

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS

EFEITOS DA NATAÇÃO SUSTENTADA NO CRESCIMENTO,
NA DENSIDADE DE ESTOCAGEM E NA COMPOSIÇÃO CORPORAL
EM JUVENIS DE MATRINHÃ, *Brycon amazonicus*. ASPECTOS ADAPTATIVOS
E RESPOSTAS METABÓLICAS.

GUSTAVO ALBERTO ARBELÁEZ ROJAS

SÃO CARLOS - SP.
2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS

EFEITOS DA NATAÇÃO SUSTENTADA NO CRESCIMENTO,
NA DENSIDADE DE ESTOCAGEM E NA COMPOSIÇÃO CORPORAL
EM JUVENIS DE MATRINXÃ *Brycon amazonicus*. ASPECTOS ADAPTATIVOS
E RESPOSTAS METABÓLICAS.

GUSTAVO ALBERTO ARBELÁEZ ROJAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências, área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais.

SÃO CARLOS - SP.
2007

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

R741en

Rojas, Gustavo Alberto Arbeláez.

Efeitos da natação sustentada no crescimento, na densidade de estocagem e na composição corporal em juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus*. Aspectos adaptativos e respostas metabólicas / Gustavo Alberto Arbeláez Rojas. -- São Carlos : UFSCar, 2007.

149 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2007.

1. Bioquímica. 2. *Brycon amazonicus*. 3. Peixe - criação. 4. Condicionamento - adaptação. 5. Raceway -- desempenho. I. Título.

CDD: 574.192 (20^a)

Gustavo Alberto Arbelàez Rojas

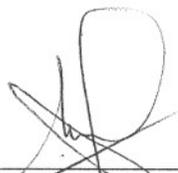
EFEITOS DA NATAÇÃO SUSTENTADA NO CRESCIMENTO, NA DENSIDADE DE ESTOCAGEM E NA COMPOSIÇÃO CORPORAL EM JUVENIS DE MATRINXÃ *BRYCON AMAZONICUS*. ASPECTOS ADAPTATIVOS E RESPOSTAS METABÓLICAS

Tese apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2007

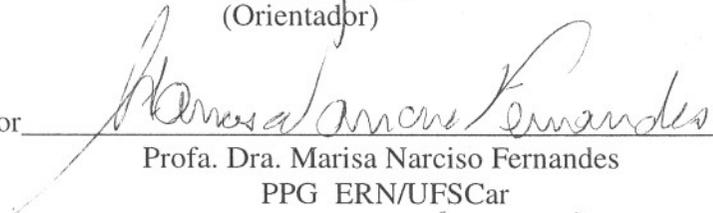
BANCA EXAMINADORA

Presidente



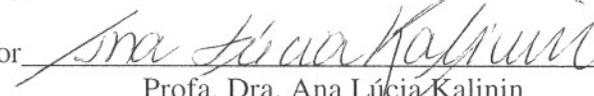
Prof. Dr. Gilberto Moraes
(Orientador)

1º Examinador



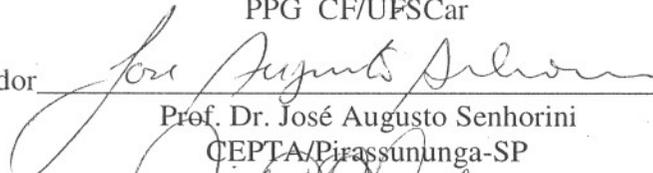
Profa. Dra. Marisa Narciso Fernandes
PPG ERN/UFSCar

2º Examinador



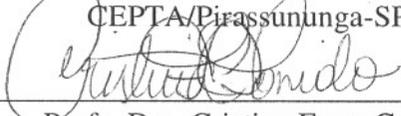
Profa. Dra. Ana Lúcia Kalinin
PPG CF/UFSCar

3º Examinador



Prof. Dr. José Augusto Senhorini
CEPTA/Pirassununga-SP

4º Examinador



Profa. Dra. Cristina Ferro Corrêa Toníolo
UNICEP/S. Carlos-SP

Orientador:

Prof.Dr. Gilberto Moraes

DEDICATÓRIA

À minha família;
Origem de minha vida ...
À minha Mãe, Olga Lúcia, que da forças e esperanças para um mundo
melhor para todos;
À meu Pai Abelardo, que confia em mim;
À minhas irmãs, Luz Elena, Clara Eugênia na luta pela vida;
À minha enamorada Heliana, que sempre acreditou em mim.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Gilberto Moraes pela orientação, pela sua infinita capacidade de transmitir e ensinar os conhecimentos de uma área difícil como a bioquímica, apóio e oportunidade dada a formação de minha pessoa,

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo,

A Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, por todo o apóio dado para a realização desta tese,

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Bioquímica Adaptativa, pela ajuda e troca de saber: Araceli, Ive, Lícia, Luciana, Luís, Rodrigo, Thiago Hori, Claucia, Lucas, Aruak, Graziela e Cássia.

Aos colegas do programa de pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, especialmente do departamento de Hidrobiologia.

Agradecimentos ao "Toninho" pela ajuda na montagem do experimento.

E especial agradecimento a minha enamorada Heliana pela ajuda na elaboração da tese.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	A espécie.....	3
2.2	Crescimento	5
2.2.1	Fatores que afetam o crescimento	9
2.2.2	Plasticidade muscular.....	13
	A importância da densidade de estocagem em sistemas de criação intensiva de peixes	14
2.3	Densidade de estocagem e interações sociais	18
2.3.1	Bem-estar animal.....	20
2.3.2	Densidade de estocagem e estresse	22
2.3.3	Efeitos da velocidade de natação sustentada em peixe	24
2.4	Respostas comportamentais associadas ao exercício moderado	25
2.4.1	Efeito da velocidade de natação sustentada no crescimento	27
2.4.2	Mudanças da composição corporal em relação à intensidade de natação dos peixes	33
2.4.3	Sistema Muscular.....	35
2.4.4	Músculo Vermelho e Branco	35
2.4.5	OBJETIVOS	39
3.	MATERIAL E MÉTODOS	40
4.	Experimento da fase um: variação da velocidade de natação sustentada em juvenis de matrinxã <i>Brycon amazonicus</i>	40
4.1	Instalações e coleta de material biológico	40
4.1.1	Delineamento experimental	40
4.1.2	Biometrias.....	43
4.1.3	Coleta de material biológico	44
4.1.4	Experimento da fase dois: variação da densidade de estocagem associada à velocidade de natação sustentada em juvenis de matrinxã <i>Brycon amazonicus</i> ..	45
4.2	Procedimentos analíticos	46
4.3	Parâmetros hematológicos	46
3.1	Hematócrito - (Hct)	46
4.3.1.1	Hemoglobina (Hb).....	47
4.3.1.2	Contagem das células vermelhas (RBC)	47
4.3.1.3	Volume corpuscular médio (VCM)	47
4.3.1.4	Hemoglobina corpuscular média (HCM).....	48
4.3.1.5	Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM)	48
4.3.1.6	Parâmetros plasmáticos.....	48
4.4	Íons plasmáticos (Na ⁺ , K ⁺ e Cl ⁻).....	48
4.4.1	Proteína total.....	49
4.4.2	Aminoácidos.....	50
4.4.3	Amônia.....	50
4.4.4	Glicogênio.....	50
4.4.5		

4.4.6	Glicose.....	51
4.4.7	Piruvato.....	51
4.4.8	Lactato.....	52
4.4.9	Cortisol.....	52
4.4.10	Triglicérides.....	53
4.4.11	Ácidos graxos.....	53
4.4.12	Lipídios totais.....	54
4.5	Análise estatística.....	55
5.	RESULTADOS	56
5.1	Experimento fase Um: variação da velocidade de natação sustentada	56
5.1.1	Crescimento.....	56
5.1.1.1	Índice de uniformidade.....	57
5.1.2	Hematologia.....	58
5.1.3	Composição corporal.....	59
5.1.4	Parâmetros do balanço iônico (Na ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻).....	60
5.1.5	Intermediários metabólicos do plasma	61
5.1.6	Respostas metabólicas do fígado	62
5.1.7	Respostas metabólicas do músculo branco	62
5.1.8	Respostas metabólicas do músculo vermelho	63
5.1.9	Respostas metabólicas do músculo ventral	64
5.2	Experimento fase dois: Densidade de estocagem associada à velocidade de natação sustentada.....	78
5.2.1	Crescimento	78
5.2.2	Respostas hormonais e metabólicas à densidade de estocagem e ao exercício de natação sustentada	80
6.	DISCUSSÃO	87
6.1	Experimento fase um: variação da velocidade de natação sustentada	87
6.1.1	Crescimento.....	87
6.1.2	Índice de uniformidade.....	89
6.1.3	Hematologia.....	90
6.1.4	Composição corporal.....	92
6.1.5	Balanço iônico	94
6.1.6	Metabolismo intermediário	96
6.1.7	Dinâmica do perfil de lipídios.....	96
6.1.8	Dinâmica do perfil protéico	102
6.1.9	Dinâmica do perfil de carboidratos	107
6.2	Experimento fase dois: Densidade de estocagem associada à velocidade de natação sustentada	112
6.2.1	Crescimento	112
6.2.2	Respostas metabólicas	115
6.2.3	Respostas hormonais	117
7.	CONCLUSÃO.....	123
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	126

LISTA DE FIGURAS

1.	Modelo simplificado de crescimento em peixes.....	12
2.	Desenho dos tanques experimentais e do sistema de recirculação.....	42
3.	Peso médio inicial e final (media \pm DP) de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> , submetidos a diferentes níveis de exercício sustentável: 0.0, 1.0, 1.5, 2.0 e 2.5 cc/seg (comprimento corporal/seg).....	57
4.	Valores médios (\pm DP) de hematócrito, hemoglobina e eritrócitos de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetidos a diferentes velocidades de natação.....	59
5.	Valores médios (\pm DP) de sódio, cloreto e potássio de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetidos a diferentes velocidades de natação.....	62
6.	Perfil glicídico do plasma de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação..	68
7.	Perfil protéico no plasma de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação..	69
8.	Perfil glicídico do fígado de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação..	70
9.	Perfil protéico do fígado de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação..	71
10.	Perfil lipídico do fígado de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação..	72
11.	Perfil glicídico do músculo branco de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação	73
12.	Perfil protéico do músculo branco de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação	74
13.	Perfil lipídico do músculo branco de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação	74
14.	Perfil glicídico do músculo vermelho de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação	75
15.	Perfil protéico do músculo vermelho de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação.....	76
16.	Perfil lipídico do músculo vermelho de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação.....	77
17.	Perfil lipídico do músculo ventral de juvenis de matrinxã,	

	<i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação.....	78
18.	Peso médio (\pm DP) final de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> criados em diferentes densidades de estocagem e sob exercício moderado.....	79
19.	Concentração plasmática de: a)cortisol; b)glicose e c)glicogênio hepático, em juvenis de matrinxã criados em diferentes densidades de estocagem e sob exercício moderado.....	82
20.	Concentração de amônia no plasma a), fígado b) e aminoácidos no fígado c) em juvenis de matrinxã criados em diferentes densidades de estocagem e sob exercício moderado.....	84
21.	Concentração de ácidos graxos no fígado a), triglicérides no plasma b), e músculo branco c) em juvenis de matrinxã criados em diferentes densidades de estocagem e sob exercício modeado.....	86
22.	Mapa metabólico e as possíveis rotas dos intermediários metabólicos nos diferentes tecidos dos juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação.....	111

LISTA DE TABELAS

1. Efeitos da velocidade da água na uniformidade, ganho em peso, fator de condição, conversão alimentar e na taxa de crescimento específico em juvenis de matrinxã.(media±DP)..	58
2. Composição corporal proximal (peso úmido) de juvenis de matrinxã submetidos a diferentes níveis de exercício sustentáve.....	61
3. Perfil metabólico de juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> submetido a diferentes velocidades de natação..	66
4. Efeitos do exercício de natação sustentada na uniformidade, ganho em peso, fator de condição, conversão alimentar e taxa de crescimento específico em juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i> criados em diferentes densidades de estocagem (media ± DP).....	80

RESUMO

Rápido crescimento em altas densidades de estocagem determina a produtividade e a rentabilidade de sistemas de aquicultura intensiva e são desafios de pesquisadores e de produtores. O matrinxã, *Brycon amazonicus*, é um Characiforme do neotrópico que exhibe alta taxa de crescimento, carne de excelente qualidade, fácil adaptação a dietas artificiais e alto retorno econômico. A espécie é riofílica, exigente em qualidade da água ocorre em habitats de corredeira, por seu formato fusiforme e exibir uma plasticidade biológica o que possibilita sua adaptar-se à piscicultura intensiva, apresenta amplo potencial para estudos direcionados ao crescimento em condições de exercício sustentado e em altas densidades de estocagem. Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos da natação sustentada no crescimento, na densidade de estocagem e na composição corporal, assim como avaliar as respostas metabólicas e alguns aspectos adaptativos (forma e função) em juvenis de matrinxã, submetidos a velocidades crescentes de natação e a diferentes densidades de estocagem associadas ao exercício contínuo de longa duração. Para investigar os efeitos das velocidades de natação, cem juvenis de matrinxã com peso e comprimento médio inicial de $33,33 \pm 0,95$ g e $13,44 \pm 0,10$ cm, respectivamente, foram estocados em cinco caixas de fibra de vidro de 250 L^{-1} e submetidos a nadar a cinco velocidades da água: 0,0; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 cc/seg (comprimento corporal por segundo) durante 90 dias. Na segunda fase, 210 juvenis de matrinxã peso e comprimento médio de $18,44 \pm 0,1$ g e $12,33 \pm 0,5$ cm, respectivamente, foram distribuídos em dois grupos: um grupo de peixes foi forçado a nadar a uma velocidade de 1,0 cc/seg e estocado em três densidades (88, 176 e 353 peixes/m^3), em tanques circulares de 250 L^{-1} . O segundo grupo de peixes foi submetido às

mesmas condições de densidade, mas sem exercício forçado por um período de 70 dias. A velocidade da água afetou o crescimento em ambos experimentos, no primeiro experimento, as maiores taxas de crescimento foram observadas nos peixes que nadaram entre 1,0 e 1,5 cc/seg, sendo o peso destes peixes 20% maior ao grupo controle e ao grupo que nadou na maior velocidade da água (2,5 cc/seg). No segundo experimento, o maior crescimento e sobrevivência foi observado no grupo de peixes exercitado e estocado na média densidade (173 peixes/m³). As respostas bioquímicas e fisiológicas adaptativas elucidadas através das alterações dos intermediários metabólicos a nível plasmático e tecidual (fígado, músculo branco, vermelho) e dos parâmetros hematológicos, iônicos e hormonais dos juvenis de matrinxã criados em condições de diversas velocidades da água e em varias densidades de estocagem indicam que o matrinxã é uma espécie que responde bem ao estímulo do exercício e adapta-se bem ao confinamento em altas densidades sob natação sustentada.

ABSTRACT

Fast growth, followed by high stocking density set up productivity and profitability in aquaculture intensive systems. These are actually challenges for fish producers and researchers. Matrinxá, *Brycon amazonicus* is a Neotropical Characiform that presents high growth rates, good quality filet, easy adaptation to artificial diets, and good commercial values. It is a reofilic species, demands good waters, lives in rapids, shows a biological plasticity, which make it proper to intensive fish culture. It presents a good potential to studies on sustained exercise and under high stocking densities. Therefore, the present study was focused in the investigation of the swimming effects on growth, stocking density and body composition as well as in the evaluation of the metabolic responses and adaptive aspects in juvenile matrinxá submitted to increasing swimming speeds associated to long term sustained exercise.

To investigate the effects of swimming speeds, 100 juveniles of matrinxá with initial average weight and size of 33.33 ± 0.95 g and 13.44 ± 0.10 cm respectively were transferred to five fiber glass tanks under water speed of: 0.0; 1.0; 1.5; 2.0 and 2.5 BL/sec (body length) for 90 days. In a second trial 210 juveniles of matrinxá with average length and size of 18.44 ± 0.1 g and 12.33 ± 0.5 cm respectively, were divided into two groups. One group was endured at 1BL/sec and stocked at three densities (88, 176 and 353 fish per m^3) in circular tanks of 250L; a second group of fish were endured the same density conditions but without exercise for 70 days.

The water speed affected the growth in both trials. In the first trial the highest growth rates were observed in fish that swam 1 and 1.5 BL/sec. The average weight was 20% higher than

control and than the highest water speed (2.5 BL/sec). In the second trial the highest growth and survival were observed in the exercised group and stocked in the average density. The adaptive responses biochemical, physiological observed through the intermediary metabolites in plasma and tissues (liver, white muscle and red muscle), hematological parameters, ions, hormonal, in the juveniles of matrinxa under several water speed and several stock densities indicate that matrinxa is a fish species well responsive to exercise stimulus, and adapts easily to confinement at high stock densities.

1. INTRODUCAO

A aqüicultura é uma atividade que está em pleno desenvolvimento, expandindo-se e intensificando-se em muitos lugares do mundo. A produção extrativista de pescado aparentemente tem se mantido equilibrada e em muitas áreas de pesca atingiu seu potencial máximo, por fatores que incluem demanda exponencial por parte de uma população cada vez maior, desenvolvimento de equipamentos de pesca cada vez mais aprimorados, degradação ambiental e mudanças climáticas. O fornecimento sustentável de peixes de captura atualmente não é capaz de atender à crescente demanda global por alimentos de origem aquática (FAO, 2006). Neste sentido, a necessidade de desenvolver tecnologias que viabilizem a produção de espécies nativas em regime intensiva com base na preservação do meio ambiente e no desenvolvimento social são desafios a vencer por parte de aqüicultores e pesquisadores ligados ao setor.

Na aqüicultura intensiva, a densidade de estocagem é um importante fator que determina a biomassa final e a viabilidade econômica do sistema de produção. No entanto, o desenvolvimento de rações completas de alta densidade em nutrientes para cada fase de vida animal, aliado ao aperfeiçoamento de equipamentos para aqüicultura, faz com que as taxas de estocagem de peixes sejam cada vez mais altas nos sistemas de criação. Em princípio, essa opção promissora que maximiza uso da água e do espaço, tem se mostrado uma fonte de estresse crônico com efeitos deletérios na alimentação, crescimento e alteração de uma ampla gama de processos bioquímicos e fisiológicos nos peixes, além de interações comportamentais antagonistas (KESTEMONT & BARAS, 2001; URBINATI & CARNEIRO, 2004).

Um dos problemas na piscicultura é a variação de tamanho entre indivíduos. As razões para a variabilidade em tamanho são

normalmente devidos a práticas de manejo inapropriadas como densidades de estocagem inadequadas, alimentação restrita, diminuição do tempo de alimentação ou distribuição não uniforme do alimento no sistema, chegando a afetar o crescimento e a composição corporal (JOBILING, 2001; KUBITZA, 2006).

O conhecimento da composição corporal assim como o perfil metabólico dos peixes e dos fatores que modulam o crescimento são importantes indicadores do bem estar do peixe já que refletem o histórico de vida do animal em relação a seu status alimentar, ao bem estar do animal e as condições de manejo entre outros. Além disso, permitem fazer inferências que possam levar a modificações nos procedimentos de manejo que resultem em melhor performance do crescimento (SHEARER, 1994).

Sabe-se que durante o ciclo de vida dos peixes, a maior taxa de crescimento é observada na fase de larva a juvenil, sendo este processo mais acentuado nos músculos natatórios e caracterizado por alta eficiência de deposição protéica, podendo atingir 70 % de eficiência, ao passo que, no corpo inteiro este índice pode variar entre 40-50%. Efeitos substanciais de exercício moderado nos músculos dos peixes podem ainda exacerbar estas respostas orgânicas estimulando tanto o aumento de proteína corporal (crescimento), como melhorar a eficiência de deposição de proteína corporal (JOBILING, 1993, DAVISON, 1997; BUGEON et al., 2003; HACBARTH & MORAES, 2006).

A escolha do matrinxã (*Brycon amazonicus*) deve-se primariamente ao fato de exibir um modelo corporal hidrodinâmico (forma de torpedo), à ecologia do habitat da espécie (corredeiras) e ao comportamento migratório de reprodução, os quais fazem dele um modelo ideal em pesquisas de exercício moderado em peixes. Além de sua grande importância comercial para a aquicultura brasileira, conta-se ainda com seu hábito alimentar onívoro, boa conversão alimentar, fácil adaptação ao cativeiro e

rápido crescimento apesar de seu comportamento agressivo, isto é, é bastante sensível a práticas de manejo, sobretudo, quando é colocado em espaços reduzidos e se perturbado, pode realizar movimentos fortes e chegar a debater-se contra as paredes das caixas que podem ocasionar-lhe estresse, perda de muco, escamas e ferimentos que podem facilitar a instalação de doenças e prejuízo econômico ao produtor. (SAINT-PAUL, 1986; VILLACORTA-CORREA, 1987; INOUE et al., 2003).

Portanto, as respostas comportamentais, bioquímicas e fisiológicas de juvenis de *B. amazonicus*, quando forçados a nadar em velocidades moderadas, podem mostrar uma melhora de rendimento das diferentes características zootécnicas, bem como gerar conhecimento mais profundo sobre a biologia da espécie que permita o aperfeiçoamento e desenvolvimento de tecnologia em sistemas de criação intensiva.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A ESPÉCIE

O matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz, 1829) anteriormente foi catalogado como *B.cephalus*, no entanto, em recente revisão, LIMA (2003) constatou que a espécie *B.cephalus* somente ocorre no alto rio Amazonas no Peru e na Bolívia. De acordo com HOWES (1982), a distribuição da espécie *B. amazonicus* é restrita às bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia. Foi descrita com ampla distribuição em toda a bacia Amazônica, Prata e São Francisco (GOULDING, 1980; 1981). O gênero *Brycon* é considerado um dos mais numerosos gêneros de characiformes neotropicais, contando mais de 43 espécies nominais, as quais, distribuem-se pela América Central e América do Sul. Algumas destas espécies

muito promissórias para a piscicultura, entre as quais destaca-se o matrinxã, *B. amazonicus*.

O matrinxã tem um porte médio podendo atingir um peso de 5 kg, um comprimento de 50 cm e um período de vida curto de 3,5 anos na natureza (SAINT-PAUL, 1986; VILLACORTA-CORREA, 1987). Geralmente apresenta uma coloração oliváceo-dourada e as nadadeiras caudal e anal avermelhadas, além de uma mancha em forma crescente, que começa na base da nadadeira caudal e não ultrapassa o início anal (SAINT-PAUL, 1986; FERREIRA, 1988). Os lagos de várzea e as florestas alagadas são as áreas de criação das larvas e alevinos desta espécie, onde ficam alimentando-se (ZANIBONI, 1985; LEITE, 2004). É uma espécie oportunista que possui um amplo espectro alimentar, completa seu desenvolvimento na floresta inundada aproveitando eficientemente o alimento disponível (frutos, sementes, flores, zooplâncton, restos de peixes e insetos principalmente) e depositando e acumulando grandes reservas lipoprotéicas para fins reprodutivos e de sobrevivência na época seca (PIZANGO-PAIMA, 1997; LEITE, 2004). Apresenta, porém, menos de 29 rastros branquiais no primeiro arco branquial. Essa característica morfológica indica baixa capacidade de utilizar fito e zooplâncton na sua alimentação, pois seus rastros branquiais são mais grossos, em menor número e mais espaçados (FIM, 1995). É uma espécie reofílica que prefere as águas limpas e bem oxigenadas de igarapés, onde passa uma parte de seu ciclo de vida crescendo e desenvolvendo suas gônadas, para depois de algum tempo descer até o encontro das águas dos rios Solimões e Negro para desovar (ZANIBONI, 1985; VILLACORTA CORREA, 1987).

Uma das principais características que determinam se uma espécie tem potencial para aquicultura é a taxa de crescimento, a performance de produção sob condições de cativeiro e o rendimento em filé (PILLAY, 1993). O matrinxã é uma espécie que se ajusta e

atende as exigências tanto do aqüicultor como do processador. Em condições de cativeiro, pode alcançar de 0,7 a 1 kg no primeiro ano de vida e na hora do abate e processamento pode apresentar 51,85 % de rendimento de filé sem pele com carne saborosa (GRAEF, 1995; VILAS BOAS, 2001). Devido à alta taxa de crescimento, do amplo espectro alimentar e da fácil adaptação a rações artificiais consegue digerir bem as proteínas, tanto de origem animal como de vegetal. É inclusive considerada a "truta de água quente" devido à fácil adaptação às altas densidades de estocagem (CYRINO, 1986; ARBELAÉZ-ROJAS et al, 2002; URBINATI & CARNEIRO, 2004; BRANDÃO et al., 2005). Por ser do gosto do consumidor, de muita procura para pesca desportiva nos pesqueiros da região do estado de São Paulo e ter significativo valor comercial (VILLACORTA CORREA, 1987; HONCZARYK, 1994; SCORVO FILHO & MARQUES, 1998; ZANIBONI-FILHO et al., 2006), esta espécie exibe um modelo biológico muito adaptável e promissório a ser considerado em pesquisas voltadas a estudar os efeitos do exercício de natação sustentada no desempenho de crescimento e viabilizar a adoção de novas técnicas que possam otimizar sua criação intensiva.

2.2 Crescimento

O crescimento pode ser definido como o aumento em tamanho (largura, altura e comprimento da massa corporal). Conseqüentemente, deve-se considerar o crescimento como um aumento na massa dos tecidos estruturais e órgãos, acompanhado por uma mudança na forma ou composição resultante do crescimento diferencial das partes que compõem o corpo do indivíduo (ELIAS, 1998). A produção de peixes com maior rendimento em filé é um objetivo comum tanto da indústria processadora de pescado como da aqüicultura, que estão interessadas em maximizar seus sistemas de produção para um produto de ótima qualidade e com retorno

econômico atraente (SHEARER, 1994). Para eles, o conceito de crescimento é definido antes de tudo, como a deposição de proteína, isto é, aumento da massa em proteína em um intervalo de tempo dado e em função da quantidade e qualidade do alimento assimilado pelo peixe. Para que isso ocorra, o crescimento como produto resulta de um processo que demanda energia e representa uma grande porção da energia total consumida pelo animal (JOBLING, 1985; WIESER, 1994; ARAÚJO-LIMA, & GOULDING, 1998). Para obter o máximo crescimento em peso, os peixes jovens devem consumir dietas que contenham mais da metade dos ingredientes em proteína. A alta exigência em proteína nas fases iniciais de crescimento é devido ao aumento expressivo na taxa de síntese de proteína na maior parte dos tecidos corporais e também por causa de seu alto *turnover* metabólico (WEATHERLEY e GILL, 1989; HOULIHAN et al., 1995), isto é, a contínua quebra e reposição de proteínas, a qual provê um fluxo necessário para a regulação e adaptação metabólica. Além disso, uma porção dos aminoácidos teciduais (1% do total de aminoácidos corporais) apresenta-se na forma livre, o *turnover* fornece mecanismos pelo qual acontece a re-alocação contínua dos aminoácidos entre as proteínas essenciais para crescimento. A deposição de proteína é o resultado da diferença entre as taxas intracelulares de síntese e degradação protéica. No início do desenvolvimento, a taxa anabólica é bem maior que a taxa catabólica, e há crescimento do tecido muscular. Porém, à medida que o peixe se torna adulto, a razão entre o processo anabólico e catabólico tende a diminuir e o tecido pára de crescer (PEARSON & YOUNG, 1989). A síntese de proteína é um processo central no crescimento de larvas e peixes jovens, mas também tem um impacto devido a seu alto custo energético que pode representar mais de 40% da energia ingerida pelo organismo (PEDERSEN, 1997; CONCEIÇÃO et al., 1997; CONCEIÇÃO et al., 1998).

Em algumas espécies de animais, como os peixes, o crescimento do tecido muscular estriado, no período pós-embrionário, ocorre tanto pela hipertrofia das fibras quanto pelo aumento do número de fibras, processo conhecido como hiperplasia (GOLDSPINK, 1972; DAL PAI-SILVA et al., 2005). Ao passo que o crescimento do tecido muscular nos mamíferos ocorre pela formação de novas fibras musculares (hiperplasia muscular), e é limitado às fases iniciais de desenvolvimento. No entanto, no período pós-natal, ocorre predominantemente por hipertrofia das fibras musculares mais do que por qualquer aumento no número de fibras.

O músculo estriado possui alta plasticidade podendo alterar suas características morfológicas, metabólicas e funcionais, em resposta a mudanças na atividade neuromuscular. Os fatores que modulam estas respostas estão na dependência do estado nutricional, da idade, dos programas de treinamento ou de condições patológicas. Essas adaptações qualitativas e quantitativas podem alterar as propriedades fisiológicas do músculo para satisfazer melhor a nova demanda funcional (DAL PAI-SILVA et al., 2005). A hipertrofia muscular pode ocorrer fisiologicamente como resposta a um aumento da duração e intensidade do exercício, ou pode ser induzida pela ação de hormônios de crescimento (WEATHERLEY & GILL, 1989).

A taxa de crescimento expressa a velocidade com a qual os peixes ganham peso ao longo de um determinado intervalo de tempo. Geralmente, na maioria dos peixes a taxa de crescimento relativa (taxa de crescimento específica) é alta em exemplares menores, e então diminui exponencialmente, assim como o animal aumenta em tamanho. Ou seja, em relação a seu peso, o crescimento dos peixes é muito rápido durante as fases larval e juvenil. Taxas de crescimento da ordem de 40% por dia (aumento em peso) ou maiores, podem ser atingidas por larvas ainda com saco vitelino, que exibem maior concentração e intensa atividade de RNA (CARTER &

HOULIHAN, 2001). Ao passo que, juvenis atingem taxas de crescimento em torno de 3,3%/dia (BARLEY, 1988). Já exemplares adultos crescem menos de 0,16%/dia (PETRERE Jr, 1983b, ISAAC, RUFFINO, 1996). No entanto, a taxa de crescimento diminui à medida que o animal aumenta em peso, de modo que um peixe de 1 kg geralmente cresce menos de 1% ao dia (HEPHER, 1993). A taxa de crescimento dos peixes, como da maioria dos animais, descreve uma curva sigmóide assimétrica (VON BERTALANFFY, 1938 *apud*. SODERBERG, 1997), formada por três fases: a primeira fase é caracterizada por um crescimento exponencial que começa no momento da eclosão da larva até o estado de juvenil. Na seguinte, o crescimento é relativamente linear. Já na última fase, a taxa de crescimento desacelera e aumenta a taxa de degradação das proteínas, diminuindo pronunciadamente a deposição de proteína corporal, e a curva de crescimento torna-se praticamente paralela ao eixo das abscissas (crescimento assintótico) (AGUIAR et al., 1995). Nesta fase, o peixe atinge sua maturidade envolvendo mudanças endógenas (aumento de vísceras e gordura celomática) causadas pelo desvio da energia para o desenvolvimento de gônadas, desova e outras atividades relacionadas à maturidade sexual (VILAS BOAS, 2001), as quais afetam o crescimento. Além disso, nessa fase, o animal tem baixa eficiência alimentar, tornando o ganho de peso extremamente oneroso, isto é, do total de energia ingerida do alimento pelo peixe, a maior parte é desviada e utilizada para atender as demandas metabólicas de manutenção. E muita pouca energia fica disponibilizada para o crescimento (FAUCONNEAU, 1985; MILLWARD, 1989; SODERBERG, 1997). Outra evidência que reforça o declínio da taxa de crescimento na fase adulta dos peixes é apontada por PAULY (1981). Esse autor argumenta que os peixes não têm grandes depósitos de oxigênio e que a taxa de crescimento da área superficial das brânquias é menor do que a taxa de crescimento em peso corporal, isto é, a

área superficial relativa da brânquia diminui quando os peixes aumentam em tamanho. Portanto, segundo esse autor, o oxigênio seria o fator primário que limitaria o crescimento dos peixes mais do que o fornecimento de alimento na fase adulta.

2.2.1 Fatores que afetam o crescimento

O principal propósito da piscicultura é o crescimento rápido e uma boa eficiência alimentar dos peixes. Para que isso ocorra, é importante que os peixes recebam uma ração de qualidade e que os fatores ambientais sejam mantidos dentro de níveis ótimos, considerando-se que o crescimento é controlado por vários fatores bióticos. Portanto, é importante conhecer quais os fatores bióticos e abióticos que afetam o crescimento a fim de se garantir uma maior taxa de crescimento (BALDISSEROTTO, 2002).

O crescimento dos peixes, assim como, na maioria dos animais terrestres é um processo complexo pelo qual a energia ingerida é convertida em biomassa. A eficiência dessa conversão é regulada pelo potencial genético de crescimento do organismo e por seu status trófico. De acordo com alguns autores (MOYLE & CECH, 1988; HEPHER E PRUGININ, 1991; WOOTTON, 1992) a magnitude da taxa de crescimento dos peixes pode ser afetada por diversos fatores quer sejam, bióticos ou abióticos. Os fatores abióticos são representados por um complexo de variáveis ambientais que mudam conforme a sazonalidade do local afetando a qualidade da água e a temperatura principalmente. No tocante à qualidade da água a presença de substâncias tóxicas (xenobióticos) provenientes de fontes externas, como herbicidas, praguicidas e efluentes de fábricas tampouco podem ser descartadas visto que, impõem demanda extra de energia ao peixe a fim de restabelecer a sua homeostase e conseqüentemente diminui a sua taxa de crescimento (CARTER & HOULIHAN, 2001). O crescimento dos peixes também é fortemente dependente de fatores nutricionais (qualidade, quantidade,

freqüência alimentar e tipo de alimento) manejo (classificação, adensamento, transporte) e interações sociais (encontros antagonistas). Por outro lado, os fatores bióticos também agem sobre o organismo do indivíduo, afetam significativamente o crescimento, e dependem do genótipo, da condição fisiológica do peixe, do sexo e principalmente do tamanho.

Alguns hormônios como o hormônio do crescimento (GH), os hormônios tireoidianos: triiodotironina-T₃, tiroxina-T₄, o IGF-1 (insulin-like growth factor) também desempenham papel importante na regulação e estimulação do crescimento (estimuladores da divisão e diferenciação celular), promovendo maior consumo de alimento (apetite) e melhor eficiência na conversão alimentar (razão do consumo de alimento e aumento em peso). Atuam em diversos níveis na síntese protéica (WEATHERLEY & GILL, 1989; URBINATI & CARNEIRO, 2004), promovendo a captação e acúmulo de aminoácidos nos tecidos, aumentando a taxa de síntese e dos diversos tipos de RNA (ao exercer influência nos mecanismos de transcrição). Em nível celular, atuam estimulando a síntese e liberação de insulina e prolactina (WEATHERLEY & GILL, 1989).

Se desse para medir todos os fatores que afetam o crescimento dos peixes em um determinado momento, isso poderia ser através de modelo matemático, tal como o desenvolvido por VON BERTALANFFY, (1938). PAULY (1979), com base nos trabalhos de VON BERTALANFFY publicados nos anos 1938 e 1951, *apud*. SODERBERG (1997), sintetiza que a curva de crescimento de Von BERTALANFFY foi desenvolvida com base na suposição de que o crescimento de um organismo é o resultado líquido de dois processos contínuos e opostos que ocorrem simultaneamente nos tecidos corporais dos peixes (taxa de anabolismo e catabolismo), e que ambos se relacionam alométricamente com o tamanho do peixe. A equação de

VON BERTALANFFY é como segue: $\frac{dw}{dt} = Hw^n - Kw^m$ sendo, dw/dt : a taxa

de crescimento; w : o peso corporal e H e K : são os coeficientes do anabolismo do e catabolismo, respectivamente (AGUIAR et al., 1995).

A composição total da alimentação de um peixe nas primeiras fases da vida esta representada significativamente por proteína, que é assimilada e digerida e reduzida a aminoácidos que por sua vez passam a formar o "pool" de aminoácidos. Parte destes aminoácidos são metabolizados e a energia quimicamente obtida é utilizada para a síntese de novas proteínas. Simultaneamente, junto a este processo, ocorre degradação contínua de proteínas de origem endógena ou exógena. A síntese de compostos orgânicos, principalmente proteínas, é limitada pela taxa de renovação do "pool" de aminoácidos e pela quantidade de oxigênio necessário para a oxidação dos alimentos. O fornecimento ótimo de oxigênio dá como resultado uma síntese máxima de proteínas enquanto que, uma deficiência no fornecimento de oxigênio limitará sua taxa de síntese, e parte dos aminoácidos do "pool" serão excretados na forma de amônia, principalmente pelas brânquias, com a conseqüente perda de energia e diminuição do crescimento (AGUIAR et al., 1995) (Figura 1).

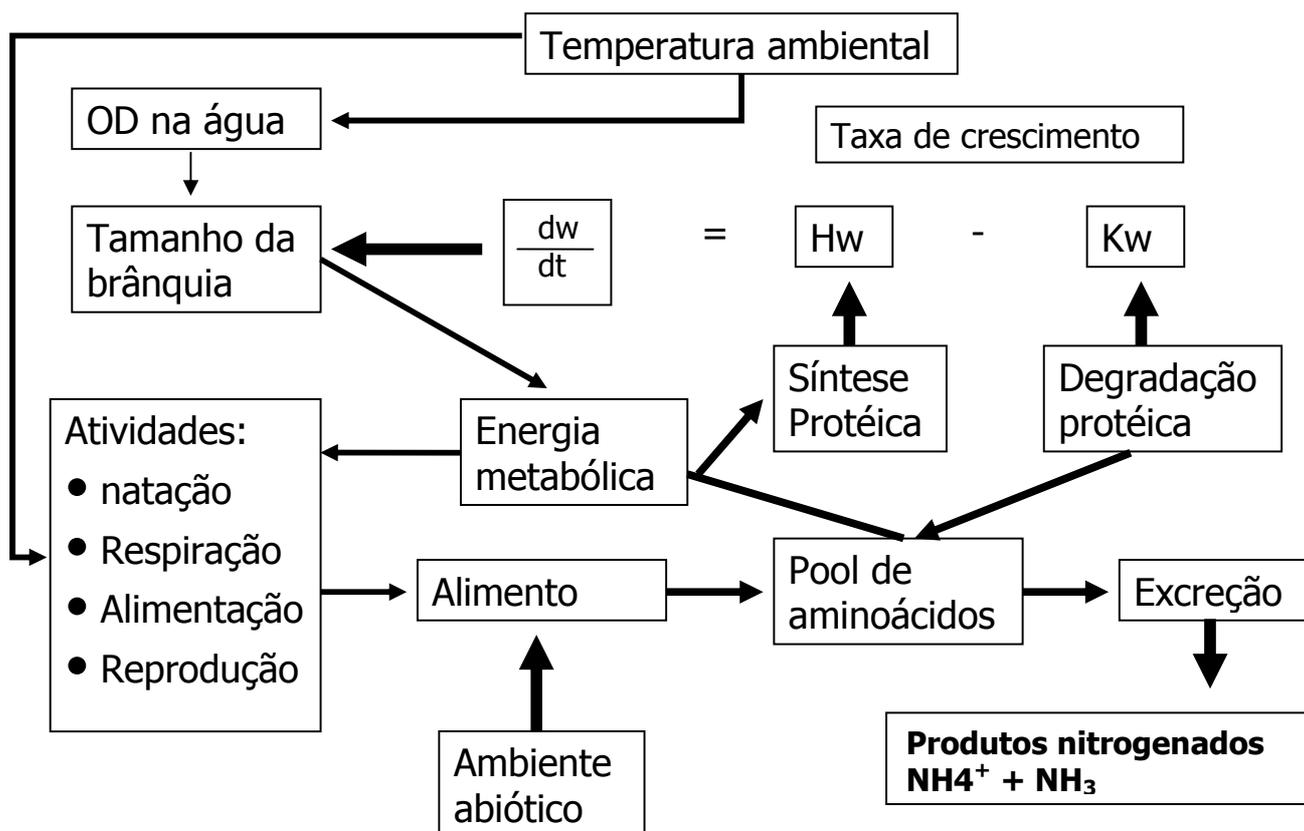


Figura 1. Modelo simplificado do crescimento em peixes.

