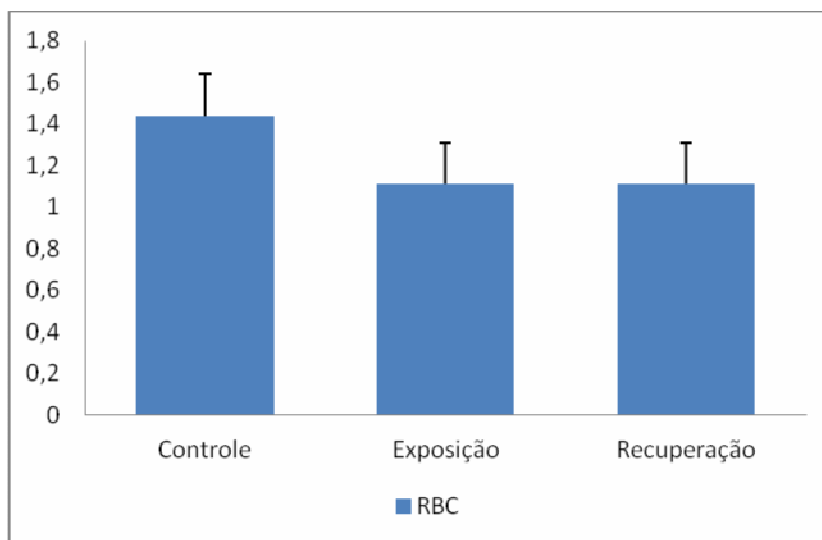


FIGURA 6: Valores médios da contagem de eritrócitos (RBC), expressos em número de células $\times 10^6/\text{mm}^3 \pm$ EPM, em *P. brachypomus* expostos ao ar (Exposição) e após este procedimento (Recuperação).

Além de glicose e cortisol, os parâmetros hematológicos também podem ser usados como indicadores biológicos no monitoramento da saúde dos peixes e do ambiente, como uma ferramenta rápida na identificação do estresse que o ambiente pode impor a eles. Essas informações podem ser utilizadas para avaliar o estado fisiológico de peixes auxiliando no diagnóstico de desequilíbrio da homeostasia (TAVARES-DIAS et al., 2009). Entre os parâmetros hematológicos utilizados como indicadores de estresse em peixes esta a contagem diferencial ou absoluta de leucócitos circulantes.

De fato, os resultados da contagem diferencial de células leucocitárias obtidos no presente trabalho mostram alterações significativas no número relativo destas células em animais expostos ao ar, quando comparados ao do grupo controle. O número de linfócitos aumentou significativamente no grupo recuperação em relação ao grupo controle, o que pode indicar um aumento na produção de anticorpos, caracterizando uma resposta humoral (SILVA et al., 2012).

A contagem diferencial de leucócitos também apontou um aumento significativo no número de monócitos e redução no de neutrófilos em *P. brachypomus* expostos ao ar (FIGURA 6). Os monócitos são considerados células em trânsito do sangue periférico, que migram para os tecidos e focos inflamatórios e se diferenciam em macrófagos, enquanto que os neutrófilos são células fagocitárias que possuem importante papel na defesa contra infecções (TAVARES-DIAS & MORAES, 2004). Estas células são relacionadas mais diretamente ao sistema imune não-específico e são as primeiras a serem recrutadas frente à infestação com parasitos e outros estressores (CASTRO, 2006). O número de Neutrófilos e monócitos não foi

recuperado após a exposição ao ar (FIGURA 7). Os leucócitos granulócitos PAS-positivos (LG-PAS) e eosinófilos não apresentaram valores significativos para a estatística (FIGURA 6), e apesar de estarem relacionados à atividade fagocitária sua função ainda não é bem esclarecida.

