

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

Efeitos do exercício físico moderado e da suplementação da
dieta com vitamina C no crescimento e
no metabolismo de matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869)
(Teleostei: Characidae)

Eliane Tie Oba

São Carlos – SP
2006

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

Efeitos do exercício físico moderado e da suplementação da
dieta com vitamina C no crescimento e
no metabolismo de matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869)
(Teleostei: Characidae)

Eliane Tie Oba

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências – área de Concentração em Ciências Fisiológicas.

São Carlos – SP

2006

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

O12ee

Oba, Eliane Tie.

Efeitos do exercício físico moderado e da suplementação da dieta com vitamina C no crescimento e no metabolismo de matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae) / Eliane Tie Oba. -- São Carlos : UFSCar, 2006.

99 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2006.

1. Fisiologia comparada. 2. Exercícios físicos. 3. Matrinxã. 4. Vitamina C. 5. Metabolismo oxidativo. I. Título.

CDD: 591.1 (20^a)

À minha família pelo incentivo, apoio, amor e
carinho, em todos os momentos...

ORIENTADOR

Prof. Dr. Francisco Tadeu Rantin

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Francisco Tadeu Rantin (DCF/UFSCar), pelo apoio e confiança, pela amizade, pela liberdade, pela seriedade em certas horas e brincadeiras em outras... e, com certeza, mais ainda pela paciência e compreensão. Agradeço-o também por acreditar e dar o apoio e as condições necessárias para o desenvolvimento deste projeto.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

À secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

À secretaria do Departamento de Ciências Fisiológicas.

À minha linda família: meus pais "seu Severino" (meu papy) e dona Terezinha (*in memorian*), meus irmãos Lucy e Toshio, meus cunhados Edison e Sueli, meus sobrinhos Lumi, Daniela, Guilherme e Júlia e meus companheiros Todd (=^.^=), Sophia (=^..^=) e Minky(=^..^=).

Aos exemplares de matrinxã, que se exercitaram, que se alimentaram da ração que lhes ofereci (com ou sem vitamina C) e que deram a sua vida (talvez, não tão de acordo com suas vontades) pela ciência, pela minha tese e pelo meu aprendizado, os meus profundos agradecimentos e reconhecimento... afinal, não deve ser fácil ficar o dia inteiro nadando... ☺

Ao Sr. Martinho Colpani e família e ao pessoal da Piscicultura Águas Claras, pela doação dos peixes para o desenvolvimento deste trabalho e também pelo exemplo de grande empreedimento empresarial e familiar.

Ao Sr. Nelson Alves Matos (*in memorian*), ao Sr. José Roberto Sanches e ao Luiz Henrique da Silva ('Piau') pelo inestimável auxílio no laboratório.

Ao CEPTA-IBAMA, em especial à Maria Angélica Rosa e ao Dalton, por sanarem dúvidas e auxiliarem tão atenciosamente... agradeço de coração pelo carinho e amizade.

À Profa. Dra. Marisa Narciso Fernandes (DCF/UFSCar) que permitiu a utilização dos equipamentos em seu laboratório.

Ao Prof. Dr. Gilberto Moraes (DGE/UFSCar) por permitir a utilização de seu laboratório durante o aprendizado das técnicas bioquímicas com seus alunos. Agradecimentos especiais aos colegas: Fernando B. Mello, Araceli Hackbarth e Ive M. Avilez.

À Profa. Dra. Elizabeth C. Urbinati (FCAV/Unesp/Jaboticabal, SP) que permitiu a utilização do equipamento de radioimensaio para a quantificação de cortisol e à Damares Percim Roviero pelo inestimável auxílio durante estas análises.

À Profa. Dra. Elizabeth Gusmão Affonso (Inpa, AM), pela amizade, pelo apoio, pelas dicas durante a execução deste trabalho.

Aos professores, colegas e funcionários da UFSCar: Alessandra, Aninha, profa. Ana, Aurélia, Bete Irene, Camila, Carmen, Caroline, Cassio, Charles, Clarissa, Cláudia, Cláudio, Cleoni, Cléo Leite, Cleverson, Daniel, Diana, Evelise, Fabinho, Fernando, Fernando "Foguinho", Helen, profa. Heloísa, Hugo, Jeane, Jessylem, profa. Keico, Kátia, Jacqueline, Juciléia, Lenise, Lidi, Lucélia, Lúcia, Luiz

Henrique, Lyandra, Mariana, Mary, Marise, Mônica Jones, Patrícia, Rita, Sandro, Sr. Sérgio, Thiago, Tiago, Toninho, Vanessa, dona Vera, prof. Verani, Wagner 'Mauro', ...

Em especial às amigas do meu coração: Flavia S. Rios, Cheila L. Boijink, Valéria Matos, Márcia Pereira e Mirella Gaiga, por tanta paciência e carinho, o meu muitíssimo obrigada!!!

Ao meu amigão Jorge, por no início deste trabalho me dar um belo conselho: "Não perca de vista a outra margem do rio!", o que me fez 'remar' em busca dos meus objetivos...

E, mais especialmente, agradeço à bióloga Laila R. B. dos Santos e à zootecnista Fernanda G. Sampaio pela amizade imensa que brotou entre nós, perfumando e colorindo a minha vida... Agradeço pelo trabalho em equipe, pelo grande apoio em todos os momentos, pelas palavras de incentivo!! A estas amigas do coração, os meus mais sinceros agradecimentos!!!

Ao Marcio pelo amor, carinho e incentivo imprescindíveis nos momentos finais do nascimento desta tese.

Ao Grupo Musical "Canto do Canto" do Grupo da Fraternidade Espírita Irmão Batuíra, principalmente, aos meus queridos companheiros fraternistas: Yára, Jacy, Wanda, Leda e Leandro. Agradeço a vocês pela amizade, pelo amor e carinho e pelas dores de barriga de tanto rir... e também pela oportunidade única de realizar com vocês as gravações das músicas do CD denominado *Luz de Batuíra*!!! Que esta alegria que sinto ao fazer parte deste grupo possa ser multiplicada e que possa iluminar a todos os corações em forma de gotas de luz... Fraternidade sempre!!!

À Deus pela vida, pela fé, pela coragem, pelos ensinamentos, pelas oportunidades...

A todos que, de alguma forma, contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal, dedico esta canção...

É tão sublime o amor

*É tão sublime o amor...
O amor que tem da meiga flor,
O perfume e a cor...*

*Uma estrada tão florida,
Razão da própria vida,
O sonho mais feliz de um sonhador...*

*Foi depois que encontrei Jesus,
Que aprendi a ver em Seu amor
A suprema Lei...*

*E não pode haver ninguém no mundo,
Seja lá quem for,
Sorrindo sem ter Jesus e o Amor...*

ÍNDICE

1.	Introdução	01
1.1.	Exercício físico em peixes	02
1.2.	Estresse oxidativo e exercício físico	06
1.3.	Antioxidantes enzimáticos	09
1.4.	Vitamina C	12
1.5.	Objetivos	18
2.	Material e Métodos	19
2.1.	Obtenção dos animais e aclimação	19
2.2.	Desenho experimental	19
2.2.1.	Aplicação do exercício físico	19
2.2.2.	Suplementação de vitamina C na ração comercial	20
2.2.3.	Composição da ração comercial	22
2.3.	Amostragem de tecidos	23
2.3.1.	Coleta de sangue	23
2.3.2.	Obtenção do plasma	23
2.3.3.	Obtenção dos demais tecidos	24
2.4.	Análises	24
2.4.1.	Observações comportamentais	24
2.4.2.	Índices biométricos	25
2.4.3.	Ácido ascórbico hepático	25
2.4.4.	Hematologia	26
2.4.5.	Cortisol plasmático	27
2.4.6.	Intermediários metabólicos	28
2.4.7.	Indicadores do estresse oxidativo	30
2.5.	Análise Estatística	32
3.	Resultados	33
3.1.	Observações comportamentais	33
3.2.	Índices biométricos	34
3.3.	Concentração de ácido ascórbico no fígado	37
3.4.	Hematologia	38
3.5.	Cortisol	40
3.6.	Intermediários metabólicos	41
3.7.	Indicadores do estresse oxidativo	46
4.	Discussão	53
4.1.	Efeitos do exercício físico no crescimento	53
4.1.1.	Observações comportamentais	57
4.2.	Índices	60
4.3.	Concentração de ácido ascórbico hepático	64
4.4.	Hematologia	65
4.5.	Cortisol plasmático	68
4.6.	Intermediários metabólicos	70
4.7.	Indicadores do estresse oxidativo	75
5.	Considerações finais	80
6.	Conclusões	81
7.	Referências Bibliográficas	83

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01.** Esquema das defesas antioxidantes enzimáticas para a proteção das células contra espécies reativas de oxigênio. (...) 11
- Figura 02.** Representação de exemplar matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869). 16
- Figura 03.** Tanque para manutenção dos peixes em exercício. Os canos de pvc perfurados estão acoplados de forma a promover correnteza na velocidade de 20 cm.s^{-1} 21
- Figura 04.** Parte externa do tanque de exercício para visualização do acoplamento da bomba d'água ao tanque 21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Protocolo experimental representando os grupos experimentais a que foram submetidos os matrinxãs.	20
Tabela 2.	Análise da concentração de vitamina C monofosfato (mg vitamina C.kg ⁻¹ ração) nas amostras de ração não-suplementada e suplementada com vitamina C monofosfato Rochè.	22
Tabela 3.	Análises químicas e bioquímicas da ração comercial para peixes (Guabi) com 35% proteína bruta, realizadas pelo Laboratório de Nutrição Animal, Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (Unesp) de Jaboticabal, SP.	23
Tabela 4.	Taxa de conversão alimentar (TC), taxa específica de crescimento (TEC = %) e taxa de mortalidade (TM = %) de matrinxã, <i>Brycon cephalus</i> , dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias.	34
Tabela 5.	Peso corpóreo (Wt) e da carcaça (Wc) (g), comprimentos total (Lt) e padrão (Ls) (cm) e altura (Ht) e largura (Wd) corporais (cm) de matrinxã, <i>Brycon cephalus</i> , dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média ± desvio padrão (n = 10).	35
Tabela 6.	Índices hepato-somático (IHS=%) e lipo-somático (ILS=%), fator de condição aparente (FCA=%), índice cardíaco (IC=‰) e percentual de carcaça (PC=%) de matrinxã, <i>Brycon cephalus</i> , dos grupos: não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média ± desvio padrão (n = 10).	37
Tabela 7.	Concentração de ácido ascórbico (µmol.g ⁻¹) no fígado de matrinxã, <i>Brycon cephalus</i> , dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe). Os valores estão apresentados como média ± desvio padrão (n = 10).	38
Tabela 8.	Valores hematológicos: hematócrito (Hct = %), concentração total de hemoglobina (Hb = g.dL ⁻¹), número de eritrócitos (Erx10 ⁶ = Er.mm ⁻³); e índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM = µm ³), hemoglobina corpuscular média (HCM = pg.cél ⁻¹) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM = %) de matrinxã, <i>Brycon cephalus</i> , dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média ± desvio padrão (n = 10).	39
Tabela 9.	Concentração de cortisol plasmático (ng.mL ⁻¹) de matrinxã, <i>Brycon cephalus</i> , dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe). Os valores estão apresentados como média ± desvio padrão (n = 8).	41
Tabela 10.	Valores dos intermediários metabólicos: glicose, lactato, piruvato e amônia do plasma de matrinxã, <i>Brycon cephalus</i> , dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média ± desvio padrão (n = 8). Glicose, lactato e amônia em µmol.mL ⁻¹ e piruvato em nmol.mL ⁻¹	42
Tabela 11.	Valores dos intermediários metabólicos: glicose, lactato, glicogênio, piruvato e amônia do fígado de matrinxã, <i>Brycon cephalus</i> , dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média ± desvio padrão (n = 8). Glicose, lactato, piruvato e amônia em µmol.g tecido ⁻¹ e glicogênio em µmol de unidades glicosil-glicose.g tecido ⁻¹	43