Conforme aumenta o tamanho das brânquias, a quantidade de oxigênio que penetra no corpo do peixe por unidade de tempo aumenta. Porém, o peso corporal aumenta mais rapidamente que a superfície da brânquia. Logo, o fornecimento de oxigênio por unidade de peso corporal diminui conforme o peso aumenta, resultando em uma diminuição na energia metabólica. Por outro lado, a taxa de degradação de proteína por unidade de tempo aumenta proporcionalmente com o peso e o crescimento do peixe e atinge um ponto no qual a síntese de proteína quase se equipara à degradação, adquirindo uma forma assintótica na curva de crescimento. Sendo assim, o anabolismo é proporcional à taxa respiratória, e por sua vez, a taxa respiratória é proporcional à superfície branquial. Então, de fato o anabolismo é proporcional

à superfície branquial pela qual o oxigênio é absorvido e conseqüentemente, o crescimento se vê fisiologicamente limitado pela superfície da branquial (VON BERTALANFFY, 1957; PAULY, 1979). De acordo com esta teoria, GOMIERO (2005) observou que a piracanjuba, *Brycon orbignyianus* apresenta maiores taxas de crescimento em comprimento e largura da cabeça do que em comprimento padrão e altura do corpo. Isso pode indicar que de fato há uma extrema necessidade do desenvolvimento acelerado da cabeça e principalmente de estruturas anexas como a brânquia a fim de atender a grande demanda de oxigênio pela intensa atividade do anabolismo nas primeiras fases de vida dos peixes.

2.2.2 Plasticidade muscular.

O crescimento do tecido muscular nos peixes ocorre pela associação dos processos de hipertrofia e hiperplasia das fibras musculares. Esse fato permite evidenciar fibras musculares com diferentes diâmetros em alguns períodos do crescimento, por um período permanente ou na dependência da sazonalidade (CARPENE & VEGGETTI, 1981; ROWLERSON et al., 1995). A análise da celularidade muscular, representada pelo número e tamanho das fibras musculares, é variável entre as espécies, e está na dependência da ação de fatores ambientais, tais como dieta, exercício, luz e temperatura (JOHNSTON, 1999).

De acordo com a literatura, a contribuição dos processos hipertrófico e hiperplástico no crescimento do tecido muscular nas diferentes espécies de peixes é ainda assunto de muitas controvérsias (CARPENÈ et al., 1983; STICKLAND et al., 1988; VIEIRA & JOHNSTON, 1992; BROOKS & JOHNSTON, 1993). Assim, o conhecimento efetivo da ação dos fatores que influenciam os mecanismos de crescimento do tecido muscular nos peixes é de grande interesse biológico e possui um significado prático nas pesquisas em aquicultura, cujo interesse é que o crescimento

verdadeiro seja devido principalmente à deposição de proteína e não ao acúmulo de lipídios ou água.

Os estudos sobre crescimento do tecido muscular têm mostrado que os mecanismos hiperplástico e hipertrófico podem ser regulados independentemente, na dependência da espécie e da fase de crescimento considerada. Assim, no salmão, em fase juvenil, a hiperplasia foi mais acentuada durante o crescimento rápido, enquanto que a hipertrofia mostrou-se predominante durante o crescimento mais lento (HIGGINS & THORPE, 1990). Por outro lado, um estudo pós-larval de truta mostrou um crescimento rápido do tecido muscular por hipertrofia das fibras, sendo mais lento pelo processo de hiperplasia (KIESSLING et al., 1991).

Ao contrário da maioria dos vertebrados, que atingem um tamanho máximo, não ultrapassado até mesmo durante tempos de vida longos, os peixes parecem ter crescimento contínuo ao longo de suas vidas. As suas taxas de crescimento específico diminuem conforme a idade avança (se o suprimento alimentar não for limitante) e enquanto viverem (WEATHERLEY & GILL, 1987; WOOTTON, 1990).

2.3 A importância da densidade de estocagem em sistemas de criação intensiva de peixes

Uma das primeiras questões que devem ser aclaradas ao desenhar um sistema de criação intensivo de peixes é o número de exemplares que pode conter um tanque (capacidade de suporte). O número de peixes e sua biomassa (número de indivíduos num determinado espaço ou área) definem as taxas de alimentação, a partir das quais se desenhará a engenharia do sistema (TIMMONS, 2000). A capacidade de suporte do ponto de vista ecológico é definida como o número máximo possível de indivíduos que os recursos de um habitat particular podem sustentar (WOOTTON, 1992). Na criação de peixes em condições de cativeiro, o termo

capacidade de suporte refere-se à quantidade e qualidade da água que há na unidade de produção. No entanto, há dois aspectos que devem ser levados em conta quando se considera a capacidade de suporte sob condições de criação intensiva de peixes. Um é baseado no fluxo ou vazão de água normalmente expressada como carga ou lotação de peixes (peso dos peixes/unidade de fluxo de água ou kg/L/seg) o outro é relacionado ao espaço que corresponde ao termo densidade expressado em kg ou número de peixes/m³. (CASTAGNOLLI, 1988). A capacidade de suporte de uma unidade de criação intensiva de peixes é determinada pela espécie, tamanho do peixe, qualidade e quantidade de água, taxa de consumo de oxigênio dos peixes, tolerância à amônia, a dióxido de carbono (CO₂) e densidade populacional. Isto é, das exigências de um peixe em particular por espaço físico (peso do peixe/unidade de volume de água).

A densidade de estocagem é definida como o número de peixes que podem ser criados por unidade de área ou volume. Seu estudo tem como objetivo esclarecer os níveis ótimos de produtividade por área/ volume de água (BALDISSEROTTO, 2002).

Tanto a densidade de estocagem (adensamento) quanto à carga de peixes (capacidade de suporte da água) são critérios biológicos altamente significativos para sistemas de criação intensiva devido a considerações econômicas direcionadas a maximizar tanto o uso da água como do espaço, o qual implica em se manter a densidade de estocagem próxima da capacidade de suporte sustentável (CASTAGNOLLI, 1988; WEDEMEYER, 1996). Em sistemas de criação intensiva, a biomassa que um determinado fluxo de água pode suportar é normalmente limitada primeiramente pelo metabolismo do peixe porque este determina a taxa de consumo de oxigênio e a produção de resíduos metabólicos. Isto é, pelos fatores primários que limitam a produção intensiva de peixes que são o oxigênio dissolvido, seguido da concentração de amônia

livre (NH_3) (BOYD, 1990). As exigências comportamentais por espaço são o segundo fator limitante. Embora a disponibilidade de espaço físico (volume) seja importante, isto não é limitante para o crescimento. No entanto, a disponibilidade de água de alta qualidade e o grande fluxo de água (vazão) necessária para fornecer oxigênio e diluir os resíduos do metabolismo são de vital importância (WEDEMEYER, 1996).

HELPER & PRUGININ (1991) corroboram ainda mais o enunciado anterior e assinalam que alguns fatores implicados na produção de peixes podem determinar o número de peixes/ m^3 que um sistema de criação pode sustentar. Estes fatores seriam os relacionados com o meio onde vivem os peixes: a) composição química da água; b) temperatura da água; c) concentração de metabólitos (produtos de excreção); d) oxigênio disponível; e) disponibilidade de alimento. Estes autores comentam que os fatores a e b não sofrem interferência pela presença dos peixes (não há controle sobre eles); os demais fatores (c, d, e) são consumidos ou produzidos pelos peixes. Sua concentração e, portanto, seus efeitos nos peixes serão influenciados pela densidade destes. Quando o fornecimento destes 3 fatores por unidade de volume (ou no caso dos metabólitos, a eliminação) for limitado e enquanto a densidade de estocagem for mais alta, menor será a quantidade de alimento e oxigênio aproveitado pelo peixe e maior será o acúmulo de metabólitos. No caso do oxigênio dissolvido e do alimento, o produtor de peixes pode adicionar alimento ou aplicar oxigênio dissolvido na água através de aeradores ou algum outro mecanismo, já a eliminação dos metabólitos (troca de água) requer um grande fluxo de água através do sistema de criação ou de um eficiente sistema de filtração biológica. Se estes fatores dependentes da densidade são contornados com sucesso, os peixes obterão seu máximo potencial de crescimento fisiológico por uma série de condições (composição química da água, temperatura da água,

características genéticas e estado fisiológico) (HELPHER & PRUGININ 1991).

Na aquicultura intensiva, a densidade na qual uma espécie pode ser estocada é um importante fator na determinação da viabilidade econômica. Uma densidade de estocagem maior permite menor custo de produção por peixe, desde que a taxa de crescimento e a taxa de sobrevivência sejam mantidas satisfatoriamente (BJORNSSON, 1994; OLIVEIRA et al., 2004). No entanto, na maioria de pesquisas que estudam os efeitos da densidade de estocagem até o momento, tem sido encontrada uma correlação inversa entre densidade de estocagem, taxa de crescimento e sobrevivência. Isto é, na medida em que o adensamento de peixes aumenta, há uma tendência de produzir indivíduos de tamanho heterogêneo com pesos médios menores, apesar de se ter maior biomassa na despesa e queda da taxa de sobrevivência, devido principalmente à deterioração da qualidade e confrontos sociais (PAPOUTSOGLOU et al., 1987; HOLM et al., 1990; HUANG & CHIU, 1997; CANÁRIO et al., 1998; EL-SAYED, 2002; CAVERO et al., 2003).

Para determinar tanto os níveis ótimos de produção por área em sistemas de criação intensiva assim como, o desenvolvimento de técnicas de manejo adequadas para uma espécie de peixe, é importante conhecer e compreender os fatores implicados e as interações que atuam na determinação da densidade de estocagem ideal. Dentro deste contexto, observa-se que a densidade de estocagem é extremamente variável dependendo da espécie, do tamanho (larva, alevino, juvenil e adulto) das exigências do mercado, do estado fisiológico, do sistema de produção empregado (tanques, viveiros, tanque rede, raceway) assim como, das condições ambientais como a temperatura, luz e taxa de alimentação (TRZEBIATOWSKI et al., 1981; PAPOUTSOGLOU et al., 1987; WALLANCE et al., 1988; HUANG & CHIU, 1997). No entanto o

tamanho, a forma dos tanques de criação e sua hidráulica são fatores muito importantes que também determinam a densidade de estocagem (CASTAGNOLLI, 1988).

WALLANCE et al., (1988) encontraram uma correlação positiva entre alta densidade e taxa de crescimento em *Salvelinus alpinus*. A hipótese sugerida foi de que a alimentação freqüente possibilitou a uma porção da população, que de outra maneira poderia experimentar menor crescimento, a alimentar-se mais e aumentar sua taxa de crescimento. Além disso, sugeriram que a alta densidade de estocagem estimulou o desenvolvimento do comportamento de aprendizagem e inibiu o desenvolvimento de comportamento agressivo (efeito cardume).

2.3.1 Densidade de estocagem e interações sociais

Com a intensificação da aqüicultura (aumento da densidade de estocagem), a maioria das atenções tem sido focalizada nos fatores populacionais, devido ao crescimento heterogêneo dos peixes. Isto ocorre porque os peixes dominantes suprimem o crescimento dos subordinados, além de muitos fatores que interagem simultaneamente no controle da taxa de crescimento (VOLPATO e FERNANDES, 1994).

Segundo KHAN (1994), a densidade de estocagem é de grande importância em piscicultura, havendo para cada espécie uma densidade ótima para o melhor desempenho em termos econômicos. Densidades elevadas reduzem o crescimento, exacerbam a heterogeneidade de tamanho, aumentam a conversão alimentar (uma maior densidade de estocagem aumenta o potencial para a perda de alimento ofertado aos peixes por causa da maior turbulência provocada pela movimentação dos animais durante a alimentação) e propiciam estabelecimento de hierarquias e interações antagonistas intra-específicas que chegam a provocar estresse e

aumentar a susceptibilidade a doenças, reduzir o crescimento, comprometer a fertilidade e levar à morte (PCKERING, 1993).

JOBLING (1994) assume que interações sociais, através da competição por alimento ou por espaço, podem afetar negativamente o crescimento. Entretanto, HOLM et al., (1990) consideram que aumentando o número de períodos de alimentação por unidade de tempo pode-se parcialmente compensar a forte competição e o número de interações agressivas. Estes autores ressaltam que a redução do crescimento pode ser o resultado da diminuição da disponibilidade de alimento e não uma consequência da densidade por si.

Segundo RINGO et al., (1997), em muitos teleósteos os cardumes são estruturados socialmente dentro de uma pronunciada dominância hierárquica. Indivíduos dominantes são geralmente caracterizados por serem mais agressivos e crescerem mais rápido que os subordinados. SEYMOUR (1984) assegura que a dominância hierárquica em peixes é interrompida por altas densidades populacionais. Por outro lado, baixas densidades de estocagem ou alimentação restrita podem desenvolver um comportamento territorial, ou outros comportamentos agressivos, resultando em respostas de estresse e crescimento reduzido.

HOSSAIN et al., (1998) observaram que o bagre africano *Clarias gariepinus*, sob condições de baixa densidade de estocagem, apresenta um comportamento mais agressivo, aumentando a incidência de canibalismo e diminuindo a sobrevivência. Em outros estudos realizados com o robalo europeu *Dicentrarchus labrax*, a taxa de crescimento e conversão alimentar aumentaram com a utilização de maiores densidades de estocagem. As razões para o desempenho observado são atribuídas ao comportamento de aprendizagem associado à ausência de ações agressivas, demonstrando que a resposta do peixe à densidade de estocagem, sob um dado conjunto de condições ambientais, pode ser associada

com sua etologia e hábitos gerais de vida (PAPOUTSOGLOU et al., 1998).

TIDWELL et al., (1998), estudando o largemouth bass (*Micropterus salmoides*), verificaram que em altas densidades de estocagem houve uma melhor produção total e uma melhor conversão alimentar, sem decrescer a media individual de peso ou reduzir a sobrevivência. Estes pesquisadores ressaltam que o fator limitante para o crescimento deste peixe, sob densidades de estocagem extremamente altas, está provavelmente mais relacionado à qualidade da água que à natureza comportamental da espécie.

JOBLING (1994) relata que a densidade de estocagem tem efeito na sobrevivência e no crescimento, sendo uma possível causa de fracasso na produção final de peixes. Em práticas de piscicultura, a densidade de estocagem é considerada um fator importante que afeta o crescimento dos peixes, a utilização do alimento e a produtividade (JOBLING, 1985). Além disso, uma densidade de estocagem apropriada permite utilização plena do espaço para máxima produção de peixes através da criação intensiva, podendo melhorar a rentabilidade do piscicultor já que o adensamento adequado dos animais pode ser uma operação comercialmente benéfica. Daí que, o volume do tanque e os recursos econômicos são maximizados, principalmente quando em situações em que o metro quadrado da terra é elevado ou há escassez dela (FAIRCHILD & HOWELL, 2001).

2.3.2 Bem-estar animal

Na aquicultura intensiva a densidade de estocagem é um importante fator que determina a viabilidade econômica do sistema de produção. No entanto, a comercialização de produtos de aquicultura deve ajustar-se às novas exigências do mercado internacional, no tocante ao bem estar animal. Há uma crescente pressão pública, interessada em saber a forma de criação e os

diferentes tipos de manejo dos animais, cujos produtos (filé, peixe inteiro, óleos) seriam consumidos; e em especial, o que esses animais poderiam sentir (NORTH et al., 2006a).

De acordo com NORTH et al., (2006a), o conceito de bem estar de peixes criados merece consideração e representa o equilíbrio do estado físico e mental do animal em relação a seu meio ambiente. De acordo com os limites impostos pelos seus genes, os animais devem ajustar seu metabolismo às funções fisiológicas e comportamentais com respostas adequadas às diversas características e condições do ambiente de criação. Para que isso ocorra, o piscicultor deve prover os recursos necessários para a ocorrência dessas respostas, sob pena de ocasionar estresse nos peixes, em função da falha na adaptação do animal ao meio (BROOM & JOHNSON, 1993; ELLIS et al., 2002). Alguns problemas associados com baixa ou alta densidade de estocagem assinalados como indicadores de efeitos deletérios no bem estar dos peixes seriam: erosão das nadadeiras, aumento no teor de cortisol, alteração no fator de condição, prejuízo no crescimento, surtos de doenças, alterações comportamentais devido à competição por espaço e alimento além de aumento da mortalidade (IRWIN et al., 1999; ELLIS et al., 2002; BOUJARD et al., 2002; NORTH et al., 2006a NORTH et al., 2006b). O bem estar de peixes em sistemas de criação intensiva em gaiolas é altamente dependente da qualidade de água e pode ser afetado por diferenças comportamentais ocasionadas pelo espaço reduzido da gaiola, pela posição da gaiola na coluna da água, pela intensidade de luz além de estratificação da coluna da água (JOHANSSON et al., 2006). O conceito de bem estar animal ou qualidade de vida do animal deve ser inserido e posto em pratica com seriedade nos sistemas de produção animal, em especial, os peixes. Segundo GALHARDO & OLIVEIRA, (2006), pesquisadores e produtores de peixe devem estar atentos e cientes na manipulação de organismos aquáticos,

especialmente peixes, já que, em estudos recentes acerca da percepção de dor e medo em peixes têm se observado, que eles possuem mecanismos neuroanatômicos, fisiológicos e comportamentais semelhantes aos tetrapodes, além de ter memória espacial e capacidade de aprendizagem e qualquer prática de manejo incorreta será danosa para o crescimento e para o bem-estar do peixe. Com base no anterior, o conhecimento da fisiologia, bioquímica e todos os aspectos ligados à etologia dos peixes são muito importantes na hora de modelar normas de boas práticas de manejo que visem melhorar o bem-estar dos peixes.

2.3.3 Densidade de estocagem e estresse

Tem sido observado que altas taxas de lotação (kg/L/seg) e densidade (kg/L) podem afetar o crescimento, a saúde, a sobrevivência e a conversão alimentar dos peixes. Altas taxas de lotação podem levar a redução dos níveis de oxigênio dissolvido, ou acúmulo de substâncias tóxicas como amônia não ionizada, CO₂; fatores que diretamente podem retardar o crescimento e a saúde de peixes criados (WEDEMEYER, 1996; PROCARIONE et al., 1999). O aumento na densidade de estocagem pode resultar em estresse crônico, o qual leva ao aumento das exigências de energia causando redução no crescimento e na utilização do alimento. Conseqüentemente, identificar a densidade de estocagem ótima para uma espécie pode ser um fator crítico na implementação de um eficiente sistema de criação intensiva. Entretanto tem se observado que a alta densidade de estocagem, como técnica para maximizar a utilização da água e aumentar a produção de peixes, exerce severos efeitos adversos no crescimento, no desempenho e no seu comportamento (VIJAYAN & LEATHERLAND, 1988; BARTON & IWAMA, 1991; FERNANDES & VOLPATO, 1993; BARCELLOS et al., 1999).

Os peixes respondem ao estresse com uma série de mecanismos de defesa que geralmente demandam energia e são dispendiosos em

termos de recursos metabólicos (BARTON & IWAMA, 1991). Alta densidade de estocagem pode ter efeitos na alocação da energia, promovendo gliconeogênese e mobilização de triglicérides, mas tem pouco efeito no metabolismo das proteínas (SCHERECK, 1981; VIJAYAN et al., 1990; COOKE et al., 2000). A elevação do cortisol plasmático promove a mobilização de reservas de energia do peixe a fim de fazer frente à demanda metabólica (PICKERING e POTTINGER, 1987). Inclusive pode diminuir o índice hepato-somático, o fator de condição, deprimir o sistema imune e alterar os valores hematológicos (MONTERO et al., 1999). Um dos efeitos deletérios indicadores da ocorrência de resposta ao estresse crônico é o prejuízo no crescimento. Isto ocorre porque a energia do alimento que deveria ser canalizada para crescimento ou estocada em forma de reserva de lipídios corporais é desviada e mobilizada como parte de respostas bioquímicas e fisiológicas adaptativas ao estresse (RUANE et al., 2002).

BJÖRNSSON (1994) considera que altas taxas de estocagem podem aumentar as respostas causadas pelo estresse. KJARTANSSON et al., (1988), alertam que o estabelecimento do estresse crônico em peixes, mesmo em níveis baixos, pode atuar na redução do crescimento e diminuição na resistência às doenças, devido aos custos associados com a manutenção da homeostase.

Graças ao desenvolvimento de equipamentos de alta tecnologia como os geradores de oxigênio líquido, ozônio, sistemas de recirculação automatizados, e a rações de alta densidade em nutrientes, a aquicultura está atingindo patamares de produção altamente competitivos, e cada vez as densidades de estocagem são mais altas. No entanto a maioria dos aquicultores com o intuito de obter mais lucro, desconhece ou abusam dos limites de tolerância por espaço (competição entre indivíduos), das exigências em qualidade de água da espécie cultivada, e conseqüentemente a saúde e a condição fisiologia dos peixes fica

comprometida e leva a um quadro de estresse crônico (BASKERVILLE-BRIDGES & KLING, 2000; NORTH et al., 2006a).

De acordo com ZONNEVELD e FADHOLI (1991), quando os fatores ambientais não são limitantes, a densidade de estocagem ótima de uma determinada espécie passa a depender da quantidade e qualidade do alimento disponível. Entretanto, nem sempre o fornecimento contínuo de uma alimentação adequada implicará em melhores produções. Excesso de peixes no sistema de criação provoca um aumento na perda de ração.

A densidade de estocagem tem efeito direto sobre o potencial de perda de alimento e sobre o acesso dos peixes ao alimento. O aumento da densidade de estocagem aumenta o potencial de perda de alimento devido à maior turbulência provocada pela movimentação dos peixes durante a alimentação. Quando a densidade de estocagem é maior que 150 -200 kg/m³, o acesso ao alimento durante as alimentações diminui para todos os peixes devido à biomassa que separa alguns peixes do comedouro. É típico em populações de peixes em tanque rede que 3 a 5% dos indivíduos tenham crescimento reduzido ou nulo (SCHMITTOU, 1997).

2.4 Efeitos da velocidade de natação sustentada em peixes

O desempenho da natação é considerado uma característica importante que pode determinar a sobrevivência em muitas espécies de peixes e em outros organismos aquáticos (YOUNG & CECH, 1993). A história da vida natural dos peixes e sua relação com a distribuição e abundância de alimento no espaço e no tempo, deram origem a uma diversidade de espécies de peixes que foram evoluindo e adaptando-se à heterogeneidade do meio ambiente graças a ajustes fisiológicos e a mudanças morfológicas (POUGH & WEST, 1999). A forma do corpo do peixe reflete diferenças ambientais e determina a capacidade natatória. Isto por sua vez influencia na habilidade do peixe de escapar de predadores,

alimentar-se e ter sucesso reprodutivo. A forma do corpo também pode determinar o gasto energético na locomoção (BLAKE, 2004). Diversos fatores relacionados com a alimentação dos peixes tais como, tipo de local de alimentação, distância das fontes alimentares e a classe de alimento, permitiram que algumas espécies de peixes desenvolvessem adaptações morfológicas e funcionais especializadas em um determinado tipo de natação. Por exemplo, em situações em que o alimento (presa) está localizado a pouca distância ou se move próximo ao predador, a estratégia do predador é o ataque por surpresa com movimentos rápidos (natação de explosão). No entanto, se as fontes de alimentação estão localizadas a grandes distâncias (disperso), o peixe tem que lançar mão de outras estratégias que lhe possibilitem percorrer longas distâncias com o menor gasto energético possível. Esta condição favoreceu peixes especialistas em nadar em baixas velocidades (natação sustentada) (WOOTTON, 1991). A natação sustentada é aquela em que o peixe pode suportar períodos acima de 3 horas, isto é, o peixe é capaz de nadar a baixa velocidade durante horas, dias ou inclusive meses, sem resultar em cansaço muscular ou acúmulo significativo de metabólitos que prejudiquem o desempenho da natação. Esta estratégia de natação é empregada por peixes que realizam longas migrações reprodutivas ou alimentares (JOBILING, 1994, HAMMER, 1995).

2.4.1 Respostas comportamentais associadas ao exercício moderado

Em qualquer sistema de criação de peixes, independentemente da magnitude de produção, na medida em que transcorre a criação há uma tendência geral a surgir lotes de peixes com pesos diferentes (classes de tamanho). Alguns peixes que atingem pesos maiores em menor tempo tendem a tornarem-se socialmente dominantes impondo domínio hierárquico sobre os menores (BALDISSEROTTO, 2002; KUBITZA, 2006). O desenvolvimento de tais

hierarquias pode chegar a afetar o crescimento, levando a aumentos na variação em tamanho dentro da criação, (JOBBLING & WANDSVIK, 1983). No entanto, diversos estudos indicam que quando salmonídeos são expostos a correntes moderadas da água ocorrem mudanças comportamentais e modificações no modo de natação em resposta às condições do ambiente de criação. Estes peixes geralmente orientam-se e começam a nadar contra a correnteza, formando cardumes. Isto é, observa-se um comportamento locomotivo sincronizado, posicionando-se na coluna da água em forma hidrodinâmica (formação de diamante) a fim de diminuir o gasto energético (BLAKE, 2004). Dependendo da velocidade da água, os salmonídeos lançam mão da ventilação "ram" para isso, eles diminuem a bomba de respiração branquial e começam a nadar com a boca aberta a fim de que a água entre com suficiente velocidade e força, e perfunda as lamelas branquiais. Deste modo conseguem poupar energia que, em alguns casos pode chegar a aproximadamente 10% do consumo total de O₂ (STEFFENSEN, 1985). Frequências de interações antagonistas aparecem marcadamente diminuídas, além de estar reduzida a tendência a formar hierarquias, quando comparados com aqueles grupos de peixes mantidos em água parada (CHRISTIANSEN & JOBBLING, 1990). Enquanto isso, peixes expostos à condição de água parada tendem a aglomerar-se e exibem padrões de locomoção que variam desde um estado imóvel até movimentos explosivos (LEON, 1986; CHRISTIANSEN et al., 1989; JOBLINH et al., 1993; BLAKE, 2004). Aquele comportamento traz duplo benefício aos peixes, no sentido de diminuir o custo energético do metabolismo e reduzir a incidência de nadadeiras com feridas ocasionadas por mordeduras. Conseqüentemente, melhora-se a aparência geral dos peixes e também se reduz o risco de infecções ocasionadas por bactérias ou fungos (CHRISTIANSEN et al., 1991a; CHRISTIANSEN & JOBBLING, 1991b; JØRGENSEN & JOBBLING, 1993). Além disso, a natação sustentada nos peixes pode produzir mudanças

comportamentais que trazem efeitos benéficos no consumo alimentar e conseqüentemente no crescimento.

2.4.2 Efeito da velocidade de natação sustentada no crescimento

Há muitos anos foi amplamente sustentada a crença entre os criadores de salmonídeos, que a correnteza da água nas unidades de criação causava detrimento do crescimento e da eficiência de produção dos peixes. A razão fundamental disto é que altos níveis de energia são requeridos para os peixes manterem a sua posição contra a corrente da água, o que levaria a reduzidas taxas de crescimento e/ou aumentos nos custos da alimentação (JOBBLING et al., 1993). No entanto, existem evidências de estudos que demonstram o contrário, isto é, o exercício moderado traz efeitos benéficos aos peixes ao nível fisiológico, morfológico e comportamental. Por exemplo, há aumentos nas taxas de crescimento em todas as fases de vida dos salmonídeos quando forçados a nadar em velocidades moderadas por períodos prolongados (DAVISON & GOLDSPIK, 1977; LEON, 1986; TOTLAND et al., 1987; HOULIHAN & LAURENT, 1987; DAVISON, 1987; CHRISTIANSEN & JOBBLING, 1990; JOBBLING et al., 1993; YOUNG e CECH 1994a). Inclusive o aumento no crescimento também foi observado em outras espécies, tais como: Catfish (*Ictalurus punctatus*); Striped Bass, (*Morone saxatilis*); Whiting (*Merlangius merlangus*); Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*); Matrinxã (*Brycon amazonicus*) (YOUNG & CECH, 1993a; JABOE & GRANT, 1996; HAMMER, 1996; YOGATA & OKU 2000; HACBARTH & MORAES, 2006). Além do aumento no crescimento, o exercício moderado para estes peixes também traz benefícios no comportamento alimentar. Concomitante ao aumento em peso, foi observado melhoria na eficiência da conversão alimentar (ganho em peso por unidade de peso de alimento consumido). Em outras palavras, os peixes forçados a nadar a velocidades moderadas por períodos prolongados mostram um maior ganho no peso por unidade

de alimento consumido do que os co-específicos criados em água parada. Embora, a melhoria destas duas variáveis (crescimento e eficiência alimentar) seja devido ao efeito benéfico do exercício moderado, também são por causa da diminuição na frequência de encontros antagonistas de peixes submetidos a velocidades moderadas da água quando comparados aos peixes criados na condição de água parada. Desta maneira, os baixos níveis de interações agressivas levam à redução nos custos energéticos permitindo, portanto, maior energia canalizada para crescimento (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; HALLER, 1991a,b; JØRGENSEN & JOBLING, 1993). O baixo desempenho de crescimento e a pobre eficiência na conversão alimentar, observado em salmonídeos criados em água parada, originam-se do estabelecimento de hierarquias dominantes que levam tanto a um aumento do gasto energético quanto como à supressão do consumo de alimento e do crescimento nos peixes subordinados. Além de exacerbar ainda mais a heterogeneidade no crescimento (ABBOTT et al, 1985) Então, deste ponto de vista, a produção comercial de peixes provenientes de sistemas de criação sob exercício moderado, é interessante devido ao duplo benefício que traz. Por outro lado, há significativo aumento na taxa de crescimento e melhoria na eficiência da conversão alimentar (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; KESTEMONT & BARAS, 2001). A base da melhoria destas duas variáveis deve-se a mudanças fisiológicas produzidas pela atividade do nado prolongado. A nível muscular, o exercício prolongado em peixes leva a um aumento no tamanho das fibras do músculo vermelho e do músculo branco (hipertrofia), visto que estes músculos representam de 50 a 60% do peso corporal dos peixes, qualquer mudança nestes músculos terá uma considerável influência no crescimento do corpo como um todo (DAVISON & GOLDSPINK, 1977; JOHNSTON & MOON, 1980a; TOTLAND et al., 1987; DAVISON, 1989), além de mudanças em nível celular nas taxas de

síntese e deposição de proteína (HOULIHAN & LAURENT, 1987). Tecidos tais como as brânquias e o coração apresentam altas taxas de renovação de proteína e baixa eficiência de deposição de proteína. No entanto, no músculo natatório o processo é inverso, há baixa renovação da proteína e alta eficiência de deposição de proteína. Podendo ser maior de 70 %, ao passo que, no corpo inteiro este índice pode variar entre 40-50% de eficiência. Efeitos substanciais do exercício moderado nos músculos de peixe podem ainda exacerbar estas respostas orgânicas estimulando tanto o aumento de proteína corporal (crescimento), como melhorar a eficiência de deposição de proteína corporal daqueles criados em ambientes lênticos (JOBLING, 1993). Sendo assim, parece que o melhoramento do crescimento e da eficiência da conversão alimentar observada em salmonídeos, quando forçados a nadar por períodos prolongados a velocidades moderadas, é o resultado da combinação de mudanças comportamentais e de uma série de respostas fisiológicas (JOBLING et al., 1993).

LEON (1986), em um estudo comparando o efeito prático da criação de truta do arroio *Salvelinus fontinalis* em água corrente e água parada. Encontrou que o grupo de peixes forçados a nadar e alimentados *ad libitum* foram os mais pesados em relação tanto ao outro grupo não exercitado e alimentado *ad libitum*.

TOTLAND et al., (1987), estudando o crescimento e composição dos músculos da natação do Salmão do Atlântico (*Salmo salar* L), submetido ao nado sustentado por longo período (8 meses), encontraram 40% de aumento no peso do grupo de peixes criados em "raceways" (velocidade média da água $28,0 \pm 11,8 \text{ cm.s}^{-1}$) quando comparado ao grupo de referência normalmente criados em gaiolas convencionais (velocidade máxima da água $5,0 \text{ cm.seg}^{-1}$). As medições da distribuição e tamanho das fibras na massa muscular branca e vermelha revelaram que a principal diferença no crescimento ocorreu na porção branca do músculo. Ainda, estes

autores encontraram que o grupo de peixes criados em "raceways" tinha maior proporção de fibras brancas hipertrofiadas e maior conteúdo de glicogênio nas fibras vermelhas internas em relação ao grupo de referência. O teste de avaliação sensorial referente à qualidade da carne proveniente de ambos os grupos foi 9,2% maior para o grupo criado em "raceways" do que no grupo de referência.

CHRISTIANSEN e JOBLING (1989) conduziram um experimento com o objetivo de medir o efeito do exercício sustentado no crescimento e composição corporal em larvas de *Salvelinus alpinus* L. Estes autores encontraram diferenças significativamente maiores no peso médio final dos peixes submetidos ao exercício, excedendo o grupo controle criado em água parada em aproximadamente 21%. As larvas exercitadas apresentaram baixos níveis de lipídeos e concomitante incremento na proteína corpórea quando comparadas, ao grupo controle. Ainda, os mesmos autores observaram um comportamento agrupado (cardume) nas larvas exercitadas, enquanto que as larvas criadas em água parada exibiram movimentos natatórios dispersos.

YOUNG e CECH (1993a) compararam o crescimento, desempenho do nado e desenvolvimento muscular em jovens de um ano de idade de Striped Bass, (*Morone saxatilis*) selvagens e domesticados. Esses autores encontraram um aumento de 18 e 16% no peso final dos peixes selvagens e domesticados, que foram condicionados a nadar, em relação àqueles peixes não exercitados e pertencentes a ambos os grupos. No entanto, o grupo de peixes selvagem apresentou maior peso final em relação ao grupo de peixes criados em cativeiro. Áreas de cortes em secção transversal do músculo vermelho em nível de 80% do comprimento corpóreo revelaram serem maior para ambos, os grupos (selvagens e domesticados) do que naqueles grupos não submetidos ao exercício. Da mesma forma, áreas de cortes em secção transversal do músculo branco em todas

as secções (50, 65 e 80%) do comprimento corpóreo, foram maiores somente para o grupo de peixes domesticados do que no grupo de peixes domesticados que não foram submetidos ao exercício. As proporções das áreas musculares vermelhas e brancas foram significativamente maiores nos peixes selvagens e domesticados, do que nos peixes não exercitados unicamente ao nível de 80% do comprimento corpóreo.

Os mesmos autores, YOUNG e CECH (1994a), condicionaram a nadar juvenis Striped Bass (*Morone saxatilis*) de um ano de idade durante 60 dias em 4 velocidades diferentes (controle: <0,02; lenta: 0,5-1,2; moderada: 1,5-2,4 e rápida: 2,4-3,6 comprimentos corpóreos/segundo) com o objetivo de determinar a velocidade ideal de nado que levasse a um maior crescimento, desenvolvimento muscular, desempenho do nado e ainda a persistência destes efeitos (14; 28; 42 e 56 dias) após condicionamento. Depois de 60 dias de exercício contínuo, os autores observaram que nos peixes que nadaram na velocidade moderada os pesos corporais foram significativamente maiores do que nos demais tratamentos, e permaneceu significativamente maior após 56 dias de pós-acondicionamento. Foi, portanto, a velocidade moderada de nado considerada como a ideal e que expressou um maior crescimento em Striped Bass. Estes autores perceberam que o desenvolvimento muscular (área transversal média do músculo branco e vermelho) em todas as secções (50, 65 e 80% do comprimento corpóreo) foi significativamente maior no grupo de peixes de velocidade moderada do que no grupo controle. Estas diferenças persistiram após 14 dias do acondicionamento ao exercício nas secções 65 e 80% para os peixes que nadaram na velocidade máxima em relação ao controle. No 14º e 28º dias de pós-acondicionamento, a área média de seção transversal do músculo branco em todas as porções do seu comprimento nos peixes submetidos à velocidade moderada e rápida, foram significativamente maiores do que os peixes do controle. A

proporção de músculo vermelho e branco após 60 dias foi maior nos peixes condicionados ao exercício do que no controle em todas as porções. Entretanto, no 14^o dia de pós-acondicionamento este efeito persistiu e foi significativamente maior nos peixes que nadaram na máxima velocidade (2,4-3,6 cc/seg).

HAMMER (1994), revisando o efeito da velocidade da água no crescimento de salmonídeos, observou que o máximo crescimento com espécies e tamanhos diferentes era atingido a uma velocidade média de um comprimento corporal por segundo (1 cc/seg). Segundo o autor, maiores ou menores velocidades de nado resultaram em crescimento reduzido. De igual maneira, a variação da resposta do crescimento a determinada velocidade, de certo modo, depende também do tempo de duração do experimento.

Em outro estudo OGATA e OKU (2000) expuseram juvenis de linguado (*Parachtyis olivaceus*) a velocidades crescentes da água (controle: < 0,3; lenta: 0,9 e moderada: 2,1 c.c.s⁻¹ durante 2 meses e mediram o efeito da corrente da água sobre o crescimento, eficiência alimentar e conteúdo de lipídeos no músculo. Concluído o experimento, estes autores descobriram que o maior peso final foi atingido pelos exemplares submetidos a velocidade moderada, embora não significativo entre os diferentes tratamentos. No entanto, houve uma diminuição significativa no conteúdo total de lipídeos nos músculos localizados ao longo da base das nadadeiras dorsal e anal a medida que aumentou a velocidade da água.