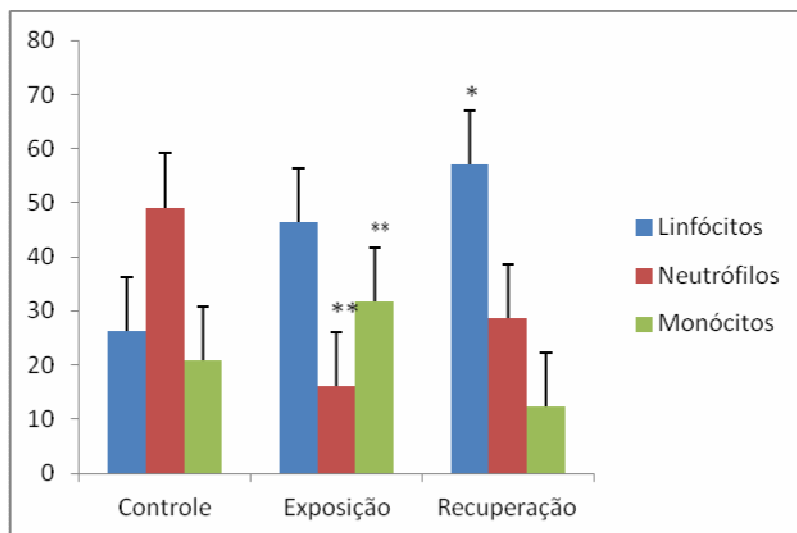


FIGURA 7 – Valores médios de das porcentagens de linfócitos, neutrófilos e monócitos em exemplares de *P. brachypomus* expostos ao ar (Exposição) e após este procedimento (Recuperação). Em linfócitos, * indica diferença estatística em relação ao grupo Controle; em neutrófilos, ** indica diferença estatística em relação ao grupo Controle; Em monócitos, ** indica diferença estatística em relação aos grupos Controle e Recuperação.

O aumento no número de alguns tipos de leucócitos circulantes em *P. brachypomus* expostos ao ar, como monócitos e linfócitos, pode estar relacionado a possível lesões ou injúrias no tegumento ou epitélio branquial provocados pela agitação ou pela própria exposição ao ar. Tais lesões poderiam então provocar o recrutamento de certos leucócitos, refletindo-se em aumento no número destas células circulantes que posteriormente migrarão para os focos de lesões.

A exposição ao ar é inevitável em práticas de rotina em pisciculturas, entre elas o transporte. O transporte de peixes vivos é uma das operações mais delicadas do sistema de cultivo, principalmente no transporte de juvenis, já que a comercialização destes tem aumentado consideravelmente (GOMES et al., 2003). Os resultados obtidos no presente trabalho mostram que a exposição ao ar foi estressante para os juvenis de *P. brachypomus*, ao ponto de causar alterações no *status* fisiológico dos animais, incluindo alterações em elementos do sistema imunológico (leucócitos) e que o período de 24 horas não foi suficiente para a total recuperação de alguns parâmetros mensurados.

No entanto, algumas medidas podem ser adotadas para minimizar tais impactos

estressantes em peixes de cultivo, auxiliando no sistema imunológico de peixes, conforme sugerem alguns autores. DINIZ & HONORATO (2012) recomendam, por exemplo, a utilização de dieta suplementada com níveis adequados de vitamina C, suplementação de cromo para preparação dos peixes para manejo e utilização de sal ou anestésico para diminuir os efeitos estressores de transporte em peixes.

CONCLUSÕES

O estresse por exposição ao ar no intervalo de uma hora constituiu-se em um fator estressante para juvenis de *P.brachyomus*, com alterações nos níveis de glicose, número de linfócitos, neutrófilos e monócitos e ainda na frequência respiratória dos peixes. Os resultados também mostram que o período de 24 horas não promoveu a completa recuperação e o retorno total à homeostasia nos animais expostos a esta condição estressante. Essas informações tornam-se relevantes ao passo que o conhecimento sobre as condições de Estresse e suas consequências na fisiologia das espécies auxilia no manejo de peixes, facilitando a escolha de medidas que minimizem tais impactos no cultivo, sendo portanto importantes para o piscicultor e para o desenvolvimento da aquicultura.