- Tabela 12.** Valores dos intermediários metabólicos: glicose, lactato, glicogênio, piruvato e amônia do músculo branco de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). Glicose, lactato, piruvato e amônia em $\mu\text{mol.g tecido}^{-1}$ e glicogênio em μmol de unidades glicosil-glicose.g tecido⁻¹. 44
- Tabela 13.** Valores dos intermediários metabólicos: glicose, lactato, glicogênio, piruvato e amônia do músculo vermelho de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). Glicose, lactato, piruvato e amônia em $\mu\text{mol.g tecido}^{-1}$ e glicogênio em μmol de unidades glicosil-glicose.g tecido⁻¹. 46
- Tabela 14.** Valores dos indicadores de estresse oxidativo: concentração de hidroperóxido de lipídio (HP) e atividades das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) e concentração de proteína (PT) do plasma de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração+vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit. C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). HP em nmol.mL^{-1} ; SOD em $\text{USOD.mg proteína}^{-1}$; GSH-Px em $\text{nmol.mg proteína}^{-1}$; PT em mg.mL^{-1} 47
- Tabela 15.** Valores dos indicadores de estresse oxidativo: concentração de hidroperóxido de lipídio (HP) e atividades das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) e concentração de proteína (PT) do fígado de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit. C e treinados (Vit. C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). HP em $\text{nmol.g tecido}^{-1}$; SOD em $\text{USOD.mg proteína}^{-1}$; GSH-Px em $\text{nmol.mg proteína}^{-1}$; PT em mg.g tecido^{-1} 48
- Tabela 16.** Valores dos indicadores de estresse oxidativo: concentração de hidroperóxido de lipídio (HP) e atividades das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) e concentração de proteína (PT) no músculo branco de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit. C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). HP em $\text{nmol.g tecido}^{-1}$; SOD em $\text{USOD.mg proteína}^{-1}$; GSH-Px em $\text{nmol.mg proteína}^{-1}$; PT em mg.g tecido^{-1} 49
- Tabela 17.** Valores dos indicadores de estresse oxidativo: concentração de hidroperóxido de lipídio (HP) e atividades das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) e concentração de proteína (PT) do músculo vermelho de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit. C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). HP em $\text{nmol.g tecido}^{-1}$; SOD em $\text{USOD.mg proteína}^{-1}$; GSH-Px em $\text{nmol.mg proteína}^{-1}$; PT em mg.g tecido^{-1} 50
- Tabela 18.** Valores dos indicadores de estresse oxidativo: concentração de hidroperóxido de lipídio (HP) e atividades das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) e concentração de proteína (PT) do músculo cardíaco de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit. C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). HP em $\text{nmol.g tecido}^{-1}$; SOD em $\text{USOD.mg proteína}^{-1}$; GSH-Px em $\text{nmol.mg proteína}^{-1}$; PT em mg.g tecido^{-1} 52

LISTA DE ABREVIações

% porcentagem	HCM hemoglobina corpuscular média
μL microlitro	Hct hematócrito
μM micromolar ou micromol.L ⁻¹	HNOO ⁻ peroxinitrito
¹²⁵ I iodo radioativo	HP hidroperóxido de lipídio
AA ácido ascórbico	Ht altura do peixe na região da nadadeira peitoral
ADP adenosina difosfato	IC índice cardíaco
AMP adenosina monofosfato	IHS índice hepato-somático
ascorbil [*] radical ascorbil	ILS índice lipo-somático
ATP adenosina trifosfato	KOH hidróxido de potássio
BHT butilato hidroxitolueno	Ls comprimento corpóreo padrão
BL.s ⁻¹ = comprimentos corporais por segundo	Lt comprimento corpóreo total
CAT catalase	MDA malondialdeído
CHCM concentração de hemoglobina corpuscular média	mM milimolar ou milimol.L ⁻¹
Cu ⁺ íon cobre reduzido	NADP ⁺ nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidado
CuSO ₄ sulfato de cobre	NADPH nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
DA defesa antioxidante	NaN ₃ azida sódica
DHA dehidroascorbato ou ácido dehidroascórbico	NaOH hidróxido de sódio
dL decilitro	NBT nitroblue-tetrazólio
DNA ácido desoxirribonucléico	ng nanograma
DNPH dinitrofenilhidrazina	nM nanomolar ou namol.L ⁻¹
DTNB 5.5'-dithiobis 2-nitro-benzoic acid	O ₂ ⁻ ânion superóxido
EDTA	OH [*] radical hidroxila
Er contagem do número de eritrócitos do sangue	PC percentual de carcaça
ERO espécies reativas de oxigênio	<i>p</i> -fenilfenol para-fenilfenol
Exe grupo de matrinxãs mantido em exercício físico moderado	PT proteína
FCA fator de condição aparente	rpm rotações por minuto
Fe ²⁺ íon ferro reduzido ou ferroso	SD desvio padrão
Fe ³⁺ íon ferro oxidado ou férrico	SOD superóxido dismutase
FeSO ₄ sulfato de ferro	TBARS substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
FOX reação de oxidação do ferro pelo xilenol orange	TC taxa de conversão alimentar
G6PDH glicose-6-fosfato desidrogenase	TCA ácido tricloroacético
GLO gulonolactona oxidase	TCE taxa de crescimento específico
GR glutatona redutase	TM taxa de mortalidade
GSH glutatona reduzida	VCM volume corpuscular médio
GSH-Px glutatona peroxidase	Vit.C grupo alimentado com dieta suplementada com vitamina C
GSSG glutatona oxidada	Vit.C+Exe grupo de matrinxãs alimentado com dieta suplementada com vitamina C e mantido em exercício físico moderado
GSSG/GSH relação glutatona oxidada e reduzida	Wc peso da carcaça
GST glutatona-S-transferase	Wd largura do peixe na região da nadadeira peitoral
H ⁺ íon hidrogênio	Wt peso corpóreo total
H ₂ O ₂ peróxido de hidrogênio ou água oxigenada	
H ₂ SO ₄ ácido sulfúrico	
Hb concentração de hemoglobina no sangue total	

RESUMO

O exercício estimula o apetite do peixe, além de promover melhor aproveitamento dos nutrientes e maior taxa de crescimento. O exercício físico aumenta o hematócrito e a concentração de hemoglobina elevando a capacidade de transporte de oxigênio pelo sangue, não promovendo prejuízos ao processo de digestão durante a natação contínua. A redução dos níveis dos hormônios do estresse e da interação agressiva durante o exercício físico moderado permitem crescimento homogêneo dos animais. Os peixes, como todos os seres vivos aeróbicos, apresentam defesa antioxidante (enzimática e não-enzimática) contra espécies reativas de oxigênio. Devido ao aumento do consumo de O₂ em consequência ao exercício, pode haver aumento destes radicais no organismo. Os antioxidantes, como a vitamina C, presentes na dieta podem diminuir os riscos de doenças e os danos oxidativos ocasionados pelas espécies reativas de oxigênio. O objetivo do presente estudo foi verificar o crescimento e o metabolismo oxidativo de matrinxã, *Brycon cephalus*, submetido ao exercício físico moderado e contínuo (velocidade de 1 – 2 BL.s⁻¹) e à alimentação com dieta suplementada com vitamina C (432 mg AA.kg dieta⁻¹). Os matrinxãs foram submetidos a quatro diferentes tipos de tratamentos: Controle (submetidos à alimentação com dieta não suplementada com vitamina C e ao sedentarismo), Vit.C (submetidos à alimentação com dieta suplementada com vitamina C e ao sedentarismo), Exe (submetidos à alimentação com dieta não suplementada com vitamina C e ao exercício) e Vit.C+Exe (submetidos à alimentação com dieta suplementada com vitamina C e ao exercício) pelos períodos de 60 e 90 dias. Após estes períodos experimentais, os matrinxãs foram anestesiados para a coleta de amostras sanguíneas por punção da veia caudal com seringas e agulhas heparinizadas. Estas amostras foram utilizadas para a determinação dos parâmetros hematológicos e obtenção de plasma por centrifugação. Os animais foram sacrificados por secção medular e pesados e medidos. A coleta de amostras de fígado, músculos branco e vermelho foi realizada para análises bioquímicas. Os níveis plasmáticos de cortisol, concentração de vitamina C no fígado, concentração dos intermediários metabólicos (glicose, glicogênio, lactato, piruvato, proteína e amônia) e indicadores de estresse oxidativo (hidroperóxido de lipídio, superóxido dismutase e glutathione peroxidase) foram determinados. A utilização do exercício físico moderado apresentou efeito positivo sobre o crescimento dos matrinxãs, indicado pelo fator de condição aparente e pelo aumento dos níveis de proteína muscular, além de promover aumento do hematócrito e diminuição dos níveis de cortisol plasmático. A suplementação de vitamina C foi eficaz em aumentar os níveis hepáticos desta vitamina. A dieta suplementada com vitamina C não promoveu aumento do crescimento, entretanto reduziu os níveis de peroxidação lipídica. A associação do exercício físico com a alimentação suplementada permitiu a manutenção dos níveis de peroxidação lipídica e das enzimas antioxidantes. Os matrinxãs do grupo Vit.C+Exe (90 dias) apresentaram crescimento e fator de condição aparente semelhante ao do grupo Exe. Assim, verificamos que a aplicação do exercício físico moderado e da suplementação da dieta com vitamina C podem levar à obtenção de maiores taxas de crescimento e de sobrevivência dos matrinxãs, *B. cephalus*, devido a alterações no metabolismo, melhorando a condição dos animais e favorecendo, deste modo, o aumento da produção de pescado.

ABSTRACT

Moderate exercise training is known to enhance fish appetite, feed conversion efficiency and growth rate. This type of exercise raises the hematocrit, thus blood hemoglobin concentration and the oxygen carrying capacity of the blood. This allows that less blood needed to be diverted away from the gut to supply aerobic metabolism in the muscles. Continuously swimming fish show lowered circulating levels of stress hormones (like cortisol) and this represents an energy saving and permits higher fish growth rate, with more homogenous body size. All aerobic living forms have defenses against reactive oxygen species. Oxygen consumption can increase with exercise training and this result in a higher production of reactive oxygen species. Antioxidants, like vitamin C, in the diet can reduce the disease risks and the oxidative damage by the reactive oxygen species. The aim of this study was to verify growth and oxidative metabolism of matrinxã, *Brycon cephalus*, after moderate and continuous exercise training (speed 1 – 2 BL.s⁻¹) and after fed with vitamin C supplemented diet (432 mg AA.kg dieta⁻¹). Matrinxãs were divided into four groups: Control (submitted to diet without vitamin C supplementation and to sedentarism), Vit.C (submitted to diet with vitamin C supplementation and to sedentarism), Exe (submitted to diet without vitamin C supplementation and to exercise training) and Vit.C+Exe (submitted to diet with vitamin C supplementation and to exercise training), during 60 and 90 days. After these treatments, matrinxãs were anesthetized and blood samples were collected with heparinized needles and syringes by caudal vein puncture. Fish were sacrificed by vertebral section, weighed and lengthened. Liver, white and red muscle and heart were collected for the biochemistry analysis. Plasma cortisol levels, liver vitamin C concentration, intermediary metabolite levels (glucose, glycogen, lactate, pyruvate and ammonia) and oxidative stress indicators (lipid hydroperoxide, superoxide dismutase and glutathione peroxidase) were measured. The exercise training increased growth rate of matrinxãs indicated by the condition factor and the maintenance of the liver glycogen levels and the higher muscle protein concentration. This moderate swimming exercise raised the hematocrit of matrinxãs and lowered the plasma cortisol levels. The vitamin C supplemented diet enhanced hepatic levels of this vitamin. This supplementation did not permit the increase of growth rate, however it reduced the lipid peroxidation levels. Exercise and vitamin C supplemented diet associated were responsible for the maintenance lipid peroxidation and antioxidants enzymes levels. After 90 days of experiment period, the group Vit.C+Exe showed similar growth and condition factor to the group Exe. The moderate exercise training with vitamin C supplemented diet increased the growth and the survive rates of matrinxãs, *B. cephalus*, due to the some alterations on the metabolism, improving the fish condition and favoring the fisheries production.