YOGATA e OKU (2000) avaliaram o efeito do treinamento do nado no crescimento, conteúdo de gordura e proteína corpórea em alevinos de yellowtail, (*Seriola quinqueradiata*) alimentados durante 4 semanas com uma dieta contendo dois níveis de lipídeos (13,2 e 20,3%) e uma semana sem receber alimento. Os peixes foram expostos a três velocidades diferentes da água (<0,3; 1,0 e 2,25 c.c.s⁻¹). Conforme estes autores, houve um maior ganho no peso e melhor eficiência alimentar nos peixes exercitados do que nos

peixes não exercitados em ambos os níveis de lipídeos. Uma análise polinomial de segunda ordem revelou que, a velocidade ideal para um máximo crescimento dos alevinos de *S. quinquerediata* ocorreria na velocidade de 1,6 cc/seg. De igual forma, houve maior deposição de gordura e proteína corpórea nos peixes exercitados do que nos peixes sem exercício. Estes autores concluem que a retenção destes constituintes corpóreos foi devido tanto aos diferentes níveis de gordura na dieta quanto ao exercício do nado. No entanto, após uma semana de jejum, houve maior perda de peso e gordura corpórea nos peixes exercitados do que nos não exercitados. Finalmente, os autores assinalam que o nado condicionado melhora o desempenho no crescimento dos alevinos de yellowtail, e sugerem que o exercício do nado estimula tanto o anabolismo quanto o catabolismo de proteína e gordura; no entanto, sob condições de alimentação o anabolismo parece ser superior ao catabolismo.

2.4.3 Mudanças da composição corporal em relação à intensidade de natação dos peixes

Normalmente, os constituintes da composição corporal do peixe inteiro, assim como, o filé são manipulados por diversos fatores, entre eles pela composição do alimento e pelas estratégias alimentares (RASMUSSEN, 2001). No entanto, outros fatores tais como a intensidade e duração do exercício podem também exercer influências importantes. Em estudos conduzidos com salmonídeos forçados a nadar a velocidades moderadas foi constatado que o exercício promove a deposição tanto de proteína como de lipídios nos músculos natatórios (DAVISON & GOLDSPINK, 1977; NAHHAS et al., 1982; HOULIHAN & LAURENT, 1987). O aumento destes constituintes se traduz em maior conteúdo energético do tecido muscular, maior condição de bem estar do peixe e resistência a eventuais mudanças sazonais do meio ambiente (YOUNG

& CECH, 1994b). Frequentemente, também tem sido encontrado maior deposição de lipídios nos músculos dos peixes exercitados moderadamente do que sem exercício. Este aumento nos lipídios de músculo normalmente tem sido acompanhado de uma diminuição da umidade (TOTLAND et al., 1987; YOGATA & OKU, 2000). As mudanças na deposição de lipídios são geralmente mais acentuadas no músculo vermelho do que no músculo branco. Não obstante, há também constatação de aumento na deposição do músculo branco de peixes exercitados (DAVISON & GOLDSPINK, 1977; TOTLAND et al., 1987). Embora o conteúdo dos carboidratos represente uma pequena fração (menos de 1%) da composição do músculo do peixe, os carboidratos estão predominantemente representados pelo glicogênio (JOBBLING, 2001). O aumento de proteína e lipídios, sob natação prolongada e velocidade moderada, também causa aumento na deposição de glicogênio no músculo (DAVISON & GOLDSPINK, 1977; TOTLAND et al., 1987). O aumento nas reservas de glicogênio é um importante indicador do melhoramento do desempenho da natação e da capacidade de recuperação a agentes estressores ambientais (JOHNSTON, 1982a). O glicogênio muscular, além de ser uma importante reserva de energia durante o metabolismo muscular, é um importante determinante da qualidade do produto final (filé) na hora do abate, visto que as reservas de energia determinam o tempo de duração do *rigor post-mortis*, a suscetibilidade ao ataque microbiano e a textura da carne (HAARD, 1992; JOBBLING, 2001; ROOBB et al., 2000). Foi observado que a natação em peixes sob velocidade moderada promove aumento de alguns constituintes (proteína e lipídios principalmente). Não obstante, quando a velocidade da natação é incrementada por período prolongado, ocasiona diminuição dos níveis de lipídios e das reservas de energia (gordura visceral, glicogênio) (DAVISON & GOLDSPINK, 1977; JØRGENSEN & JOBBLING, 1993) e, portanto diminuição do crescimento. Em condições de restrição alimentar moderada há

perda de lipídios, e o peso do corpo dos peixes é mantido graças à tomada de água. Em situações mais severas, algumas espécies de peixes que realizam longas migrações reprodutivas têm se encontrado uma marcada relação inversa entre o conteúdo de lipídios e a água, isto é, os lipídios catabolizados são reemplazados por um volume igual de água. Encontrando-se inclusive valores de conteúdo de água que excedem mais de 81% nos músculos destes peixes no final da jornada da piracema (NAVARRO & GUTIÉRREZ, 1995).

2.4.4 Sistema Muscular

A musculatura dos peixes é simples e pode ser dividida em cabeça e tronco no sistema axial, dando aos peixes sua forma e sendo responsável pela locomoção, e apendicular nas nadadeiras, cuja função é estabilizar os movimentos dos peixes na coluna da água (CAILLIET *et al.*, 1986). Os músculos são constituídos de unidades longas chamadas fibras musculares que percorrem paralelamente o eixo do corpo do peixe, separadas perpendicularmente por divisórias de tecido conjuntivo, chamadas de miosepta. Os segmentos musculares situados entre estas divisórias são denominados de miotomas. Morfológica e funcionalmente estes músculos dividem-se em músculo liso (paredes das veias, trato digestivo, duto biliar e pancreático), estriado ou esquelético que representa a maior parte comestível do corpo (filé) e músculo cardíaco que constitui o coração (TAKASHIMA & HIBIYA, 1995).

2.4.5 Músculo Vermelho e Branco

Na maioria dos peixes Teleósteos, a musculatura locomotora está superficialmente separada em dois tipos de fibra muscular, vermelha e branca, as quais são histológica e histoquimicamente diferentes. Estas fibras estão arrançadas em zonas discretas ou

em camadas que podem ser identificadas pela sua posição (MOYLE & CECH, 1988). A camada superficial está constituída de fibras vermelhas. Alguns autores as designam como músculo vermelho ou escuro. A cor vermelha é devido à alta concentração do pigmento hemoglobina e mioglobina que transportam o oxigênio para o interior do tecido muscular. A presença dos pigmentos vermelhos assegura ao músculo vermelho um adequado fornecimento de oxigênio. Visto que este tipo de músculo exige uma grande demanda de oxigênio, pois realiza movimentos constantes em condições aeróbicas (natação prolongada), apresenta-se bastante vascularizado (alta densidade capilar por mm^3). Conforme TSUMAMOTO (1984), as fibras brancas constituem a maior porção da massa muscular, são mais grossas do que as fibras vermelhas e apresentam pobre fornecimento de sangue (pouca vascularização) e não possuem pigmentos vermelhos (hemoglobina e mioglobina). Geralmente o músculo locomotor dos peixes (vermelho+branco) representa cerca de 60% da massa corporal, sendo que, o músculo vermelho está aproximadamente entre 0,5 a 13% e o músculo branco entre 60 a 91% da massa muscular (TSUKAMOTO, 1984; GIBB & DICKSON, 2002).

O músculo branco é utilizado em movimentos de atividades de arranque (impulso forte dado pelo animal repentinamente), com curta duração e que demandam um aumento rápido nos níveis de energia e, por este motivo, são movimentos que ocorrem preferencialmente em condições anaeróbicas. O nível de creatina livre no músculo branco da truta arco-íris após exercício prolongado decresce em $7.35 \mu\text{moles/g}$, mostrando assim, a utilização deste no metabolismo durante o exercício prolongado (DRIEDZIC & HOCHACHKA, 1978).

As mitocôndrias de diferentes tipos de fibras musculares de peixes são especializadas na oxidação de tipos diferentes de substratos (MOYES et al., 1989; 1990; 1992). O metabolismo

mitocondrial no músculo branco tem papel importante no estado de repouso e no período de recuperação muscular, ao passo que no músculo vermelho o metabolismo da mitocôndria tem função de produção de ATP para a atividade muscular estável (DRIEDZIC & HOCHACHKA, 1978; MOYES *et al.*, 1992).

A atividade realizada por fibras musculares brancas é abastecida pela via não oxidativa, por meio da hidrólise fosfatada e glicólise anaeróbica (MOYES *et al.*, 1989).

Fibras musculares vermelhas são aptas a utilizar e metabolizar aeróbicamente vários tipos de combustíveis, como ácidos graxos, piruvato e aminoácidos, ao passo que as fibras musculares brancas são especializadas na oxidação do piruvato, proveniente do lactato produzido durante atividades intensas. MOYES *et al.*, (1989; 1992; 2004), em estudos realizados com a carpa (*Cyprinus carpio*) verificaram que mitocôndrias isoladas de músculo vermelho e branco diferem em suas propriedades oxidativas e em seus níveis enzimáticos. Estes autores observaram que a contração do músculo vermelho depende de uma elevada produção de ATP mitocondrial para atender as demandas da contração muscular do metabolismo aeróbico.

Segundo HOCHACHKA (1994), os músculos apresentam plasticidade e ajustam suas atividades metabólicas a condições ambientais particulares. Tais adaptações podem se refletir tanto na modificação do número de fibras musculares como em mudanças nos tipos e atividades das enzimas.

Na revisão de literatura a disponibilidade de informação referente ao exercício de baixa intensidade (natação sustentada) em peixes é mínima em relação às respostas fisiológicas e bioquímicas, e, se existem, estes estudos foram conduzidos durante períodos breves, no máximo de duas semanas. Não obstante, a maioria de trabalhos que associam o efeito do exercício em peixes está direcionada a exercícios extenuantes (natação

explosiva), e às vezes os resultados obtidos nesses estudos são controversos, além de considerar os complexos mecanismos pelos quais o músculo natatório dos peixes integra a utilização de combustíveis energéticos como carboidratos, proteínas e gorduras a fim de atender as demandas metabólicas impostas pela contração muscular (RICHARDS et al., 2002).

Para estudar as respostas bioquímicas adaptativas do metabolismo aeróbico em peixes deve-se primeiramente definir a velocidade de natação sustentada. Entretanto, para saber qual é a faixa da natação sustentada de qualquer peixe, deve-se inicialmente determinar a velocidade crítica (U_{crit} -velocidade máxima) do peixe (HAMMER, 1995; PLAUT, 2001). Sendo assim, vários autores têm conduzido experimentos de natação sustentada com salmonídeos variando entre 25 e 90% da velocidade crítica. Os principais efeitos do exercício moderado sobre as respostas metabólicas do músculo são relacionadas a capacidade oxidativa dos diferentes tipos de substratos energéticos. De acordo com LAUFF & WOOD, (1996) e RICHARDS et al., (2002) quando os peixes são submetidos à natação sustentada há inicialmente preferência pela utilização de carboidratos, mas no transcurso do tempo de natação, os músculos dos peixes passam a dar prioridade ao emprego de lipídios como fonte de energia, e em menor extensão às proteínas. Portanto, a intensidade na mobilização dos diferentes substratos energéticos vai depender da intensidade do exercício, do tempo de duração da natação e da espécie de peixe empregada em estudos de bioquímica do exercício.

3. OBJETIVOS

O objetivo central do presente trabalho foi estabelecer os efeitos da natação sustentada no crescimento, na densidade de estocagem e na composição corporal juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus*. e em paralelo avaliar os aspectos bioquímicos adaptativos através de suas respostas metabólicas.

3.1. Objetivos Específicos

- Otimizar a velocidade de natação sustentada para máximo crescimento em juvenis de matrinxã durante o período de 90 dias;
- Verificar as mudanças da composição corporal, decorrentes da variação da velocidade de natação em juvenis de matrinxã;
- Investigar a influência simultânea da densidade de estocagem e da natação sustentável no desempenho de crescimento em juvenis de matrinxã durante um período de 70 dias;
- Determinar as respostas bioquímicas adaptativas pela dosagem dos intermediários metabólicos dos músculos: vermelho, branco, ventral e fígado em função da intensidade da velocidade de natação em juvenis de matrinxã;
- Identificar os efeitos combinados da densidade de estocagem e da natação sustentável, sobre os parâmetros bioquímicos indicadores de respostas orgânicas ao estresse ao nível de carboidratos, proteínas e lipídios.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no laboratório de Bioquímica Adaptativa do departamento de Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos. Os experimentos foram conduzidos em duas fases e em forma seqüencial, de tal forma que os resultados da primeira fase, foram utilizados para a realização do experimento da segunda fase, sendo apresentados na sua ordem como seguem:

4.1. Experimento da fase um: variação da velocidade de natação sustentada em juvenis de matrinxã *Brycon amazonicus*.

Duzentos juvenis de *Brycon amazonicus* foram adquiridos na piscicultura Águas Claras, em Mococa-SP, e transportados para tanques de 2000L em um sistema fechado com recirculação de água.

4.1.1 Instalações e condições experimentais

Antes do início do experimento, os peixes passaram por um período de aclimação de 3 semanas, recebendo ração comercial contendo 36% de proteína bruta sob condições de fotoperíodo natural. Os parâmetros da qualidade da água foram mantidos dentro de condições normais para o desenvolvimento de peixes tropicais de água doce sem mudanças significativas (BOLD, 1990).

4.1.2 Delineamento experimental

Após período de adaptação e quando os peixes (n=100) atingiram um comprimento total e peso médio de 13,44±0,1 cm e 33,33±9,5 g, respectivamente, foram classificados em tamanhos uniformes e distribuídos aleatoriamente em cinco tanques circulares de 250L em fibra de vidro, totalizando 20 peixes por

tanque. Os animais foram distribuídos e forçados a nadar contra a correnteza em diferentes velocidades. A velocidade da água em cada tanque a diferentes profundidades e posições foi monitorada a cada três semanas e ajustada utilizando-se um fluxômetro mecânico (General Oceanics, Inc. Miami, Florida). A velocidade em cada tanque foi de 0,0 (controle), 1.0 ± 0.2 , 1.5 ± 0.1 , 2.0 ± 0.2 , e 2.5 ± 0.3 comprimento corporal (cc/seg). O grupo controle foi mantido em tanque com entrada de água por cano em posição horizontal para não criar correnteza.

Foi colocado um microship (animall TAG®) em cada peixe concomitante à aplicação intra-abdominal de 100 μ L de um complexo vitamínico antiestresse (Potony®), logo após, foi pingada uma gota de extrato de própolis no local da ferida deixada pela agulha da seringa do microship a fim de diminuir o risco de qualquer processo infeccioso. A finalidade do microship era a de identificar cada peixe para ter controle do crescimento individual e poder calcular a taxa de crescimento específico.

O fundo dos tanques usados neste estudo foi modificado para forma de funil com 20° de inclinação (tanques auto-limpantes) a fim de facilitar a remoção da água e da matéria orgânica sedimentável. Foi colocado um sistema de canos de PVC que permitia o escoamento e direcionamento da água do fundo de cada tanque para uma canoleta acoplada a um sistema fechado de recirculação de água. Os parâmetros da qualidade da água foram periodicamente registrados oscilando entre: temperatura $27,5 \pm 0,9$ °C, oxigênio dissolvido $5,3 \pm 0,07$ mg/L, pH $7,2 \pm 0,4$ a amônia $0,03 \pm 0,04$ mg/L a alcalinidade 64 mg CaCO₃/L e condutividade $71,6 \pm 4,8$ μ S.cm. Os peixes foram aclimatados nessa nova condição por mais uma semana antes do início do experimento de exercício sustentado.

Na parte interna e central de cada tanque foi posicionado verticalmente um cano feito em tela plástica de 30 cm de diâmetro

para garantir que os peixes estariam nadando contra a correnteza a uma velocidade uniforme ao longo da coluna da água, desde que a velocidade da água em tanques circulares tende a diminuir à medida que se aproxima da drenagem central. A correnteza em cada tanque foi criada pela passagem forçada da água através de furos feitos em canos de PVC posicionados horizontal e verticalmente em cada tanque. A força e direção do jato de água foram ajustadas para regular sua velocidade através do fluxo gerado por uma bomba marca "Mark", modelo NXDP4 com saída de uma polegada e 1 cv de potencia (Figura 2).

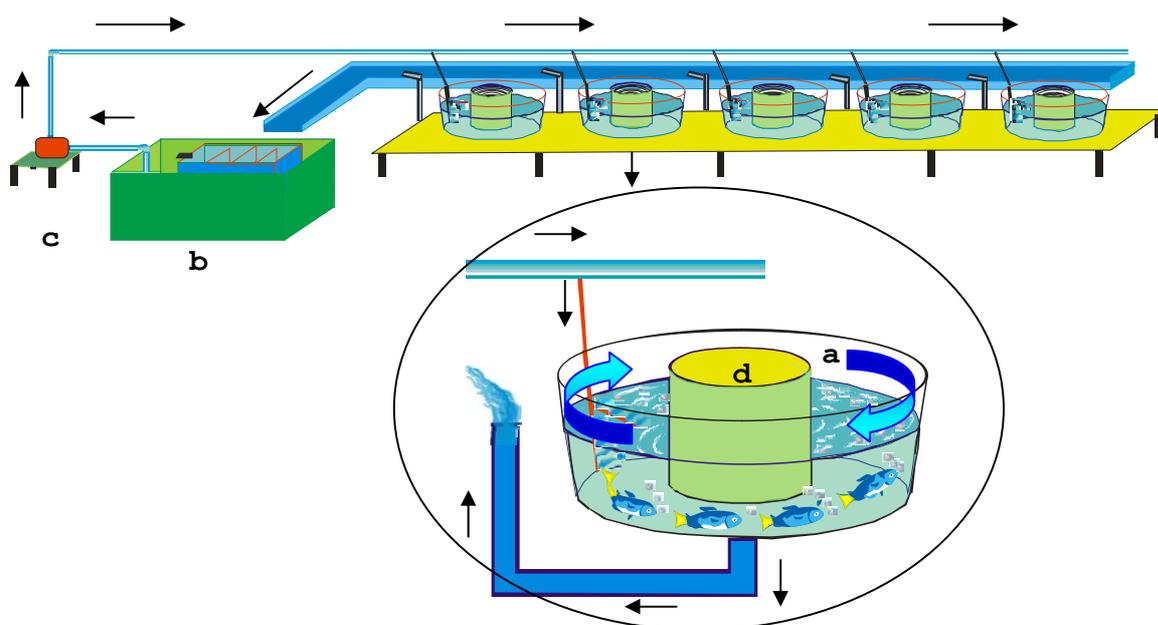


Figura 2. Desenho dos tanques experimentais e do sistema de recirculação: a) tanques de 250 litros; b) filtro mecânico e biológico; c) bomba de água; d) cano em tela plástica. As flechas indicam o fluxo da água.

Os peixes foram alimentados próximo à saciedade aparente três vezes por dia, com ração comercial extrusada contendo 32% de PB, durante um período experimental de 90 dias.

4.1.3 Biometrias

As biometrias foram feitas a cada 21 dias, abrangendo todos os peixes de cada tanque. Os peixes foram anestesiados com eugenol (óleo de cravo) a uma concentração de 40 mg/L (INOUE et al, 2003), medidos em ictiômetro graduado em mm, e pesados com balança digital com precisão de 0.1 g. Com o resultado da biometria, foi possível calcular o crescimento em peso e comprimento, o índice de uniformidade de cada tratamento, o ganho em peso diário (GPD): $[\text{biomassa final} - \text{biomassa inicial} / \text{n}^\circ \text{ dias do período}]$, sendo a biomassa: número de peixes x peso médio deles. O fator de condição (K): $W_t / (L_t)^b$, onde: W_t : peso total; L_t : comprimento total e b: coeficiente angular da regressão entre W_t / L_t ; taxa de crescimento específico (TCE): $[\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial} / \text{tempo (dias)}] \times 100$, e a conversão alimentar aparente (CAA): (consumo de ração/ganho de peso).

A uniformidade do lote dos juvenis de matrinxã foi obtida através do cálculo do número de animais com peso total entre 20% acima ou abaixo do peso médio, multiplicados pela porcentagem; seguindo a equação: sugerida por FURUYA et al., (1998):

$$U = \frac{N \pm 20\%}{N_t} \times 100, \text{ onde:}$$

U= Uniformidade do lote: Porcentagem de animais entre 20% acima u abaixo do peso médio

$N \pm 20$ = Número de animais com peso total entre 20% acima ou abaixo do peso médio do tanque

Nt = Número total de alevinos no tanque.

4.1.4 Coleta de material biológico

Ao final do período experimental de 90 dias, os peixes permaneceram em jejum por 24 horas e 10 peixes de cada tratamento foram coletados com puçás desenhados de acordo com o formato das caixas, a fim de realizar as amostragens rapidamente e ocasionar o menor estresse possível aos peixes. Paralelamente, seis exemplares foram amostrados de cada tratamento e sacrificados para análise da composição corporal (proteína bruta, extrato etéreo, energia bruta e matéria seca) do músculo branco, músculo vermelho, músculo ventral e fígado segundo métodos descritos pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990).

Imediatamente após a despesca, amostras de sangue eram coletadas por punção caudal com seringas de 5 mL previamente heparinizadas (Liquemine® 5000 UI/mL). Aliquotas de sangue eram centrifugadas a 12.000 x g por 3 minutos para obtenção do plasma, que era imediatamente mergulhado em nitrogênio líquido para posteriores análises. Os peixes eram sacrificados através de perfuração da parte superior da cabeça, com tesoura bem afiada, eram retiradas amostras de músculo branco, músculo vermelho, músculo ventral, fígado e gordura víscero-somática. Estes tecidos eram, após seccionados, dissecados em placas de vidro esfriadas sob gelo e colocados em sacos plásticos previamente etiquetados e congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer a -20°C para posteriores análises dos intermediários metabólicos.

4.2 Experimento da fase dois: variação da densidade de estocagem associada à velocidade de natação sustentada em juvenis de matrinxã *Brycon amazonicus*.

Quinhentos alevinos de matrinxã provenientes da piscicultura Águas Claras, em Mococa-SP, foram transportados e estocados em tanques de 2000L acoplados a um sistema fechado com recirculação de água, pertencentes ao laboratório de Bioquímica Adaptativa do Departamento de Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos. Os peixes permanecendo 4 semanas em aclimatação sob condições normais de qualidade da água (BOLD, 1990).

No momento em que atingiram um peso e comprimento médio de $18,44 \pm 0,1$ g e $12,33 \pm 0,5$ cm, respectivamente, os juvenis de matrinxã foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos: um grupo de peixes foi forçado a nadar a uma velocidade de 1cc/seg e submetido a três densidades de estocagem: BD (baixa densidade: 88), MD (média densidade: 176) e AD: (alta densidade: 353 peixes/m³), correspondendo respectivamente a 15, 30 e 60 peixes por tanque (tanque circular em fibra de vidro de 250 L de capacidade com 170 L de volume útil), e o outro grupo de peixes foi também submetido às mesmas densidades de estocagem, mas na condição de água parada (sem exercício ou grupo controle), durante um período experimental de 70 dias. Alguns parâmetros da qualidade da água foram mantidos e ajustados conforme a biomassa aumentava, ou seja, no decorrer do período experimental, a biomassa aumentou e paralelamente a demanda de oxigênio também. Sendo assim, foi necessário aumentar o fluxo ou a vazão da água a fim de garantir a saturação do oxigênio dissolvido >60% ($5,0 \pm 0,02$ mg/L) sem oscilações significativas, a temperatura da água foi ajustada e regulada com aquecedores ligados a termostatos automáticos ($27,5 \pm 0,07$ C⁰), o pH foi mantido na neutralidade ($7,05 \pm 0,08$) graças a conchas marinhas ricas em calcáreo, as quais

foram embaladas em tela plástica e mergulhadas numa caixa que armazenava a água que saía do filtro mecânico, e a alcalinidade manteve-se acima de 48 ± 7 mg CaCO_3/L . Foi instalado um filtro biológico para manter a concentração de amônia (NH_3) em níveis a baixo de $0,03 \pm 0,02$ mg/L. Portanto, fez-se um acompanhamento diário dos valores da temperatura e do oxigênio dissolvido com monitoramento semanalmente da amônia e da alcalinidade. Os procedimentos de manejo alimentar, controle da velocidade da água e biometrias foram semelhantes ao experimento da fase um.

Por volta do dia 70, após última biometria, 10 peixes de cada tratamento foram amostrados e abatidos por secção medular. Amostras de músculo branco e fígado foram coletados e imediatamente congelados em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -20°C para posterior análise dos intermediários metabólicos.

4.3 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

4.3.1 Parâmetros hematológicos

4.3.1.1 Hematócrito - (Hct)

Para determinar a porcentagem de células vermelhas no sangue, foi utilizada a técnica de centrifugação em capilares de vidro, os quais eram preenchidos com sangue procedente das seringas heparinizadas. Os capilares eram fechados em uma das extremidades com plastilina e colocados em centrífuga de micro-hematócrito a $12.000 \times g$ por 3 minutos. Os valores de hematócrito eram lidos em cartão de leitura padronizado para hematócrito de acordo com a Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, e expressos em porcentagem.

4.3.1.2 Hemoglobina (Hb)

A concentração de hemoglobina foi determinada pelo método da cianometahemoglobina (DRABKIN, 1948). Em 2 mL de solução Drabkin eram adicionados 10 μ L de sangue de cada amostra e posteriormente, os tubos eram homogeneizados em agitador de tubos Vortex. A densidade óptica de cada amostra era determinada em espectrofotômetro a 540 nm contra um branco contendo unicamente solução de Drabkin.

O cálculo de concentração de hemoglobina foi feito conforme a expressão:

$$Hb_{(g/dl)} = DO_{540nm} \times dil \times \frac{1.6114}{11}$$

4.3.1.3 Contagem das células vermelhas (RBC)

A dosagem de células vermelhas ou eritrócitos foi feita através de alíquotas de 10 μ L de sangue adicionadas em 2 mL de solução de citrato formol e misturadas. A partir dessa mistura, coletou-se 10 μ L e colocados em lamínula especial (câmara de Neubauer) para contagem em microscópio óptico, as leituras foram dadas em milhões/mm³ (LIMA et al., 1969).

4.3.1.4 Volume corpuscular médio (VCM)

O cálculo do volume corpuscular médio foi feito a partir dos valores de hematócrito e da contagem de eritrócitos (RBC) (Lima et al. 1969), seguindo a fórmula:

$$VCM_{\mu^3} = \frac{Hematócrito_{\%}}{RBC_{(milhões/mm^3)}} \times 10$$

4.3.1.5 Hemoglobina corpuscular média (HCM)

Para o cálculo dos valores da hemoglobina corpuscular média foram utilizados os valores de hemoglobina e da contagem de eritrócitos (Lima et al. 1969), segundo a formula:

$$HCM_{pg/célula} = \frac{Hb_{g\%}}{RBC_{milhões\ mm^3}} \times 10$$

4.3.1.6 Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM)

A determinação da concentração de hemoglobina corpuscular média foi feita a partir dos valores de hemoglobina total e do hematócrito (Lima et al. 1969) segundo a expressão:

$$CHCM_{\%} = \frac{Hb_{g\%}}{Htc_{\%}} \times 100$$

4.4 Parâmetros plasmáticos e tissulares

Como mencionado, após a centrifugação das amostras de sangue, era obtido plasma para as determinações dos seguintes intermediários metabólicos: Sódio, potássio, cloreto, glicose, lactato, piruvato, amônia, proteína, aminoácidos, triglicérides e ácidos graxos livres. Amostras adequadas de tecido eram homogeneizadas de acordo com a determinação em questão tal como segue.

4.4.1 Íons Plasmáticos (Na⁺, K⁺ e Cl⁻)

Amostras de plasma (100 µL) eram diluídas em água deionizada (1:100) e as concentrações de sódio (Na⁺) e potássio (K⁺) plasmáticos eram determinadas em fotômetro de chama Digimed

(modelo DM-61), calibrado com solução padrão (DMS-13^a) contendo 140 mEq de Na⁺ e 5 mEq de K⁺. Os resultados finais foram feitos considerando-se a diluição e expressos em mEq para cada íon.

Alíquotas menores do restante dos ensaios de Na⁺ e K⁺ eram submetidas aos ensaios de cloreto através de método colorimétrico adaptado da APHA (1980). O ensaio consiste na reação de alíquotas de plasma diluído (200 µL de plasma reconstituído por 50 µL de plasma puro + 4950 µL de água destilada) com tiocianeto de mercúrio 0,09% diluído em etanol (A) e nitrato de ferro monohidratado 6% em ácido nítrico (HNO₃) 0,4 M (B), em uma relação de 3A:10B. A leitura óptica era realizada a 480 nm. Alíquotas de concentração conhecida (100 nmoles) de NaCl eram também ensaiadas para obtenção dos valores padrão de absorbância utilizados nos cálculos da concentração de cloreto no plasma.

4.4.2 Proteína total

De acordo com o método colorimétrico de Lowry et al. (1951), eram pesados de 50 ou 100 mg do tecido (músculo branco, vermelho e fígado) ou alíquotas de 10 µL de plasma. As amostras eram dissolvidas em KOH 6,0 N por 5 minutos a 100°C em banho-maria. Logo após a dissolução dos tecidos, uma alíquota desse "extrato alcalino" era transferida para um tubo de ensaio onde se adicionava 2,5 mL de reativo A constituído por carbonato de sódio 2% (Na₂CO₃) em hidróxido de sódio 0,1% (NaOH 0,1 N), sulfato de cobre 1% (CuSO₄) e solução de tartarato duplo de sódio e potássio 2%. Após 10 minutos, era adicionado 250 µL do reativo B, formado pelo reativo de Folin (Sigma®), o qual era diluído em água destilada na proporção de 1:2. Após 30 minutos, a leitura óptica era realizada a 660 nm. Padrões de caseína contendo 1 mg/mL eram também ensaiados em paralelo para obtenção das absorbâncias utilizadas nos cálculos do teor de proteína total nos tecidos.

4.4.3 Aminoácidos livres

O teor de aminoácidos livres foi determinado em extratos neutros segundo Copley (1941). Esse extrato era confeccionado homogeneizando-se 100 mg de tecido em 1,0 mL de água destilada. Em seguida, o material era centrifugado a 5000g por 5 minutos e o sobrenadante era usado como "extrato neutro". A quantidade de volume de homogeneizado foi: plasma 200µL, fígado 100µL, músculo branco 500µL e músculo vermelho 500µL, os quais foram adicionados a 1,0 mL de solução de ninhidrina 0,1% em propanol. Os tubos de reação eram tampados com bola de vidro e colocados a temperatura de 45°C por 45 minutos e a leitura óptica era realizada em 570 nm. A concentração de aminoácidos livres era estimada contra um padrão de ácido alfa-amino-acético (glicina) contendo 100 nmoles.

4.4.4 Amônia

Inicialmente, amostras de plasma (100 µL) ou do extrato neutro de tecido (músculo branco, vermelho e fígado) eram desproteinizadas em 1mL de TCA 20% e centrifugadas a 12.000 x g por 3 minutos. Alíquotas do sobrenadante em um volume apropriado eram transferidas para um tubo de ensaio e completadas com água destilada para um volume final de 2 ml ao qual se adicionava 0,5 mL de reativo de Nessler (Imbralab), com incubação a temperatura ambiente por 20 minutos. Seguia-se então a leitura da absorbância a 420 nm, comparada com padrão de concentração conhecida (100 nmoles) de cloreto de amônia (NH₄Cl) (Gentzkow & Masen, 1942). A concentração era expressa em µmoles/mL de plasma e/ou por mg de tecido.

4.4.5 Glicogênio

O glicogênio foi determinado segundo BIDINOTTO E MORAES (1997). Brevemente, a determinação consiste em digerir amostras

de tecido (músculo branco, vermelho e fígado) em KOH 6N na proporção de 50 a 100 mg de tecido por mL de solução. Essa dissolução era incubada em Banho-Maria a 100°C por 2 a 3 minutos. Após a digestão dos tecidos, alíquotas de 250 µL eram retiradas e transferidas para outros tubos de ensaio onde eram adicionados 3 mL de etanol e 100 µL de sulfato de potássio (K₂SO₄) 10%, seguidos de agitação no Vortex. Em seguida, as amostras eram centrifugadas a 3.000 x g por 3 minutos para precipitar o glicogênio e o sobrenadante era descartado por inversão. O precipitado era ressuspensionado com adição de 2,5 mL de água destilada seguido de agitação em Vortex. Alíquota adequada dessa ressuspensão era submetida à hidrólise ácida com H₂SO₄ mais fenol para a determinação do teor de açúcares redutores totais (DUBOIE et al., 1960), sendo o glicogênio expresso em µmoles de glicosil-glicose/mg de tecido.

4.4.6 Glicose

As concentrações de glicose plasmática foram determinadas pelo método da glicose-oxidase (Trinder, 1969; Cooper, 1973) em "microplate reader" com leitura de absorbância em 525 nm. Os cálculos de concentração em mg/dL foram feitos com o software Softmax Pro. Os ensaios foram realizados com extrato neutro de músculo branco, vermelho e fígado ou plasma com adição de 10 µl de extrato ou plasma em cada poço seguido da adição de 190 µl de reagente reconstituído (Sigma®) para determinação de glicose plasmática. Curvas padrão a partir de soluções conhecidas de glicose foram previamente realizadas.

4.4.7 Piruvato

O piruvato foi determinado pelo método descrito por LU (1939). Um volume final de extrato ácido (plasma 500µL, fígado

500µL, músculo branco 500µL e músculo vermelho 500µL) era adicionado a 250 µL de dinitrofenilhidrazina 0,1% em HCl 2,0 N. Após 30 minutos de repouso à 37°C, era adicionado à mistura de reação 3,0 mL de NaOH 1,3 N e a leitura óptica era realizada em 440 nm. A concentração de piruvato foi calculada contra um padrão contendo 100 nmoles.

4.4.8 Lactato

O lactato foi determinado segundo HARROWER & BROWN (1972) adaptado. Em amostras de 100 µL plasma, ou volume adequado de extrato ácido de tecido, eram colocados 20µL de sulfato de cobre 4% e 3,5 mL de ácido sulfúrico adicionado lentamente (deixando escorrer pelas paredes do tubo) com agitação leve. Posteriormente os tubos eram incubados por 5 minutos em Banho-Maria a 100 °C e resfriados em banho de água com gelo. Em seguida, era adicionados 80 µL de p-fenilfenol (1,5g de p-fenilfenol em solução aquosa de NaOH 2%). Após a adição, os tubos eram agitados em Vortex a cada 20 minutos. Decorrida uma hora, eram novamente fervidos por 90 segundos para remover o excesso de p-fenilfenol, e imediatamente esfriados em banho de água fria por 2 minutos. Em seguida, a densidade óptica era determinada em 570 nm. Alíquotas de solução padrão de lactato de sódio contendo 50 nmoles eram feitas em paralelo para obtenção das concentrações nos tecidos e plasma.

4.4.9 Cortisol

O ensaio de cortisol plasmático foi realizado no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Jaboticabal, SP. A dosagem de cortisol foi determinada segundo o método de radioimunoensaio com marcador ¹²⁵I. Foi utilizado um kit denominado "Coat-a-count" da Diagnostic Products Corporation (Los

Angeles. USA). Alíquotas de 25 μ L de plasma foram utilizadas, e a dosagem foi realizada em um contador gama (Gamma C12), obtendo-se um valor que, através de curva de calibração, é convertido em uma média do nível de cortisol presente na amostra e expressa em μ g.dl para ser posteriormente convertida em ng/mL.

4.3.10 Triglicérides

Os triglicérides foram estimados no plasma e nos músculos branco, vermelho, ventral e fígado pelo método colorimétrico, através da transformação em glicerol por ação de lipase, e subsequente transformação do glicerol em glicerolfosfato (CHERNECKY et al., 1993). O glicerolfosfato é oxidado a dihidroxiacetonafosfato e água oxigenada. A água oxigenada produzida em quantidades equimolares, em presença de aminoantipirina e etilsulfopropil anisidina, resulta na formação de quinoneimina que é lida em 450 nm.

4.4.11 Ácidos graxos

A determinação de ácidos graxos livres foi efetuada segundo o método de NORVÁK (1965). Era adicionado 1,0 mL de solução Dole (hepatana, álcool isopropílico e ácido sulfúrico 1 N na proporção de 1:4:0,1) a 50 μ L de amostra de plasma, ou 50 μ L de extrato de fígado, ou 500 μ L de extrato aquoso de músculo branco, vermelho ou músculo ventral e imediatamente agitada por 2 minutos. Após, era adicionado 1,0 mL de heptano e 2,0 mL de água destilada, e novamente agitado por inversão. Retirava-se uma amostra de 600 μ L de sobrenadante e adicionava-se uma mistura de clorofórmio e heptano (5:1 v/v) e 1,0 mL do reagente de cobalto (1,32 volumes de trietanolamina + 10 volumes de solução A + 7 volumes de solução B). A solução A era formada por uma solução saturada de K_2SO_4 e 6 gramas de nitrato de cobalto $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ mais 0,8 mL

de ácido acético glacial em água fervente. A solução B era constituída de Na_2SO_4 saturado em água fervente. Após a adição, a mistura era agitada fortemente por 30 segundos e centrifugada por 2 minutos a $3.000 \times g$. De esta mistura, eram retirados $600\mu\text{L}$ aos quais se adicionava $600 \mu\text{L}$ de solução indicadora. Esta solução era constituída de 0,4% de α -nitroso β -naftol em etanol, diluído 12,5 vezes na hora de uso. Utilizou-se uma solução de ácido palmítico 4 mM como padrão. A leitura óptica era realizada em 500 nm.

4.4.12 Lipídios totais

O teor de lipídios totais foi estimado conforme FOLCH et al (1957) Uma porção de tecido (músculo branco, vermelho, ventral e fígado) era previamente pesada e homogeneizada em 5 mL de uma mistura de clorofórmio/metanol (2:1). Logo após, os tubos eram tampados e guardados em geladeira por 6 horas, para a extração de lipídios. Posteriormente, o homogeneizado era filtrado em papel filtro e obtinha-se 4 mL de precipitado, ao qual se adicionava 1 mL de solução salina (NaCl 0,9%). Logo após, os tubos eram agitados lentamente por inversão, para permitir maior saída de água do precipitado, tampados e estocados novamente na geladeira por mais 6 horas. Posteriormente, a camada superior (aquosa) era descartada e todo o resto do conteúdo dos tubos era transferido a outros tubos previamente pesados e colocados em capela até que o clorofórmio evaporasse. Uma vez, verificada completa evaporação do conteúdo, os tubos eram novamente pesados e o conteúdo de lipídios era determinado pela diferença entre o peso do tubo vazio e do tubo com a amostra e seu conteúdo era expresso em mg de lipídios/mg de tecido.

4.5. Análise estatística

O experimento da fase um: foi realizado segundo um delineamento inteiramente ao acaso constituído por cinco tratamentos (5 velocidades de natação) e 10 repetições, isto é, foram considerados 10 peixes como replica de cada tratamento. Os dados foram avaliados pela análise de variância (ANOVA:ONE-WAY) ao nível de 5% de significância. O experimento da fase dois: delineado inteiramente ao acaso com seis tratamentos em esquema fatorial 3x2, constituídos por três densidades de estocagem e duas condições de atividade física: com exercício e sem exercício. Semelhante ao experimento da fase um, foram considerados 10 repetições de cada tratamento. Os dados experimentais foram avaliados pelo uso da análise de variância (ANOVA:TWO-WAY) ao nível de 5% de significância e quando houve diferenças entre as médias dos tratamentos (fase um e dois), estas foram comparadas pelo teste de Tukey. Os dados foram analisados pelo programa Statistical Analyses System (SAS)v.8. Todos os dados são apresentados com suas médias \pm desvio padrão (DP).