REFERÊNCIAS

- ABREU, JS., TAKAHASHI, LS., HOSHIBA, MA. URBINATI, EC; Biological indicators of stress in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after capture. **Braz. J. Biol.**, 69(2): 415-421, 2009.
- BALDISSEROTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada á piscicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2002.
- BILLER, J.D. BENDHACK; F.; TAKAHASHI, L.S.;URBINATI, E.C., Stress responses in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submitted to repeated air exposure. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 30, n.1, p.89-93, 2008.
- CYRINO, J.E.P.; PORTZ,L.; MARTINO, R.C.; Retenção de proteína e energia em juvenis de “Black bass” *Micropterus salmoides*. **Scientia Agricola**, v.57, n.4, p.609-616, 2000.
- CASTRO, F. J. **Relação parasito-hospedeiro entre pacu, *Piaractus mesopotamicus* e o ectoparasito *Dolops carvalhoi* (Lemos de Castro, 1949): respostas fisiológicas, morfofuncionais e do sistema imune não adaptativo do hospedeiro frente á infestação experimental**. 154f. Tese (Doutor em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, 2006.
- DINIZ, N. M.; HONORATO, C.A. Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo – Revisão. **Arq. Cienc. Vet. Zool.** Unipar, Umuarama, v.15, n.2, p.149-154, 2012.
- GALHARDO, L.; OLIVEIRA, R.; Bem-estar Animal: um Conceito Legítimo para Peixes? **Revista de Etologia**, v.8, n.1, p.51-61,2006.
- GOMES, L. C.; ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E. C.

Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.2, p. 283-290, 2003.

KUBTIZA, F. Panorama da Aquicultura. **Uma coleção de artigos sobre tilápia II**. v. 8 n. 45 p. 36-41,1998.

LIMA, C.; RIBEIRO, L. P. ; LEITE , R. C. ; MELO D. C.; Estresse em peixes, **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.30, n.3/4, p.113-117, 2006.

MARIANO, W. S.; OBA, E. T., SANTOS, L. R. B., FERNANDES M. N. Respostas fisiológicas de Jeju (*Hoplerthrinus unitaeniatus*) expostos ao ar atmosférico. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v.10. n.1 p.210-223, 2009.

MARIANO, W. S.; SORIA, S. F. P.; GARCIA, R. G., ZÁRATE-FÉLIX,M.; LOPES, F.; TOLETO, J. Roberto. S.; Metabolismo e Fisiologia de Tuvira, *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) submetidos á exposição ao ar atmosférico. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**. v.15, n.1, p.9-18, 2011.

OBA, E. T.; MARIANO, W. S., SANTOS, L. R. B. S.; Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. **Manejo e Sanidade de peixes em cultivo**. EMBRAPA Amapá, cap.8, p. 226-247, 2009.

PESSOA, N. O. **Avaliação cinética do sêmen de Pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) congelado em meio à base de água de coco em pó (acp-104®) ou ringer em três meios de ativação**. 44 f. Dissertação (Mestre em Ciências veterinárias) - Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, 2009.

SILVA, R. D.; ROCHA, L. O., FORTES, B. D. A. F.; VIEIRA, D.; FIORAVANTI, M. C. S. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. **Pesq. Vet. Bras**. v. 32, supl. 1, p.99-107,2012.

SILVEIRA, U. S.; LOGATO, P. V. R.; PONTES, E. C. P.; Fatores estressantes em peixes, **Revista Eletrônica Nutritime**, v.6, n.4, p.1001-1017, 2009.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. Hematologia de Peixes Teleósteos. **Villimpress Complexo Gráfico**, Ribeirão Preto, SP, Brasil, 2004.

TAVARES-DIAS, M.; ISHIKAWA, M. M.; MARTINS, M. L.; SATAKE, F.; HISANO,H.;PÁDUA, S. B., JERONIMO, G. T.; SÁ, A. R. S. Hematologia: Ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo. **Tópicos Especiais em Saúde e Criação Animal**. 1ª Ed. Pedro & João Editores, p.43-80, 2009.

WENDELAAR BONGA, S.E. The Stress Response in Fish. **Physiology Review**, v. 77,591-625,1997.