1. Introdução

A produção aquícola está embasada na preservação do meio ambiente e no desenvolvimento social, de modo a gerar aproveitamento efetivo dos recursos naturais locais, com a geração de renda e criação de postos de trabalho assalariado, melhorando a qualidade de vida da população local (VALENTI, 2000). A avaliação das exigências nutricionais e o desenvolvimento de rações específicas de acordo com as diferentes etapas do ciclo de vida dos diversos organismos aquáticos cultivados são algumas das linhas de pesquisa biológica e de desenvolvimento tecnológicos promissoras (BORGHETTI & OSTRENSKY, 2000).

A aquíicultura brasileira apresenta seis setores principais, definidos pelos grupos de organismos cultivados: peixes de água doce, camarões marinhos, mexilhões, ostras, camarões de água doce e rãs. Segundo VALENTI (2000) o setor de peixes de água doce está presente em todos os estados do país. Nas regiões sul e sudeste, por exemplo, consolidou-se a produção de espécies de água doce como, por exemplo, matrinxã e piracanjuba (*Brycon*), curimatá (*Prochilodus lineatus*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*), traíra (*Hoplias malabaricus*), além de piau e piauçu (*Leporinus*) (PEZZATO & SCORVO, 2000; POLI et al., 2000).

O melhoramento genético das espécies cultivadas e o desenvolvimento de sistemas alternativos de produção, como a utilização de tanques-rede, são meios aplicados para se aumentar a produtividade nos sistemas de cultivo de peixes (BORGHETTI & OSTRENSKY, 2000). A aplicação do exercício físico moderado também possibilita aumento da produtividade e, com isto, proporciona maior rendimento do produto final em menor período de tempo (TOTLAND et al., 1987; DAVISON, 1989; YOUNG & CECH, 1994 a,b).

1.1. Exercício físico em peixes

Os peixes podem nadar contra a correnteza e, quando forçados a nadar por longos períodos, temos o chamado treinamento. O exercício físico tem mostrado efeitos positivos em relação à eficiência de conversão, especialmente em salmonídeos (TOTLAND et al., 1987; DAVISON, 1989; ADAMS et al., 1995). Os peixes treinados em uma velocidade ótima (adequada) podem apresentar aumento no crescimento devido a diversos fatores como, por exemplo, aumento do consumo do alimento (DAVISON & GOLDSPINK, 1977), redução do comportamento agressivo e dos níveis de estresse (KIESSLING et al., 1994; MILLIGAN et al., 2000) e aumento das taxas de síntese protéica (HOULIHAN & LAURENT, 1987; YOUNG & CECH, 1993) resultando em maior produção de pescado.

O exercício pode promover mudanças na textura da carne dos peixes (TOTLAND et al., 1987; JOHNSTON, 1999), devido ao aumento do diâmetro das fibras musculares (hipertrofia) (SÄNGER, 1992; JOHNSTON, 1999; JOHNSTON et al., 2000a). Entretanto, este efeito do exercício depende da espécie, da alimentação, da velocidade de treinamento e do equipamento utilizados (TOTLAND et al. 1987; DAVISON, 1989; CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; YOUNG & CECH, 1993; WOODWARD, 1994). A textura é uma variável importante na qualidade da carne, sendo de grande importância na indústria da produção de pescado (JOHNSTON et al., 2000b; BJØRNEVIK et al., 2003).

Devido ao exercício o apetite do peixe é estimulado, de modo que o animal ingere maior quantidade de alimento. E mesmo que a natação envolva maior demanda de energia, uma maior taxa de crescimento é alcançada com menor quantidade de alimento, pois o animal ganha massa mais rapidamente devido a um melhor aproveitamento dos nutrientes (DAVISON, 1989; CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; SÄNGER, 1992). Além disso, parte da energia a ser utilizada nos peixes mantidos em exercício não é gasta devido à ventilação "ram" (STEFFENSEN, 1985).

Em águas com velocidade alta e constante, o peixe pode parar a sua respiração rítmica e ventilar de modo "ram", bastando para isto movimentar-se para frente com a boca aberta (RANDALL, 1982). Este mecanismo possibilita a oxigenação do sangue com grande economia de energia que, em alguns casos pode chegar a aproximadamente 10,2% do consumo total de O₂ do peixe (STEFFENSEN, 1985). Segundo RANDALL et al. (1967) e JONES & RANDALL (1978) o aumento do fluxo de água sobre as brânquias, a maior rigidez das lamelas secundárias (maior recrutamento lamelar) e o aumento da frequência cardíaca ou do volume sistólico permitem a maior oxigenação do organismo.

A intensidade do regime de exercícios pode afetar o crescimento dos peixes. As velocidades baixas (0,5 - 1,2 BL.s⁻¹) produzem maiores taxas de crescimento (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; FARRELL et al., 1990; KIESSLING et al., 1994; YOUNG & CECH 1994 a,b) e as velocidades altas (2,4 - 3,6 BL.s⁻¹) podem resultar em crescimento lento ou, até mesmo, em efeitos negativos sobre o crescimento dos animais (DAVISON & GOLDSPINK, 1978; FARRELL et al., 1991; YOUNG & CECH, 1994 a,b). Além disso, o hábito da espécie utilizada também altera o crescimento com a natação, pois espécies tipicamente encontradas em águas paradas ou com pouca correnteza, como o *Carassius auratus*, geralmente crescem menos em qualquer velocidade de natação em relação aos animais mantidos sedentários (DAVISON & GOLDSPINK, 1978).

A musculatura esquelética dos peixes apresenta uma peculiaridade que é a separação espacial dos músculos branco e vermelho. A porção vermelha é a que suporta a atividade sustentada e, a porção branca que é a maior parte do músculo, é recrutada para a natação de alta velocidade (TOTLAND et al., 1987; KIESSLING et al., 1994; MOYES & WEST, 1995). O exercício pode promover mudanças neste tecido como, por exemplo, o aumento do volume das mitocôndrias e do diâmetro das fibras observado em microscopia eletrônica por DAVISON & GOLDSPINK (1977), indicando maior capacidade oxidativa do músculo vermelho de truta marrom (*Salmo trutta*) em decorrência do exercício em

velocidade moderada. O aumento da massa muscular, vermelha e branca, de *Morone saxatilis* treinados por 60 dias em velocidade moderada de 1,5 – 2,4 BL.s⁻¹ foram obtidos por YOUNG & CECH (1994a). Assim, o aumento da massa muscular branca pode ocorrer mesmo que em certas velocidades de natação ocorra apenas o trabalho muscular da porção vermelha.

O peixe estoca energia no tecido muscular, também acumulando energia no fígado em períodos de maior aquisição de energia, sendo grande parte desta energia estocada como glicogênio. Desta forma, o tamanho relativo do fígado correlaciona-se com o estado nutricional do peixe e com a taxa de crescimento. Esta medida indireta da taxa de crescimento é denominada como índice hepato-somático (IHS) (ADAMS & MCLEAN, 1985; BUSACKER et al., 1990). O aumento do IHS, após o exercício, indica melhora do estado nutricional dos animais, o que foi observado em *Oncorhynchus tshawytscha* treinado em velocidade de 1,5 BL.s⁻¹ (KIESSLING et al., 1994) e em bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*) treinado em velocidade de 1,0 BL.s⁻¹ (BJØRNEVIK et al., 2003).

Durante períodos de grande aquisição de energia pelo peixe, o crescimento dos tecidos e o armazenamento desta energia no músculo e no fígado podem levar o animal a apresentar um peso maior em relação a um dado comprimento. Este excesso é usualmente mostrado pelo fator de condição (FC) (LE CREN, 1951; WEATHERLEY, 1972; ADAMS & MCLEAN, 1985). Este fator de condição reflete o estado nutricional do peixe, sendo muitas vezes interpretado como um índice da taxa de crescimento.

Existe um consenso de que o treinamento aumenta o hematócrito e, conseqüentemente, elevam-se a concentração de hemoglobina e a capacidade de transporte de oxigênio pelo sangue (DAVISON, 1989; THORARENSEN et al., 1993) devido à liberação esplênica das células vermelhas estocadas (DAVISON, 1997; FARRELL et al., 2001). O aumento do hematócrito pode ocorrer devido à diminuição do volume plasmático ou pelo aumento da liberação de células vermelhas (eritrócitos) pelo baço

(RANDALL, 1982). Com o estímulo adrenérgico, o baço se contrai promovendo um aumento no número de eritrócitos na circulação e possibilitando o aumento na capacidade do sangue de transporte de O₂ (WELLS & WEBER, 1990; WANG et al., 1994; WELLS et al., 2003). Além disso, o maior valor de hematócrito verificado em *Oncorhynchus tshawytscha* permite que, em qualquer velocidade de natação, ocorra o desvio de uma menor quantidade de sangue do sistema digestório de modo a suprir o metabolismo aeróbio nos músculos. Assim, em animais em natação constante, a digestão prossegue sem impedimentos ou dificuldades (THORARENSEN et al., 1993; FARRELL et al., 2001).

Em relação ao exercício em peixes, diversos trabalhos foram realizados verificando a capacidade aeróbia (MILLIGAN, 1996; WELLS et al., 2003) e os mecanismos de remoção de lactato e de ressíntese de glicogênio (MILLIGAN & WOOD, 1986; PEARSON et al., 1990; MILLIGAN & GIRARD, 1993; MILLIGAN, 1996; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; KIEFFER et al., 2001; MILLIGAN, 2003). Além disso, o exercício pode ser utilizado para se verificar alterações no metabolismo de ácidos graxos e de proteínas dos peixes durante a recuperação de um exercício, seja este exaustivo ou não (PEARSON et al., 1990; WANG et al., 1994; MOYES & WEST, 1995; MILLIGAN, 1996; DAVISON, 1997; KIEFFER, 2000; MILLIGAN et al., 2000; MILLIGAN, 2003; CZESNY et al., 2003; VAN HAM et al., 2003; WELLS et al., 2003). A partir de alguns estudos que utilizaram o exercício exaustivo, pode-se sugerir que os efeitos observados não ocorrem em consequência da natação, mas muito provavelmente devido ao estresse gerado pelo manuseio durante certas práticas laboratoriais (MILLIGAN et al., 2000; MILLIGAN, 2003).

O exercício físico moderado reduz os níveis dos hormônios do estresse pela redução da interação agressiva entre os animais, favorecendo o crescimento com maior homogeneidade. A interação agressiva entre os indivíduos de uma mesma espécie promove o estresse de dominância devido à competição por espaço e alimento, favorecendo os maiores (dominantes) e causando um aumento da heterogeneidade de

tamanho (DOU et al., 2004). Nas espécies de hábito omnívoro ou carnívoro pode ocorrer, inclusive, o canibalismo (DOU et al., 2000; LIAO & CHANG, 2002). DAVISON & GOLDSPINK (1977) sugeriram que os baixos níveis dos hormônios do estresse (catecolaminas e cortisol) foram responsáveis pelo aumento das taxas de crescimento após o treinamento da truta marrom, *Salmo trutta*.

Muitas espécies de peixes respondem ao estresse pela elevação de catecolaminas e corticosteróides circulantes (MAZEAUD & MAZEAUD, 1981; PICKERING & POTTINGER, 1995; REID et al., 1998). Estes efeitos primários provocam respostas secundárias relacionadas ao requerimento energético, incluindo o aumento de glicose no sangue pelos processos de glicogenólise e gliconeogênese (BARTON & IWAMA, 1991; REID et al., 1998), além de alterações na homeostase de eletrólitos no sangue e nos tecidos (EDDY, 1981). Deste modo, o cortisol tem papel importante no metabolismo de carboidratos, visto que a sua presença na circulação produz hiperglicemia (mobilização de energia), pela estimulação da glicogenólise e da gliconeogênese (LIDMAN et al., 1979; WENDELAAR BONGA, 1997; BARNETT & PANKHURST, 1998).