5. RESULTADOS

5.1. Experimento fase 1: variação da velocidade de natação sustentada.

5.1.1. Crescimento

A velocidade da água afetou o crescimento do matrinxã. O peso médio inicial e final dos tratamentos está apresentado na figura 3. No final do período experimental, os peixes exercitados entre 1,0 e 1,5 cc/seg tinham atingido um peso médio final de 158,7 e 150,0 g, respectivamente, sendo estes pesos significativamente maiores ($P < 0,01$) em relação aos peixes controle (0.0 cc/seg). No entanto, o peso médio do tratamento 1.0 cc/seg (158,7g) foi significativamente maior ($P < 0,05$) que o peso dos tratamentos 2,0 e 2,5 cc/seg (136,4 e 127,4 g, respectivamente). Enquanto que o peso médio dos peixes do tratamento 1,5 cc/seg foi significativamente maior ao grupo de peixes que nadaram na máxima velocidade (2,5 cc/seg). Não houve diferenças significativas entre o peso médio final dos tratamentos 0.0, 2.0 e 2.5 cc/seg (125,4, 136,4 e 127,4 g, respectivamente). As maiores taxas foram, portanto observadas nos peixes que nadaram entre 1,0 e 1,5 cc/seg ($P < 0,05$), sendo o peso destes peixes 20% maior que o controle e maiores que dos peixes submetidos as maiores velocidades da água (2,0 e 2,5 cc/seg).

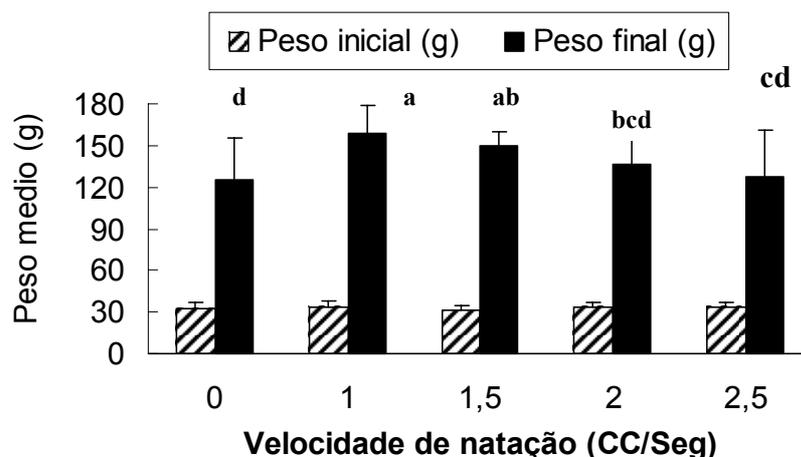


Figura. 3: Peso médio inicial e final (media \pm DP) de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus*, submetidos a diferentes níveis de exercício sustentável (0,0, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 cc/seg (comprimento corporal/seg). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

Quando os grupos de peixes foram expostos pela primeira vez às diferentes velocidades da água (1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 cc/seg), observou-se que se orientavam contra a correnteza, exibindo um comportamento reofílico ou de cardume (migração), distribuindo-se próximo ao fundo da coluna da água. Durante os períodos de alimentação, estes peixes subiam à superfície 3 ao dia para se alimentar e depois voltavam a nadar próximo ao fundo do tanque. À noite os peixes distribuíam-se em todo o tanque ocupando toda a coluna da água.

5.1.1.1. Uniformidade do lote

O tamanho mais uniforme de peixes foi observado para os grupos de peixes que nadaram a 1,0 e 1,5 cc/seg, respectivamente (tabela 1). Estes peixes tiveram uniformidade de tamanho de 91 e 95,45%, já o grupo controle e os grupos submetidos às velocidades de corrente de 2,0 e 2,5 cc/seg foram mais heterogêneos (76,2 e 68,2%, respectivamente).

O fator de condição foi significativamente maior no grupo de peixes que nadaram a 1,5 cc/seg do que o grupo que nadou a 2,0 cc/seg (tab.I). A taxa de crescimento específico foi maior ($P < 0,05$) nos peixes que nadaram entre 1,0 e 1,5 cc/seg ($P < 0,05$), sendo a taxa de crescimento destes peixes 17% maior que o grupo de referencia e maiores que dos peixes submetidos as maiores velocidades da água (2,0 e 2,5 cc/seg).

Tabela. 1: Efeitos da velocidade da água na uniformidade, ganho em peso, fator de condição, conversão alimentar e na taxa de crescimento específico em juvenis de matrinxã. (media \pm DP)¹

Parâmetros	Velocidade da água (cc/seg)				
	0.0	1.0	1.5	2.0	2.5
Uniformidade do lote (%)	71,72	91,0	95,45	76,2	68,2
Peso corporal (g)					
Inicial	34,04 \pm 4,4	33,89 \pm 3,5	31,83 \pm 2,7	33,95 \pm 2,0	32,93 \pm 3,1
Final	125,4 \pm 30,07	158,7 \pm 9,7	142,0 \pm 18,6	136,4 \pm 18,4	127,41 \pm 34,0
Comprimento (cm)					
Inicial	13,4 \pm 0,5	13,4 \pm 0,4	13,3 \pm 0,4	13,5 \pm 0,5	13,6 \pm 0,7
Final	20,8 \pm 1,8	22,2 \pm 1,3	21,4 \pm 0,7	21,7 \pm 1,1	21,2 \pm 1,9
Ganho em peso/dia (g)	1,0	1,4	1,2	1,1	1,0
Fator de condição	0,9997a	1,0097ab	1,045a	0,9735b	0,9969ab
Conversão alimentar	1,33	1,2	1,5	2,4	2,3
Taxa de crescimento específico	1,43c	1,71a	1,72a	1,54abc	1,50 bc
IVS ² (%)	3,6 \pm 1,2a	2, \pm 0,9 bcde	2,39 \pm 1,0cde	2,44 \pm 0,8de	2,31 \pm 1,5e

¹Medias seguida pela mesma letra, na linha não são significativamente diferentes ($P > 0,05$).

²Índice visceros-somático (Peso lipídio visceral/Peso total)*100

5.1.2. Hematologia

Nos peixes que nadaram a 1,5 cc/seg, a hemoglobina e o número de eritrócitos aumentaram significativamente ($P < 0,05$) 24% e 18%, respectivamente em relação ao tratamento controle (0,0 cc/seg), enquanto que os valores do hematócrito aumentaram em média 17% ($P < 0,05$) em todos os grupos expostos às diferentes velocidades testadas em relação ao controle. Não foram encontradas diferenças nos demais parâmetros hematológicos (Figura 4).

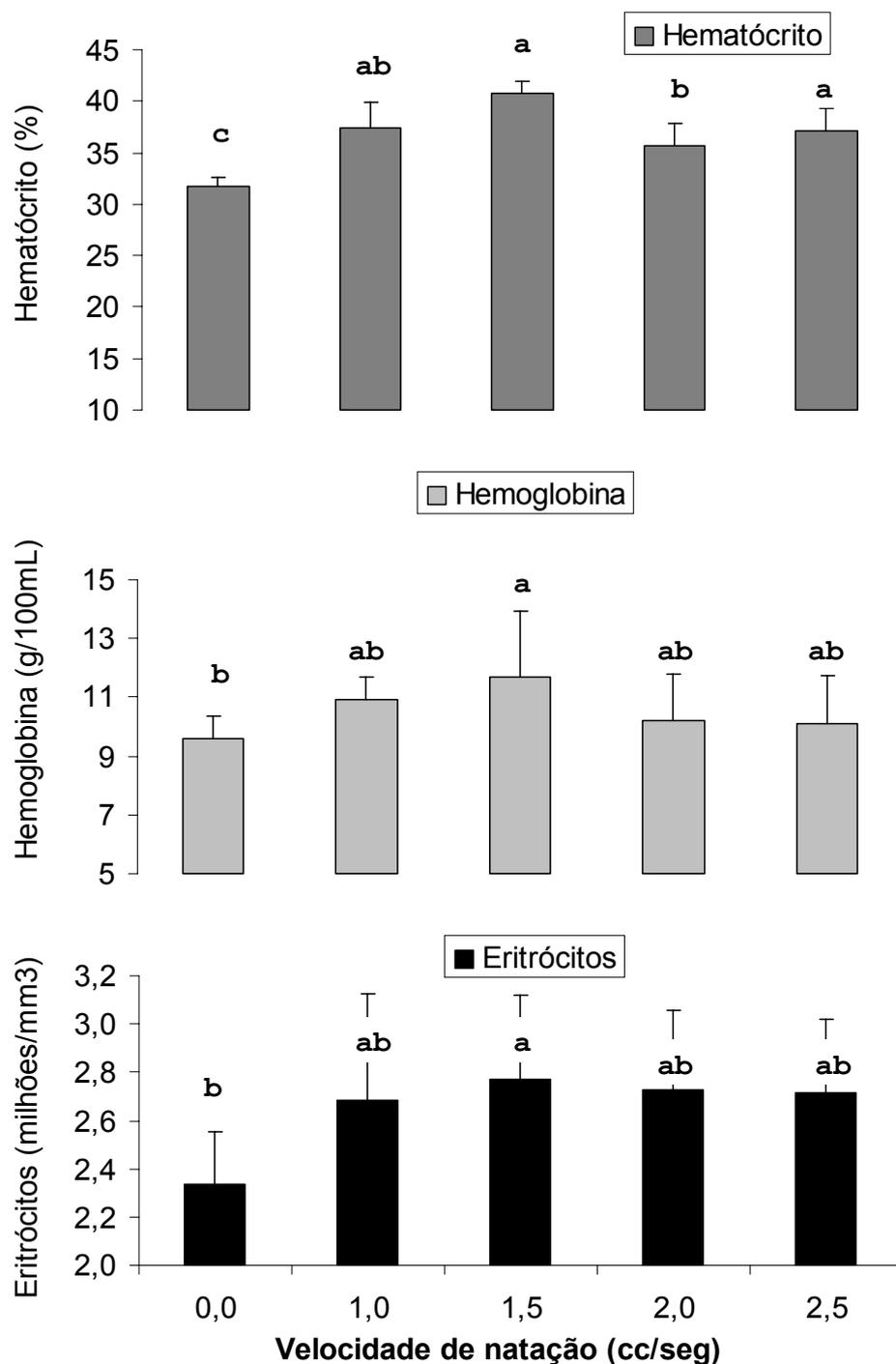
Parâmetros hematológicos.

Figura 4. Valores médios (\pm DP) de hematócrito, hemoglobina e eritrócitos de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetidos a diferentes velocidades de natação. ¹Medias seguidas pela mesma letra, na barra não são significativamente diferentes ($P > 0,05$).

5.1.3. Composição corporal

Na análise da composição corporal de músculo branco do grupo de peixes que nadaram a 1,0 cc/seg, o teor de proteína foi 2% maior que o grupo controle (0,0 cc/seg) e que o grupo que nadou a 2,0 cc/seg ($P < 0,05$). Já no músculo vermelho dos peixes que nadaram a 1,0 cc/seg a deposição de gordura foi 22% maior e conteúdo de água foi 3% menor do que o controle ($P < 0,05$). A energia bruta do músculo vermelho foi em média 9,75% maior ($P < 0,05$) em todos os peixes submetidos a diferentes velocidades da água, quando comparados ao controle. O conteúdo de água no fígado foi 6% menor ($P < 0,05$) nos peixes que nadaram a 1,0 cc/seg quando comparados aos que nadaram a 2 cc/seg. Por outro lado, os peixes que nadaram a 1,0 cc/seg depositaram 29% e 34% a mais de gordura que o grupo controle e os que nadaram a 1,5 cc/seg ($P < 0,05$). Entretanto, a maior quantidade de energia bruta observada foi no fígado dos peixes que nadaram a 1,0 cc/seg, sendo 5,5% e 6,5% maior ($P < 0,05$) que no grupo submetido à maior velocidade da água (2,5 cc/seg) quando comparado ao controle. Foi observado que a deposição de gordura no músculo ventral dos peixes que nadaram a 2,0 cc/seg foi 9% maior que o grupo controle ($P < 0,05$) (Tabela 2). Embora não foi analisada a composição corporal do peixe inteiro que inclui os lipídios viscerais, sendo estes um forte indicador do nível energético do peixe. Os lipídios viscerais diminuíram significativamente em 20% em todos os grupos de peixes submetidos às diferentes velocidades de natação em relação ao grupo controle ou sem exercício (tabela 1).

Tabela. 2: Composição corporal proximal (peso úmido) de juvenis de matrinxã submetidos a diferentes níveis de exercício sustentável. (média \pm DP, n=6) ¹

Tecido	Determinação (%)	Velocidade da água (cc/seg)				
		0.0	1.0	1.5	2.0	2.5
Músculo Branco	Umidade (%)	76.4 \pm 0.1	76.1 \pm 0.2	76.2 \pm 0.3	75.9 \pm 0.2	76.5 \pm 0.3
	Proteína Bruta	20.1 \pm 1.2 bc	20.8 \pm 0.5 a	20.5 \pm 0.9 abc	20.6 \pm 0.5 c	20.1 \pm 2.1 abc
	Extrato Etéreo	0.79 \pm 1.4	0.81 \pm 1.3	0.92 \pm 0.8	0.93 \pm 0.4	0.80 \pm 0.8
	Energia Bruta	4643.6	4755.0	4724.6	4617.4	4613.6
Músculo Vermelho	Umidade (%)	73.2 \pm 1.3 a	71.1 \pm 1.0 b	72.7 \pm 1.1 ab	71.4 \pm 1.2 ab	71.4 \pm 1.1 ab
	Proteína Bruta	18.2 \pm 2.2	18.5 \pm 0.7	17.7 \pm 0.4	18.3 \pm 4.3	18.2 \pm 0.5
	Extrato Etéreo	4.5 \pm 1.3 b	7.8 \pm 2.8 a	6.3 \pm 2.4 ab	6.3 \pm 4.6 ab	6.3 \pm 1.7 ab
	Energia Bruta	4863.5 b	5572.6 a	5173.4 ab	5575.6 a	5322.4 ab
Fígado	Umidade (%)	67.3 \pm 1.7 ab	65.6 \pm 1.6 b	67.6 \pm 1.7 ab	69.6 \pm 4.5 a	64.5 \pm 8.4 ab
	Proteína Bruta	14.8 \pm 0.7	15.3 \pm 2.8	14.6 \pm 2.2	13.3 \pm 0.3	14.9 \pm 2.7
	Extrato Etéreo	4.9 \pm 1.5 bc	7.4 \pm 1.5 a	4.6 \pm 0.6 c	5.7 \pm 3.0 abc	5.6 \pm 2.4 abc
	Energia Bruta	4910.7 c	5253.7 a	5183.6 abc	5179.7 abc	4965.2 abc
Músculo Ventral	Extrato Etéreo	33.8 \pm 0.6 e	40.8 \pm 1.0 c	36.3 \pm 0.8 de	47.1 \pm 0.9 a	41.2 \pm 2.6 bc

¹Valores seguidos por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes (P<0,05).

5.1.4 Parâmetros do balanço iônico (Na⁺, K⁺, Cl⁻)

Foram observadas mudanças significativas no balanço iônico decorrente da intensidade do exercício de natação. Os valores plasmáticos de sódio (Na⁺) aumentaram significativamente à medida que a velocidade de natação dos peixes se intensificava. Os maiores valores desta variável foram observados no grupo de peixes que nadaram na velocidade máxima de 2,5 cc/seg (Figura 5). Quanto ao íon cloreto (Cl⁻) não foi observada nenhuma mudança entre as diversas intensidades de natação.

Os valores plasmáticos de potássio (K⁺) tenderam a diminuir com o aumento da velocidade de natação, ocorrendo uma queda

significativa na maior intensidade de exercício de natação (Figura 5).

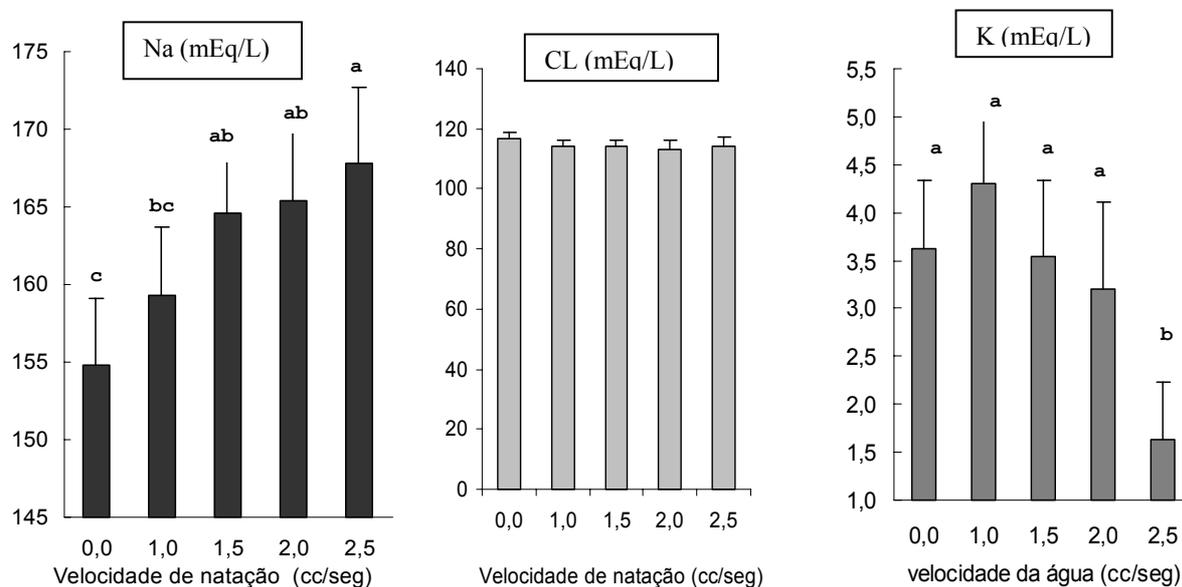


Figura 5. Valores de sódio, cloreto e potássio de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetidos a diferentes velocidades de natação. Cada coluna e linha na vertical representam o valor médio e o desvio padrão (\pm DP) de 10 peixes de cada tratamento. Letras diferentes indicam diferença entre os diferentes tratamentos.

5.1.5. Intermediários metabólicos do plasma

Os valores médios \pm DP dos parâmetros do perfil metabólico de juvenis de matrinxã submetidos às diferentes velocidades de natação estão relacionados na tabela 3. A concentração de glicose plasmática aumentou em função da intensidade da velocidade de natação, já o lactato e piruvato aumentaram somente a partir da maior velocidade de natação (Figura 6). As concentrações plasmáticas de amônia e aminoácidos livres aumentaram proporcionalmente à intensidade da natação. Enquanto que o teor proteína plasmática diminuiu inversamente (Figura 7). Os teores de triglicérides e ácidos graxos plasmáticos permaneceram

constantes, independente do regime de natação. Embora não tenha apresentado variação significativa, os teores de triglicérides tenderam a diminuir com o aumento da velocidade de natação dos peixes (Tabela 3).

5.1.6. Respostas metabólicas do fígado

Os valores médios \pm DP de glicose e de glicogênio no fígado aumentaram significativamente até a velocidade de natação de 1,5 cc/seg. (comprimento corporal por segundo) Em maiores velocidades de natação os valores de glicose hepática estabilizaram enquanto que as reservas de glicogênio diminuíram significativamente (Figura 8). Os teores de lactato no fígado aumentaram significativamente no grupo de peixes que nadaram até velocidades de 2,0 cc/seg e diminuíram levemente na máxima velocidade de natação (Figura 8).

As concentrações de amônia aumentaram até velocidades de natação de 2,0 cc/seg, ao passo que as concentrações de proteína diminuíram até a máxima intensidade de natação. Por outro lado, os aminoácidos hepáticos sofreram uma queda significativa nas diversas velocidades de natação em relação ao grupo de referência (0,0 cc/seg) (Figura 9).

As reservas hepáticas de triglicérides aumentaram com o grau de intensidade do exercício. Este perfil mostrou-se complementar ao observado nos ácidos graxos do fígado cujos teores também aumentaram significativamente (Figura 10).

5.1.7. Respostas metabólicas do músculo branco

Os teores de piruvato diminuíram significativamente até a velocidade de natação de 1,5 cc/seg, mas logo aumentaram progressivamente na medida em que a atividade de natação aumentou (Figura 11). Os teores de lactato no músculo branco não apresentaram mudanças significativas mesmo no grupo de peixes que

nadaram na maior velocidade (Figura 11). As reservas de glicogênio do músculo branco aumentaram ligeiramente no grupo de peixes que nadaram na velocidade de 1,5 cc/seg. Nas maiores velocidades de natação, os valores de glicogênio sofreram reduções significativas (Figura 11). Por outro lado, o aumento na concentração de glicose acompanhou o incremento na intensidade de natação (Figura 11).

No perfil protéico do músculo branco o teor de proteína e amônia variaram inversamente, isto é, à medida que se aumentou a velocidade de natação, a proteína caiu e amônia aumentou significativamente (Figura 12).

Quanto às respostas lipídicas no músculo branco, foi observado um aumento significativo da concentração dos ácidos graxos em função da intensidade de natação (Figura 13).

5.1.8 Respostas metabólicas do músculo vermelho

As concentrações de glicose não sofreram alterações significativas nos diferentes tratamentos. Não obstante, as reservas de glicogênio do músculo vermelho aumentaram significativamente na faixa de velocidade de natação entre 1,0 e 1,5 cc/seg e depois diminuíram na maior velocidade (Figura 14). Os teores de piruvato aumentaram progressivamente com a velocidade de natação atingindo valores máximos nas velocidades de 2,0 e 2,5 cc/seg respectivamente (Figura 14. Tabela 3).

As concentrações de amônia aumentaram significativamente a partir do grupo de peixes que nadaram a 2,0 cc/seg. Já os valores de proteína não variaram significativamente em resposta às diferentes velocidades de natação. Por outro lado, foi observado um aumento de até 12% nos valores dos aminoácidos na máxima velocidade de natação de 2,5 cc/seg em relação aos valores basais do controle (Figura 15). Enquanto as respostas dos lipídios, os maiores valores de lipídios totais do músculo vermelho foram

observados nos peixes que nadaram entre 1,0 e 1,5 cc/seg. Similarmente, foi observado tanto nos ácidos graxos como nos triglicérides aumentos progressivos com o grau de intensidade do exercício de natação alcançando-se os valores máximos na maior velocidade de natação (Figura 16).

5.1.9 Respostas metabólicas do músculo ventral

Com relação a este tipo de músculo somente foi avaliado o perfil lipídico (Tabela 3). Foram encontradas diferenças significativas somente nos ácidos graxos. Foi observado inicialmente um aumento leve dos ácidos graxos nas velocidades de natação baixas. As maiores concentrações de ácidos graxos ocorreram no grupo de peixes que nadaram na máxima velocidade (Figura 17).

Tabela 3. Perfil metabólico de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação.

Metabolito Tecido	Velocidade de natação - cc/seg ¹				
	0,0	1,0	1,5	2,0	2,5
Plasma					
Glicose	5,76±0,89 ^b	8,18±0,80 ^a	8,15±0,73 ^a	7,96±0,76 ^{ab}	8,64±1,15 ^a
Lactato	1,82±0,69	1,88±0,67	1,81±0,65	1,84±0,66	2,15±0,74
Piruvato	0,21±0,004 ^{be}	0,20±0,003 ^{bd}	0,21±0,003 ^{bc}	0,21±0,003 ^b	0,28±0,003 ^a
Amônia	2,39±0,29 ^e	3,10±0,41 ^{cd}	3,67±0,47 ^{bc}	3,70±0,57 ^b	4,31±0,50 ^a
Proteína	0,312±0,07 ^{abcd}	0,361±0,03 ^a	0,277±0,08 ^{bcd}	0,241±0,04 ^{cd}	0,247±0,03 ^d
Aminoácidos livres	7,44±0,4 ^d	8,51±0,6 ^c	8,49±0,2 ^{bc}	9,28±0,5 ^{abc}	10,3±0,7 ^a
Triglicerídeos ²	5,19±1,18	4,69±0,83	4,61±0,86	4,56±0,78	4,49±0,96
Ácidos graxos livres	0,072±0,06	0,044±0,09	0,032±0,02	0,049±0,03	0,045±0,03
Fígado					
Glicose	17,41±5,35 ^b	22,63±4,15 ^b	36,11±5,53 ^a	35,15±5,02 ^a	37,64±4,67 ^a
Lactato	4,39±0,68 ^b	4,92±1,19 ^{ab}	5,31±0,69 ^{ab}	5,86±0,98 ^a	5,58±0,87 ^{ab}
Piruvato	1,09±0,20	1,00±0,17	0,97±0,14	1,00±0,33	1,06±0,09
Glicogênio ²	548,5±35,5 ^c	653,7±38,5 ^{abc}	766,9±31,2 ^a	659,8±40,9 ^{ab}	592,2±45,0 ^{bc}
Amônia	62,51±8,42 ^c	74,75±9,43 ^{bc}	98,07±9,24 ^{ab}	115,84±12,45 ^a	107,52±12,78 ^a
Proteína	167,66±16,59 ^a	164,34±13,6 ^{ab}	156,00±11,2 ^{ab}	154,79±11,8 ^{ab}	148,36±4,8 ^b
Aminoácidos livres	42,43±5,79 ^a	33,31±4,9 ^{bcd}	34,62±3,0 ^{cde}	38,54±9,1 ^{de}	36,26±5,4 ^e
Triglicerídeos ³	21,25±3,88 ^b	22,48±3,73 ^b	23,03±3,61 ^{ab}	24,87±3,39 ^{ab}	36,81±4,38 ^a
Ácidos graxos livres	51,05±7,38 ^{ef}	61,75±5,74 ^{df}	66,26±6,34 ^{cf}	78,62±5,88 ^{bf}	108,98±5,38 ^a
Lipídios totais ⁴	59,63±8,70	58,8±13,27	60,61±30,03	58,35±23,10	61,38±13,18
Músculo Branco					
Glicose	33,92±3,37 ^{de}	38,27±5,81 ^{bd}	42,39±6,48 ^{bc}	42,67±3,59 ^b	52,91±7,27 ^a
Lactato	54,80±5,06	51,54±4,28	57,63±5,35	56,85±4,93	55,95±1,68
Piruvato	1,35±0,33 ^a	1,17±0,17 ^{ab}	1,01±0,30 ^b	1,09±0,23 ^{ab}	1,29±0,29 ^{ab}
Glicogênio ²	23,73±1,84 ^{ab}	24,51±1,66 ^{ab}	24,54±0,83 ^a	21,69±2,22 ^b	20,52±2,62 ^{bc}
Amônia	31,71±1,43 ^{ec}	30,99±4,79 ^{dc}	36,10±6,98 ^{bc}	43,62±4,07 ^b	53,96±9,32 ^a
Proteína	156,19±4,89 ^a	159,79±7,37 ^a	141,08±6,44 ^{cd}	144,49±4,93 ^{bc}	132,15±3,58 ^d
Aminoácidos livres	27,09±2,68	27,70±2,47	27,85±2,11	28,09±3,19	28,38±1,44

Tabela 3. Perfil metabólico de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação.

Metabolito Tecido	Velocidade de natação - cc/seg ¹				
	0,0	1,0	1,5	2,0	2,5
Músculo Branco					
Triglicerídeos ³	1,63±0,28	1,42±0,15	1,45±0,16	1,46±0,11	1,48±0,12
Ácidos graxos livres	0,128±0,08 ^d	0,125±0,04 ^{cd}	0,140±0,08 ^{bcd}	0,240±0,09 ^{abcd}	0,339±0,15 ^a
Lipídios totais ⁴	8,41±7,12	13,36±7,28	6,32±6,71	13,62±4,05	13,06±4,05
Músculo Vermelho					
Glicose	54,52±5,17	59,89±5,39	64,30±4,83	59,60±5,53	56,43±4,45
Lactato	32,22±3,39	33,92±3,16	29,39±2,09	31,49±3,56	29,34±1,83
Piruvato	0,61±0,13 ^c	0,63±0,06 ^{bc}	0,71±0,07 ^{abc}	0,81±0,08 ^a	0,78±0,06 ^a
Glicogênio ²	55,18±5,75 ^{bcd}	73,02±6,35 ^a	69,28±5,66 ^a	52,12±6,38 ^d	53,03±5,48 ^{cd}
Amônia	24,99±3,99 ^d	25,35±2,74 ^{cd}	22,83±3,64 ^{bcd}	34,09±3,18 ^a	37,50±3,29 ^a
Proteína	169,99±2,99	167,85±6,71	164,10±5,00	163,96±2,82	162,04±4,21
Aminoácidos livres	14,59±1,40 ^b	15,51±1,07 ^{ab}	16,59±1,68 ^a	16,29±1,36 ^{ab}	16,51±0,84 ^a
Triglicerídeos ³	10,75±1,25 ^{bc}	11,20±1,43 ^c	12,09±1,42 ^{abc}	12,79±1,47 ^{ab}	13,69±1,61 ^a
Ácidos graxos livres	0,88±0,18 ^{bc}	0,86±0,25 ^c	0,97±0,20 ^{abc}	1,21±0,15 ^{ab}	1,27±0,26 ^a
Lipídios totais ⁴	71,34±4,26 ^d	100,22±6,96 ^a	103,35±7,31 ^a	83,39±6,04 ^{bc}	75,69±6,45 ^{cd}
Músculo Ventral					
Triglicerídeos ³	2,30±0,46	2,32±0,55	2,80±0,54	2,78±0,50	2,99±0,65
Ácidos graxos livres	0,18±0,07 ^b	0,18±0,04 ^{ab}	0,19±0,09 ^{ab}	0,27±0,07 ^{ab}	0,29±0,09 ^a
Lipídios totais ⁴	376,42±11,3	389,64±10,9	391,68±12,1	367,31±9,2	352,22±14,2

Dados representados por suas médias (± DP, n=10). ¹cc/seg = comprimento corporal por segundo; ² μmol glicosil glicose/mg de tecido úmido; ³mg/g de tecido ou ml de plasma; ⁴ mg/g de tecido. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença entre as diferentes velocidades de natação.

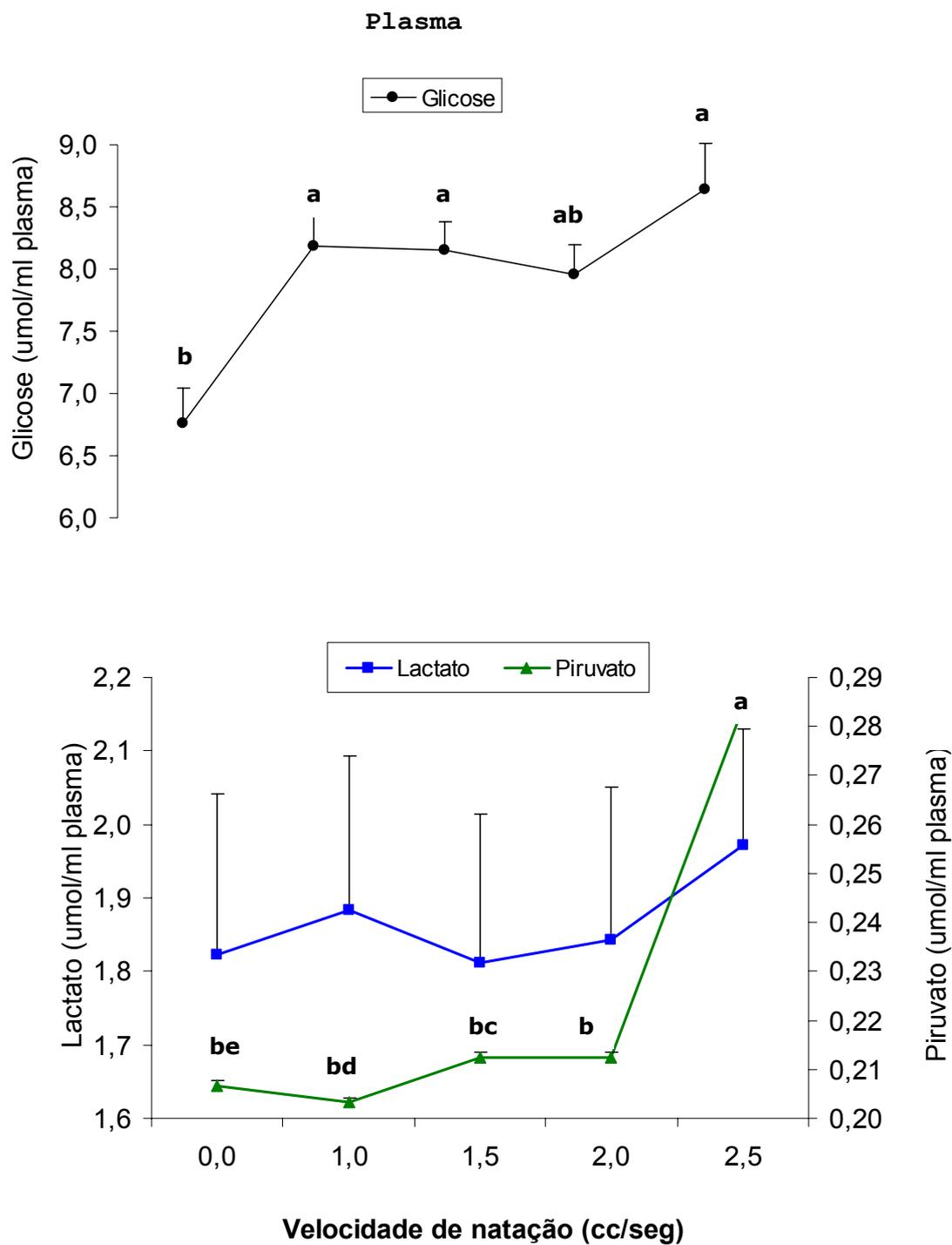


Figura 6. Perfil glicídico do plasma de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação. Cada ponto e linha vertical representam o valor médio e o desvio padrão de 10 peixes de cada tratamento.

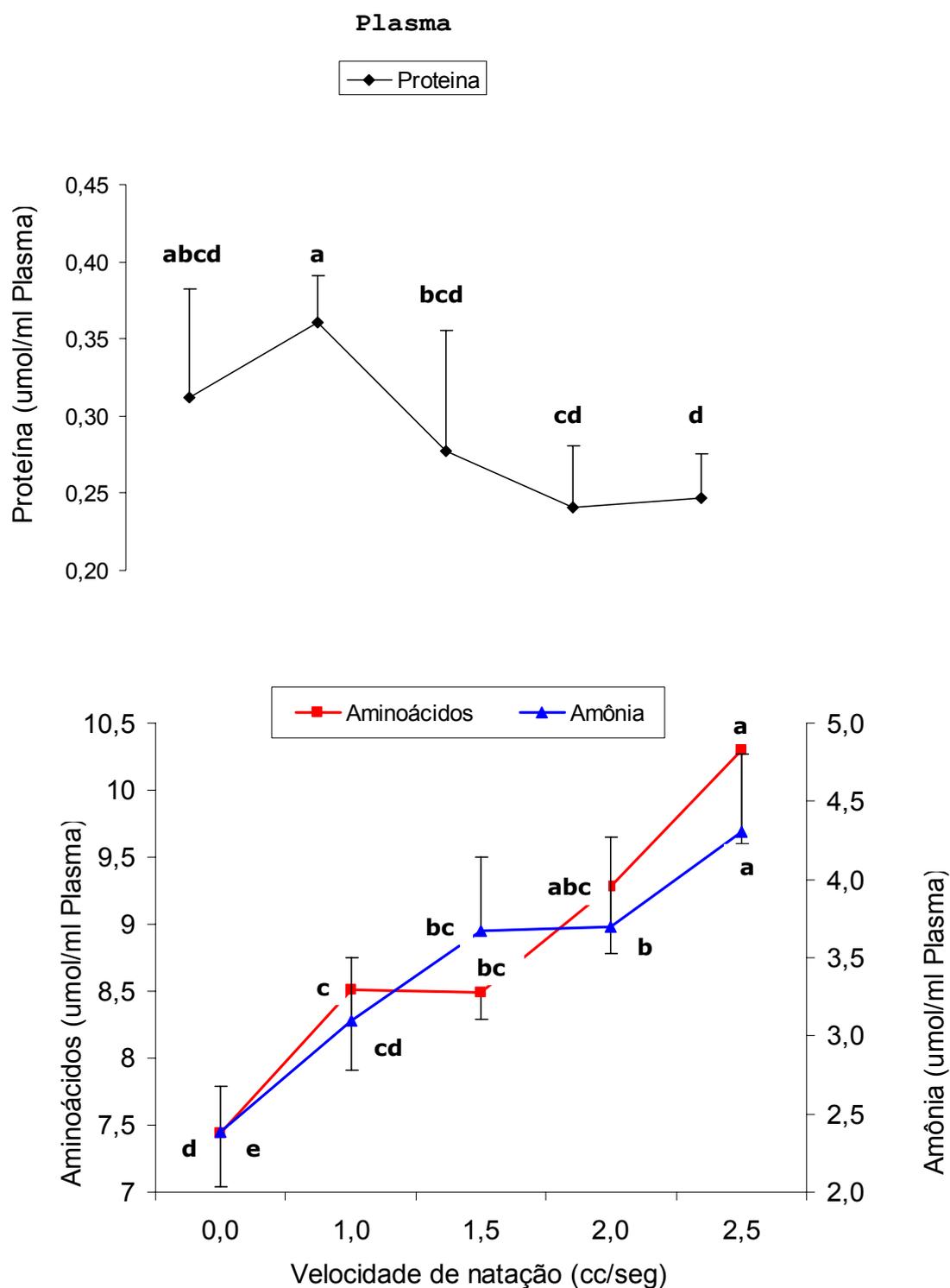


Figura 7. Perfil protéico no plasma de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação. Cada ponto e linha vertical representam o valor médio e o desvio padrão de 10 peixes de cada tratamento.

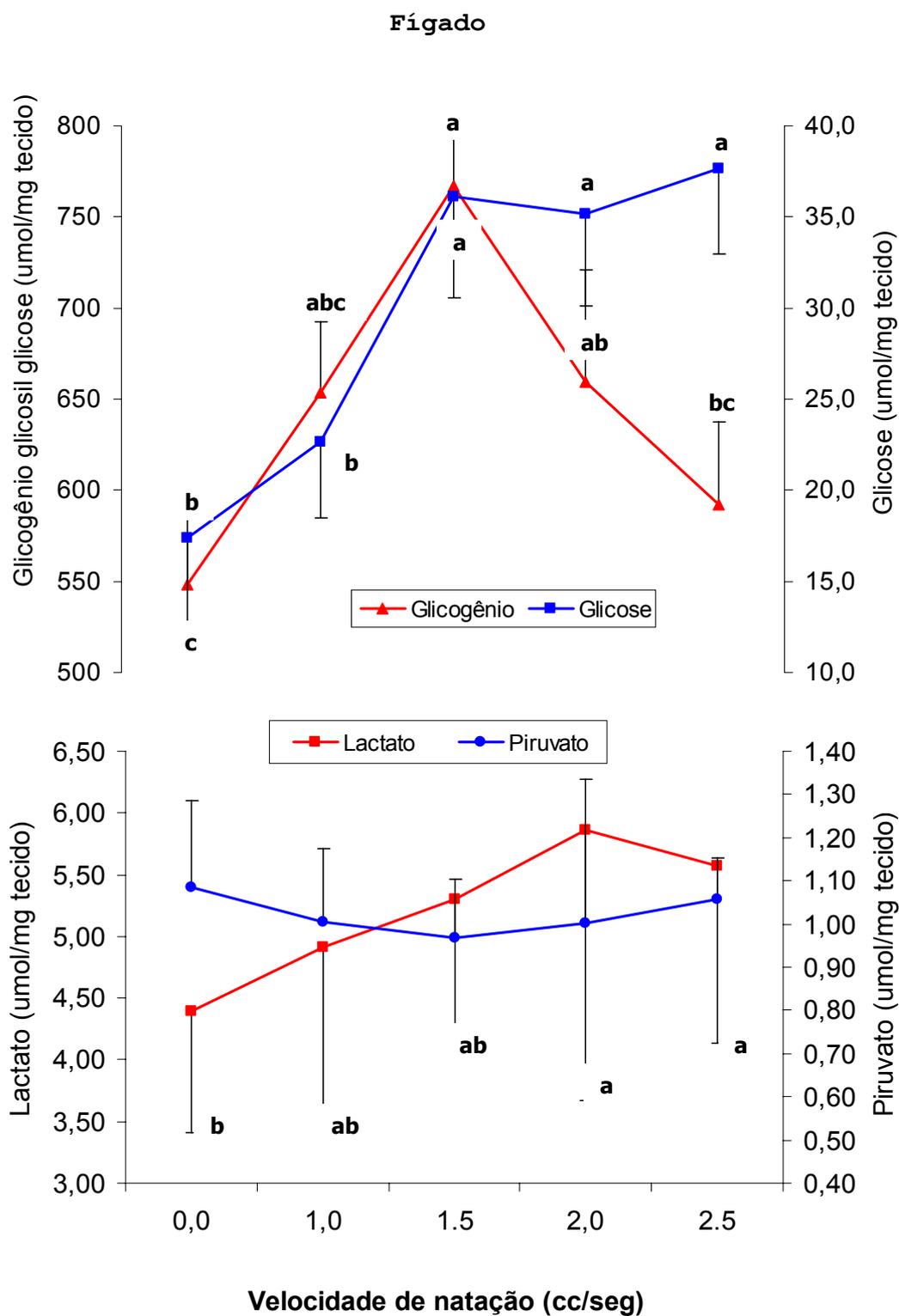


Figura 8. Perfil glicídico do fígado de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação. Cada ponto e linha vertical representam o valor médio e o desvio padrão de 10 peixes de cada tratamento.

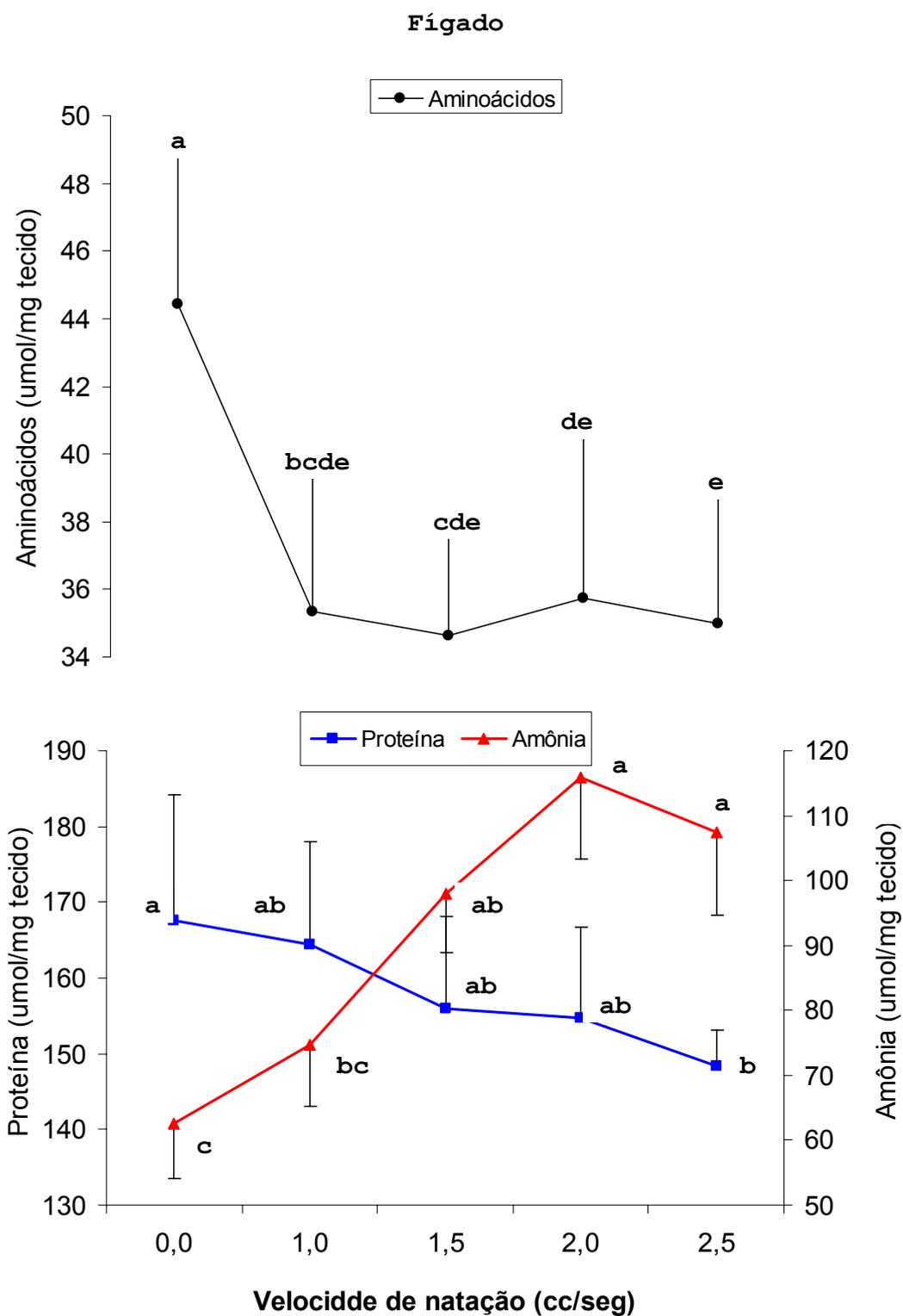


Figura 9. Perfil protéico do fígado de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação. Cada ponto e linha vertical representam o valor médio e o desvio padrão de 10 peixes de cada tratamento.

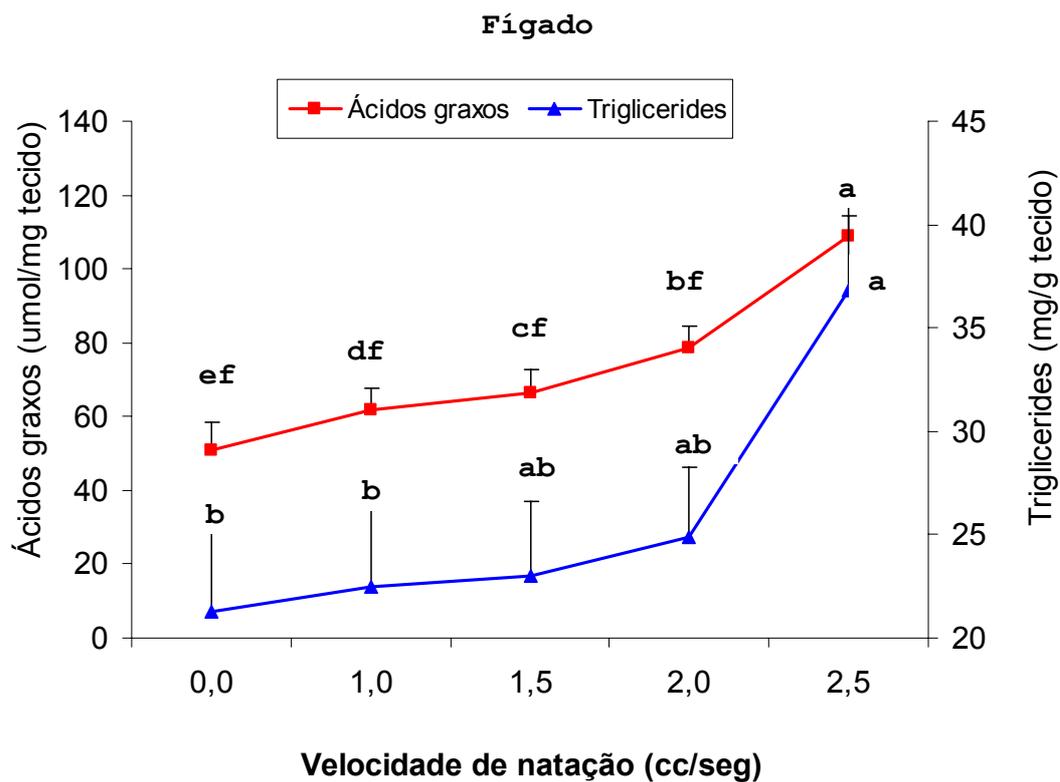


Figura 10. Perfil lipídico do fígado de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação. Cada ponto e linha vertical representam o valor médio e o desvio padrão de 10 peixes de cada tratamento.

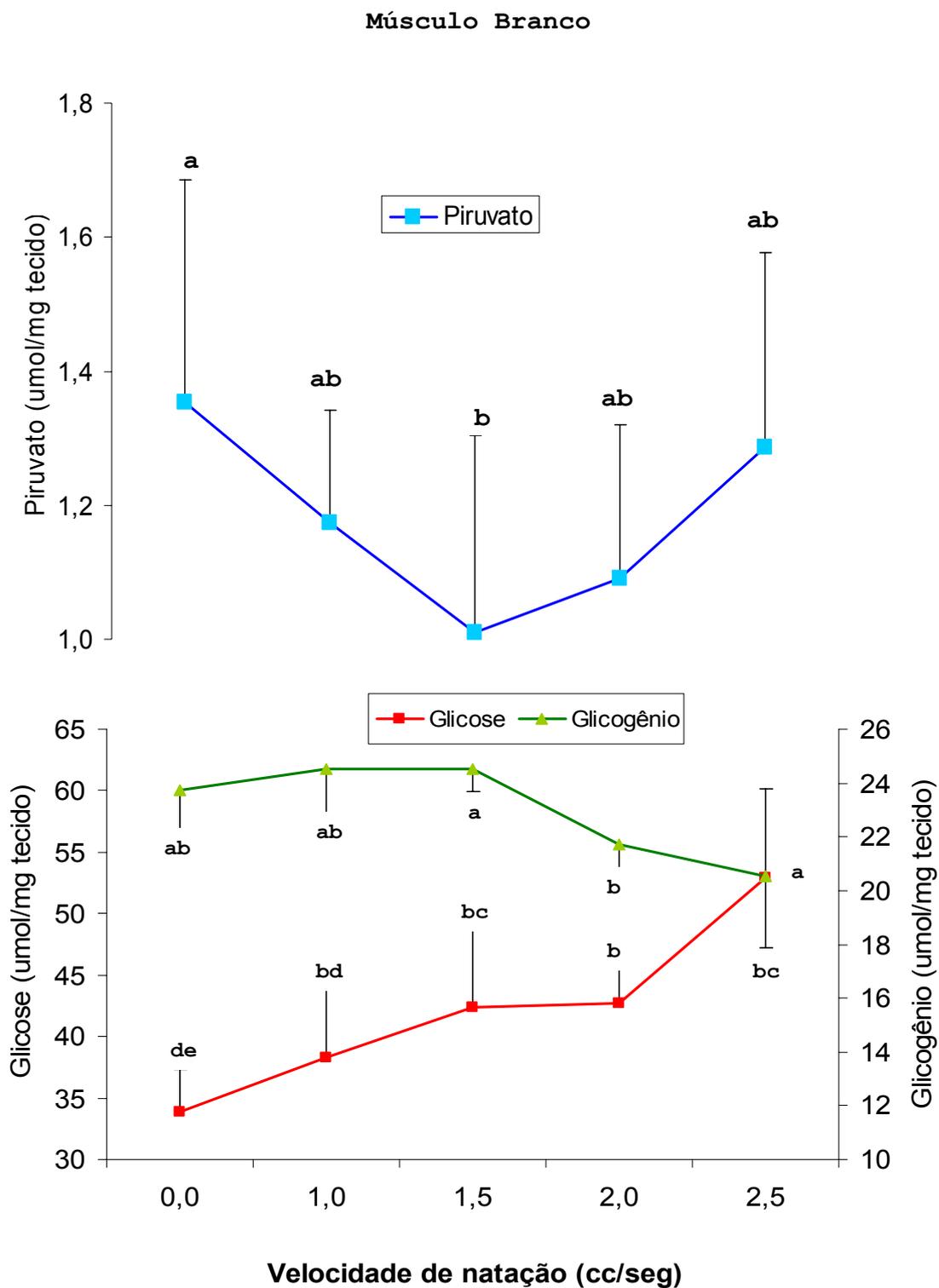


Figura 11. Perfil glicídico do músculo branco de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação. Cada ponto e linha vertical representam o valor médio e o desvio padrão de 10 peixes de cada tratamento.

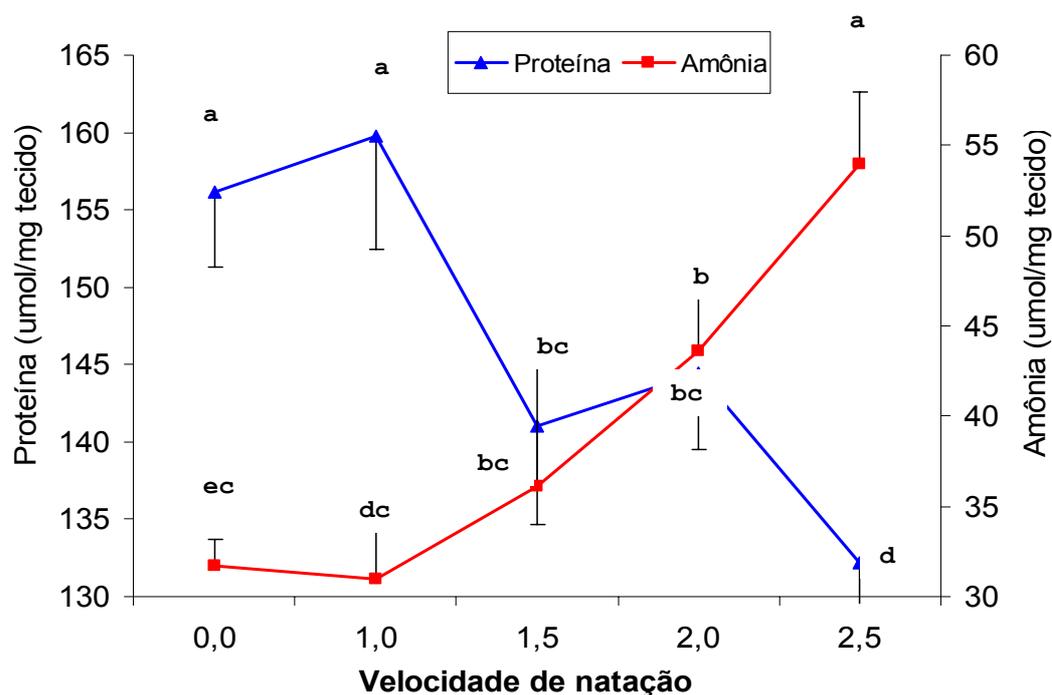


Figura 12. Perfil protéico do músculo branco de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação. Cada ponto e linha vertical representam o valor médio e o desvio padrão de 10 peixes de cada tratamento.

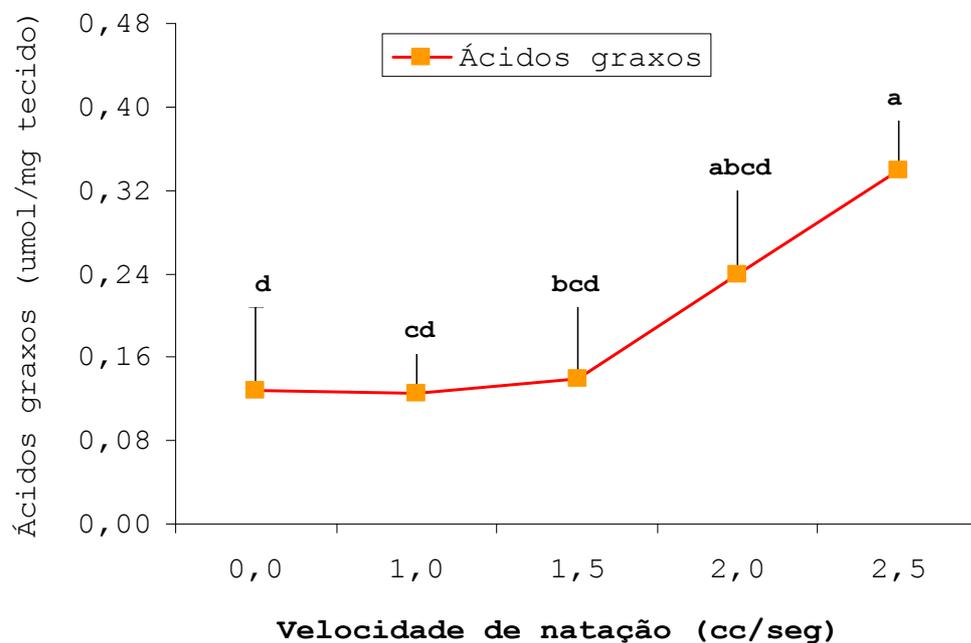


Figura 13. Perfil lipídico do músculo branco de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação. Cada ponto e linha vertical representam o valor médio e o desvio padrão de 10 peixes de cada tratamento.

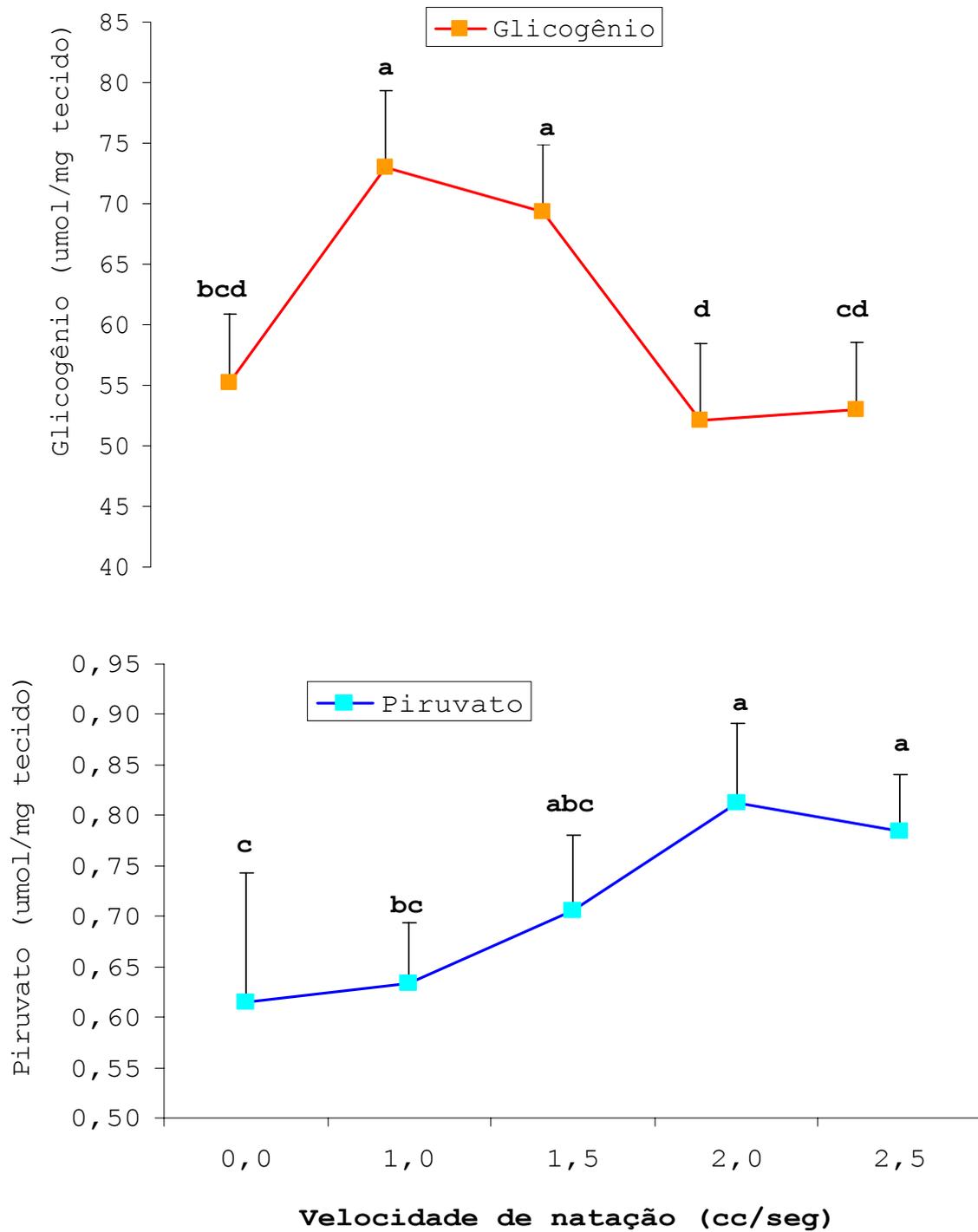


Figura 14. Perfil glicídico do músculo vermelho de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação. Cada ponto e linha vertical representam o valor médio e o desvio padrão de 10 peixes de cada tratamento.

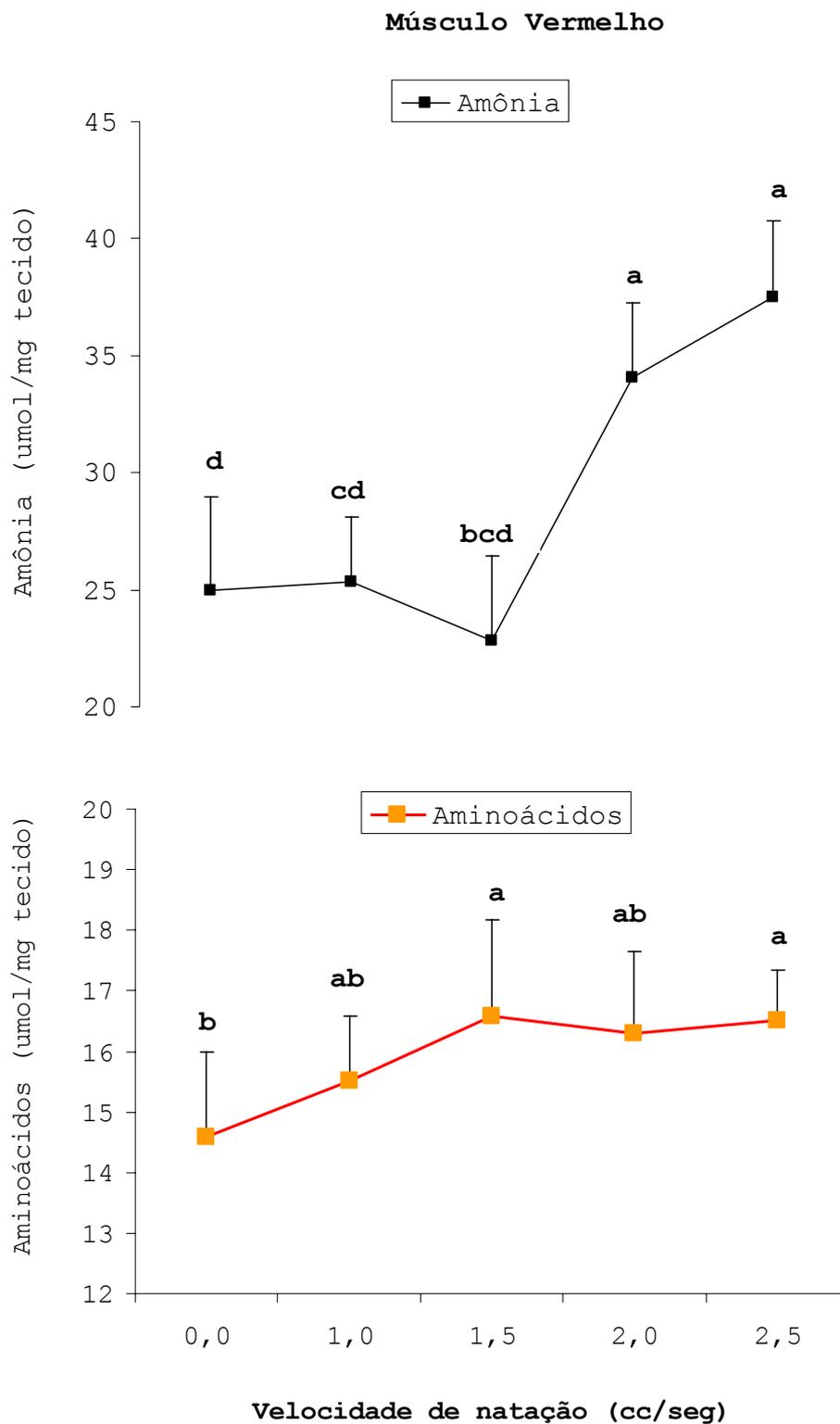


Figura 15. Perfil protéico do músculo vermelho de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação. Cada ponto e linha vertical representam o valor médio e o desvio padrão de 10 peixes de cada tratamento.

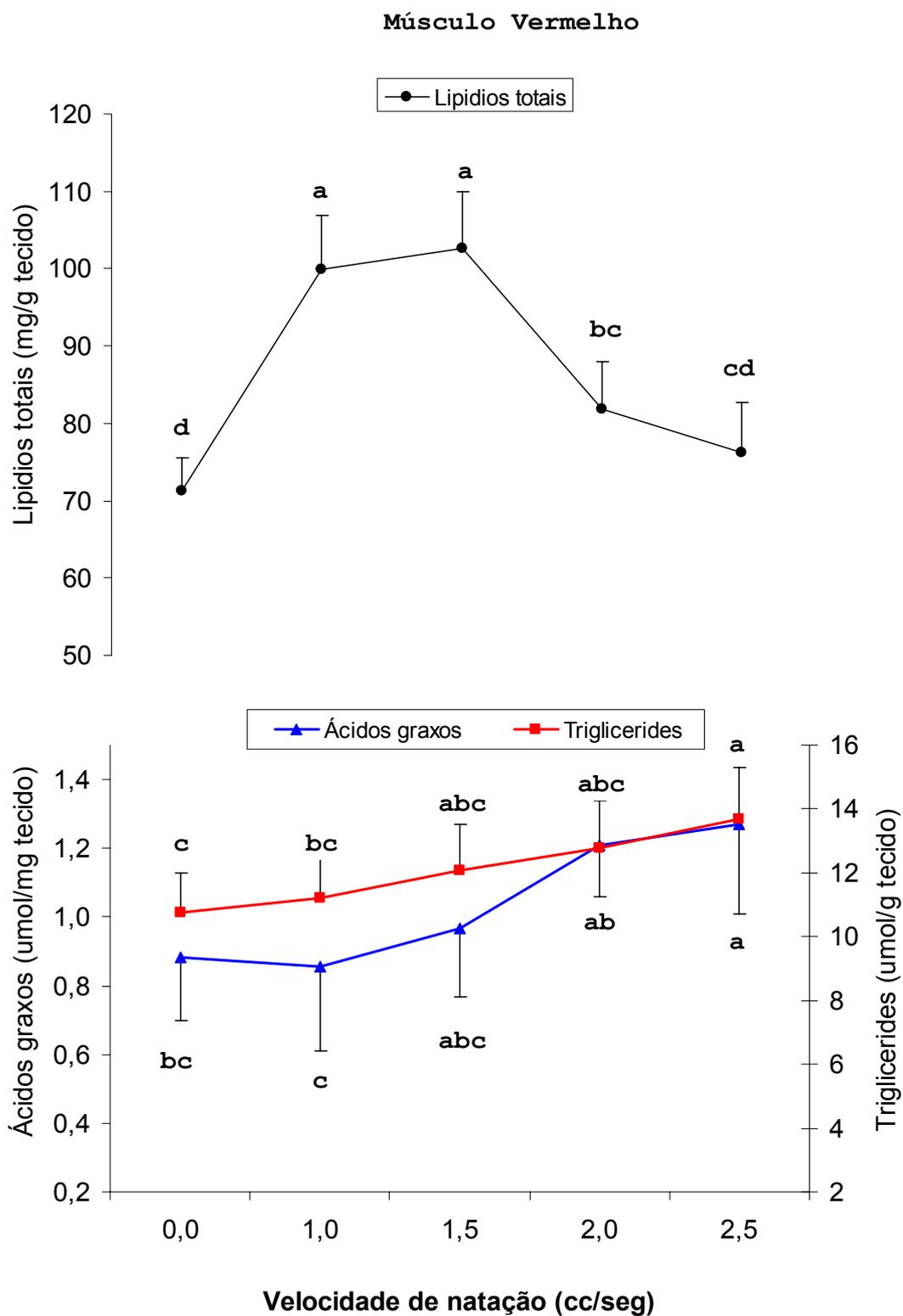


Figura 16. Perfil lipídico do músculo vermelho de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação. Cada ponto e linha vertical representam o valor médio e o desvio padrão de 10 peixes de cada tratamento.

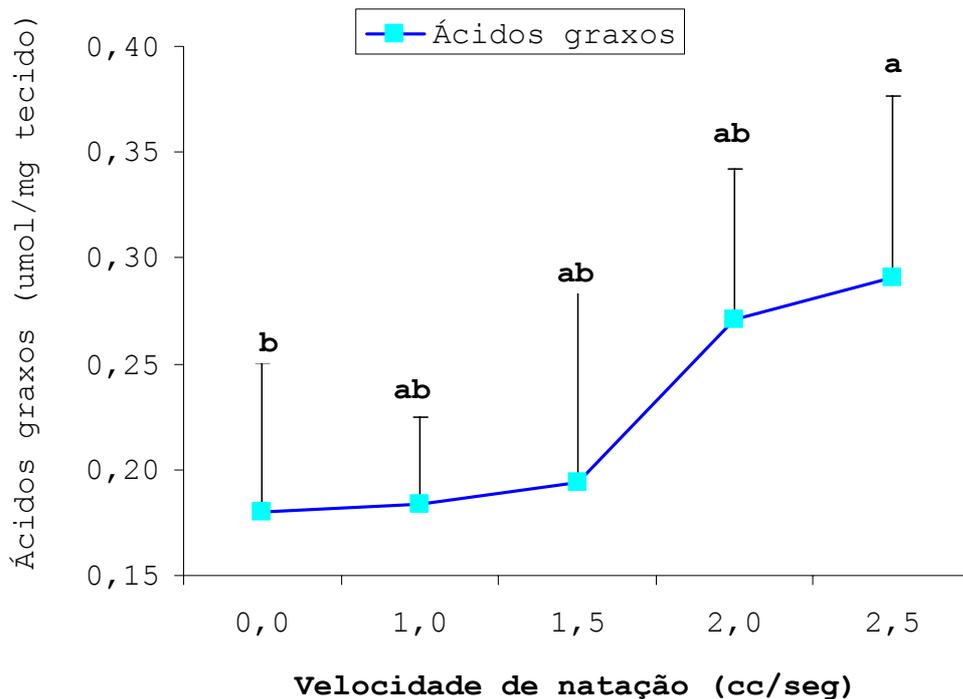


Figura 17. Perfil lipídico do músculo ventral de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação. Cada ponto e linha vertical representam o valor médio e o desvio padrão de 10 peixes de cada tratamento.

5.2 Experimento da fase dois: Densidade de estocagem associada à velocidade de natação sustentada

5.2.1 Crescimento

Os juvenis de matrinxã criados na densidade de estocagem média e sob exercício de natação sustentada cresceram 34% mais que os peixes da mesma densidade mantidos em água parada. Por outro lado, o peso médio de todos os peixes submetidos ao exercício moderado, independentemente da densidade de estocagem, foi 27% maior que nos peixes criados nas diferentes densidades e que não realizaram exercício induzido (Figura 18 e Tabela 4).

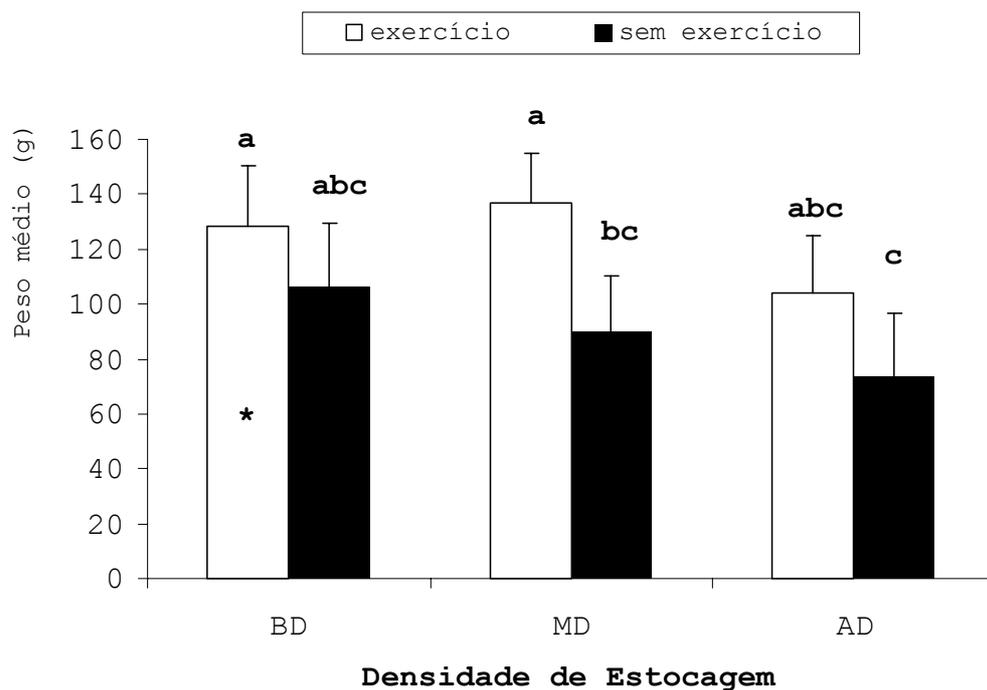


Figura 18: Peso médio (\pm DP) final de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* criados em diferentes densidades de estocagem e sob exercício moderado. As colunas representam os valores médios de 10 repetições em cada densidade (BD: Baixa densidade, MD: média densidade e AD: alta densidade). Letras diferentes supra-escritas e (*) indicam diferenças significativas.

A sobrevivência foi afetada em todas as densidades de estocagem no grupo de peixes que não foram submetidos à natação forçada, sendo esta ao redor de 70%, ao passo que no grupo de peixes que nadaram continuamente em todas as densidades, a taxa de sobrevivência foi de 100% (Tabela 4).

Tabela. 4: Efeitos do exercício de natação sustentada na uniformidade, ganho em peso, fator de condição, conversão alimentar e taxa de crescimento específico em juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* criados em diferentes densidades de estocagem (média \pm DP)¹

Parâmetros	Condição					
	Exercício de natação (1,0 cc/seg)			Controle (água parada)		
	BD	MD	AD	BD	MD	AD
Início – dia 1						
Nº de peixes/m ³	88	176	353	88	176	353
Peso corporal (g)	18,18 \pm 3,2	19,31 \pm 2,1	18,41 \pm 2,2	17,04 \pm 2,7	18,75	20,67 \pm 2,2
Biomassa inicial (kg/m ³)	1,6	3,4	6,4	1,5	3,3	7,3
Final – dia 70						
Nº de peixes/m ³	88	176	353	59	117	270
Peso corporal (g)	128,3 \pm 15,2 ^{ab}	136,5 \pm 13,1 ^a	103,7 \pm 16,2 ^{abc}	106,8 \pm 20,7 ^{abc}	90,8 \pm 18,2 ^{bc}	73,6 \pm 20,3 ^c
Biomassa final (kg/m ³)	11,3	24,43	36,60	6,30	10,62	19,87
Biomassa líquida (kg/m ³)	9,70	21,03	30,20	4,80	7,33	12,57
Sobrevivência (%)	100	100	100	67	66	76
Uniformidade do lote (%)	50	80	71	39	68	65
Fator de condição	1,012 ^{cdfe}	1,080 ^a	1,013 ^{bcdef}	0,964 ^f	0,965 ^{ef}	0,981 ^{def}
Ganho em peso/dia (g)	1,57	1,70	1,22	1,16	0,89	0,66
Conversão alimentar aparente	1,3	1,28	1,22	1,68	1,64	1,87
Taxa de crescimento específico	2,79	2,86	2,44	2,43	2,37	1,81

¹Medias seguidas por letra diferente, na linha são significativamente diferentes (p<0,05).

5.2.2. Respostas hormonais e metabólicas à densidade de estocagem e ao exercício de natação sustentada

Os níveis plasmáticos de cortisol aumentaram significativamente com o incremento da taxa de estocagem dos peixes em ambas as condições de criação (exercício ou não), sendo esta resposta mais notória nos peixes não exercitados (Figura 19a). Do mesmo modo, a concentração de glicose sanguínea (Figura 19b) aumentou concomitantemente à densidade de estocagem. Os maiores picos de glicose foram observados nos peixes estocados em alta densidade de estocagem (não submetidos a exercício), sendo estes picos 30% maiores em relação ao grupo de peixes estocados em baixa densidade e na mesma condição. Por outro lado, a glicemia também aumentou nos grupos de peixes que nadaram a 1,0 cc/seg em decorrência do aumento da densidade de estocagem. No entanto, estas respostas foram menos intensas que nos peixes que

não nadaram. Os valores de glicogênio mostraram quedas significativas nos grupos de peixes que não foram forçados a nadar, em todas as densidades de estocagem, em relação aos grupos de peixes que foram exercitados (Figura 19c).