1.2. Estresse oxidativo e exercício físico

Os sistemas biológicos interagem com o ambiente externo para manter o meio interno, favorecendo a sobrevivência, o crescimento e a reprodução. Entretanto, o oxigênio apesar de ser vital à sobrevivência, pode promover danos oxidativos à estrutura e à função celulares (STOREY, 1996; HALLIWELL, 2000; BENZIE, 2003). As espécies reativas de oxigênio (ERO) são radicais livres derivados do oxigênio e, parcialmente, reduzidos (ABELE & PUNTARULO, 2004; HERMES-LIMA, 2004). As ERO são formadas no organismo durante os diversos processos fisiológicos como, por exemplo, fosforilação oxidativa, destruição de organismos estranhos pelos macrófagos, sinalização celular

(recrutamento de macrófagos para o reparo do tecido danificado), controle da pressão sanguínea, da divisão celular e da apoptose (SIES, 1986; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999; DAVIES, 2000; BENZIE, 2003; HERMES-LIMA, 2004).

Um radical livre é capaz de existir independentemente e é caracterizado por apresentar um elétron livre não-pareado, o que aumenta a sua reatividade (FRIDOVICH, 1998; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999; BENZIE, 2003). Entre as ERO temos o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e o radical hidroxila (OH^{\bullet}). O $O_2^{\bullet-}$ é um oxidante-chave, por ser produzido constantemente e, inevitavelmente, durante o processo de fosforilação oxidativa na mitocôndria, entretanto, é incapaz de mover-se para muito longe de seu local de formação. A SOD transforma este ânion em H_2O_2 , uma molécula de baixo peso molecular e não-carregada, que pode se difundir rapidamente para dentro e entre as células (HALLIWELL et al., 2000) e, por não ser altamente reativo, acumula-se em pequenas quantidades, sem grandes danos aos tecidos (HALLIWELL et al., 2000; BENZIE, 2003). O $O_2^{\bullet-}$, além de ser utilizado durante a produção de H_2O_2 , pode também estar presente na formação de muitas outras ERO, incluindo o peroxinitrito ($HNOO^{\bullet}$) e o radical hidroxila (OH^{\bullet}) (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999; BENZIE 2000; HERMES-LIMA, 2004). Pela reação de Haber-Weiss, forma-se OH^{\bullet} a partir de H_2O_2 , e, por ser altamente reativo, interage rapidamente e indiscriminadamente causando danos aos substratos biológicos (Figura 1; MURRAY et al., 2002; HERMES-LIMA, 2004).

Segundo STOREY (1996) pode-se considerar três níveis de proteção antioxidante: (1) prevenção da formação de ERO; (2) eliminação das ERO por enzimas antioxidantes; (3) reparo dos componentes celulares danificados. Assim, o estresse oxidativo pode ocorrer como resultado de mudanças na produção de ERO e da capacidade antioxidante do organismo. O desbalanço entre estes componentes é o que pode levar ao desenvolvimento do estresse oxidativo, por exemplo, o aumento da produção de ERO e a manutenção da capacidade e da função normais dos antioxidantes, ou mesmo, a

combinação do aumento da produção de ERO e da diminuição da capacidade antioxidante (dos componentes enzimáticos e não enzimáticos) (FANG et al., 2002; DEATON & MARLIN, 2003). Além disso, a presença do estresse oxidativo não implica automaticamente em danos oxidativos, entretanto, considerando-se que as enzimas e demais substâncias antioxidantes não são 100% eficientes na prevenção da oxidação dos constituintes celulares, os danos podem ocorrer continuamente (DAVIES, 2000). Estes danos podem ser verificados pela medida da peroxidação lipídica, da oxidação de proteínas e dos danos ao DNA (WINSTON, 1991; LENAZ, 1998; LIVINGSTONE, 2001).

A geração de $O_2^{\bullet-}$ é aumentada durante a reperfusão após isquemia e inflamação e também durante o exercício (ORTUÑO et al., 2003). A isquemia pode promover o acúmulo de hipoxantina, como resultado da degradação do ATP e durante a reperfusão esta hipoxantina é convertida em xantina pela ação da enzima xantina oxidase, causando a formação de $O_2^{\bullet-}$. Durante a ação de neutrófilos e outras células fagocíticas ocorre um rápido aumento do consumo de oxigênio conhecido como "burst" respiratório e, durante este fenômeno, há uma rápida utilização de oxigênio e a produção de grande quantidade de ERO ($O_2^{\bullet-}$, $HNOO^{\bullet-}$ e OH^{\bullet}), que são potenciais microbicidas. A enzima NADPH oxidase envolve a formação de $O_2^{\bullet-}$ a partir de oxigênio durante este processo fagocítico (ORTUÑO et al., 2003; HERMES-LIMA, 2004).

De 2 a 5% do oxigênio utilizado na mitocôndria formam radicais livres durante o metabolismo normal do organismo (WILHELM FILHO et al., 2000; DEATON & MARLIN, 2004) e o exercício pode levar ao estresse oxidativo devido ao aumento da produção de ERO (URSO & CLARKSON, 2003), visto que, com a fosforilação oxidativa aumentada em resposta ao exercício, ocorre concomitante aumento dos radicais livres. Acredita-se também que as catecolaminas liberadas durante o exercício podem também levar à produção de radicais livres (JACKSON, 2000). Entretanto, ØRTENBLAD et al. (1997) verificaram que humanos treinados em alta intensidade apresentaram aumento da

atividade das enzimas antioxidantes possibilitando maior defesa contra radicais livres, de modo que não foram observados danos oxidativos no músculo esquelético.

O aumento no consumo de oxigênio em humanos durante o exercício, ativa a enzima GSH-Px a remover H_2O_2 e hidroperóxidos orgânicos da célula (TIIDUS et al., 1996; LEEUWENBURGH et al., 1999). O aumento dos níveis de GSH e de enzimas antioxidantes pode ocorrer em consequência ao exercício, devido ao aumento de ERO (CLARKSON & THOMPSON 2000; DRÖGE, 2002). Nenhum aumento de lactato foi observado em exercícios sub-máximos em humanos e, este fato, pode ser atribuído à ação do ácido láctico na redução de espécies oxidadas pela doação de um hidrogênio, deste modo, prevenindo a oxidação da GSH (GOHIL et al., 1988). GROUSSARD et al. (2000) demonstraram que o lactato pode agir como um bom antioxidante em pH fisiológico, por retirar radicais OH^* e O_2^* , apesar de não retirar os radicais lipídicos.

SASTRE et al. (1992) relataram que os níveis de GSSG no sangue aumentam e, consequentemente, a taxa de GSH/GSSG diminui em resposta ao exercício. Deste modo, uma relação linear entre as taxas de GSSG/GSH e de lactato:piruvato no sangue foi observada antes, durante e após exercício. Isto demonstra que o aumento do nível de GSSG nas células e a relação lactato:piruvato podem ser utilizados como indicativos de estresse oxidativo, devido ao desbalanço entre os níveis de pró-oxidantes e antioxidantes em favor dos pró-oxidantes (SIES, 1986). O aumento do consumo de oxigênio, nas mitocôndrias dos músculos de ratos exercitados, pode promover danos oxidativos, sendo que estes danos podem ser prevenidos pela suplementação da alimentação com vitamina C (SASTRE et al., 1992).

1.3. Antioxidantes enzimáticos

Os peixes, como todos os seres vivos aeróbicos, apresentam defesa antioxidante (DA) contra ERO, podendo esta defesa ser enzimática ou não-enzimática. As enzimas

antioxidantes mais relevantes são: a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutaciona peroxidase (GSH-Px), a glutaciona-S-transferase (GST) e a glutaciona redutase (GR) (Figura 01). As defesas antioxidantes não-enzimáticas incluem a glutaciona (GSH), o ascorbato (vitamina C), o α -tocoferol (vitamina E), a vitamina A, o ubiquinol 10 e o β -caroteno (WINSTON, 1991; WILHELM FILHO et al., 1993; BENZIE, 2003). Este sistema de DA neutraliza os efeitos tóxicos dos radicais livres (SIES, 1986).

A ação dos antioxidantes enzimáticos complementa a dos antioxidantes não-enzimáticos, além de catalisar as reações para remover ERO ou regenerar (reduzir) antioxidantes oxidados. A SOD catalisa a dismutação do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em H_2O_2 e O_2 e possui inúmeras formas, dependendo do tipo de metal ao qual está associada (cobre, zinco, manganês e ferro). O H_2O_2 produzido pela ação da SOD é menos tóxico que o $O_2^{\bullet-}$ e pode ser degradado pela ação de duas enzimas antioxidantes: a CAT e a GSH-Px. A ação da CAT leva à formação de H_2O e O_2 . A GSH-Px catalisa a degradação de diversos peróxidos, incluindo o H_2O_2 , através da oxidação do tripeptídeo glutaciona (GSH) formando a glutaciona oxidada (GSSG), que pode ser regenerada pela ação da GR. A GR em sua ação consome uma molécula de NADPH, produzida pela célula, por exemplo, pela ação da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH). A GST catalisa a conjugação de GSH com xenobióticos, incluindo aldeídos produzidos durante a peroxidação lipídica (Figura 01) (STOREY, 1996; JANSSENS et al., 2000; FANG et al., 2002; DEATON & MARLIN, 2003; HERMES-LIMA, 2004; WILHELM FILHO et al., 2005).