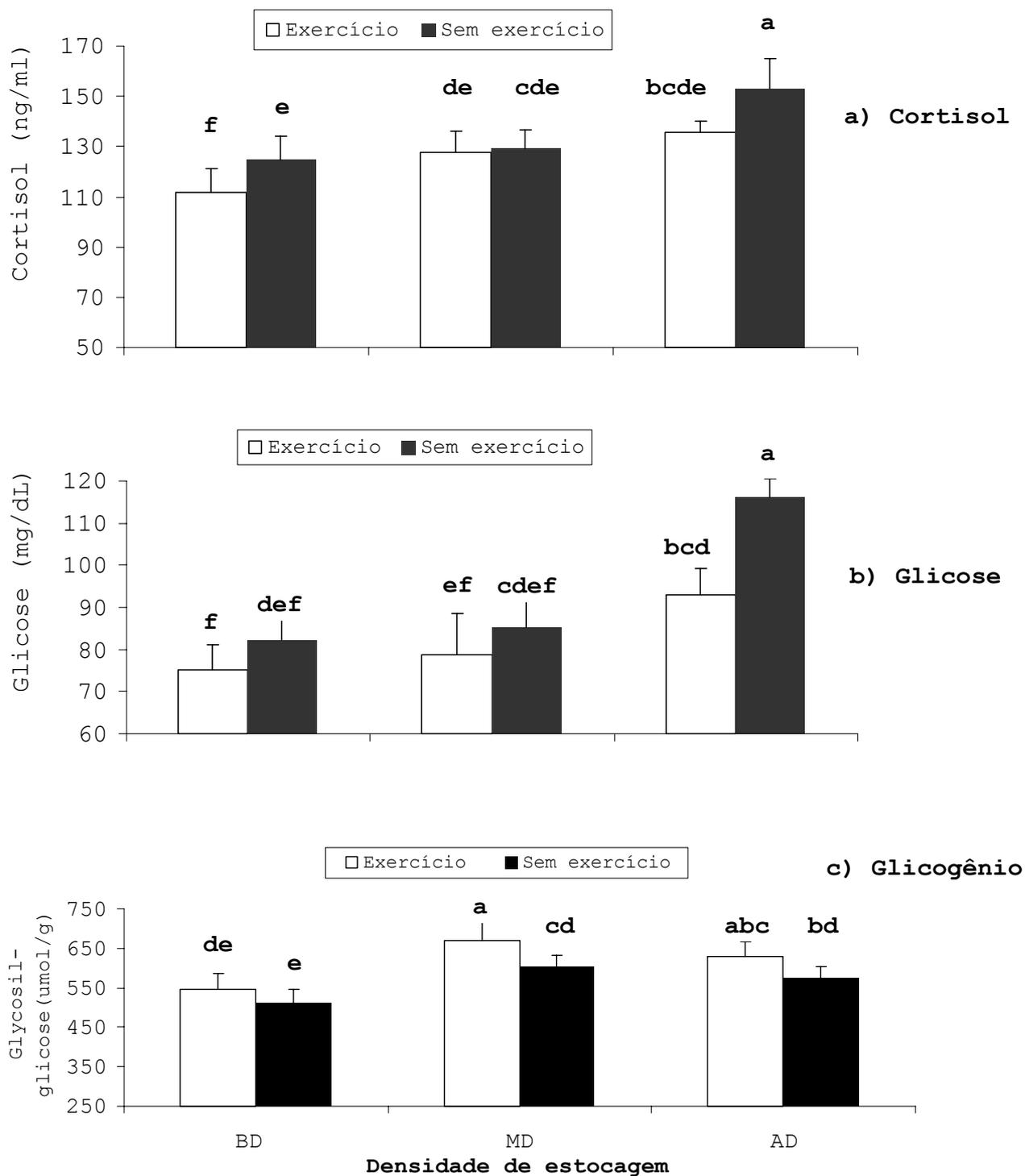


Figura 19. Concentrações plasmáticas de a)cortisol; b)glicose e c)glicogênio hepático, em juvenis de matrinxã criados em diferentes densidades de estocagem e sob exercício moderado. As colunas representam os valores médios de 10 repetições em cada densidade (média \pm DP) Letras diferentes sobrescritas e (*) indicam diferenças significativas.

Os valores de amônia (NH_4^+) plasmática aumentaram significativamente após o período experimental de 70 dias. A densidade de estocagem e a condição de exercício ou sem exercício, afetaram em maior ou menor intensidade o acúmulo de amônia no plasma. A exposição dos peixes a velocidades de natação moderadas atenuou a excreção de amônia, não sendo observados aumentos significativos mesmo nas maiores densidades de estocagem (Figura 20a). Por outro lado, os grupos de peixes colocados nas diversas densidades e que não foram estimulados a nadar, mostraram maiores valores plasmáticos de amônia. A concentração de amônia no fígado mostrou um discreto aumento nos grupos de peixes exercitados, em todas as densidades de estocagem, que nos grupos de peixes que não fizeram exercício (Figura 20b). Houve maior mobilização de aminoácidos no fígado em alta densidade de estocagem tanto no grupo de peixes exercitados como no grupo não exercitado. No entanto, foi observada maior atividade na oxidação dos aminoácidos do fígado no grupo de peixes sem exercício à medida que a densidade de estocagem aumentou do que no grupo de peixes sob exercício contínuo (figura 20c).

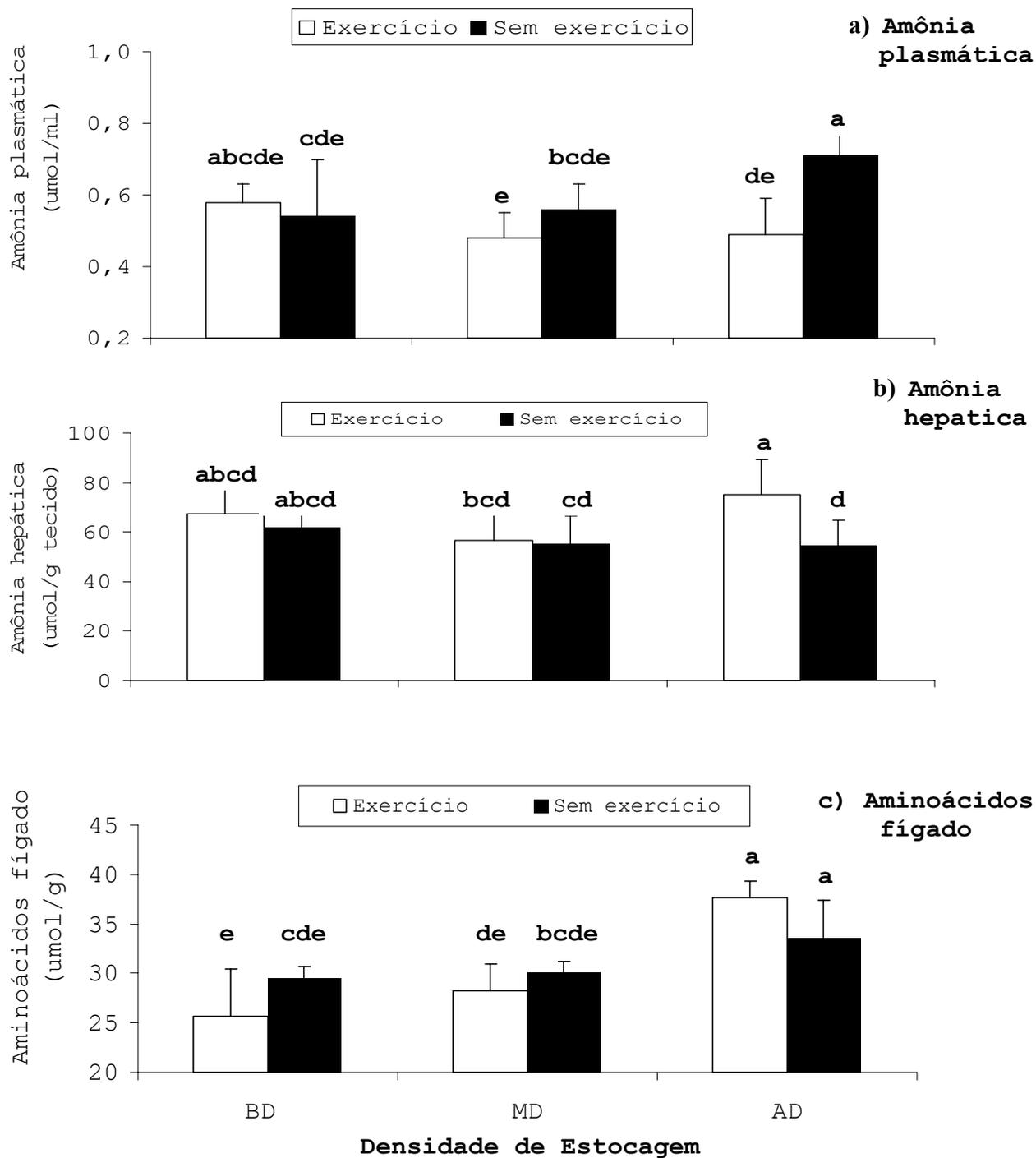


Figura 20. Concentração de amônia no plasma a), fígado b) e aminoácidos no fígado c) em juvenis de matrinxã criados em diferentes densidades de estocagem e sob exercício moderado. As colunas representam os valores médios de 10 repetições em cada densidade (média \pm DP). Letras diferentes sobrescritas e (*) indicam diferenças significativas.

O perfil dos ácidos graxos do fígado mudou significativamente, mostrando respostas diferentes e opostas ao regime do exercício e à densidade de estocagem. O fígado dos peixes não exercitados foi bastante afetado, sobretudo na alta densidade de estocagem, onde se observou, por parte de este último grupo de peixes, um aumento de 16% na utilização dos ácidos graxos (Figura 21a). A concentração de triglicérides plasmáticos diminuiu a medida em que aumentou a densidade de estocagem nos peixes criados sem exercício. Já os peixes na condição de exercício demandaram em menor grau os triglicérides (Figura 21b). As concentrações de triglicérides no músculo branco do grupo de peixes exercitado a velocidade moderada foram mais afetadas pela densidade de estocagem do que dos grupos de referência. Os triglicérides dos juvenis de matrinxã exercitados e estocados na maior densidade diminuíram 40% quando comparado ao grupo de peixes confinado na menor densidade e também exercitado. Entretanto, nos grupos de peixes criados sem exercício, a diminuição desta variável foi de 11% (Figura 21c).

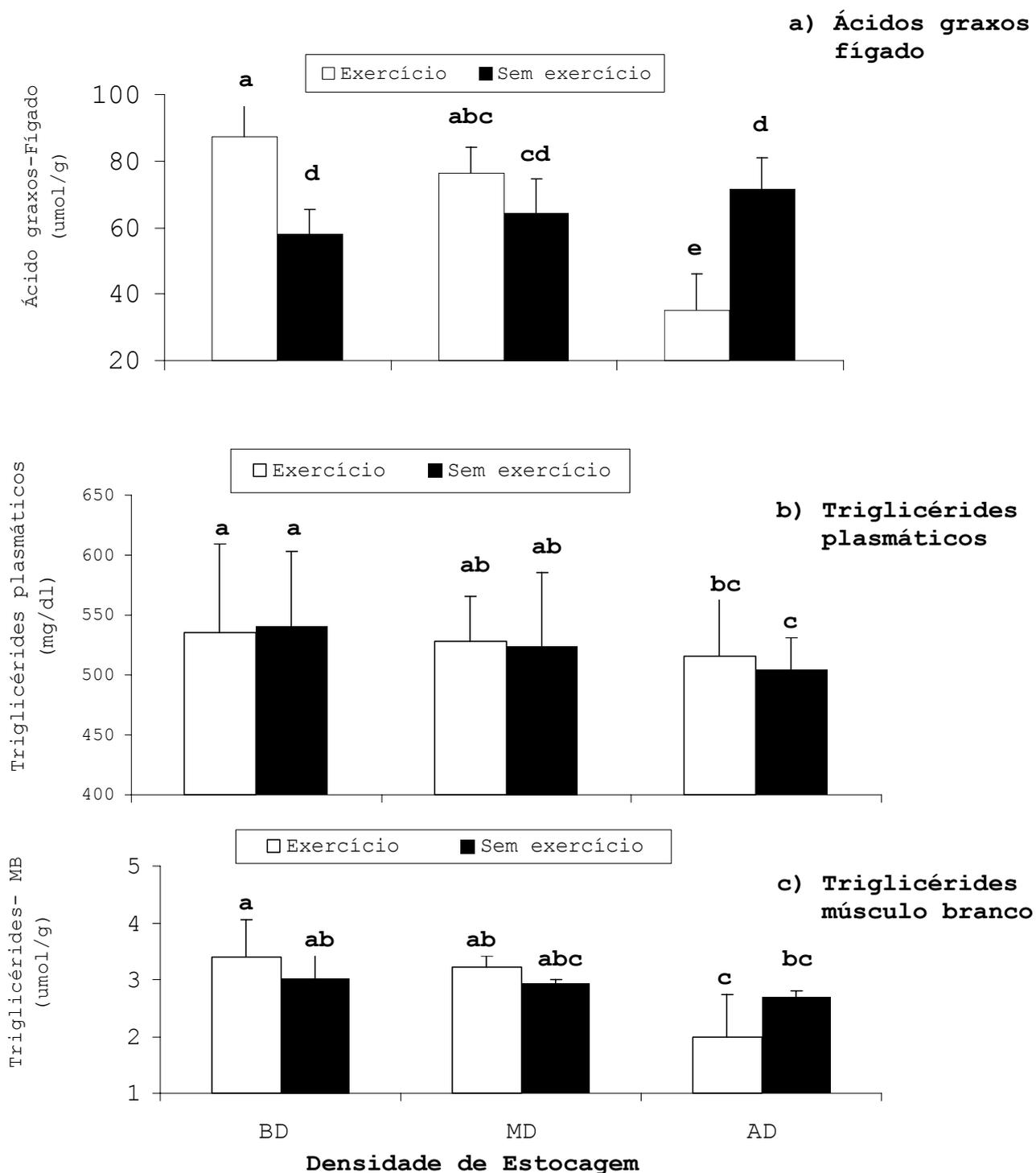


Figura 21. Concentração de ácidos graxos no fígado a), triglicérides no plasma b), e músculo branco c) em juvenis de matrinxã criados em diferentes densidades de estocagem e sob exercício modelado. As colunas representam os valores médios de 10 repetições em cada densidade (média \pm DP). Letras diferentes sobrescritas e (*) indicam diferenças significativas.

6. DISCUSSÃO

6.1 Experimento fase 1: variação da velocidade de natação sustentada

6.1.1 Crescimento

Em décadas passadas muitos aqüicultores acreditavam que a criação de peixes em ambientes de correnteza afetava o crescimento destes, já que muita energia era desviada para atender a demanda energética imposta pela atividade física (JOBLING et al., 1993). De outro lado, outros aqüicultores pensavam que se diminuindo a atividade de natação dos peixes quanto for possível, mais energia era alocada para crescimento máximo PITCHER & HART (1982) *apud* HAMMER & SCHWARZ (1995). Atualmente muitos aspectos controversos já foram desvendados e se estabeleceu um consenso geral de que quando o exercício de natação é conduzido de forma moderada traz benefícios significativos ao crescimento dos peixes. Os resultados do presente estudo confirmam estas afirmações, já que, foi observado que o exercício de natação sustentável nas velocidades entre 1,0 a 1,5 cc/seg promoveu o maior crescimento em juvenis de *B. amazonicus* do que o grupo controle (0,0 cc/seg) e que os outros grupos. Provavelmente a velocidade para ótimo crescimento, esteja nesta faixa, não obstante, outros experimentos devem ser implementados em velocidades de natação variando entre 1,0 a 1,5 cc/seg que possam confirmar estes resultados a fim de chegar a conclusões mais sólidas. Embora o crescimento dos peixes forçados a nadar nas maiores velocidades (2,0 e 2,5 cc/seg) foi semelhante ($p > 0,05$) ao grupo controle, tal fato indica que estas velocidades não foram suficientemente estressantes para causar modificações significativas no metabolismo e no crescimento do *B. amazonicus*. Este peixe vive em ambientes de correnteza, onde se aloja

preferencialmente em águas oxigenadas e rápidas de corredeiras dos igarapés (ZANIBONI FILHO, 1985; VILLACORTA-CORREA, 1987). Além disso, o matrinxã tem um corpo fusiforme ou hidrodinâmico ideal para estudos de crescimento sob sistemas de criação que simulem condições artificiais de correnteza controlada. Segundo DAVISON (1989), em estudos comparativos de populações de peixes selvagens concluiu que estes peixes residentes em habitats lóticos são melhores nadadores do que aqueles que habitam ambientes lênticos ou de pouca correnteza.

Em outras espécies, como salmonídeos, demonstrou-se um melhor crescimento quando os peixes foram submetidos a nado contínuo sob velocidades moderadas (DAVIE et al., 1986; LEON, 1986). HAMMER (1994) demonstrou que o crescimento máximo em salmonídeos foi alcançado em velocidades médias de 1,0 cc/seg e que maiores ou menores velocidades reduzem o crescimento. YOUNG & CECH (1994a), trabalhando com juvenis "Striped Bass", *Morone saxatilis*, submetidos a diferentes velocidades de correnteza (controle: <0,02; lenta: 0,5-1,2 moderada: 1,5-2,4 e rápida: 2,4-3,6 comprimentos corpóreos/segundo), observaram que a velocidade moderada do nado foi a que apresentou o maior crescimento. De outro lado, LOSORDO & WESTERS, (1994) encontraram que velocidades de natação entre 0,5 a 2,0 cc/seg são ótimas para manter a saúde, o tônus muscular e as funções cardio-respiratórias dos peixes. Além destas evidências que sustentam nossos resultados, uma equação desenvolvida por TIMMONS & YOUNG, (1991) também dá suporte aos resultados do presente trabalho. A equação é capaz de prever velocidades não fatigadoras e seguras para o crescimento dos peixes, sendo esta a seguinte: $V_{segura} < 5,25/L^{0,37}$ (L: comprimento total do peixe em cm) aplicando esta equação ao grupo de peixes que nadaram entre 1,0 a 1,5 cc/seg, os quais atingiram um comprimento médio total de 21,8±0,5 cm no final do estudo (dia-90), a equação apontou como velocidade máxima

permissível sem efeitos adversos para estes grupos de peixes de 1,6 cc/seg. Com base na revisão de literatura e nos resultados obtidos neste estudo, podemos sugerir que a velocidade mínima e máxima de natação sustentada, que estimula significativamente o crescimento de juvenis de matrinxã, esta compreendida entre 1,0 a 1,6 cc/seg. No entanto, seria recomendável conduzir outros experimentos com *B. amazonicus* com tamanhos maiores a fim de verificar se o padrão de resposta de crescimento é semelhante ao obtido neste estudo ou se ele muda e ao mesmo tempo, desenvolver uma curva de crescimento para a espécie, baseada em respostas adaptativas de acordo com a intensidade e a duração do exercício. Inclusive trabalhar com tamanhos menores de matrinxã, para testar se o exercício ajuda a minimizar o canibalismo e melhorar a sua sobrevivência (GOMES et al., 2000).

6.1.2 Índice de Uniformidade

Segundo o índice de uniformidade (FURUYA et al., 1998), o peso e o comprimento nas velocidades de 1,0 a 1,5 cc/seg foram mais uniformes do que no grupo de peixes controle e que nas velocidades 2,0 e 2,5, respectivamente (Tabela. III). A maior heterogeneidade no peso e comprimento destes grupos foi devido à formação de hierarquias de peixes dominantes, que levaram a diminuição no crescimento e heterogeneidade de tamanho entre os peixes subordinados. Diversos motivos, como a falta de exercício sustentado, podem ocasionar a falta de uniformidade no tamanho dos peixes. De acordo com JOBLING et al., (1993) taxas de crescimento mais homogêneas e tamanhos mais uniformes, foram observadas em salmonídeos forçados a nadar, que quando comparados com peixes não exercitados. Geralmente, os alguns alevinos do lote tendem a crescer, comer mais e terminar a fase de criação com peso médio maior do que os alevinos menores. Outro fator como diferenças genéticas entre os indivíduos também podem contribuir

com a variação no tamanho dos peixes Assim, em um lote de peixes haverá sempre peixes com melhor combinação genética, convertem melhor o alimento ingerido, melhor adaptação às condições de criação e mais resistentes a agentes estressores. Portanto, estes peixes com a melhor combinação destas características possuem um maior crescimento e são os chamados peixes de "cabeceira" e no outro extremo ficam os peixes "retardatários" de lento crescimento (KUBITZA, 2006).

O manejo alimentar e densidade de estocagem também podem ocasionar falta de uniformidade em peixes. Altas densidades de estocagem e pequenas quantidades de ração, em cada refeição, promovem maior competição por alimento. Assim sendo, na hora da alimentação, os peixes dominantes e mais agressivos comem mais e reprimem os outros peixes menores inibindo seu crescimento. Observações feitas por CHRISTIANSEN & JOBLING (1990) demonstraram que, quando grupos de salmonídeos eram expostos à corrente d'água, estes se orientavam contra a correnteza, formando cardumes, e a frequência entre conflitos diminuía entre eles. Então a variação do tamanho nos juvenis de matrinxã foi reduzida através do exercício e provavelmente mais energia do alimento ingerido foi canalizada para maximizar o crescimento.

6.1.3 Hematologia

Mensurar e conhecer as mudanças que ocorrem nos parâmetros hematológicos dos peixes é importante, já que, sinalizam o estado fisiológico, bioquímico e do bem estar do animal, assim como, os fatores que modulam as respostas desses parâmetros, como xenobióticos, doenças, alimentação, atividade física entre outros. Uma resposta adaptativa observada neste trabalho foi que o exercício sustentável promoveu mudanças significativas nos parâmetros hematológicos em juvenis de *B. amazonicus*. Houve aumento dos valores do hematócrito, da concentração de

hemoglobina e do número de células vermelhas dos peixes que nadaram a 1,5 cc/seg. Provavelmente o aumento destes valores foi devido à contração esplênica do baço destes peixes, que liberaram hemácias a corrente sanguínea, permitindo elevar a taxa de transferência de oxigênio, nutrientes e sub-produtos do metabolismo celular, em resposta a demanda metabólica produzida pelo aumento da contração muscular imposta, pelas diferentes intensidades da correnteza. Embora, os valores hematológicos observados nos outros grupos de peixes que nadaram a velocidades maiores foram iguais ao grupo controle, estes valores foram ligeiramente superiores ao grupo controle. Neste estudo o *B. amazonicus* que nadou na maior velocidade (2,5 cc/seg) mostrou a mesma resposta encontrada por HACKBARTH & MORAES (2006), que trabalharam com *B. amazonicus* de 14 cm de comprimento e sob velocidade constante de natação de 42 cm/seg. Esses autores encontraram baixos valores de hemoglobina nos peixes exercitados do que os peixes controle. Transformando a unidade de velocidade da água (cm/seg) usada por estes autores para unidade de comprimento por segundo (cc/seg) que é utilizada na literatura internacional neste tipo de experimentos com peixes, daria 3 cc/seg. Pelos resultados obtidos por estes autores e o presente trabalho, parece que o matrinxã recorre a outras modificações hematológicas em resposta a aumento crescente da velocidade da água. Provavelmente outro aspecto importante no aumento dos valores hematológicos observados no matrinxã seja devido a que esta espécie ocorre em ambientes lóticos. Tal observação é baseada no trabalho de LAY & BALDWIN (1999) que correlacionaram o tamanho dos eritrócitos e a capacidade de transporte de oxigênio. Estes autores encontraram que existe uma relação inversa entre o tamanho dos eritrócitos e a capacidade de natação aeróbica. Alta concentração de hemoglobina junto com menores volumes de eritrócitos ocorre em peixes da família Carangidae, ativos

nadadores, caracterizados por possuir uma musculatura vermelha bem desenvolvida própria para suportar velocidades de natação sustentáveis. Espécies sedentárias próprias de ambientes lânticos possuem baixa concentração de hemoglobina, associada a grandes eritrócitos, além de ter musculatura vermelha pouco desenvolvida e que entram rapidamente em exaustão durante exercício de explosão.

6.1.4 Composição corporal

Embora a maioria de trabalhos sobre composição corporal de peixes está enfocada na avaliação da composição nutricional da dieta, isto é, fontes e níveis de inclusão de proteína, lipídios e carboidratos no alimento para peixes e como esta se reflete na composição corporal dos peixes. Entretanto, outros fatores podem modificar a composição corporal dos peixes como foi o caso do presente trabalho que observou mudanças marcantes nos componentes da composição corporal dos peixes quando estes foram submetidos a velocidades crescentes de natação. Além disso, o efeito do exercício sustentável na composição corporal depende do tempo e intensidade de exercício a que são submetidos os peixes, tamanho de peixe e composição da dieta.

No presente trabalho foi observado leve aumento no teor de proteína no grupo de *B. amazonicus* que nadaram a 1,0 cc/seg do que o grupo controle e que o grupo nadou a 2,0 cc/seg, provavelmente o maior crescimento destes peixes foi devido a maior deposição de proteína e melhor conversão alimentar. A plasticidade fenotípica muscular é bastante ativa em resposta ao exercício e a maior deposição de proteína deve-se principalmente a hipertrofia das fibras musculares (TOTLAND et al., 1897; JOHNSTON, I. 1999). Enquanto a dinâmica dos lipídios, houve aumento na deposição dos lipídios e diminuição do conteúdo da

água tanto no músculo vermelho quanto no fígado no grupo de peixes que nadaram a 1,5 cc/seg do que o grupo controle, de forma semelhante ao observado por DAVISON & GOLDSPINK, (1977) que observaram aumento de lipídios tanto no músculo vermelho como no músculo branco na truta marram, *Salmo trutta* em velocidade de natação sustentável de 1,5 cc/seg. Quando a velocidade aumentou ate 3,0 cc/seg, os lipídios em ambos tipos de músculo diminuíram, indicando que os lipídios foram usados como fonte de combustível.

De igual forma, CHRISTIANSEN & JOBLING (1989), os quais também evidenciaram que a composição corporal do salmão, *Salvelinus alpinus*, mudou em resposta a exercício sustentável. Estes autores observaram diminuição da deposição de lipídios e aumento da proteína coporal dos salmonideos exercitados do que o controle. No presente trabalho, também houve aumento de proteína e diminuição de lipídios quando comparados com o controle.

A ideal de que peixes exercitados teriam menor crescimento, menor concentração de lipídios e maior conteúdo de água no corpo, quando comparados a peixes sedentários, é devido aos altos níveis de energia requeridos para manter a sua posição contra a corrente da água (HERNÁNDEZ et al., 2002). Entretanto, os resultados obtidos com juvenis de *B. amazonicus* mostram uma resposta totalmente oposta. Uma vez que, contra a correnteza observam-se como respostas adaptativas aumento no crescimento refletido em maior deposição de proteína no músculo branco, aumento dos depósitos de lipídios no músculo vermelho, músculo ventral e fígado, reversíveis às mudanças da velocidade imposta a fim de atender a demandas energéticas do metabolismo. Além do mais, os valores de energia bruta dos músculos (branco, vermelho) e do fígado aumentaram nestes peixes submetidos a exercício continuo em comparação ao grupo controle.

Com os resultados observados neste trabalho, pode-se concluir que: a velocidade de natação sustentável para ótimo crescimento

de juvenis de *B. amazonicus* está na faixa de 1,0 a 1,5 cc/seg, além de menor variação no tamanho. Os valores hematológicos aumentaram como resposta adaptativa reversível à intensidade do exercício. A composição corporal variou conforme a demanda metabólica imposta pelo incremento da atividade física e com o tipo de tecido. A deposição de proteína aumentou conforme os peixes nadaram até velocidades sustentáveis. Além disso, os juvenis de *B. amazonicus* aumentaram as suas reservas energéticas graças a maior deposição de lipídios no músculo vermelho, ventral e fígado como resposta ao estímulo da atividade de exercício sustentado.

6.1.5 Balanço iônico

Alterações no balanço iônico em peixes têm sido descritas em resposta ao estresse como consequência da elevação na concentração de catecolaminas e de cortisol (McDONAL & MILLIGAN, 1997). Os juvenis de matrinxã apresentaram alguns distúrbios na regulação osmótica, sendo isso indicado pelos valores de sódio e potássio. Os valores de sódio aumentaram em média 7% nas maiores velocidades de natação compreendidas entre 1,5 a 2,5 cc/seg enquanto que o grupo controle e grupo de peixes que nadaram a 1,0 cc/seg apresentaram os menores valores basais de sódio. Por outro lado os valores do potássio foram alterados unicamente na máxima velocidade mostrando uma queda de 55% nos níveis sanguíneos de potássio. O desequilíbrio iônico é, portanto, bem notório nos juvenis de matrinxã que foram submetidos ao nado na maior velocidade (2,5 cc/seg). O aumento do sódio e diminuição do potássio sugere que velocidades de natação muito altas causam sérias desordens na homeostase iônica, e muito provavelmente estes peixes sofram um estresse crônico. O tempo de exposição (90 dias) também pode influenciar estas respostas, visto que os peixes ao estarem submetidos a agentes estressantes de longa

duração podem adaptar-se, porém com maior gasto energético que os demais grupos de peixes. Embora o cortisol não tenha sido determinado neste experimento, ele é um componente essencial da resposta de estresse e na regulação eletrolítica (BARTON & IWAMA, 1991, TOMASSO, 1994). Altos níveis plasmáticos de cortisol e de catecolaminas causam dilatação vascular das brânquias, por aumento da pressão sanguínea, promovendo maior tomada de oxigênio. Na osmorregulação, o aumento da perfusão nas lamelas leva conseqüentemente ao aumento da permeabilidade do epitélio branquial, o que resulta em aumento das trocas iônicas através das brânquias devido ao aumento da área de contato das lamelas secundárias com a água (WENDELAAR BONGA, 1997; URBINATTI & CARNEIRO, 2004). Possivelmente, o efeito dos hormônios envolvidos nas respostas ao estresse, como as catecolaminas e o cortisol, tenham causado alterações na bomba de Na^+/K^+ -ATPase, permitindo maior entrada do potássio nas células dos peixes que nadaram contra a maior correnteza. Há estudos que mostram que a injeção de cortisol causa aumento da área superficial das células de cloreto assim como aumento do influxo de sódio e cloreto (EVANS, 2002). HACBARTH & MORAES (2005), encontraram um leve aumento de sódio plasmático em alevinos de matrinxã forçados a nadar durante 72 dias a 2,33 cc/seg. Estes dados e os do presente trabalho sugerem que velocidades de natação acima de 2,0 cc/seg causam desbalanço iônico na espécie *B. amazonicus*. Em estudos com salmão do atlântico *Salmo salar*, expostos a velocidades de natação até 2,0 cc/seg não se observou mudanças na osmolalidade (JØRGENSEN & JOBLING, 1993). Por outro lado, velocidades de natação acima de 2,0 cc/seg com strip bass (*Morone saxatilis*) causaram desordens iônicas (YOUNG & CECH, 1993). Tudo parece indicar que existe um limiar de tolerância no balanço iônico dos peixes, incluindo os juvenis de matrinxã, em função da velocidade de natação.

6.1.6 Metabolismo intermediário

Os perfis metabólicos observados nos juvenis de matrinxã decorrentes das diferentes velocidades de natação a que foram submetidos mostraram diferenças significativas na maioria dos intermediários metabólicos. Alguns dos substratos energéticos foram utilizados em maior ou menor intensidade entre os músculos e o fígado. Alterações plasmáticas das concentrações dos intermediários metabólicos contribuíram para uma melhor interpretação das respostas bioquímicas adaptativas observadas nesta espécie, através de alterações do perfil bioquímico.

6.1.7 Dinâmica do perfil de lipídios

Os lipídios são a principal fonte de energia para os tecidos da maioria dos peixes, e desempenham funções muito importantes ao longo de sua vida (SHERIDAN, 1988). Nos mamíferos, os lipídios estão armazenados no tecido adiposo, enquanto que nos peixes, os lipídios parecem estar armazenados em vários compartimentos de seu corpo. Geralmente, os principais locais de deposição de lipídios nos peixes são as vísceras, fígado, músculo vermelho e músculo branco (JOBBLING, 2001). Entretanto, outro compartimento dos peixes que estoca quantidade significativa de lipídios é o músculo ventral, que dá a forma a cavidade visceral (celoma). Em salmonídeos, o músculo ventral representa 7,9% do peso corporal. Não obstante, é um tecido que funciona principalmente como depósito de lipídios, e no caso dos salmonídeos responde por até 13,7% da deposição de lipídeos corporais. Portanto, a maior concentração de lipídios por grama de tecido corporal está neste músculo e, a exemplo dos salmonídeos, estes exibem concentrações de 28,1%, enquanto que no músculo branco esta concentração é da ordem de 9,6% (JOBBLING, 2001).

Em situações normais, o homem que se submete a regimes de exercício moderado, com o fim de obter melhor qualidade de vida,

espera que os lipídios sustentem a demanda energética do metabolismo imposta pela atividade física com conseqüente redução ou controle de suas concentrações corporais (DAMASSO, 2004; BÜLOW, 1993). No entanto, parece que em alguns vertebrados, como os peixes, essa resposta é outra. No presente trabalho, foi observado um aumento significativo dos lipídios totais e triglicérides no músculo vermelho e de triglicérides no fígado. A intensidade desta resposta variou em função da velocidade da natação e do tipo de tecido. No músculo vermelho, estas respostas foram mais evidentes. Os lipídios aumentaram em média 30% nos grupos de peixes que nadaram em velocidades moderadas (1,0 e 1,5 cc/seg). Embora o grupo submetido à maior velocidade de natação tenha tido maior gasto energético, a deposição de lipídios foi 27% maior que o controle. O músculo vermelho é mais requisitado em exercício moderado de longa duração que o músculo branco, apresenta uma densa rede capilar e alta atividade enzimática mitocondrial, o que lhe confere uma maior capacidade para oxidar combustíveis intramusculares tais como aminoácidos e principalmente ácidos graxos (MOYES & WEST, 1995). O fígado não apresentou variação nos lipídios totais, mas foi observado um acentuado aumento nos triglicérides na medida em que a velocidade de natação se intensificava. Observou-se um aumento de 42% desta variável no grupo de peixes que nadaram na máxima velocidade (2,5 cc/seg) quando comparado ao grupo controle. A magnitude do aumento de triglicérides no músculo vermelho em relação ao fígado foi menor, no entanto a concentração de triglicérides em peixes exercitados a 2,5 cc/seg foi 21% maior do que o grupo de referência. Estas respostas sugerem que uma importante adaptação foi gerada pelo treinamento de natação, no sentido de um aumento dos estoques intramusculares de triglicérides e de aumento da capacidade de utilização. Alguns estudos também mostram aumento nos estoques de lipídios em "striped bass" (YOUNG & CECH, 1994;

YOGATA & OKU, 2000). Já outros pesquisadores têm encontrado respostas opostas (CHRISTIANSEN et al, 1989; JARBOE & GRANT, 1996; OGATA & OKU, 2000). Existem muitas contradições nos dados da literatura referentes à utilização dos lipídios no exercício com peixes, tomando-se em conta que as diferentes espécies respondem de modos distintos ao mesmo estímulo.

Indubitavelmente, nos peixes os ácidos graxos são um importante substrato energético para a natação sustentada de baixa intensidade e longa duração. Além dos ácidos graxos armazenados nos diferentes tecidos como triglicérides, aqueles provenientes da dieta constituem outra fonte importante de substrato para o músculo em exercício.

Neste estudo foi observado um aumento na taxa de oxidação dos ácidos graxos nos músculos branco, vermelho, ventral e fígado. A grandeza deste aumento foi semelhante entre os peixes que nadaram até 2,0 cc/seg. Porém, acima desta velocidade em todos os tipos de tecido muscular, inclusive o fígado, a taxa de utilização dos ácidos graxos praticamente tornou-se duas vezes maior do que o grupo controle. O aumento na concentração dos ácidos graxos nestes tecidos sugere que eles estão relacionados à intensidade do exercício de natação. No músculo ventral a mobilização de ácidos graxos aumentou significativamente (40%) nos grupos que nadaram nas maiores velocidades (2,0 e 2,5 cc/seg). A mobilização dos ácidos graxos no músculo ventral, apesar de ser significativa, não foi o suficiente para alterar os valores de lipídios totais, mesmo nas maiores velocidades de natação, o que sugere que aí esteja o maior depósito de lipídios corporais nos juvenis de matrinxã.

Os lipídios viscerais que banham as vísceras e estão em contato com o músculo ventral, são quantitativamente umas das principais reservas com que contam os peixes. Estão constituídos em mais de 95% por triglicérides (NAVARRO & GUTIERREZ, 1995). No

presente estudo observou-se uma queda significativa de aproximadamente 20% na mobilização de lipídios viscerais em todos os grupos expostos à natação. Muito provavelmente a depleção destes lipídios e a liberação de ácidos graxos na corrente sanguínea deram-se para fins de uso como combustível. Uma vez que ocorreu diminuição significativa de lipídios nas vísceras, o excedente de ácidos graxos plasmáticos possivelmente foi re-esterificado e armazenado na forma de triglicérides, ocasionando maior deposição em tecidos como o músculo vermelho. Valeria ainda mencionar que os ácidos graxos circulantes captados pelo músculo podem vir a ser re-esterificados formando triglicérides e permanecendo dentro das células. Sua presença acabaria não sendo um bom indicador de oxidação, mas sim os níveis de glicerol, que corresponderia ao metabólito secundário da lipólise. Mesmo assim, as evidências mostradas neste experimento indicam que os ácidos graxos foram os principais substratos energéticos para o músculo vermelho. Em comparação com o músculo ventral, cujos lipídios não apresentaram nenhuma mudança significativa na sua mobilização, as vísceras dos juvenis de matrinxã mostraram mobilizar mais facilmente os lipídios depositados. De acordo com THILLART & RAAIJ, (1995); NAVARRO & GUTIÉRREZ, (1995), os lipídios que recobrem as vísceras são os primeiros a serem mobilizados pelos peixes, e na ordem seguiriam os do fígado e os dos músculos natatórios.

A maior deposição de lipídios apresentada pelos peixes exercitados mostra que a espécie *B. amazonicus* possui adaptações morfológicas especiais no sentido de captar e armazenar grandes quantidades de lipídios, os quais ela utiliza como combustível para sustentar a contração muscular. Deste modo, poderia nadar longas distâncias contra a correnteza, o que lhe permitiria chegar às áreas de desova (ZANIBONI, 1985; VILLACORTA-CORREA, 1987). Portanto, as diferentes velocidades de natação a que foram

expostos os juvenis de *B. amazonicus* não fogem muito das do habitat de ocorrência desta espécie de piracema, caracterizado por um ecossistema aquático heterogêneo de águas lânticas e lânticas (SAINT-PAUL, 1986; GOULDING, 1980; 1981).