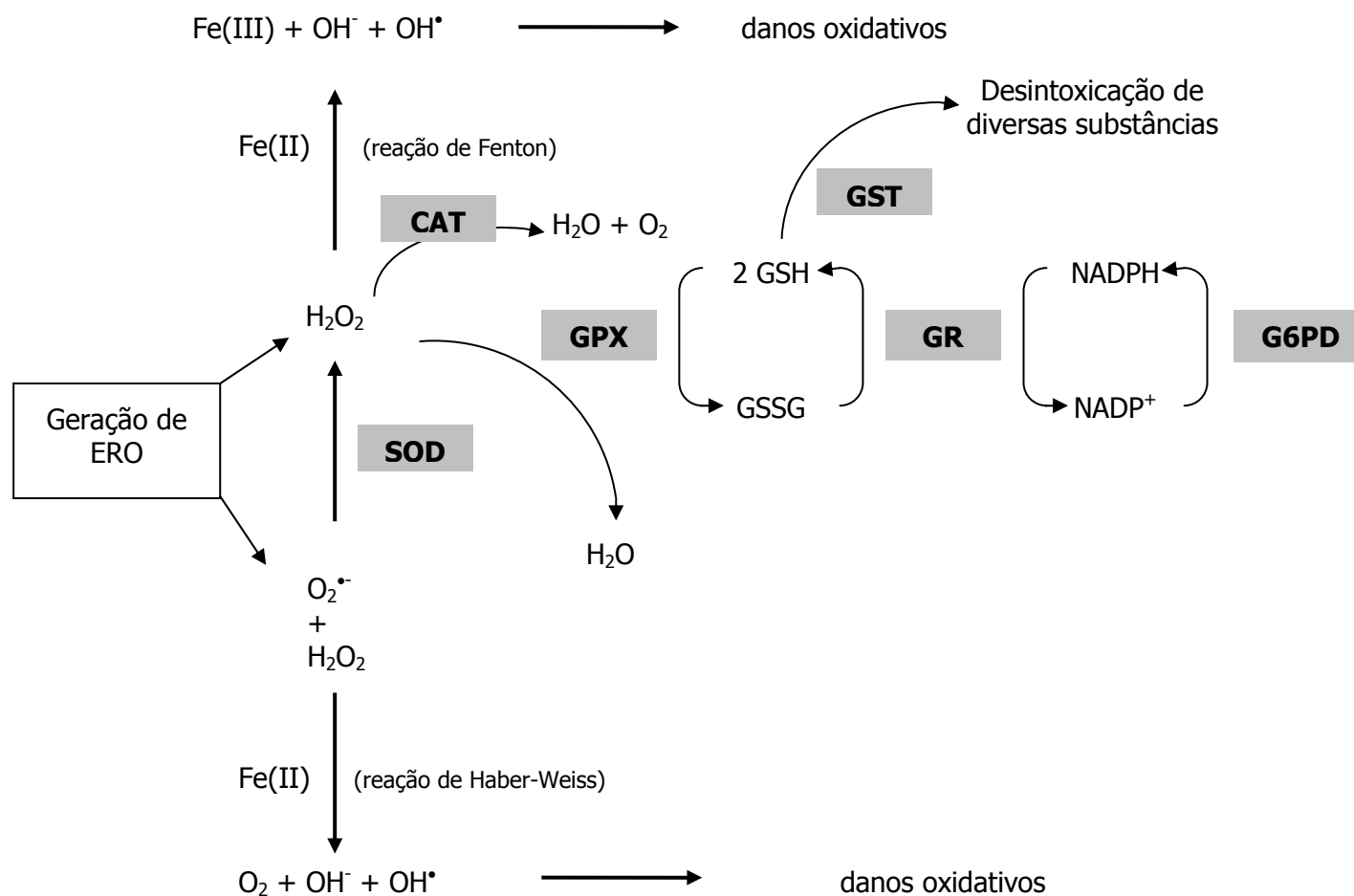


Figura 01. Esquema das defesas antioxidantes enzimáticas para a proteção das células contra espécies reativas de oxigênio. As abreviações SOD, CAT, GST, GR, GPX e G6PDH representam as enzimas superóxido dismutase, catalase, glutathiona S-transferase, glutathiona redutase, glutathiona peroxidase e glicose-6-fosfato desidrogenase, respectivamente. OH^\bullet radical hidroxil; OH^- íon hidroxila; H_2O_2 peróxido de hidrogênio; GSH glutathiona reduzida; GSSG glutathiona oxidada; $\text{O}_2^{\bullet -}$ radical superóxido; e NADPH e NADP^+ nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida e oxidada, respectivamente. (Fonte: HERMES-LIMA, 2004)

A SOD está localizada principalmente na mitocôndria e no citosol de células. Duas isoformas da SOD são conhecidas no músculo esquelético dos animais: a CuZn SOD, localizada no citosol e a MnSOD, localizada, principalmente, nas mitocôndrias. A GSH-Px é encontrada na mitocôndria, no citosol e nas membranas de células e a sua atividade é selênio dependente. A CAT é localizada, principalmente, nos peroxissomos e nas mitocôndrias, e requer ferro como cofator para a sua atividade. A GSH-Px, a SOD e a CAT apresentam atividades enzimáticas maiores nas fibras musculares oxidativas (DEATON & MARLIN, 2003).

1.4. Vitamina C

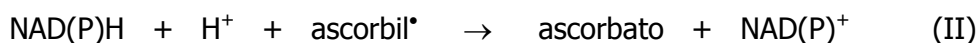
As vitaminas são nutrientes orgânicos requeridos em pequenas quantidades para uma série de funções bioquímicas e que, geralmente, não podem ser sintetizados pelo organismo, devendo, portanto, ser fornecidos pela alimentação (MURRAY et al., 2002). Por convenção, as vitaminas são agrupadas em hidrossolúveis e lipossolúveis. As vitaminas hidrossolúveis são as vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, biotina, ácido fólico e cobalamina) e vitamina C. As vitaminas lipossolúveis incluem as A (retinol), D (calcitriol), E (tocoferol) e K (menadiona) (MORRIS, 1991; JOBLING, 1994; WOODWARD, 1994; MAYES, 2002).

O ácido ascórbico (vitamina C, AA) é um nutriente essencial para a manutenção das funções fisiológicas das células animais, sendo utilizado, por exemplo, durante a síntese de colágeno, de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) e de carnitina, além de aumentar significativamente a absorção de ferro (MORRIS, 1991; MAYES, 2002). Esta vitamina apresenta uma importante função de manter, o cobre e o ferro no estado reduzido (Cu^+ e Fe^{2+} , respectivamente) (MAYES, 2002; GAETKE & CHOW, 2003). A reação I mostra a ação do ascorbato como agente redutor do ferro, sendo que o radical ascorbil* formado é relativamente pouco reativo. Esta reação auxilia a absorção do ferro

inorgânico no intestino, pelo fato da forma Fe^{2+} ser a mais facilmente absorvível (HALLIWELL, 1996).



Os antioxidantes não enzimáticos podem apresentar diminuição em sua concentração devido à sua utilização durante a neutralização dos radicais livres. A vitamina C, por exemplo, pode agir como um doador de elétrons, permitindo a desintoxicação de vários radicais livres (GAETKE & CHOW, 2003). A reciclagem do ascorbato é catalisada pela ascorbato redutase NAD(P)H-dependente (reação II) e pela dehidroascorbato redutase (reação III) (HERMES-LIMA, 2004).



A maioria dos animais apresenta a capacidade de síntese de AA ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) a partir da D-glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$). Entretanto, esta capacidade de síntese do AA está ausente em alguns animais, como humanos, primatas, alguns morcegos, pássaros, invertebrados e peixes ósseos, devido à falta da enzima L-gulonolactona oxidase (GLO - EC 1.1.3.8), que participa do passo final da conversão de glicose a ácido ascórbico (CHATTERJEE, 1973; BÁNHEGYI et al., 1997; FRACALOSSO et al., 2001). Esta incapacidade de síntese da vitamina C nos animais dos grupos mencionados não os levou à extinção devido à disponibilidade desta vitamina na alimentação (recurso exógeno) (CHATTERJEE, 1973). Deste modo, os níveis dos antioxidantes endógenos podem refletir o esforço fisiológico do organismo durante o estresse oxidativo e o aumento da ingestão de antioxidantes é uma

estratégia para melhorar as defesas do organismo (HALLIWELL, 1996; MCCALL & FREI, 1999; BENZIE, 2000).

A falta de vitamina C na dieta dos peixes ósseos pode ocasionar o aparecimento de sinais de deficiência, como impedimento da formação de colágeno, por ser necessária como co-substrato durante o funcionamento de enzimas como prolina e lisina hidroxilase, durante a biossíntese de colágeno (HALLIWELL, 2001). Além disso, sua ausência na dieta pode promover deformidades estruturais (escoliose, lordose), presença de cartilagem anormal nas brânquias e nas nadadeiras e hemorragias internas e crescimento retardado (MORRIS, 1991; GOUILLOU-COUSTANS et al., 1998; FRACALLOSSI et al., 1998; WANG et al., 2003). O colágeno é uma das mais importantes proteínas em animais multicelulares e age como um importante elemento estrutural em todos os tecidos de sustentação (PICKERING & POTTINGER, 1995). A falta de ácido ascórbico pode causar danos na estrutura do esqueleto, da cartilagem e do músculo esquelético. Lesões no músculo esquelético em apaiaris, *Astronotus ocellatus*, ocorreram devido à combinação da má formação de colágeno e do esqueleto, que impossibilitaram movimentos musculares normais, resultando em atrofia e/ou desenvolvimento anormal das fibras musculares (FRACALLOSSI et al., 1998).

As concentrações hepáticas de ácido ascórbico aumentam com a suplementação dos níveis de ácido ascórbico na dieta como mostrado nos estudos em *Ictalurus punctatus* (LIM et al., 2000), *Salmo salar* (ANDERSEN et al., 1998) e *Astronotus ocellatus* (FRACALLOSSI et al., 1998). A necessidade de AA na dieta é bastante variada, dependendo do metabolismo e da espécie estudada. Segundo FRACALLOSSI et al. (1998) 25 mg AA.kg dieta⁻¹ era suficiente para apaiari, *Astronotus ocellatus*, na prevenção da redução do crescimento e dos sinais de deficiência da vitamina no organismo. Já para um bom crescimento do *Oplegnathus fasciatus*, a quantidade necessária de vitamina C na dieta foi de 118 mg.kg⁻¹ (WANG et al., 2003), enquanto que para carpa comum, *Cyprinus carpio*,

foi de 45 mg.kg⁻¹ (GOUILLOU-COUSTANS et al., 1998). Se o nível de ácido ascórbico utilizado na dieta for maior que o necessário para o crescimento e para a prevenção dos sinais de deficiência, pode ocorrer aumento da resposta imune e da resistência a bactérias (LIM et al., 2000). Além disso, a absorção de ferro aumenta significativamente pela presença da vitamina C (MURRAY et al., 2002), favorecendo a manutenção da porcentagem normal do hematócrito e da concentração de hemoglobina no sangue (FRACALOSI et al., 1998; GOUILLOU-COUSTANS et al., 1998).

Os antioxidantes, como a vitamina C, presentes na dieta podem diminuir riscos de doenças e danos oxidativos ocasionados pelas ERO (FRIDOVICH, 1998; BENZIE, 2003), além de apresentarem ação como agente doador de elétrons (agente redutor), o que permite que participem da desintoxicação de vários radicais (GAETKE & CHOW, 2003).

Além disso, uma grande variedade de ERO (radicais hidroxila e peroxila, superóxido, ácido hipocloro e ozônio) e radicais derivados de antioxidantes (tocoferoxil e urato) são neutralizados pelo ácido ascórbico (CHOW, 1991; CARR & FREI, 1999; CHOW et al., 1999; BENZIE, 2000). O ácido ascórbico é oxidado a dehidroascorbato em 2 passos de 1 elétron, com a liberação de um átomo de hidrogênio em cada passo e pode ser reciclado pela ação da GSH-Px (HALLIWELL, 1996; STEHBENS, 2003). O ácido ascórbico pode atuar como antioxidante, reduzindo o tocoferol oxidado em membranas (CHOW et al., 1999; CLARKSON & THOMPSON, 2000; MAYES, 2002), deste modo, a administração em altas doses de vitamina C na dieta reduz os sinais de deficiência de vitamina E (dose dependente) (CHEN et al., 2004). O α -tocoferol (vitamina E) é um importante antioxidante lipídico (CHOW, 1991; CHOW et al., 1999), enquanto o ácido ascórbico é um importante antioxidante na fase aquosa (BENZIE, 2000; DEATON & MARLIN, 2003).

O exercício, independentemente da espécie estudada, por si só não pode ser determinado como indutor de estresse oxidativo ou de danos oxidativos. Diversos fatores

como duração, intensidade, preparo físico, estado de saúde e as condições ambientais afetam a ocorrência e a severidade do estresse e dos danos oxidativos (DEATON & MARLIN, 2003). A relação dos indicadores de estresse oxidativo com o exercício físico em peixes ainda não foi determinada. Deste modo, o estudo dos efeitos da natação moderada e da suplementação de vitamina C na dieta de peixes pode possibilitar que, em menor período de tempo, a mesma ou até mesmo maior quantidade do produto final possa ser obtida, possibilitando o aumento da produção de pescado no Brasil, em especial, das espécies reofílicas.

Dentre estas espécies reofílicas temos o matrinxã, *Brycon cephalus*, nativo da bacia Amazônica (CARNEIRO & URBINATI, 2001a). O matrinxã é uma espécie migratória que necessita nadar contra a correnteza dos rios para realizar a desova (CASTAGNOLLI, 1992).

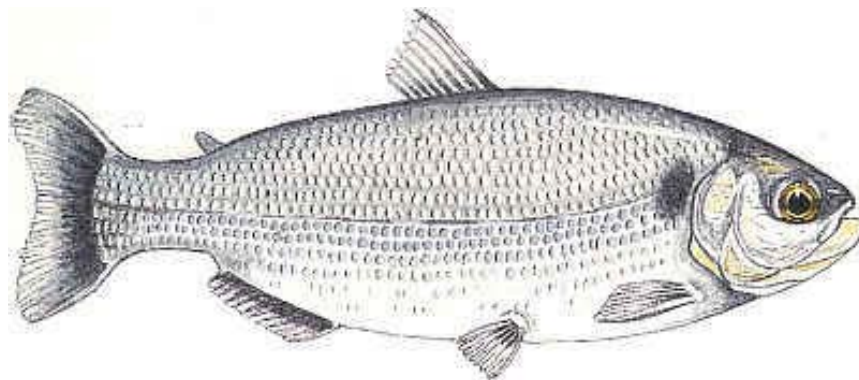


Figura 02. Representação de exemplar matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869).

Esta espécie tem atraído a atenção dos piscicultores pelas suas características, tais como excelente qualidade de sua carne, resistência a longos períodos de hipóxia (SAINT-PAUL, 1986; SCORVO-FILHO et al., 1998), boa conversão alimentar, hábito alimentar omnívoro, aceitação de alimento artificial, resistência a temperaturas baixas e facilidade de captura (GOULDING, 1980; REIMER, 1982; GRAEF et al., 1986; SAINT-PAUL, 1986).

Além de apresentar grande aceitação na pesca esportiva (CASTAGNOLLI, 1997; CARNEIRO & URBINATI, 2001a).

1.5. Objetivos

O presente estudo teve como objetivos verificar os efeitos do exercício físico moderado e contínuo (velocidade de 20 cm.s⁻¹) associado à dieta suplementada com vitamina C (432 mg AA.kg dieta⁻¹) no crescimento e no metabolismo de matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869), pelos períodos de 60 e 90 dias.

Para isto foram verificados:

- a) o crescimento dos matrinxãs após o exercício físico moderado e contínuo e alimentação com dieta suplementada com vitamina C pelos índices biométricos;
- b) a condição de saúde dos matrinxãs pelos parâmetros hematológicos;
- c) as respostas metabólicas pelos níveis dos intermediários metabólicos no plasma, no fígado e nos músculos branco e vermelho;
- d) os indicadores de estresse oxidativo no plasma, fígado, músculos branco, vermelho e cardíaco.

2. Material e Métodos

2.1. Obtenção dos animais e aclimação

Alevinos de matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) utilizados nos experimentos foram doados pela Piscicultura Águas Claras, Mococa, SP. Os animais foram aclimatados por 30 dias em tanques com capacidade para 1 m³ (1.000 L) de água e alimentados *ad libitum* com ração comercial (35% de proteína bruta) duas vezes ao dia, no início da manhã e ao final da tarde. A temperatura da água foi mantida constante a 25 °C com fluxo de água contínuo e o fotoperíodo foi de 12/12. A limpeza dos tanques foi realizada a cada dois dias.

2.2. Desenho experimental

Os espécimes de *Brycon cephalus* foram pesados e medidos no início do experimento e apresentavam (média \pm S.D.) peso de 17,5 \pm 3,5 g e comprimento padrão de 11,4 \pm 0,5 cm. Os animais foram aleatoriamente divididos em oito grupos (n = 20 cada) e submetidos a quatro diferentes tratamentos em dois períodos de tempo (60 e 90 dias).

Os matrinxãs foram alimentados com ração suplementada ou com ração não suplementada com vitamina C (432,0 ou 248,0 mg AA.kg⁻¹ de ração, respectivamente) e mantidos em exercício (com velocidade da correnteza de 20 cm.s⁻¹) ou não. Os animais foram submetidos às condições experimentais por 60 e 90 dias, de acordo a Tabela 1.

2.2.1. Aplicação de exercício físico

Os animais mantidos nos grupos exercitados (Exe e Vit.C+Exe) foram forçados a nadar contra uma corrente d'água na velocidade fixa de 20 cm.s⁻¹ em tanques circulares de PVC com capacidade para 500 L de água e diâmetro total de 127 cm (Figura 03).

Tabela 1. Protocolo experimental representando os grupos experimentais a que foram submetidos os matrinxãs.

	sem suplementação de vitamina C na dieta	com suplementação de vitamina C na dieta
Não-exercitado	Controle	Vit.C
Exercitado	Exe	Vit.C+Exe

A corrente d'água foi gerada por uma bomba d'água acoplada a canos perfurados, que mantinha a circulação da água de modo uniforme por toda a coluna d'água. No centro do tanque circular adaptou-se um cano de PVC de 250 mm de diâmetro, para permitir o acoplamento destes canos perfurados provenientes da bomba d'água. Os animais foram mantidos em natação contra corrente durante 24 horas por dia, pelos períodos experimentais de 60 ou 90 dias.

Os tanques de todos os grupos experimentais foram mantidos no mesmo ambiente, de modo que, todos os animais foram submetidos às vibrações, ao barulho e/ou ao calor gerado pela bomba de água (Figura 04).

2.2.2. Suplementação de vitamina C na ração comercial

A suplementação da ração com vitamina C foi realizada sob a orientação de Maria Angélica Rosa do CEPTA-IBAMA, Pirassununga, SP. Desta maneira, 1.000 mg (1,0 g) de vitamina C protegida (Rovimix 50%, Rochè) foi misturada a óleo de soja comum (100 mL), homogeneizado e misturado a 1,0 kg de ração comercial (Guabi). Assim, a ração suplementada com vitamina C foi obtida e mantida em geladeira e protegida da luz (em sacos plásticos pretos) para minimizar a perda da vitamina.



Figura 03. Tanque para manutenção dos peixes em exercício. Os canos de pvc perfurados estão acoplados à bomba d'água de forma a promover correnteza na velocidade de 20 cm.s^{-1} .



Figura 04. Parte externa do tanque de exercício, para visualização do acoplamento da bomba d'água ao tanque.

A análise da concentração de vitamina C nas rações suplementada ou não-suplementada foi realizada pelo laboratório de análises LabTec Analítica, pertencente à Empresa Mogiana Alimentos S.A., Campinas, SP (de acordo com LAM et al., 1984) Os resultados destas análises estão indicados na Tabela 2. O resultado nos mostra que a suplementação com vitamina C (Rovimix 50%, Rochè) na ração comercial como foi realizada no laboratório, possibilitou a detecção de, praticamente, o dobro da concentração de vitamina C já presente na ração para peixes.

Tabela 2. Análise da concentração de vitamina C monofosfato (mg vitamina C.kg⁻¹ ração) nas amostras de ração não-suplementada e suplementada com vitamina C monofosfato Rochè.

Tipo de ração	[Vitamina C] esperada	[Vitamina C] determinada
ração não-suplementada	350,0	248,0
ração suplementada	850,0	432,0

2.2.3. Composição da ração comercial

A determinação da composição da ração para peixe utilizada neste estudo foi realizada pelo Laboratório de Nutrição Animal, Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (Unesp) de Jaboticabal, SP. Os resultados obtidos estão indicados na Tabela 3. Por estes resultados verificou-se que a ração administrada aos animais apresentava 36% de proteína.

Tabela 3. Análises químicas e bioquímicas da ração comercial para peixes (Guabi) com 35% proteína bruta, realizadas pelo Laboratório de Nutrição Animal, Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (Unesp) de Jaboticabal, SP.

Análises Químicas e Bioquímicas	
ÍNDICES	%
Matéria seca	91,89
Matéria mineral	9,95
Proteína bruta	36,44
Matéria fibrosa	1,33
Extrato etéreo	9,79
Energia bruta (cal.g ⁻¹)	4569,02

2.3. Amostragem de tecidos

2.3.1. Coleta de sangue

Após o término dos períodos experimentais (60 e 90 dias), os animais foram anestesiados em água com benzocaína 0,1%. Segundo MAZEAUD & MAZEAUD (1981), o procedimento de anestesia dos animais reduz a resposta adrenérgica ao estresse. A retirada de sangue foi realizada com seringas heparinizadas por punção caudal em dez (n = 10) animais de cada grupo experimental, imediatamente após a anestesia.

2.3.2. Obtenção do plasma

As amostras de sangue foram centrifugadas a 12.000 rpm por 5 minutos em centrífuga refrigerada Hermle Z323K. O plasma foi obtido para análises enzimáticas e bioquímicas.

2.3.3. Obtenção dos demais tecidos

Após a retirada de amostras sanguíneas, os animais foram sacrificados por secção da medula espinhal. O fígado, a gordura visceral e o coração foram separados e pesados para se calcular os índices hepato-somático (IHS), lipo-somático (ILS) e índice cardíaco (IC). Amostra do músculo branco foi retirada da região epaxial dorsal e do músculo vermelho da região imediatamente abaixo ao local de amostragem do músculo branco. As amostras de tecidos foram lavadas em solução salina 0,9% a 4 °C, sendo o excesso de líquido retirado com papel filtro para serem congelados em freezer – 80 °C para posterior realização das análises.

2.4. Análises

2.4.1. Observações Comportamentais

Os animais foram observados, principalmente, durante dois períodos do dia, quando se fornecia alimentação. Uma quantidade de ração era pesada para cada grupo a ser alimentado e o valor anotado. A ração era administrada aos animais, até que não fosse mais apanhada na superfície da água, sendo que a ração restante era pesada, anotando-se para se saber a quantidade de ração consumida pelo grupo em cada refeição. Além da alimentação, cada morte dos animais foi anotada para se determinar, posteriormente, a taxa de mortalidade nos grupos. Os cálculos da taxa de conversão alimentar (TC), da taxa de crescimento específica (TCE = %) (ELANGO VAN & SHIM, 2000) e da taxa de mortalidade (TM = %) foram realizados de acordo com as fórmulas abaixo:

$$TC = \text{peso seco do alimento consumido (g)} / \text{peso ganho pelos animais (g)}$$

$$TCE = [\ln \text{ peso final (g)} - \ln \text{ peso inicial (g)}] / \text{tempo (dias)} \cdot 100$$

$$TM = (\text{número de indivíduos mortos} \cdot 100) / \text{número total de indivíduos}$$

2.4.2. Índices biométricos

Após cada período experimental, os animais amostrados de cada grupo experimental foram pesados e medidos, de modo que, os índices biométricos foram determinados em dez peixes de cada tratamento. Deste modo, os pesos (g) total (Wt) e da carcaça (Wc), os comprimentos (cm) total (Lt) e padrão (Ls) e a altura (Ht) e largura (Wd) (na região da nadadeira peitoral) foram medidos no final do experimento.

O índice hepato-somático (IHS = %) (BUSACKER et al., 1990) e o índice liposomático (ILS = %) (COLLINS & ANDERSON, 1997), o índice cardíaco (IC = ‰) (GREER-WALKER & EMERSON, 1978), o fator de condição aparente (FCA=%) (WEATHERLEY, 1972) e o percentual da carcaça (PC=%) (KIESSLING et al., 1994) foram calculados de acordo com as seguintes equações:

$$\text{IHS} = (\text{peso do fígado} / \text{peso do peixe}) \cdot 100$$

$$\text{ILS} = (\text{peso do tecido adiposo perivisceral} / \text{peso do peixe}) \cdot 100$$

$$\text{IC} = \text{peso do coração} / \text{peso do peixe} \cdot 1000$$

$$\text{FCA} = 100 \cdot \text{peso peixe} / (\text{comprimento padrão})^3$$

$$\text{PC} = 100 \cdot \text{peso da carcaça eviscerada} / \text{peso do peixe}$$

2.4.3. Ácido ascórbico hepático

A determinação da concentração de ácido ascórbico hepático foi realizada de acordo com o método de CARR et al. (1983). Neste método, o 2,6-diclorofenol-indofenol (2,6-dye) oxida o ácido ascórbico a ácido dehidroascórbico, que reage com a dinitrofenilhidrazina (DNPH) para formar um derivado, a hidrazona, como descrito por ÖTLES (1995). Amostras do fígado foram pesadas e homogeneizadas em ácido

tricloroacético (TCA) 20% (1:3 w/v) em homogeneizador Tecnal TE-039 e centrifugados em centrífuga refrigerada Hermle Z323K a 12.000 rpm por 3 min a 4°C. O sobrenadante obtido foi diluído em água destilada (1:1) e, em 500 µL deste, acrescentou-se 25 µL de 2,6-dye 0,2% que foi incubado por 1 hora em temperatura ambiente. Acrescentou-se 250 µL de tiouréia 2% em ácido metafosfórico 5% e 250 µL de DNPH 0,2% em H₂SO₄ 12 M. Esta mistura foi incubada por 3 horas à 60°C. Finalizando, acrescentou-se 500 µL de H₂SO₄ 18 M. Centrifugou-se a 3.000 rpm por 8 min. Após resfriamento à temperatura ambiente, a leitura foi realizada a 524 nm em espectrofotômetro Spectronic Genesys 5. O padrão utilizado foi uma solução de 100 nM de ácido ascórbico. A concentração de ácido ascórbico no fígado foi expressa em µmol.g⁻¹ tecido.