HACBARTH & MORAES (2005), observaram que o tempo de duração do exercício em alevinos de matrinxã pode influenciar a dinâmica dos lipídios. Esses autores verificaram que aos 37 dias de exercício, o fígado destes animais mostrou uma queda de 24% no teor de lipídios totais, e por volta dos 72 dias um aumento de 26% no fígado e uma queda de 43% no músculo branco. Isso associado ao decréscimo de 46% de triglicérides e aumento de 46% de ácidos graxos. Esses dados indicam uma forte preferência pela mobilização e oxidação deste substrato como estratégia para suprir a demanda energética imposta pelo exercício. O aumento da capacidade oxidativa do músculo vermelho em resposta ao exercício de natação se reflete em maior densidade mitocondrial capaz de gerar aeróbicamente mais ATP por fosforilazão oxidativa, isso permite maior capacidade do músculo vermelho em captar e metabolizar mais lipídios graças ao aumento da densidade capilar no músculo vermelho, promovendo assim, maior área de superfície para a captação de ácidos graxos do sangue e pela intensificação da atividade de enzimas especializadas em mobilizar e metabolizar lipídios (Van den THILLART & RAAIJ, 1995; MAUGHAN et al., 2000).

Classicamente, tem sido preconizado que as proteínas e lipídios foram considerados como os principais substratos energéticos utilizados durante a natação sustentada e que os carboidratos participavam com uma parcela mínima (DREIDZIE & HOCHACHKA, 1978; JOBLING, 1994). No entanto, LAUFF & WOOD (1996), empregando uma câmara respirométrica adaptada, demonstraram que juvenis de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) utilizam lipídios como fonte primária de energia para sustentar a natação moderada. Os carboidratos são uma opção secundária e, em última

instância, a oxidação das proteínas era ativada. Em outro estudo realizado por RICHARDS et al., (2002), a participação dos lipídios no metabolismo aeróbico dos peixes ficou ainda mais evidente. Estes autores colocaram para nadar a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) em intensidades de natação que correspondem a 30, 60 e 90% da velocidade de natação máxima (U_{crit} = velocidade crítica) durante 2, 15 e 240 minutos. Esses autores usaram como indicadores do metabolismo aeróbico a enzima piruvato desidrogenase (PDH), e os intermediários metabólicos, malonil-CoA e ácidos graxos de cadeia longa ligados à carnitina (LCFA-carnitina). Nos 2 primeiros minutos, os valores de malonil-CoA não mudaram nas duas intensidades de natação, mas aos 15 minutos os valores de malonil-CoA caíram 55% em ambas velocidades e permaneceram nestes patamares até os 240 minutos. A atividade da PDH aumentou inicialmente 4, 8 e 12 vezes nas trutas que nadaram a 30, 60 e 90% da U_{crit} . Nas trutas que continuaram nadando durante os 240 minutos nas velocidades de 30 e 60% da U_{crit} , a atividade da PDH voltou aos valores basais. Entretanto, as trutas que nadaram a 90% U_{crit} a atividade da PDH foi 10 a 12 vezes maior que o controle. Os níveis de LCFA-carnitina nos primeiros 15 minutos permaneceram iguais aos níveis basais na velocidade equivalente a 30% da U_{crit} e aumentaram 1,6 vezes ao cabo dos 240 minutos. Porém quando a velocidade aumentou a 60% da U_{crit} , a LCFA-carnitina passou de 1,7 vezes nos primeiros 2 minutos para 2,5 vezes no final dos 240 minutos. De acordo com os resultados deste trabalho, os autores afirmam que a natação sustentável nas trutas que nadaram a 30 e 60 da U_{crit} foi subsidiada pela contração do músculo vermelho, onde os carboidratos são utilizados inicialmente como substrato para a produção de ATP. Porém à medida que as trutas ficam mais tempo nadando a essas velocidades, a utilização de substratos sofre uma mudança, os

carboidratos diminuem sua participação e a oxidação de ácidos graxos de cadeia longa aumenta.

6.1.8 Dinâmica do perfil protéico.

O músculo branco representa a maior massa relativa de tecido do organismo, e conseqüentemente contém a maior quantidade de proteínas (NAVARRO & GUTIÉRREZ, 1995, JOBLING, 2001). Durante a natação sustentada de muitas espécies de peixes que fazem migração reprodutiva, a hidrólise das proteínas musculares é um processo de grande importância no fornecimento de aminoácidos para a neoglicogênese (KETTELHUT et al., 1988; NAVARRO & GUTIÉRREZ, 1995). Entretanto, de maneira geral, a velocidade de síntese e de degradação de proteínas musculares em peixes é muito baixa quando comparada às taxas de síntese protéica do fígado, intestino e brânquias. Apesar da baixa renovação das proteínas musculares, a musculatura esquelética é um tecido bastante significativo nesse processo, pois constitui aproximadamente 60% da massa corporal (WALTON, 1987;).

Os resultados obtidos com juvenis de matrinxã, apresentados neste trabalho, sobre o perfil protéico mostram que há uma relação bem estreita entre a utilização dos aminoácidos das proteínas e a intensidade do exercício. A concentração de amônia no músculo branco foi semelhante entre o grupo controle e os grupos que nadaram entre 1,0 e 1,5 cc/seg. No entanto, em relação ao grupo controle esta concentração aumentou significativamente, passando de 27% no grupo que nadou a 2,0 cc/seg para 41% no grupo de peixes forçados a nadar a 2,5 cc/seg. Isto sugere que a velocidade de natação muito alta provoca efeitos danosos no metabolismo e no crescimento de matrinxã. Esses resultados assemelham-se aos encontrados por LAUFF & WOOD (1996). Estes autores treinaram truta arco-íris, mantendo a alimentação, durante duas semanas em um túnel de natação a 1 cc/seg. Esta

velocidade representou 25% da U_{crit} da espécie. Após o treinamento, os peixes foram transferidos para um respirômetro e permaneceram ali por 58 horas nadando a 55% da U_{crit} . O consumo de oxigênio, a taxa de excreção de dióxido de carbono (CO_2) e a produção de resíduos nitrogenados (soma da amônia + uréia) era determinada a intervalos regulares. Este protocolo foi comparado com trutas não treinadas. Ao final, estes autores concluíram, por um incremento absoluto da excreção da amônia, que a contribuição relativa de oxidação de proteína aumentou com a duração da velocidade de natação. No entanto, a taxa de excreção de resíduos nitrogenados foi 39% menor nas trutas treinadas, isto é, o catabolismo das proteínas, refletido na menor excreção de compostos nitrogenados, foi menor, o que permitiu às trutas disponibilizar maior quantidade de proteína para o crescimento.

O músculo vermelho e o fígado também mostraram um comportamento semelhante ao do músculo branco em relação à amônia. No fígado, os valores médios de amônia nos grupos controle e exercitado a 1,0 cc/seg foram iguais. Porém, a concentração média de amônia nos peixes que nadaram em velocidades mais altas (1,5 a 2,5 cc/seg) aumentou significativamente em 36% em relação aos grupos anteriores. No músculo vermelho, os teores de amônia nos grupos controle, 1,0 e 1,5 cc/seg não variaram significativamente entre si. Porém, nas maiores velocidades de natação, compreendidas entre 2,0 e 2,5 cc/seg, houve aumento significativo de 33% dos teores de amônia em relação aos dois grupos anteriores. O músculo locomotivo dos peixes (músculo branco + músculo vermelho) responde por até 60% do peso total do corpo, sendo o músculo branco o maior representante do peso do peixe, não obstante, a participação deste músculo é mínima na vida diária do peixe e só é requisitado em situações que exigem movimentos explosivos de curta duração (ultrapassagem de obstáculos como corredeiras ou em atividades de

caça). Por outro lado, o músculo vermelho, embora participe com uma pequena parcela do peso total do peixe (entre 0,5 a 13%), desempenha um papel muito importante visto que a maioria das espécies de peixes estão constantemente se mobilizam de um local para outro (natação sustentada) em procura de melhores áreas para se alimentar ou reproduzir (TSUKAMOTO, 1994; GIBB & DICKSON, 2002). Tudo parece indicar que a velocidade de natação até uma determinada intensidade causa um ajuste no metabolismo no sentido de poupar o músculo, ou seja, há um aumento líquido da deposição de proteína no músculo, às expensas dos lipídios, sempre e quando os peixes se alimentem e nadem continuamente a velocidades moderadas (CHRISTIANSEN et al., 1989; LAUFF & WOOD, 1997; RICHADS et al., 2002). Além disto, o metabolismo indica que os carboidratos e lipídios são utilizados em maior quantidade, não somente para impulsionar o exercício, mas também para revitalizar a síntese de proteína durante a natação (WOOD 2001).

Os valores de aminoácidos no músculo vermelho em todos os grupos expostos às diferentes velocidades de natação não diferiram entre si. Mas, o valor médio dos aminoácidos aumentou 8,8% comparados ao grupo controle. No entanto, não foi observada nenhuma alteração na fração protéica do músculo vermelho.

A plasticidade do músculo branco foi bem evidente pela alteração observada na concentração de proteína em resposta ao incremento da velocidade de natação. Os maiores valores foram observados no grupo controle e no que nadou a 1,0 cc/seg. Já os grupos que nadaram entre 1,5 a 2,0 cc/seg sofreram uma redução da proteína muscular da ordem de 9,5%. E esta resposta, comparada ao controle, foi ainda 16% maior nos peixes que nadaram na máxima velocidade. As respostas observadas tanto no músculo vermelho como no músculo branco são semelhantes às descritas por NAVARRO & GUTIÉRREZ, (1995) para a migração reprodutiva realizada por salmonídeos, inclusive, por espécies nativas brasileiras durante

a piracema, quando percorrem milhares de quilômetros sob restrição alimentar forçada. Estes peixes se vêm obrigados a mobilizar diferentes fontes de energia, as quais são utilizadas para impulsionar a natação. No início da migração, as reservas de proteína são poupadas e por volta do último terço da jornada, quando as reservas de energia estão praticamente esgotadas, estes peixes lançam mão das suas reservas de proteína corporal, especialmente as proteínas do músculo branco preservando as de músculo vermelho. Inclusive, outros estudos mostram que após sete meses de restrição alimentar induzida há queda na proteína muscular (JØRGENSEN et al., 1997; DIAS, 2006).

Os aminoácidos do fígado foram alterados pela velocidade da correnteza da água. O maior valor de aminoácidos correspondeu ao grupo de referência. Por outro lado, o valor médio dos aminoácidos dos peixes que nadaram em todas às velocidades de natação foi 15% menor em relação aos valores basais. A fração protéica do fígado também mostrou mudanças significativas. As concentrações de proteína do grupo basal e dos grupos de peixes que nadaram até 2,0 cc/seg foram estatisticamente iguais. Mesmo assim, esta variável diminuiu com a velocidade da água. Tanto assim que, na maior intensidade de natação, o teor de proteína caiu 5% em relação ao grupo basal e 2,0 cc/seg.

As variações plasmáticas nos valores dos intermediários metabólicos são fortemente dependentes dos processos metabólicos que ocorrem nos tecidos. A amônia plasmática mostrou aumento progressivo com a intensidade do exercício. Inicialmente, esses valores aumentaram 29,3% nos peixes que nadaram na faixa de 1,0 a 1,5 cc/seg. Estes valores continuaram aumentando para 35% na medida em que a correnteza da água aumentava (2,0 cc/seg) até atingir o pico de amônia plasmática na maior velocidade de natação (44% dos níveis basais). Foi observada uma relação inversa entre o perfil de aminoácidos e de proteína plasmática.

Os maiores teores de proteína plasmática foram apresentados pelos peixes dos grupos controle e 1,0 cc/seg. Simultaneamente, estes mesmos grupos exibiram os menores teores de aminoácidos. Com o aumento da velocidade da água, e em função do tempo em que os peixes permaneceram nadando contra a correnteza, a relação inversa destas respostas (aminoácidos e proteína) ficou mais evidente (figura 3).

Uma importante adaptação ao exercício é a mobilização de aminoácidos das proteínas, principalmente dos músculos esqueléticos, a fim de suprir o organismo com aminoácidos para a neoglicogênese (KETTELHUT et al., 1994; BUSQUETS et al., 2002; MOMMSEN, 2004). Os resultados obtidos referentes à utilização de proteínas como substrato energético para manter a homeostase da glicose mostram que o aumento da liberação de aminoácidos, e o conseqüente aumento de amônia foram significativamente mais intensos nos músculos natatórios dos juvenis de matrinxã expostos às maiores velocidades de natação. Isso resultou no decréscimo da síntese de proteína e de um característico aumento na degradação da proteína muscular. Tal achado pode explicar o menor crescimento destes grupos em relação aos que nadaram entre 1,0 a 1,5 cc/seg. Em outras espécies de peixes, como a truta marrom, também foi observado um aumento no catabolismo de proteínas em resposta ao aumento na velocidade de natação (DAVISON & GOLDSPIK, 1977; DAVISON, 1997).

O músculo vermelho do salmão durante a subida do rio (piracema) é conservado. Esse período é considerado catabólico, pois os peixes não se alimentam, percorrendo grandes distâncias e mobilizando proteína para o desenvolvimento das gônadas (MOMMSEN et al., 1980). WOOD (2001) assinala que a fração de excreção de nitrogênio será menor se os peixes nadarem a velocidades moderadas enquanto se alimentam, isto é, os aminoácidos provenientes do pool de aminoácidos serão canalizados

preferivelmente para síntese protéica do que para desaminação e oxidação. Este autor diz que, preferencialmente, a tomada de alimento parece elevar a concentração plasmática de aminoácidos essenciais, enquanto que a ação da natação aumenta os aminoácidos não essenciais. O efeito sinérgico destas duas ações potencializaria a síntese de proteína muscular.

6.1.9 Dinâmica do perfil de carboidratos

A contribuição dos carboidratos no metabolismo aeróbico dos peixes é relativa ao grau de intensidade de esforço a que são submetidos os músculos. O glicogênio intramuscular é um pequeno depósito e as reservas de energia não suportariam a natação moderada por muito tempo (MOYES & WEST 1995). A concentração média de glicose plasmática em todas as velocidades aumentou 18% em relação aos valores basais do controle. Paralelamente, o piruvato aumentou ligeiramente nas velocidades intermediárias apesar de não diferirem entre si. No entanto o teor de piruvato no grupo de peixes que nadou a 2,5 cc/seg aumentou 25% em relação aos demais grupos.

A concentração de glicogênio muscular e hepático nos peixes pode variar em função de muitos fatores tais como, a espécie, o estado fisiológico, a sazonalidade ambiental, a composição e a quantidade de alimento (NAVARRO & GUTIERREZ, 1995; THILLART & RAAIJ, 1995). Mas, também pode variar com a intensidade e duração do exercício, como foi verificado no presente trabalho. No músculo vermelho foi constatado um aumento de 25% nos estoques de glicogênio no grupo de peixes que foram forçados a nadar entre 1,0 e 1,5 cc/seg. Em velocidades de natação mais altas estes estoques caíram a níveis basais. Respostas semelhantes foram observadas no fígado dos peixes que nadaram entre 1,0 e 1,5 cc/seg. A disponibilidade dos estoques de glicogênio hepático e muscular está correlacionada com a performance e o aparecimento

da fadiga e seu decréscimo provoca aumento da oxidação de aminoácidos para a manutenção da homeostase da glicose, como foi verificado no presente estudo. Já que nas maiores velocidades de natação, os estoques de glicogênio no fígado, músculo branco e músculo vermelho foram mobilizados junto com os aminoácidos como fonte de energia para a manutenção da contração muscular. As reservas energéticas de glicogênio e de lipídios desempenham um papel muito importante em proteger (poupar) os aminoácidos de serem usados como substratos anapleróticos. De forma geral, foi observado um padrão de respostas adaptativas no sentido de que os peixes que nadaram a velocidades moderadas responderam com aumentos gradativos nos valores de glicogênio em diferentes tecidos. Os estoques de glicogênio no músculo vermelho foram três vezes maiores que os do músculo branco.

TOTLAND et al., (1987), estudaram o efeito da natação sustentada de longa duração (8 meses) no crescimento e na composição muscular. Estes autores constataram que o conteúdo de glicogênio nos músculos natatórios do salmão do atlântico (*Salmo salar*) exercitado era 15% maior que o do grupo de referência. Quando compararam o conteúdo de glicogênio entre o músculo branco e músculo vermelho, constataram que este último apresentava 7,5% mais glicogênio que o músculo branco dos salmões treinados. Todavia, estes autores não encontraram explicação para o aumento do glicogênio no músculo vermelho destes salmonídeos. Em nosso estudo, o aumento do glicogênio deveu-se, provavelmente, ao processo da gliconeogênese, visto que sua função é produzir e prover glicose a partir de moléculas não glicídicas como aminoácidos, lactato, piruvato e glicerol. Nos diferentes tecidos, vários intermediários metabólicos estavam aumentados (amônia, piruvato e ácidos graxos) em relação ao grupo controle. Por exemplo, neste trabalho os valores de piruvato aumentaram praticamente em todos os tecidos analisados. Esta situação sugere

que havia sobra de energia e, portanto o piruvato estava sendo redirecionado para o processo da gliconeogênese. É importante notar que a mobilização de glicogênio é muito lenta, além de cobrir as necessidades energéticas por pouco tempo, de forma que a maior parte da glicose requerida para impulsionar os músculos dos peixes nas diferentes velocidades originou-se da gliconeogênese.

Por outro lado, o não aumento de lactato nos juvenis de matrinxã durante os 90 dias de experimento, independente da velocidade de natação, indica que as fibras vermelhas oxidativas foram recrutadas antes das fibras glicolíticas (fibras brancas). As fibras brancas são utilizadas em condições que exigem movimentos rápidos como na fuga de predadores, na caça de presas e na ultrapassagem de obstáculos durante a piracema. Isso sugere que uma significativa parcela do lactato produzido pela glicogenólise muscular, ou pela glicólise anaeróbica no músculo, é metabolizada "in situ" ou seja, durante o exercício de natação sustentado, o músculo esquelético foi o principal local de produção e de remoção de lactato. E a participação do ciclo de Cori, no metabolismo do lactato e no controle da glicemia, é de pouca importância, como relatado por CORNISH & MOON, (1985) e MILLIGAN & McDONALD (1988) para enguias, (*Anguilla rostrata*). Ainda, a participação de outra via metabólica pouco estudada mesmo em mamíferos, a neoglicogeniogênese, que consiste na utilização do lactato pela própria célula muscular para a formação do glicogênio (XAVIER et al., 2002), possivelmente explicaria o aumento de 3 e 25% no conteúdo de glicogênio do músculo branco e do músculo vermelho nos grupos de peixes que nadaram nas velocidades entre 1,0 a 1,5 cc/seg quando comparados ao grupo controle.

Com base na literatura revisada e aos resultados obtidos no presente estudo, sugere-se que o exercício prove estímulos

específicos e variadas adaptações nos peixes, em função ao tipo, intensidade e duração do exercício. Exercício de natação de baixa ou de alta intensidade produz modificações metabólicas, hormonais e tal vez estresse, já que os substratos energéticos são utilizados de acordo o tipo de fibra recrutada e com a intensidade e duração da atividade, ocasionando adaptações bioquímicas e fisiológicas de forma aguda ou crônica.

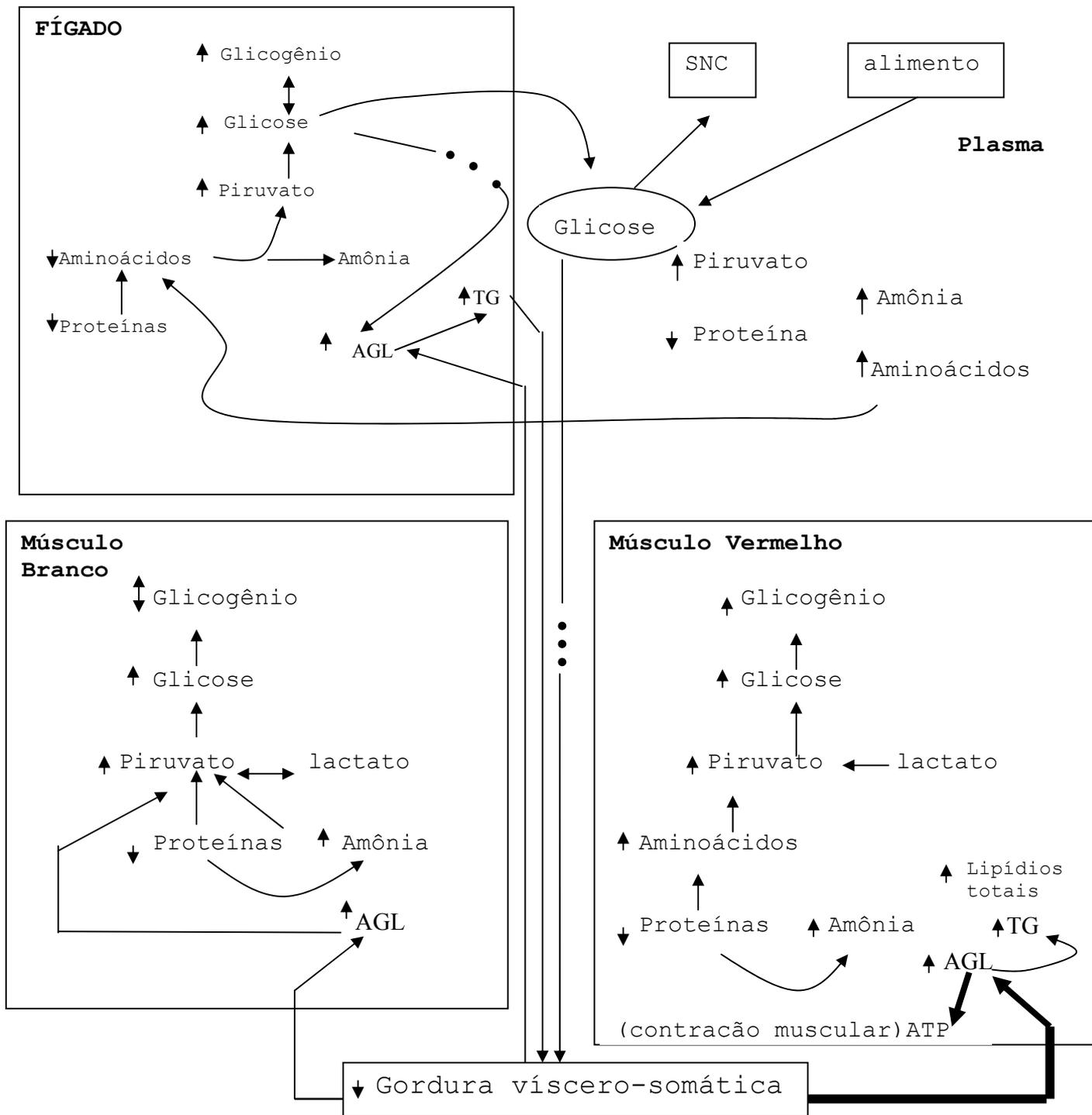


Figura 22. Mapa metabólico e as possíveis rotas dos intermediários metabólicos nos diferentes tecidos dos juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* submetido a diferentes velocidades de natação.

6.2 Experimento da fase dois: densidade de estocagem associada à velocidade de natação sustentada

6.2.1.Crescimento

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que a taxa de crescimento dos juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* variou significativamente em função tanto da densidade de estocagem quanto do regime de exercício. Durante o período de criação o grupo de peixes que foi estimulado a nadar a velocidade moderada (1,0 cc/seg) e que foi submetido à densidade média de estocagem (176 peixes/m³) foi mais eficiente no ganho em peso (Figura 1 e Tabela 1), além de apresentar um fator de condição melhor que os submetidos às demais densidades. O uso de altas densidades de estocagem como técnica para maximizar os recursos aquáticos em um determinado espaço físico pode ser uma atraente operação econômica e comercial em qualquer parte do mundo. No entanto, o emprego de tal estratégia de produção esconde alguns fatores que podem tornar-se problemáticos com o avanço da criação, como preconizado por muitos autores. Resultados de diversos estudos demonstraram que há uma relação inversa entre a taxa de crescimento e a densidade de estocagem, isto é, à medida que o adensamento dos peixes aumenta, seu crescimento diminui (VIJAYAN et al. 1988; HUANG & CHIU, 1997; PROCARIONE et al. 1999; EL-SAYED, 2002; RIDHA, 2006). Os resultados obtidos em nosso estudo também sustentam em parte essas afirmações. No final do período experimental (70 dias) o grupo de peixes que não foi induzido a nadar em condições controladas cresceu bem menos na maior densidade de estocagem (73 gramas) enquanto que o grupo cultivado em baixa densidade cresceu 31% mais (106 gramas). Outros trabalhos com esta espécie têm mostrado estas respostas de crescimento devidos a altas densidades de estocagem (GOMES et al., 2002). Entretanto, esta resposta não foi evidente no outro

grupo de peixes que realizou exercício moderado nas diferentes densidades de estocagem. Em condições normais era de se esperar que uma redução no crescimento acompanhasse o aumento na densidade de estocagem, porém no presente trabalho não houve diferenças significativas entre o peso médio dos grupos confinados na baixa, média e alta densidade de estocagem (128; 136 e 103 gramas). Inclusive, o peso médio de todos os grupos de peixes exercitados aumentou 27% em relação ao peso médio dos grupos de peixes sem exercício. Quando os peixes são treinados a nadar a velocidades de nado sustentável, diversas respostas adaptativas fisiológicas, bioquímicas, comportamentais e morfológicas são ativadas em resposta ao estímulo do exercício. Em velocidades de natação tipo cruzeiro, algumas espécies de peixes gastam menos energia na respiração branquial devido à ventilação "ram" isto é, eles diminuem a frequência opercular e abrem a boca para que entre um maior volume de água, banhando as brânquias (RANDALL, 1982; STEFFENSEN, 1995). O exercício sustentado promove e acelera as taxas de crescimento de forma significativa em muitas espécies de salmonídeos (DAVISON & GOLDSPIK, 1977; TOTLAND et al. 1987; DAVISON, 1989; JOBLING 1990). A natação sustentada por longos períodos produz mudanças marcantes, principalmente nos músculos propulsores dos peixes. Considerando-se que estes músculos representam entre 50 a 60% de seu peso vivo, qualquer estímulo sobre ele induzirá impactos significativos no seu crescimento (HOULIHAN & LAURENT, 1987; JOBLING, 1994; JOHNSTON et al. 2000a). Diversos estudos têm sugerido que o aumento na heterogeneidade de tamanho é um indicativo do estabelecimento de dominância hierárquica e competição pelo alimento, com a supressão do crescimento de indivíduos subordinados por peixes dominantes (HIGBY & BEULING, 1988; BAGLEY et al., 1994; CANARIO et al., 1998). Em nosso trabalho, o coeficiente de uniformidade foi utilizado como

ferramenta para avaliar o grau de uniformidade dos peixes criados em diferentes densidades, com ou sem exercício. Observou-se que em todas as densidades testadas houve um aumento na uniformidade dos peixes (Tabela 1). Os grupos de peixes exercitados mostram melhor índice de uniformidade que os grupos de peixes que não fizeram exercício. O matrinxã é uma espécie muito agressiva e quando cultivada em baixa densidade é muito freqüente verificar ataques contra animais mais fracos, ou subordinados. No presente estudo foi possível verificar o comportamento antagonista dos juvenis de matrinxã que não realizaram exercício em baixa e média densidade de estocagem, o qual foi refletido em maiores taxas de mortalidade (Tabela 1). Esta mortalidade ocorreu, principalmente, no primeiro mês do experimento. As causas desta mortalidade foram devido primariamente a agressões dos peixes dominantes sobre os inferiores. Este comportamento antagônico era mais pronunciado a noite, visto que no dia seguinte encontravam-se muitas escamas no filtro mecânico do sistema, além de se observar, na hora de limpeza das caixas, restos de partes de corpos de peixes que haviam sofrido ataques durante a noite. Por outro lado, a taxa de sobrevivência dos grupos de peixes exercitados em todas as densidades de estocagem foi de 100% e em nenhum momento mostraram sinais de agressões físicas. Quando estes grupos foram colocados para nadar contra a correnteza estes se posicionavam na coluna d'água e exibiam comportamento de formação de cardume. Sabendo-se que a espécie *B. amazonicus* faz migração reprodutiva, este comportamento reofílico era exacerbado ainda mais. Outra observação evidente nestes grupos de peixes exercitados, sobretudo na alta densidade de estocagem, foi uma maior agressividade no consumo de ração que os grupos controle (sem exercício). PAPAOUTSOGLU et al., (1998), sugerem que altas taxas de estocagem estimulam o desenvolvimento do comportamento de aprendizagem (efeito cardume) que leva a maior consumo do alimento. Uma maior

densidade de estocagem quebra a dominância hierárquica o que permite diminuir as agressões e as interações sociais entre os peixes; o que acontece com mais freqüência quando são utilizadas em baixas densidades (JOBILING & WANDSVIK, 1983; CHRISTIANSEN et al., 1992). Quando os peixes são exercitados em altas densidades de estocagem estas respostas comportamentais antagonistas são praticamente eliminadas por completo, pois além dos peixes estarem bem adensados e nadando contra a correnteza não sobra tempo nem espaço para estabelecer domínio territorial e competição pelo alimento, e a energia ingerida, que seria desviada para atender a demanda extra de atividade espontânea, é direcionada para o crescimento (CHRISTIANSEN & JOBILING., 1990; JOBILING, 1994; CHRISTIANSEN et al., 1991).

Deste modo, foi possível verificar em nosso trabalho que a combinação de exercício de baixa intensidade aliada a altas densidades de estocagem permite evidenciar efeitos benéficos nos juvenis de matrinxã através de maiores taxas de crescimento em menor tempo que nos peixes criados em sistemas tradicionais. Tal técnica de manejo permite a maximização eficiente da produção traduzida em maior capital de giro em menor tempo.

6.1.2 Respostas metabólicas

Os triglicérides são uma importante fonte de energia em peixes teleósteos (SHERIDAN, 1988) e parecem ser mobilizados quando os peixes são confinados em altas densidades de estocagens a fim de atender o aumento na demanda energética. Evidências destes fatos foram observadas no presente estudo, a partir da diminuição dos estoques de triglicérides do músculo branco dos juvenis de matrinxã criados sob diferentes densidades de estocagem com ou sem exercício. A diminuição dos estoques de triglicérides foi 40% maior nos peixes que fizeram exercício e quando criados na maior densidade que o grupo de referência, onde

a perda foi de 11%. De outro lado, os ácidos graxos no fígado foram primariamente utilizados como substrato energético no grupo de peixes que não realizou exercício enquanto que o grupo de peixes exercitados tinha valores baixos de ácidos graxos. Sugere-se que a preferência por ácidos graxos nos grupos de referência foi ainda mais marcante à medida que a densidade de estocagem aumentou, enquanto que os peixes exercitados e estocados nas diversas densidades mostraram pouca mobilização dos ácidos graxos hepáticos. VIJAYAN et al. (1990) estudando o metabolismo energético e a alta densidade de estocagem em salmonídeos, encontraram altos níveis de oxidação dos ácidos graxos no fígado como produto da elevada atividade enzimática da hidroacyl CoA desidrogenase (HOAD), uma enzima chave na β -oxidação. Estes autores sugerem que a oxidação dos ácidos graxos provenientes de triglicérides e os esqueletos de carbono do glicerol, que são precursores na gliconeogênese, são usados para manter a homeostase nos salmonídeos. Em dourada (*Sparus aurata*), espécie de peixe marinho, quando confinada em altas densidades, foi encontrado uma diminuição do peso do fígado e do índice hepatossomático, além de uma leve redução dos lipídios do fígado (MONTERO et al., 1999). Na carpa (*Cyprinus carpio*) altas densidade de estocagem também causa aumentos nos ácido graxos plasmáticos para contrabalançar a demanda imposta pelo metabolismo energético.

Outro ajuste metabólico, observado no presente trabalho, como indicador clássico de respostas secundárias ao estresse por confinamento foi um aumento de 23% no teor da amônia no plasma no grupo de peixes de referência (sem exercício) em relação ao grupo submetido à natação moderada. A amônia plasmática no grupo de referência começou a aumentar nos peixes que foram estocados em média densidade atingindo teores significativamente altos. No entanto, no grupo de peixes exercitados não foi observado nenhuma

alteração significativa nos teores plasmáticos. Tal achado baseia-se no fato de que o grupo de referência teve uma alteração metabólica, isto é, houve aumento no catabolismo das proteínas especialmente dos aminoácidos hepáticos que sofreram processos de desaminação oxidativa e utilização dos esqueletos de carbono como fonte de energia para garantir a demanda de glicose (van den THILLART & RAAJI, 1995) (Figura 3c). Ressalte-se que o perfil da mobilização dos aminoácidos hepáticos foi mais, acentuado no grupo de peixes que não realizou exercício físico, em quase todas as densidades de estocagem se comparados ao grupo de peixes exercitados. LAUFF & WOOD (1997) mostraram que quando peixes são treinados moderadamente se produz uma reorganização metabólica, no sentido de economizar proteínas, com menor excreção de produtos nitrogenados do que em peixes que não realizam exercício. Sendo assim, sugerimos que os juvenis de matrinxã quando confinados em altas densidades de estocagem utilizam as proteínas como fonte significativa de energia em situações de estresse, e que o fígado é o principal órgão envolvido na regulação de seu catabolismo, tal como apontado também por MOYES & WEST, (1995) e WOOD, (2001).

6.2.3 Respostas hormonais

Os resultados do presente estudo mostram claramente que altas densidades de criação têm efeitos adversos no metabolismo intermediário de juvenis de matrinxã. O adensamento de modo geral, expõe os peixes a situações de estresse crônico (VIJAYAN & LEATHERLAND, 1988, VIJAYAN et al., 1990) o qual impõe severa demanda de energia e pode predispor-los à perda da capacidade imune e conseqüentemente a surtos infecciosos (WEDEMEYER, 1996). As exigências extras de energia são sustentadas graças a fontes de energia corporal que são mobilizadas, resultando em menor crescimento e performance (VIJAYAN & LEATHERLAND, 1988). O quadro

fica ainda mais grave em peixes mantidos em altas densidades de estocagem por causa da diminuição no consumo de alimento (VIJAYAN & LEATHERLAND, 1988, VIJAYAN et al., 1990). Conseqüentemente, a maior demanda de energia impera sobre as reservas de energia condensadas nos compartimentos corporais. Embora a maioria destas evidências sugira efeitos negativos decorrentes de altas densidades de estocagem, isso não parece ser aplicado ao matrinxã, como apontam URBINATI & CARNEIRO, (2004). Estas afirmações estão apoiadas em experimentos realizados com exemplares adultos de matrinxã. ROCHA et al., (2004) inicialmente colocaram 25 peixes/50m² de viveiro e após 30 dias de criação, aumentaram a densidade para 75 animais/50m². Após este manuseio, seis peixes foram amostrados a 1, 3, 6 e 24 horas. Esses autores verificaram que os valores do cortisol e de outros parâmetros bioquímicos não foram alterados, sugerindo que a espécie *Brycon* apresenta uma ampla faixa de tolerância ao manejo de captura e à alta densidade de estocagem. Em um outro experimento conduzido por URBINATI et al, (2004) onde juvenis de matrinxã foram transportados durante 4 horas em diferentes densidades de estocagem, tampouco foi observada alteração dos valores de cortisol plasmático. Nestes dois trabalhos, realizados com exemplares jovens e adultos de matrinxã, o tempo que permaneceram na condição de alto adensamento foi curto (4 - 24 horas), e provavelmente a resposta ao tempo e ao agente estressor não foram suficientemente severos para ocasionar um aumento significativo do cortisol. Isso indica que esta espécie apresenta um conjunto de respostas tardias em função do tempo de ação do agente estressor. Isso foi observado em nosso trabalho, onde o tempo de exposição à alta densidade foi amplo (70 dias), ocasionando alterações homeostáticas em diversos sistemas orgânicos.

Peixes submetidos a altas densidades de estocagem sofrem alterações fisiológicas e bioquímicas que levam a desvios da

homeostase (WAMA et al., 1997). O cortisol, denominado por alguns autores como o hormônio do estresse, é produzido pelas células inter-renais localizadas na região anterior dos rins. Ele exerce dupla ação, tanto glicocorticóide como mineralocorticóide (MOMMSEN et al., 1999). Aumento dos níveis plasmáticos deste hormônio é interpretado como sinais de estresse em peixes. Altos níveis do cortisol provocam alterações no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios, visto que sua presença na circulação produz o catabolismo destes intermediários a fim de suprir glicose via gliconeogênese em quantidades suficientes para garantir a elevada demanda energética (WENDERLAAR BONGA, 1997; MOMMSEN et al., 1999), uma alteração já preconizada na maioria da literatura científica e confirmada no presente trabalho. Os juvenis de matrinxã apresentaram alteração nos níveis plasmáticos do cortisol decorrente das taxas de densidade de estocagem associada ou não ao exercício induzido. Os níveis plasmáticos de cortisol elevaram-se significativamente (19%) no grupo de peixes de referência (sem exercício), estocados em maior densidade, em relação ao grupo de peixes criados em baixa densidade e que também não realizaram exercício. Por outro lado, o grupo de peixes submetido a exercício contínuo mostrou-se mais tolerante a agentes estressores, como a alta densidade de estocagem. Estes peixes exercitados apresentaram níveis plasmáticos de cortisol 12% a menos quando comparados com os peixes mantidos também em alta densidade, mas sem exercício.

O emprego do exercício moderado, sobretudo em altas densidades de estocagem, reduziu as respostas plasmáticas de cortisol nos juvenis de matrinxã, sugerindo a sua adaptação nessa importante estratégia de criação. Em paralelo ao aumento de cortisol, a glicose plasmática, uma resposta secundária clássica ao estresse, também seguiu esta tendência. A glicose aumentou 29% no grupo de peixes não exercitados e confinados na maior

densidade, em relação aos mantidos em baixa densidade. Entretanto, a hiperglicemia foi menos severa no grupo de peixes sob exercício contínuo estocados em alta densidade, mostrando um aumento de 19% na glicemia do grupo de peixes criados em baixa densidade sob a mesma condição de exercício.

É bem sabido que altas densidades de estocagem resultam em maior produtividade por unidade de área ou volume, além de maximizar o uso da água (WEDEMEYER, 1996). No entanto, tem se mostrado uma fonte potencial de estresse, visto que os peixes são expostos a um conjunto de fatores que interagem entre si, como a qualidade da água, disponibilidade de alimento e alterações comportamentais devido a interações sociais (JOBLING, 2001). Apesar destes problemas, foi possível atenuar estas respostas nos juvenis de matrinxã sempre e quando submetidos à velocidade de natação sustentável (1,0 cc/seg), tal como mostra o grupo de peixes exercitados e criados na maior densidade de estocagem. No presente estudo, quando comparados os valores médios de glicose plasmática entre os grupos em alta densidade de peixes exercitados e sem exercício, foi observado um aumento de 12% da glicose neste último grupo (controle), o que sugere que a alta densidade utilizada no presente experimento não foi o suficiente para gerar resposta de estresse nos peixes exercitados (Figura 2b).