2.4.4. Hematologia

As amostras de sangue, logo após a coleta, foram utilizadas para determinação dos parâmetros hematológicos: hematócrito (Hct = %), concentração total de hemoglobina (Hb = g.dL⁻¹) e contagem no número de eritrócitos (Er x 10⁶ = Er.mm⁻³), como descrito abaixo:

a) *Hematócrito*: a proporção de eritrócitos em relação ao volume da amostra de sangue foi determinada centrifugando-se os tubos capilares heparinizados em centrífuga de micro-hematócrito Fanem Mod. 211, a 12.000 rpm por 3 min.

b) *Concentração total de hemoglobina*: determinada pelo método da Cianometahemoglobina, segundo HOUSTON (1990). Uma amostra de 10 µL de sangue foi adicionada a 2,0 mL de Reagente de Drabkin (solução aquosa contendo 2,0 g K₃[Fe(CN)₆]; 0,5 g KCN e 1,4 g KH₂PO₄ em volume final de 1,0 L), misturado em vórtex e após 15 min, a leitura da absorbância foi realizada a 540 nm em espectrofotômetro

Spectronic Genesys 5. A curva padrão foi obtida utilizando-se padrão de hemoglobina da Labtest Diagnostica® (cat. 47).

c) *Contagem de eritrócitos*: uma amostra de 10 µL de sangue foi adicionada a 2,0 mL de Solução de Formol-Citrato (Solução aquosa 3,8% de Citrato de Sódio, 2% Formalina) e homogeneizados suavemente. Os eritrócitos foram contados (Er.mm⁻³) em câmara de Neubauer sob microscópio de luz Olympus CBA-K.

A partir dos valores de Hct, Hb e Er foram realizados os cálculos dos índices hematimétricos: Volume Corpuscular Médio (VCM = µm³), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM = pg.cél⁻¹) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM = %), como indicado a seguir:

$$\text{VCM} = (\text{Hct} / \text{Er}) \times 10^7$$

$$\text{HCM} =: (\text{Hb} / \text{Er} \times 10^6) \times 10^{12}$$

$$\text{CHCM} = (\text{Hb} / \text{Hct}) \times 100$$

2.4.5. Cortisol plasmático

A concentração de cortisol no plasma de matrinxãs foi medida no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Unesp), Jaboticabal, SP. Deste modo, as amostras de plasma foram transportadas para o local de análise em gelo mantendo-se a temperatura entre 2-8 °C. O método utilizado baseia-se em radioimunoensaio com marcador ¹²⁵I e foi realizado utilizando-se um kit denominado Coat-a-count® Cortisol da Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, USA). O volume de amostra utilizado foi de 25 µL e a contagem foi realizada em um contador gama denominado Gamma C12, obtendo-se um valor que, através da curva de calibração, é

convertido numa medição do nível de cortisol presente na amostra em $\mu\text{g.dL}^{-1}$, posteriormente, convertido para ng.mL^{-1} .

2.4.6. Intermediários metabólicos

O plasma foi desproteínizado (1:10, v/v) em TCA 20% e centrifugado em centrífuga refrigerada Hermle Z323K a 12.000 rpm por 3 min. O sobrenadante foi separado e utilizado para a determinação das concentrações de glicose, lactato, piruvato e amônia.

As concentrações de glicose, lactato, piruvato e amônia no fígado e músculos branco e vermelho foram determinadas do seguinte modo: os tecidos foram pesados (cerca de 0,1 g) e tratados com TCA 20% (1:10, w/v) por homogeneização em homogeneizador Turrtec TE-102 (Tecnal) em gelo. A seguir, foram centrifugados em centrífuga refrigerada Hermle Z323K a 3.000 rpm por 3 min a 4 °C. A determinação de glicogênio no fígado e nos músculos branco e vermelho foi realizada homogeneizando-se as amostras com KOH 6,0 N (1:20 para o fígado e 1:10 para os músculos, w/v) por aquecimento em banho-maria (100 °C) até dissolução completa dos tecidos.

A descrição detalhada das metodologias está descrita abaixo:

- a) *Glicose*: determinado de acordo com o método de Dubois (DUBOIS et al., 1956), que se baseia na formação de furfural em meio ácido. Os homogeneizados ácidos foram diluídos em água destilada e adicionados de fenol 4,1%. Acrescentou-se H_2SO_4 concentrado. Após o resfriamento, a leitura foi efetuada em 480 nm em espectrofotômetro Spectronic Genesys 5. O padrão utilizado foi de 100 nM de glicose. A concentração de glicose está expressa em $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ de plasma e em $\mu\text{mol.g}$ de tecido⁻¹.
- b) *Lactato*: a concentração de lactato foi determinada segundo o método de HARROWER & BROWN (1972), que se baseia na complexação do lactato com CuSO_4 , sendo o lactato revelado pelo *p*-fenilfenol e H_2SO_4 . Nestas determinações foram utilizados os

homogeneizados ácidos diluídos em água destilada e, em seguida, acrescentando-se CuSO_4 4% e H_2SO_4 concentrado. Após fervura por 5 min, resfriou-se em água com gelo. Acrescentou-se *p*-fenilfenol agitando o tubo em vórtex e, em seguida, as amostras foram mantidas em repouso por 1 h. Após nova fervura de 90 s resfriamento, realizou-se a leitura em espectrofotômetro Spectronic Genesys 5 em 570 nm. Como padrão foi utilizada uma solução de 100 nM de ácido láctico. A concentração de lactato está expressa em $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ de plasma e em $\mu\text{mol.g}$ de tecido⁻¹.

c) *Piruvato*: O piruvato foi determinado segundo LU (1939), pela reação da DNPH. O homogeneizado ácido foi diluído em água destilada. A esta mistura foi adicionado DNPH, permanecendo em banho-maria a 37°C por 30 min. Em seguida, adicionou-se NaOH 1,3 N, sendo a leitura realizada em 440 nm em espectrofotômetro Spectronic Genesys 5. Como padrão foi utilizada solução de 100 nM de piruvato de sódio. A concentração de piruvato está expressa em nmol.mL^{-1} de plasma e em $\mu\text{mol.g}$ de tecido⁻¹.

d) *Glicogênio*: o glicogênio foi determinado pela técnica descrita por BIDINOTTO et al. (1997), que consiste na separação alcoólica do glicogênio seguida pela determinação direta de glicose (DUBOIS et al., 1956). Após a dissolução em meio alcalino (KOH 6,0 N) dos tecidos, a 250 μL desta mistura adicionou-se 3 mL de etanol e, 100 μL de K_2SO_4 10%. Após agitação em vórtex, o tubo foi centrifugado (a 3.000 rpm por 3 min) em centrífuga para tubos Fanem Excelsa Baby I, modelo 206, sendo o sobrenadante descartado por inversão do tubo. O precipitado foi ressuspendido em 2,5 mL de água destilada por agitação do tubo em um vórtex. A determinação de glicose destas amostras ressuspendidas foi realizada de acordo com o método de Dubois et al. (1956). A leitura foi realizada em 480 nm em espectrofotômetro Spectronic Genesys 5 e o padrão utilizado foi de 100 nM de glicose. O conteúdo de glicogênio está expresso em μmol de unidades glicosil-glicose.g de tecido⁻¹.

e) *Amônia*: a concentração de amônia foi determinada utilizando-se o método de Nessler (adaptado por GENTZKOW & MASEN, 1942). À amostra diluída em água destilada, adicionou-se o Reativo de Nessler (Imbralab) e a leitura da absorbância foi realizada a 420 nm em espectrofotômetro Spectronic Genesys 5. O padrão utilizado foi a solução de 100 nM de NH_4Cl . A concentração de amônia está expressa em $\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ de plasma e em $\mu\text{mol}\cdot\text{g}$ de tecido⁻¹.

2.4.7. Indicadores do estresse oxidativo

As enzimas antioxidantes determinadas foram: glutathiona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD). Além disso, a concentração de hidroperóxido de lipídio (HP) foi determinada de modo a inferir sobre possíveis danos causados aos tecidos, durante um processo de estresse oxidativo.

Amostras do fígado, dos músculos branco e vermelho e do coração foram pesadas (cerca de 200 mg) e homogeneizadas em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4 (10% w/v) em homogeneizador Turratec TE-102 (Tecnal) em gelo. As amostras foram centrifugadas em centrífuga refrigerada Hermle Z323K a 10.000 rpm por 20 min a 4°C. O plasma foi utilizado após descongelamento a 4°C.

A atividade das enzimas antioxidantes e a concentração de hidroperóxido de lipídio foram quantificadas de acordo com as metodologias descritas abaixo.

a) *Glutathiona Peroxidase* (GSH-Px -E.C. 1.11.1.9.): a atividade da glutathiona peroxidase foi determinada baseada na metodologia de HAFEMAN et al. (1974). O ensaio foi incubado a 37°C por 5 min contendo: 0,01 mL (10 μL) de amostra dos homogeneizados; 100 μL glutathiona reduzida (GSH) 2 mM; 100 μL tampão fosfato de sódio 0,4 M (pH 7,0) com 4×10^{-4} mM EDTA; 50 μL NaN_3 (para inibir a catalase); e água destilada para completar o volume de 400 μL . A esta mistura acrescentou-se 100 μL H_2O_2 1,25 mM. Após 3 min de incubação, uma alíquota de 100 μL da mistura anterior foi retirada e

adicionado 400 μL de solução de precipitação contendo ácido metafosfórico (solução aquosa de 1,67 g ácido metafosfórico glacial, 0,2 g EDTA, 30 g NaCl em volume total de 100 mL). Esta mistura foi centrifugada a 3.000 rpm por 10 min a 30°C em centrífuga Hermle Z323K. À alíquota de 400 μL da mistura centrifugada foi adicionada 400 μL de Na_2HPO_4 4×10^{-4} M. Após a adição de 200 μL de reagente DTNB (5.5'-dithiobis 2-nitrobenzoic acid) (40 mg de DTNB em 100 mL de citrato trissódico 1%), a leitura foi realizada dentro de 5 min a 412 nm em espectrofotômetro Spectronic Genesys 5 contra água destilada. Realizou-se um ensaio com um branco (com água) simultaneamente às amostras como controle da oxidação não-enzimática pelo H_2O_2 durante a incubação. A atividade da GSH-Px, que não reagiu com o DTNB, está expressa como nmol GSH oxidado por mg de proteína ($\text{U} \cdot \text{mg} \text{ proteína}^{-1}$).

b) *Superóxido dismutase total* (SOD - EC 1.15.1.1): a quantificação da atividade da enzima superóxido dismutase foi medida segundo Beauchamp & Fridovich (1971) descrita em CROUCH et al. (1981), tendo como base a capacidade da enzima em inibir a redução do NBT (nitroblue-tetrazólio) por radicais livres gerados pela hidroxilamina em meio alcalino. O ensaio foi realizado no escuro, de modo que a 100 μL de amostra dos tecidos homogeneizados (10%) ou do plasma (30%) foi adicionado 0,5 mL da mistura de NBT 1,2 mM e EDTA 2 mM (1,5/1,0, v/v) e 2,0 mL de tampão carbonato de cálcio 0,5 M (pH 10,2) e hidroxilamina 4×10^{-4} M (9,0/1,0, v/v). Após 15 min de incubação à temperatura ambiente (25°C), a leitura da redução de NBT foi realizada a 560 nm em espectrofotômetro Spectronic Genesys 5 contra água destilada. Realizou-se um ensaio com um branco (mistura hidro-alcoólica: água e etanol 4:1) simultaneamente às amostras como controle durante a incubação. A quantidade da enzima foi expressa em unidade (U) da enzima por mg de proteína ($\text{U SOD} \cdot \text{mg} \text{ proteína}^{-1}$), sendo que 1 U de SOD refere-se a 50% da inibição da redução do NBT em pH alcalino.

c) *Hidroperóxido de lipídio* (HP): a concentração de HP foi determinada através da oxidação do Fe^{2+} (sulfato ferroso amoniacal), segundo metodologia descrita por JIANG et al. (1991). À temperatura ambiente adicionou-se a 100 μL de amostra (homogeneizados a 10% e plasma não diluído) 900 μL da seguinte mistura: alaranjado de xilenol 0,1 mM, butilato hidroxitolueno 4 mM (BHT – Sigma), H_2SO_4 25 mM e FeSO_4 0,25 mM em metanol 90% (v/v) foram incubadas. O Fe^{3+} formado reage com alaranjado de xilenol formando um composto colorido. Simultaneamente ao ensaio com amostras, realizou-se um controle com metanol 10%. As leituras de absorbância foram realizadas em 560 nm em espectrofotômetro Spectronic Genesys 5 após 15 min de espera à temperatura ambiente (25°C), contra água destilada. Os resultados foram expressos como nmol BHT. mL^{-1} de plasma e em nmol de BHT por g de tecido (nmol BHT.g tecido $^{-1}$).

d) *Proteína Total* (PT): os níveis de proteína total nos tecidos foram determinados pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976). A leitura foi realizada em leitora de microplaca Microplate Reader MRX-HD (Dynex Technologies, Inc.) em 595 nm. A albumina sérica bovina (0,4 mg. mL^{-1}) foi utilizada como padrão de proteína. A concentração de proteína está expressa em mg. mL^{-1} de plasma e em mg.g de tecido $^{-1}$.