O glicogênio é estocado no fígado e no músculo e sua concentração pode variar entre espécies e entre indivíduos da mesma espécie. A avaliação do conteúdo de glicogênio destes tecidos, principalmente do fígado, é importante já que indica em parte o balanço energético do animal (van der THILLART & RAAJI, 1995). Embora o fígado seja o eixo central do metabolismo e o maior responsável pela produção de glicose, as suas reservas energéticas de glicogênio não sustentam amplamente a demanda de glicose para manter o metabolismo aeróbico dos peixes que encaram

longas distâncias durante a piracema (NAVARRO & GUTIÉRREZ, 1995). Os resultados de nosso trabalho confirmam esses fatos, visto que o matrinxã, em praticamente todas as densidades de estocagem e na condição de com ou sem exercício, não mostrou diminuição dos estoques de glicogênio. Pelo contrário, estes tenderam a aumentar assim que as densidades aumentarem. No entanto, se comparado o efeito da atividade física nas reservas de glicogênio, observa-se que o grupo de peixes que não realizou exercício controlado pagou um alto custo energético tendo que mobilizar mais reservas de glicogênio, o que se refletiu em maior liberação de glicose indicando a necessidade de energia para suportar as condições adversas do ambiente de criação (Figura 2c). Não obstante, acredita-se que o aumento dos valores de glicogênio observado nas diferentes densidades seja devido à ação do cortisol, já que este hormônio desempenha múltiplos efeitos, e sua ação hiperglicêmica, resulta primariamente no aumento da gliconeogênese hepática mantida principalmente pela proteólise, e pela lipólise periférica (MOON, 1988; MOMMSEN et al., 1999), como ficou evidenciado no presente trabalho. Alguns estudos relacionando os efeitos do cortisol com a densidade de estocagem, como os de VIJAYAN et al., (1990) que reportam mobilização de triglicérides no salmonídeo *Salvelinus fontinalis* sob forte adensamento, estão de acordo com nossos resultados. De forma semelhante, a truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*, mostrou uma redução no índice hepatossomático (IHS) e um aumento nos ácidos graxos plasmáticos quando a densidade de estocagem aumentou (LEATHERLAND & CHO, 1985). A reação dose-resposta do cortisol pode ser avaliada pela exposição do peixe a este hormônio, como em implantes de cortisol em salmonídeo. Neste procedimento, houve depleção dos estoques de lipídios além de um aumento na atividade da lipase no fígado, músculo vermelho e gordura mesentérica (SHERIDAN, 1988). Em outra espécie marinha, a dourada *S. aurata*, também foi evidenciado o

aumento do cortisol e conseqüente redução do índice hepatossomático (IHS) dos lipídios em resposta a altas densidades (MONTERO et al., 2001). Resultados similares têm sido descritos em carpa, *Cyprinus carpio* (RUANE et al., 2002) e jundia, *Rhamdia quelen* (BARCELLOS et al., 2004). Com base nestes resultados, e dentre das variáveis analisadas em nosso trabalho, o efeito do exercício de baixa intensidade em juvenis de matrinxã, quando cultivado em alta densidade, é um forte aliado na atenuação e tolerância à presença de agentes estressores, que sempre vão ser parte da rotina dos sistemas de criação sobre tudo quando a intensificação tende a aumentá-los. Este estudo ressalva ainda a necessidade de realizar outras investigações nesta direção, testando inclusive densidades mais elevadas em uma escala maior sempre e quando a qualidade de vida ou bem-estar dos peixes não seja prejudicado a fim de ampliar a compreensão das respostas metabólicas que possam ajudar a otimizar o manejo e a produção intensiva do matrinxã.

7. CONCLUSÃO

Em relação à variação da velocidade da natação:

- A velocidade de natação sustentável para ótimo crescimento de juvenis de *B. amazonicus* está na faixa de 1,0 a 1,5 cc/seg, além de menor variação no tamanho;
- Os valores hematológicos aumentam como resposta adaptativa em função da intensidade do exercício, transportando mais oxigênio aos tecidos;
- A composição corporal varia conforme a demanda metabólica imposta pelo exercício e com o tipo de tecido;
- Os juvenis de matrinxã submetidos à natação sustentada entre as velocidades de 1,0 a 1,5 cc/seg, são mais eficientes na utilização e na deposição de proteína no músculo branco, possibilitando maiores taxas de crescimento em menor tempo;
- A atividade de exercício sustentado promove maior deposição de lipídios no músculo vermelho, músculo ventral e fígado nos juvenis de matrinxã;
- Tudo parece indicar que existe um limiar de tolerância no balanço iônico nos juvenis de matrinxã em função da velocidade de natação;
- Os lipídios viscerais são a principal fonte de energia para sustentar a natação prolongada;

- Velocidades de natação acima de 2,0 cc/seg ocasionam aumento na degradação da proteína muscular e efeitos deletérios no crescimento de juvenis de matrinxã;
- Nas menores velocidades de natação os lipídios do músculo vermelho são utilizados preferencialmente como fonte de energia para sustentar a contração muscular;
- Nas maiores velocidades de natação, a glicose origina-se da gliconeogênese para manter os níveis glicêmicos.

Em relação à densidade de estocagem associada ao exercício de natação moderado:

- As melhores respostas de crescimento e sobrevivência são obtidas com o grupo de peixes submetidos a exercício contínuo e à densidade de 173 peixes/m³, entretanto a maior biomassa final produzida é no tratamento de 353 peixes/m³;
- O exercício moderado de longa duração associado a altas densidades de estocagem como estratégia alternativa na criação intensiva de matrinxã permitem evidenciar efeitos benéficos através de maior eficiência na utilização do espaço, da coluna da água e melhor aproveitamento do alimento, dando suporte para maximizar a produção de peixes e melhorar a rentabilidade dos piscicultores.
- A dosagem e emprego de lipídios e proteínas teciduais mostram ser indicadores confiáveis de respostas secundárias ao estresse em altas densidades de estocagem nesta espécie.

- O exercício de natação moderada estimula o aumento das reservas energéticas de glicogênio hepático e de triglicérides muscular, dando suporte a inferir que o metabolismo energético do matrinxã mostra-se bastante resistente a agentes estressores causados pelas altas densidades de estocagem.
- O exercício de natação moderada minimiza significativamente as respostas secundárias causadas principalmente pelo cortisol, possibilitando maiores respostas de crescimento.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, J.C.; DUNBRACK, R.L. & ORR, C.D. The interaction of size and experience in dominance relationships of juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*). **Behavior**, 92:241-253,1985.
- AGUIAR, A.T; MALPICA, Z.C & URBINA, B.V.. **Dinâmica de populações de peces**. Editorial libertad. Trujillo. Peru. 1995.303p.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. 15TH ed. AOAC, 1990.
- ARAÚJO-LIMA, C.L & GOULDING, M. Os frutos do tambaqui, Ecologia, Conservação e Cultura na Amazônia. Tefé, AM: Sociedade Civil de Mamirauá; Brasília: CNPq. 4:187p, 1998.
- ARBELÁEZ-ROJAS, G.A.; FRACALOSSO, D.M.; FIM, J.L. Composição corporal de tambaqui, *Colossoma macropomum* e matrinxã, *Brycon cephalus*, em sistemas de criação intensiva, em igarapé, e semi-intensiva, em viveiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, 31(3):1059-1069, 2002.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Editora UFSM. Santa Maria, 2002. 211p.
- BARCELLOS, L.J.; NICOLAIEWSKY, S.M.; SOUZA, S.M. & LULHIER, F. The effects of stocking density and social interaction on acute stress responses in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L) fingerlings. **Aquaculture Research**, 30:887-892, 1999.
- BIDINOTTO, P.M. & MORAES, G. Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of microsamples. **Boletim técnico do Cepta**, 10:53-60, 1997.

- BARLEY, P. Factors affecting growth rates of Young floodplain fishes: seasonality and density-dependence. **Environment Biology of Fish**, 21:127-142, 1988.
- BARTON, B.A, & IWAMA, G.K. Physiology changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the responses and effects of corticosteroids. **Review of Fish Diseases**, 1:3-26, 1991.
- BLAKE, R.W. Review functional design and swimming performance. **Journal of Fish Biology**, 65: 1193-1222, 2004.
- BJÖRNSSON, B. Effects of stocking density on the growth rate of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) reared in large circular tanks for three years. **Aquaculture**, 123:259-270, 1994.
- BOUJARD, T.; LABBÉ, L. & AUPÉRIN, B. Feeding behaviour, energy expenditure and growth of rainbow trout in relation to stocking and food accessibility. **Aquaculture Research**, 33: 1233-1242, 2002.
- BOYD, C. E. Water Quality in Ponds for Aquaculture. Auburn University, Alabama. 1990. 482p.
- BRANDÃO, F.R., GOMES, L. C., CHAGAS, E. C., ARAÚJO, D. L., FERREIRA, A. L. Densidade de estocagem de matrinxã, *Brycon amazonicus* na recria em tanque-rede. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, 40: 299-303, 2005.
- BROOKS, S & JOHNSTON, I.A. Influence of development and rearing temperature on the distribution, ultrastructure and myosin subunit composition of myotomal muscle fibre types in the plaice, *Pleuronectes platessa*. **Mar. Biol.** 117: 501-513.

- BROOM, D.M & JOHNSON, K.G. **Stress and welfare**. Chapman & Hall, London, 211p.
- BUGEON, J., LEFEVRE, F. & FAUCONNEAU, B. Fillet texture and muscle structure in brown trout *Salmo trutta* subjected to longterm exercise. **Aquaculture Research**, 34:1287-1295, 2003.
- CANÁRIO, A.V.; CONDEÇ A,J. & POWER, D.M. The effect of stocking density on growth in the gilthead sea-bream, *Sparus aurata* (L). **Aquaculture Research**, 29:177-181, 1998.
- CAILLIET, G.M.; LOVE, M.S. & EBELING, A.W. **Fishes: a field and laboratory manual on the structure, identification, and natural history**. Belmont, California: Wadsworth Publishing Co. 1986.
- CARPENÈ, E. & VEGGETTI, A. Increase in muscle fibres in the lateralis muscle (white portion) of Mugilidae (Pisces, Teleostei). **Experientia** 37:191-193, 1981.
- CARTER,C.G & HOULIHAN, D.F. Protein Synthesis. In: WRIGHT, P. & ANDERSON, P. (eds) **Nitrogen Excretion**. Fish Physiology Series, 20: Academic Press. 2001. 31-75 pp.
- CASTAGNOLLI, N. Piscicultura intensiva.em "raceways" e taques circulares. I Congresso Sul-Americano de Aqüicultura. X Simpósio Brasileiro de Aqüicultura. Recife-PE, Brasil. 1988. 31p.
- CAVERO, B.S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R.; ITUASSÚ, D.R.; GANDRA, A.L. & CRESCÊNCIO, R. Efeito da densidade de estocagem na homogeneidade do crescimento de juvenis de pirarucu em

ambiente confinado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 38:103-107, 2003.

CHERNECKY, C.C.; KRECH, R.L. & BERGER, B.J. Laboratory tests and diagnostic procedures. 1993.932-933pp.

CHRISTIANSEN, J. S.; RINGO, E. & JOBLING, M. Effects of Sustained Exercise on Growth and Body Composition of First-Feeding Fry of Arctic Charr, *Salvelinus alpinus* (L.). **Aquaculture**, 79: 329-335, 1989.

CHRISTIANSEN, J. S. & JOBLING, M. The behaviour and the relationship between food intake and growth and juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L., subjected to sustained exercise. **Can. J. Zool**, 68: 2185-219, 1990.

CHRISTIANSEN, J.S.; EVEN, H. & JOBLING, M. Oxygen consumption in relation to sustained exercise and social stress in Arctic Charr (*Salvelinus alpinus* L.). **The Journal of Experimental zoology**, 260: 149-156, 1991a.

CONCEIÇÃO, L.E, HOULIHAN, D.F & VERRETH, J.A. Fast growth, protein turnover and cost of protein metabolism in yolk-sac larvae of the African catfish (*Clarias gariepinus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, 16: 291-302, 1997.

CONCEIÇÃO, L.E., DERSJANT-LI, Y. & VERRETH, J.A. Cost growth in larvae and adult African catfish (*Clarias gariepinus*) in relation to growth rate, food intake and oxygen consumption. **Aquaculture**, 161: 95-106, 1998.

- COOPER, G.R. Methods for determining the amount the glucose in blood. **Critical Reviews in Clinical laboratory Sciencesn**, 4(5):101-145, 1973.
- COOKE, S.J.; CHANDROO, K.P.; BEDDOW, T.A.; MOCCIA, R.D. & MCKINLEY, R.S. Swimming activity and energetic expenditure of capture rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (WALBAUM) estimated by electromyogram telemetry. **Aquaculture Research**, 31:495-505, 2000.
- COPLEY, N.G. Alloxan and ninhydrin test. **Analyst**. 66: 492-493, 1941.
- CYRINO, J. E.P; CASTAGNOLLI, N. & PEREIRA FILHO, M. Digestibilidade da proteína de origem animal e vegetal pelo matrinxã, (*Brycon cephalus*, 1869) In: **Simpósio Brasileiro de Aqüicultura**. 4, Cuibá-MT. Universidade Federal de Mato Grosso. Resumos. 1986. 49-62p.
- DAL PAI-SILVA, M.; DAL PAI, V. & CARVALHO, R.F. Célula muscular estriada esquelética. In: **Células, uma abordagem multidisciplinaria** CARVALHO, H. & COLLARES-BUZATO, C. (eds). Barueri, SP:Manole, 2005. 83-94p.
- DAVISON, w. & GOLDSPIK, G. The effect of prolonged exercise on the lateral musculature of the Brown trout (*salmo trutta*). **J. Exp. Biol.** 70:1-12, 1977.
- DAVISON, W. The effects of exercise training on teleost fish, a review of recent literature. **Comp. Bioch. Phys.** 117:67-75, 1997.

- DRABKIN, D. The standardization of hemoglobin measurement. **American Journal of Medical Science**. 215(1):110-111, 1948.
- DRIEDZIC, W.R & HOCHACHKA, P.W. Metabolism in fish during exercise. In: HOAR, W. & RANDALL, D.J. (eds). *Fish Physiology*. Vol. VII. Academic Press, New York, 1978. 503-543 p.
- DUBOIE, M.G.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A. & SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, 28:350-358, 1960.
- EL-SAYED, A.F. The effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus* L.) fry. **Aquaculture Research**, 33:621-626, 2002.
- ELLIS, T.; NORTH, B.; SCOTT, A.P.; BROMAGE, N.R.; PORTER, M. & GADD, D. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. **J. Fish. Biol.** 61:493-531, 2002.
- FAO-FISHERIES Department. **State of World Aquaculture**. Fisheries Technical paper. n° 500, Rome, FAO. 2006. 143p.
- FAIRCHILD, E. & HOWELL, H. Optimal Stocking Density for Juvenile Winter Flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. **Journal of the World Aquaculture Society**: 32, (3): 300-308.
- FIM, J. Sistema integrado de criação entre animais e peixes. In: ADALBERTO L, VAL & HONCZARYK (eds). **Criando Peixes na Amazônia**: INPA. Manaus, AM. 1995. 29-43 p.

- FOLCH, G.D.; LESS, M. & STOME-STANLEY. G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. **J.Biol. Chemn.**226C, 497-509, 1957
- FURUYA, W.M. et al. Dietas peletizada e extruzada para machos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de terminação. **Ciência Rural**, Santa Maria. 2 (3):483-487, 1998.
- GALHARDO, L. & OLIVEIRA, R. Bem-estar animal: um conceito legítimo para peixes?. **Revista de Etologia**, 8(1): 1-15, 2006.
- GENTZKOW, C.J & MASEN, J.M. An accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization. **J. of Biol. Chemist**, 143:531-544, 1942.
- GIBB, A & DICKSON, K. Functional morphology and biochemical indices of performance: Is there a correlation between metabolic enzyme activity and swimming performance?. **Integ. And Comp. Biol.** 42:199-207, 2002.
- GOLDSPINK, G. Postembryonic growth and differentiation of striated muscle. In: **the structure and function of muscle** (BOURNE, G.H, eds), 1:179-236, 1972.
- GOMES, L.C.; BALDISSEROTTO, B. & SENHORINI, J.A. Effect of stocking on quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. **Aquaculture**, 183:73-81, 2000.

- GOMIERO, J.S. Curvas de crescimento morfométrico e alométrico de Piracanjuba (*Brycon orbignyianus*). Lavras, MG (Dissertação). UFLA, 2005. 36p.
- GOULDING, M. **The Fish and Florest:** explorations in Amazonian Natural History. Berkeley: University of California. 1980. 280p.
- GOULDING, M. 1981. **Man and Fisheries on an Amazon Frontier.** J.W. Junk Publishers, the Hague. 121p.
- GRAEF, E. W. As espécies de peixes com potencial para criação no Amazonas In: ADALBERTO L, VAL & ALEXANDRE, H. (eds.) **Criando Peixes na Amazônia.** INPA. Manaus, AM. 1995. p.29-43.
- HAARD, N.F. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. **Food Research International**, 25:289-307, 1992.
- HACKBARTH, A. & MORAES, G. Biochemical responses of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869) after sustained swimming. **Aquaculture Research**, 37: 1070-1078, 2006.
- HALLER, J. Biochemical cost of a fight in fed and fasted, *Betta splendens*. **Physiology & Behavior**, 49:79-82,1991a.
- HALLER, J. Muscle metabolic changes during the first hours of cohabitation in pairs of male *Betta splendens*. **Physiology & Behavior**, 49:1301-1303, 1991b.

- HACKBARTH, A. & MORAES, G. Biochemical responses of matrinxa *Brycon cephalus* (Gunther, 1869) after sustained swimming. **Aquaculture Research**, 37: 1070-1078, 2006.
- HAMMER, C. Effects of endurance swimming on the growth of 0- and 1-age group of whiting, *Merlangius merlangus*, Gadidae. **Arch. Fish. Mar. Res.**, 42:105-122, 1994.
- HAMMER, C. Fatigue and exercise tests with fish. **Comp. Biochem. Physiol.** 112A:1-20, 1995.
- HAMMER, C.; SCHWARZ, G. The effect of prolonged swimming activity on the growth, proximate body composition and caloric content of 0-age group Whiting, *Merlangius merlangus* (L. Gadidae). **Arch. Fish. Mar. Res.**, 44(1/5):13-32, 1996.
- HARROWER, J.R & BROWN, C.H. Blood lactic acid. A micromethod adapted to field collection of microliter samples. **Journal of Applied Physiology**, 32(5):224-228, 1972.
- HEPHER, B & PRUGININ, Y. **Criação de pezes comerciais**, Basado en las experiencias de las granjas piscícolas em Israel. Editora Limusa. México, D.F. 1991. 316p.
- HEPHER, B. **Nutrición comercial en estanques**. Editorial Limusa, México, D.F. 1993. 404p.
- HIGGINS. P.J. & THORPE, J.E. Hyperplasia and hypertrophy in the growth of skeletal muscle in juvenile Atlantic salmon *Salmo salar*, L. **Journal of Fish Biology**, 37:505-519, 1990.
- HOCHACHKA, P. W. Muscles as molecular and metabolic machines. CRC

press, Boca Raton, Florida-USA. 1994. 158p.

HONCZARYK, A. Efeito da densidade de estocagem sobre o performace do matrinxã, *Brycon* sp. In: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura. III encontro. Bras. Pat. Org. Aquatic.. Resumos. Piracicaba. 1994.

HOULIHAN, D.F & LAURENT, P. Effect of exercise training on the performance, growth, and protein turnover of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 44:1614-1621, 1987.

HOULIHAN, D.F.; CARTER, C.G. & McCARTHY, I.D. Protein syntesis in fish. In: **Biochemistry and Molecular Biology of Fish.** (Hochachka, P & MOMMSEN, P.) 4:191-219, 1995.

HOLM, J.C.; REFSTIE, T. & BO, S. The effect of fish density and feeding regimes on individual growth rate and mortality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, 89:225-232, 1990.

HOWES, M. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). **Bulletin Br. Museum Natural History** (Zool.), Cambridge, 43: 1-47, 1982.

HOSSAIN, M.A.R.; BERIDGE, M.C. & HAYLOR, G. S. The effects of density, light and shelter on the growth and survival of African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) fingerlings. **Aquaculture**, 160: 251-258, 1998.

- HUANG, W.B & CHIU, T.S. Effects of stocking on survival, growth, size variation, and production of Tilapia fry. **Aquaculture Research**, 28:165-173, 1997.
- INOUE, L.A.K.A., SANTOS-NETO, C. & MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, 33: 943-947, 2003.
- IRWIN, S.; O'HALLORAN, J. & FITZGERALD, R.D. Stocking density, growth variation in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (Rafinesque). **Aquaculture**, 178:77-88, 1999.
- ISAAC, V.J. & RUFFINO, M.L. Population dynamics of tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818. in the Lower Amazon, Brasil. **Fisheries Management and Ecology**, 4:315-333, 1996.
- JARBOE, H & GRANT, W. The effects of water velocity on the growth, dressout, and body composition of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, raised in circular tanks. **Journal of applied aquaculture**, 6(3): 13-21, 1996.
- JOBLING, M & WANDSVIK, A. Effect of social interactions on growth rates and conversion efficiency of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. **Journal of Fish Biology**, 22:577-584, 1983.
- JOBLING, M.; BAARVIK, B. M.; CHRISTIANSEN, J. S. & JORGENSEN, E. H. The effects of prolonged exercise training on growth performance and production parameters in fish. **Aquaculture International**, 1:95-111, 1993.
- JOBLING, M. Physiological and social constraints on growth of fish with special reference to Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. **Aquaculture**, 44: 83-90, 1985.

- JOBLING, M.; BAARVIK, B. M.; CHRISTIANSEN, J. S. & JORGENSEN, E. H. The effects of prolonged exercise training on growth performance and production parameters in fish. **Aquaculture International**, 1:95-111, 1993.
- JOBLING, M. **Fish Bioenergetics**. Chapman & Hall. London. 1994. 309 p.
- JOBLING, M. Nutrient Partitioning and the Influence of Feed Composition on Body Composition. In: HOULIHAN, D.F.; BOUJARD, T. & JOBLING, M. (eds). **Food intake in fish**. Blackwell Science. 2001. 354-371 p.
- JOHANSSON, D.; RUOHONEN, K.; KIESSLING.; OPPEDAL, F.; STIANSEN, J.; KELLY, M. & JUELL, J. Effect of environmental factors on swimming depth preferences of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and temporal and spatial variations in oxygen levels in sea cages at a fjord site. **Aquaculture**, 254:594-605, 2006.
- JOHNSTON, I. A. & MOON, T. W. Exercise training in skeletal muscle of brook trout, *Salvelinus fontinalis*. **J. Exper. Biol**, 87: 177-194, 1980a.
- JOHNSTON, I.A. Quantitative analyses of ultrastructure and vascularization of the slow muscle fibres of the European, Ancovy, *Engraulis encrasicolus*. **Tissue Cell**. 14:319-328, 1982a.
- JOHNSTON, I. A. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. **Aquaculture**, 177: 99-115, 1999.

- JØRGENSEN, E.H & JOBLING, M. The effects of exercise on growth, food utilization and osmoregulatory capacity of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture**, 110:233-246, 1993.
- KHAN, M.S. Effect of population density on the growth, feed and protein conversion efficiency and biochemical composition of a tropical freshwater catfish, *Mystus nemurus* (Curvier & Valenciennes). **Aquaculture Fisheries Management**, 25:753-760, 1994.
- KESTEMONT, P & BARAS, E. Environmental Factors and Feed Intake. In: HOULIHAN, D.F.; BOUJARD, T. & JOBLING, M. (eds). **Food intake in fish**. Blackwell Science. 2001. 131-156p.
- KIESSLING, A.; STOREBAKKEN, T.; ASGARD, T. & KIESSLING, K.H. Changes in the structure and function of the epaxial muscle of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* in relation to ration and age; I. Growth dynamics. **Aquaculture**, 93:335-356, 1991.
- KJARTANSSON, H.; FIVELSTAD, S.; THOMASSEN, J.M. & SMITH, M.J. Effects of different stocking densities on physiological parameters and growth of adult Atlantic salmon (*salmo salar* L.) reared in circular tanks. **Aquaculture**, 73:261-274, 1988.
- KUBITZA, F. Questões freqüentes dos produtores sobre a qualidade dos alevinos de tilápia. **Panorama da Aqüicultura**, 16:14-23, 2006.
- LAUFF, R.F & WOOD, C.M. Respiratory gas exchange, nitrogenous waste excretion, and fuel usage during aerobic swimming in juvenile rainbow trout. **J. Comp. Physiol.**, 166:501-509, 1996.

- LAUFF, R.F & WOOD, C.M. Effects of training on respiratory gas exchange, nitrogenous waste excretion, and fuel usage during aerobic swimming in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Can. j. Fish. Aquatic. Sci.**, 54: 566-571, 1997.
- LEITE, R.G. A alimentação de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicum* (Pisces, Characidae), em áreas inundadas da ilha de Marchantaria, Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, 34(4): 56-67, 2004.
- LEON, K.A. Effect of exercise on feed consumption, growth, food conversion, and stamina of brook trout. **Prog. Fish-Cult.**, 48:43-46, 1986.
- LIMA, A.O.; SOARES, J.B.; GRECO, J.B.; GALIZZI, J. & CANÇADO, J. **Métodos de laboratório Aplicados à Clínica**. 4th edition. Guanabara Koogan, R.J. 1969. 653p.
- LIMA, F.C.T. Subfamily Bryconinae (Characins, Tetras). In: REIS, R.E; KULANDER, S.O; FERRARIS Jr, C.J. (Orgs). **Check List of the Freshwater Fish of South and Central America**. Porto Alegre: EDPURCS. 2003. 174-181p.
- LOSORDO, T.M. & WESTER, H. System carrying capacity and flow stimulation. In: TIMMONS, M.B., LOSORDO, T.M (Eds), **Aquaculture Water Reuse Systems: Engineering Design and Management**. Elsevier Scienc Ltda, New York, 1994. 9-60p.
- LOWRY, D.H.; ROSENBROUGH, N.J.; FAR, A.L. & RANDAL, R.J. Protein measurement with folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193. 1951.

- LU, G.D. The metabolism of pyruvic acid in normal and vitamin B-deficient state. I. A rapid specific and sensitive method for the estimation of blood pyruvate. **Biochem. J**, 33:249-254, 1939.
- MONTERO, D.; ISQUIERDO, M.S.; TORT, L.; ROBAINA, L. & VERGARA, J.M. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, JUVENILES. **Fish Physiology and Biochemistry**, 20:53-60, 1999.
- MOYES, C.D.; BUCK, L. T. HOCHACHKA, P.W. & SUARES, R.K. Oxidative properties of carp and with muscle. **J. Exp. Biol.**, 143:321-331, 1989.
- MOYES, C.D.; SCHULTE, P.M. & HOCHACHKA, P.W. Recovery metabolism of trout white muscle: role of mitochondria. **Am. J. Physiol.**, 31: R295-R304, 1992.
- MOYES, C.D.; CHOUDHURI, J.V.; SOUZA, R.H & NETO, C.S. Metabolic effects of exercise in the golden fish, *Salminus maxillosus* "dourado" (Valenciennes, 1849). **Braz.j. Biol.**, 64(3B):655-660, 2004.
- MOYLE, P.B & CECH, Jr. Fishes: an introduction to ichthyology. 1988. 2nd, 559p.
- NAHHAS, R.; JONES, N.V. & GOLDSPINK, G. Growth, training and swimming ability of young trout (*Salmo gairdneri*) maintained under different salinity conditions. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 62:699-708, 1982.
- NORTH, B.P.; TURNBULL, J.F.; ELLIS, T.; PORTER, M.J.; MIGAUD, H.; BRON, J. & BROMAGE, N.R. The impact of stocking density on the

welfare of rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, 255:466-479, 2006a.

NORTH, B.P.; ELLIS, T.; TURNBULL, J.F.; DAVIS, J. & BROMAGE, N.R. Stocking density of practices of commercial UK rainbow trout farms. **Aquaculture**, 260:466-267, 2006b.

NORVÁK, M. Colorimetric ultramicro method for the determination of free fatty acids. **J. of Lipid. Research**. 6:431-433, 1965.

OGATA, H.Y. & OKU, H. Effects of water velocity on growth performance of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **J. world. aquacult. society.**, 31: 225-230, 2000.

OLIVEIRA, A.M.; CONTE, L. & CYRINO, J.E. Produção de Characiformes autóctones. In: **Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical**. CYRINO, J.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSI, D.M. & CASTAGNOLLI, N. (eds). 2004. 218-237 p.

PAPOUTSOGLU, S.E.; PAPAPARASKEVA-PAPOUTSOGLU, E. & ALEXIS, M.N. The effect of density on growth rate and production of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. Over a full rearing period. **Aquaculture**, 66:9-17, 1987.

PAPOUTSOGLU, S.E.; TZIHA, G.; VRETTOS, X. & ATHANASIOU, A. Effects of stocking density on behavior and growth rate of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles reared in a closed circulated system, **Aquacultural Engineering** 18(2): 135-144, 1998.

- PAULY, D. The relationships between gill surface area and growth performance in fish: a generalization of von Bertalanffys` theory of growth. **Meeresforsch.** 28:251-282, 1981.
- PAULY, D. Gill size and temperature as governing factors in fish growth a generalization of Von Bertalanffys` growth formula. **Inst. Fur. Meer. And Christ.** Albrecht Univ. Kiel. N° 63-156, 1979.
- PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C. & TAKEMOTO, R.M. **Doenças de Peixes, Profilaxia, diagnostico e tratamento.** EDUEM: Nupélia.1999. 264p.
- PCKERING, A.D. Growth and stress in fish production. **Aquaculture,** 111: 51-63, 1993.
- PEARSON, A.M. & YOUNG, R.B. **Muscle and meat biochemistry.** San Diego: Academic Press, 1989. 457p.
- PILLAY, T.V.R. **Aquaculture Principles and Practices.** Fishing News Books, 1993. 575p.
- PLAUT, I. Critical swimming speed: its ecological relevance. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A.,** 131:41-50, 2001.
- PETRERE Jr. Yield per recruit of the tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, In the Amazonas State, Brazil. **Journal of Fish Biology,** 22:133-144, 1983b.
- PICKERING, A.D. & POTTINGER, T.G. Poor quality suppresses the cortisol response of salmonid fish to handling and confinement. **Journal of Veterinary and Biology,** 30:363-374,1987.

- PIZANGO-PAIMA, E.G. Estudo de alimentação e composição corporal do matrinxã (*Brycon cephalus*) (GUNTHER, 1869) (Characiformes, Characidae), na Amazônia Central. Manaus, AM (Dissertação). INPA/FUA. 1997. 138p.
- PROCARIONE, L.S.; TERENCE, P.; BARRY, P. & MALISON, J.A. Effects of high rearing densities and loading rates on the growth and stress responses of juvenile rainbow trout. **North American Journal of Aquaculture**, 61:91-96, 1999.
- RASMUSSEN, R. S. Quality of farmed salmonids with emphasis on proximate composition, yield and sensory characteristics. **Aquacultura Research**, 32:767-786, 2001.
- RICHARDS, J.G.; MERCADO, A.J.; CALYTON, C.A.; HEIGENHAUSER, G.J. & WOOD, C.M. Substrate utilization during graded aerobic exercise in rainbow trout. **Experiemntal Biology**, 205:2067-2077, 2002.
- ROOBB, D.H.; KESTIN, S.C. & WARRIS, P.D. Muscle activity at slaughter: I. changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. **Aquaculture**, 182:261-269, 2000.
- ROWLERSON, A.; SCAPOLO, P.A.; MASCARELLO, F.; CARPENÈ, E & VEGGETTI, A. Differentiation and growth of muscle in fish *Sparus aurata* (L): II. Hyperplastic and hypertrophic growth of lateral muscle from hatching to adult. **J. Muscle Res. Cell Motil.** 16: 223-236, 1995.
- RUANE, N.M.; CARBALLO, E.C. & KOMEN, J. Increased stocking density influences the acute physiology stress response of

- common carp, *Cyprinus carpio* (L). **Aquaculture Research**, 33:777-784, 2002.
- SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of south american freshwater fish: a review. **Aquaculture**, 54: 205-240, 1986.
- SHEARER, KARL. D. Factors affecting the proximal composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. **Aquaculture**, 119:63-88, 1994.
- SCHERECK, C.B. Stress and compensation in Teleostean fishes: response to social and physical factors. In: PCKERING, A.D. (editor), **Stress and Fish**. Academic Press, London. 1981. 295-321p.
- SCHMITTOU, H.R. **Produção de peixes em alta densidade em tanques-rede de pequeno volume**. Mogiana Alimentos e Associação Americana de Soja, Campinas, SP. 1997.
- SCORVO FILHO, J.D & MARQUES, L. Raio x da piscicultura paulista: custos, retornos de diferentes sistemas de produção na safra 96/97. **Panorama da Aquicultura**, 8: 10-15, 1998.
- SODERBERG, R. Factors affecting fish growth and production. In: EGNA, H & BOYD, C. (eds) **Dynamics of pond aquaculture**. 1997. 199-212p.
- STEFFENSEN, J.F. The transition between branchial pumping and ram ventilation in fish: energetic consequences and dependence on water oxygen tensions. **Journal experimental Biology**, 114: 141-150, 1985.

- STICKLAND, N.C.; WHITE, R.N.; MESCALL, P.E.; CROOK, A.R. & THORPE, J.E. The effect of temperature on myogenesis in embryonic development of the Atlantic salmon, (*Salmo salar*, L). **Anat. Embryol.** 178: 253-257, 1988.
- TAKASHIMA, F. & HIBIYA, T. **An Atlas of fish histology: normal and pathological features.** (2nd). Tokyo: Kodansha; Stuttgart; New York: Fisher, 1995. 193p.
- TIDWELL, J.H.; WEBSTER, C.; COYLE, S.D. & SCHULMEISTER, G. Effect of Stocking Density on Growth and Water Quality for Largemouth Bass *Micropterus salmoides* Growout in Ponds **Journal of the World Aquaculture Society**, 29 (1), 79-83, 1998.
- TIMMONS, M.B. Aquacultural engineering-experiences with recirculating aquaculture system technology, Part 1. **Aquaculture Magazine**, 26(1):52-56, 2000.
- TIMMONS, M.B. & YOUNG, D.W. Considerations on the design of raceways. In: **Aquaculture system Engineering**, Proceedings of World Aquaculture Society and American Society of Agricultural Engineers, june 16-20, 1991, San Juan, Puerto Rico (ASAE Publication 02-91), American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, Michigan.
- TOTLAND, G. K.; KRYVI, H., JODESTOL, K.A., CHRISTIANSEN, E.N., TANGERAS, A. & SLINDE, E. Growth and composition of the swimming muscle of adult atlantic salmon, *salmo salar* during long-term sustained swimming. **Aquaculture**, 66: 299 - 313, 1987.

- TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with the alternative oxygen acceptor. **Analytical Clinic Biochemistry**, 6:24-25, 1969.
- TRZEBIATOWSKI, R.; FILIPIAK, J. & JAKUBOWSKI, R. The effect of stock density on growth and survival of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. **Aquaculture**, 22:289-295, 1981.
- TSUMAMOTO, K. The role of the red and white muscle during swimming of the yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. **Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries**, 50(12):2025-2030, 1984.
- URBINATI, E.C. & CARNEIRO, P.C. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: **Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical**. CYRINO, J.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSI, D.M. & CASTAGNOLLI, N. (eds). 2004. 171-193p.
- VIEIRA, V.L. & JOHNSTON, I.A. Influence of temperature on muscle fibre development in larvae of the herring, *Clupea harengus*. **Mar. Biol.** 112: 333-341, 1992.
- VIJAYAN, M.M. & LEATHERLAND, J.F. Effect of stocking density on the growth and stress-response in Brook Charr, *Salvelinus fontinalis*. **Aquaculture**, 75:159-170, 1988.
- VIJAYAN, M.M.; BALLANTYNE, J.S. & LEATHERLAND, J.F. High stocking density alters the energy metabolism of Brook Charr, *Salvelinus fontinalis*. **Aquaculture**, 88:371-381, 1990.

- VILAS BOAS, G.C. Morfologia, rendimento do processamento e composição química do filé de matrinxã *Brycon cephalus* (GUNTHER, 1869). Lavras, MG. (Dissertação). UFLA, 2001. 59p.
- VILLACORTA-CORREA. M. A. **Crescimento do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei, Characidae) no rio Negro, seus afluentes e no baixo rio Solimões.** Manaus, AM. (teses). INPA/FUA, 1987. 124p.
- VOLPATO, G.L & FERNANDES, M.O. Social control of growth in fish. **Brazilian journal of medical and biological Research**, 27: 797-810, 1994.
- WALLANCE, J.C.; KOLBEINSHAVN, A.G. & REINSNES, T.G. The effects of stocking density on early growth in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L). **Aquaculture**, 73:101-110, 1988.
- WEATHERLEY, A.H; GILL, H.S & LOBO, A.F. Recruitment and maximal diameter of axial muscle fibres in Teleosts and their relationship to somatic growth and ultimate size. **Journal of fish Biology**, 33:851-859, 1988.
- WEATHERLEY, A.H & GILL, H.S. **The Biology of Fish Growth.** Academic Press, London. 1989. 443p.
- WEDEMEYER, G.A. Physiology of fish in intensive culture systems. Chapman & Hall, New York.1996. 232p.
- WOOTTON, R.J. **Ecology of Teleost fishes.** Fish and fisheries series 1. CHAPMAN & HALL. 1992. 404p.

YOUNG, P.S. & CECH, Jr. Effects of exercise conditioning on stress responses and recovery in cultured and wild young-of-the-year striped bass, (*Morone saxatilis*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50:2094-2099, 1993a.

YOUNG, P.S. & CECH, JR. Optimum exercise conditioning velocity for growth, muscular development, and swimming performance in young-of-the-year striped bass, (*Morone saxatilis*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 51:1519-1527, 1994a.

YOUNG, P.S. & CECH, JR. Effects of different exercise conditioning velocities on the energy reserves and swimming stress responses in young-of-the-year striped bass, (*Morone saxatilis*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 51:1528-1534, 1994b.

YOGATA, H. & OKU, H. The effects of swimming exercise on growth and whole-body protein and fat contents of fed and unfed fingerling yellowtail. **Fisheries Science**, 66: 1100-1105, 2000.

ZANIBONI FILHO, E; REYNALTE-TATAJE, D.& WEINGARTNER, M. Potencial del género Brycon en la piscicultura brasilenã. **Rev. Colcienc. Pec.** 19 (2): 233-240, 2006.

ZANIBONI FILHO, E. **Biologia da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei, Characidae)**. Manaus, AM. (teses). INPA/FUA, 1985. 138p.

ZANIBONI FILHO, E.; CARVALHO, J.L.; VILLACORTA-CORREA, M.A & RESENDE, E.K. Caracterização morfológica do matrinxã,

(*Brycon cephalus*, 1869) (Teleostei: Characidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 57(1): 3-9, 1988.

ZANIBONI FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D. & WEINGARTNER, M. Potencial del género *Brycon* en la piscicultura Brasileña. **Rev. Colcienc. Pec.** (2)19: 233-240, 2006.

ZONNEVELD, N. & FADHOLI, R. Feed intake and growth of red tilapia at different stocking densities in ponds in Indonésia. **Aquaculture**, 99:83-94, 1991.