2.5. Análise Estatística

Os valores estão representados como média \pm desvio padrão (S.D.). A estatística foi realizada utilizando-se análise de variância (ANOVA), com teste de Tukey-Kramer (paramétrico) ou Kruskal-Wallis (não-paramétrico) de acordo com o Teste de Bartlett o qual indica a homogeneidade dos desvios (SD) dos grupos analisados. Os pós-testes, paramétrico e não-paramétrico, foram realizados para saber quais grupos eram diferentes entre si ($p < 0,05$). O programa estatístico utilizado foi o GraphPad InStat, versão 3.00.

3. Resultados

3.1. Observações comportamentais

Neste estudo, os animais dos grupos submetidos à natação forçada aprenderam a nadar contra a corrente d'água rapidamente, provavelmente, pelo fato de apresentarem natureza reofílica. Além disso, os animais mantidos em exercício apresentaram apetite e voracidade maiores do que os animais que não foram submetidos à natação forçada, pois quando a ração era oferecida aos animais, esta era apanhada rapidamente e com maior eficiência pelos animais dos grupos exercitados (tanto os alimentados com ração suplementada quanto não-suplementada com vitamina C).

Quando se fornecia alimento, observou-se que os animais dos grupos Exe consumiam, o dobro ou mais da quantidade de ração em relação aos grupos Controles. Na realidade, podemos observar pelos valores de taxa de conversão alimentar e de peso final, indicados nas Tabelas 4 e 5, que os animais dos grupos Exe mostraram melhor aproveitamento dos nutrientes da alimentação. A taxa específica de crescimento foi maior nos animais exercitados, principalmente, nos grupos Exe. Além disso, os animais exercitados (Exe e Vit.C+Exe) indicaram menor taxa de mortalidade do que os que foram mantidos sedentários.

O estresse dentro de um tanque podia ser verificado pelo comportamento natatório em círculos (sem indução por corrente de água artificial). Este estresse, que era demonstrado principalmente, pelos animais dos grupos Controles (não exercitados), refletiu sobre a taxa de mortalidade nestes grupos que foi de 45%, enquanto que, nos grupos Exe foi de 20 a 25% (Tabela 4). Esta mortalidade ocorreu principalmente no primeiro mês de experimento. As altas taxas de mortalidade observadas nos grupos Controles ocorreram, muito provavelmente, devida ao alto grau de agressão, apresentando como consequência, a separação dos animais mais fracos, ou subordinados

do restante do grupo. Assim, separados do grupo maior, eram geralmente atacados por alguns do grupo (provavelmente, pelos indivíduos dominantes) e apresentavam perda de escamas e de cor, além de escoriações na pele, principalmente na parte ventral do corpo. Com o passar do tempo, eram cada vez mais atacados pelos demais do grupo e, por fim, se não retirados do tanque, acabavam por ser devorado pelos demais, o que demonstra o forte comportamento canibalismo nesta espécie.

Tabela 4. Taxa de conversão alimentar (TC), taxa específica de crescimento (TEC = %) e taxa de mortalidade (TM = %) de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias.

	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
TC	49,71	100,18	47,29	139,43
TEC	1,79	0,88	3,41	2,16
TM	45%	35%	20%	25%
90 dias				
TC	60,75	74,61	57,69	86,29
TEC	1,54	0,78	2,86	1,89
TM	45%	35%	25%	25%

3.2. Índices biométricos

Os valores de peso corpóreo e da carcaça, comprimentos corporais total e padrão, altura e largura dos grupos de matrinxãs submetidos aos procedimentos experimentais pelos períodos de 60 e 90 dias estão indicados na Tabela 5. Os matrinxãs dos grupos Vit.C, em ambos os períodos experimentais, apresentaram valores para estes parâmetros semelhantes aos grupos Controles ($p > 0,05$). Os animais do grupo Exe (60 e 90 dias), mostraram valores de peso (total e carcaça) e de comprimento do corpo (total e padrão) aumentados em relação aos não-exercitados (Controle e Vit.C). A altura e largura dos grupos exercitados (Exe e Vit.C+Exe) aumentaram em relação aos não-exercitados

apenas aos 90 dias de experimento. Após o período de 60 dias apenas o grupo Exe apresentou valores significativamente maiores para comprimentos corporais total e padrão, altura e largura que os demais grupos. Deste modo, o grupo Vit.C+Exe após 60 dias em condições experimentais, apresentou valores semelhantes aos do grupo Controle no mesmo período. Os valores dos comprimentos corporais total e padrão e altura do grupo Exe 90 dias mostraram-se maiores ($p < 0,05$) do que todos os demais grupos no mesmo período. Os valores de largura mostraram-se maiores em ambos os grupos exercitados (Vit.C+Exe e Exe) por 90 dias.

Tabela 5. Peso corpóreo (Wt) e da carcaça (Wc) (g), comprimentos total (Lt) e padrão (Ls) (cm) e altura (Ht) e largura (Wd) corporais (cm) de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 10).

	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
Wt	57,03 \pm 9,25 a	41,71 \pm 16,89 a	142,66 \pm 21,14 b	68,20 \pm 8,74 ab
Wc	52,20 \pm 8,58 a	39,12 \pm 14,94 a	125,84 \pm 19,49 b	59,94 \pm 7,70 a
Lt	17,60 \pm 0,74 a	15,24 \pm 1,92 a	21,58 \pm 1,23 b	17,60 \pm 0,74 a
Ls	14,72 \pm 0,85 a	13,11 \pm 1,73 a	18,45 \pm 0,83 b	15,22 \pm 0,77 a
Ht	4,23 \pm 0,25 b	3,70 \pm 0,38 a	5,44 \pm 0,32 c	4,57 \pm 0,27 b
Wd	2,01 \pm 0,15 ad	1,83 \pm 0,21 a	2,66 \pm 0,12 c	2,13 \pm 0,14 bd
90 dias				
Wt	48,10 \pm 8,56 a	49,60 \pm 21,00 a	162,46 \pm 26,74 c	102,56 \pm 19,69 b*
Wc	41,24 \pm 7,19 a*	50,71 \pm 15,06 a	147,57 \pm 24,41 bc	90,53 \pm 19,22 c*
Lt	16,43 \pm 1,01 a*	16,60 \pm 2,63 a	22,88 \pm 1,72 c	19,79 \pm 1,21 b*
Ls	14,29 \pm 1,13 a	14,29 \pm 2,43 a	19,47 \pm 1,47 c	17,15 \pm 1,09 b*
Ht	4,06 \pm 0,38 a	4,25 \pm 0,71 a*	6,04 \pm 0,39 c	5,25 \pm 0,33 b*
Wd	1,89 \pm 0,12 a	1,96 \pm 0,30 a	2,70 \pm 0,29 b	2,56 \pm 0,14 b*

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

Após o período experimental de 90 dias, os valores de peso da carcaça e comprimento total do grupo Controle, a altura do grupo Vit.C e todos os parâmetros do

grupo Vit.C+Exe mostraram-se significativamente maiores ($p < 0,05$) que os respectivos grupos mantidos por apenas 60 dias.

Os índices hepato-somático (IHS), lipo-somático (ILS), cardíaco (IC), o fator de condição aparente (FCA) e o percentual de carcaça (PC) estão indicados na Tabela 6. O IHS aumentou significativamente no grupo Exe após 60 dias em exercício físico contínuo e moderado. Após 90 dias o grupo Exe também houve aumento deste índice em relação aos demais grupos no mesmo período experimental, entretanto, este valor diminuiu em relação ao grupo Exe 60 dias. O IHS do grupo Vit.C+Exe após 60 dias de experimento, apresentou valor semelhante aos valores dos grupos Controle e Vit.C ($p > 0,05$). Entretanto após 90 dias, o IHS do grupo Vit.C+Exe indicou valor intermediário aos grupos não-exercitados (Controle e Vit.C) e o grupo Exe ($p > 0,05$). O ILS aumentou significativamente nos grupos Vit.C+Exe (60 e 90 dias) em relação aos demais grupos experimentais. Os grupos Controle de ambos os períodos experimentais apresentaram valores maiores de ILS do que os grupos Exe.

Os grupos Exe, de ambos os períodos experimentais, apresentaram valores de FCA significativamente maiores que os dos demais grupos ($p < 0,05$) (Tabela 6). Apenas o grupo Vit.C+Exe 90 dias permaneceu com valor semelhante ao grupo Exe do mesmo período ($p > 0,05$). O IC após o período experimental de 60 dias aumentou nos grupos alimentados com dieta suplementada com vitamina C (Vit.C e Vit.C+Exe). Os grupos Exe (60 e 90 dias) mostraram valores semelhantes aos dos Controles. Os valores de PC dos matrinxãs mantidos em experimento por 60 dias indicaram valores semelhantes, sendo o menor valor de PC o do grupo Exe. Após 90 dias de experimento, o menor valor foi apresentado pelo grupo Vit.C+Exe e o maior do grupo Exe.

Tabela 6. Índices hepato-somático (IHS=%) e lipo-somático (ILS=%), fator de condição aparente (FCA=%), índice cardíaco (IC=%) e percentual de carcaça (PC=%) de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos: não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 10).

	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
IHS	1,13 \pm 0,16 a	1,19 \pm 0,19 a	2,12 \pm 0,31 b	1,13 \pm 0,20 a
ILS	3,62 \pm 0,47 b	3,19 \pm 0,52 ab	2,98 \pm 0,46 a	4,73 \pm 0,67 c
FCA	1,78 \pm 0,11 ab	1,76 \pm 0,16 a	2,26 \pm 0,10 c	1,93 \pm 0,14 b
IC	1,25 \pm 0,17 ab	1,61 \pm 0,33 c	1,20 \pm 0,07 a	1,39 \pm 0,19 bc
PC	93,30 \pm 6,67 b	89,26 \pm 7,20 bc	88,16 \pm 1,89 ac	89,62 \pm 1,92 bc
90 dias				
IHS	1,12 \pm 0,17 a	1,07 \pm 0,16 a	1,44 \pm 0,22 b*	1,22 \pm 0,16 ab
ILS	4,26 \pm 0,54 b	3,89 \pm 0,78 ab	3,37 \pm 0,49 a	5,44 \pm 0,43 c
FCA	1,66 \pm 0,12 a	1,82 \pm 0,17 b	2,17 \pm 0,10 c	2,02 \pm 0,11 bc
IC	1,23 \pm 0,25 a	1,56 \pm 0,12 c	1,31 \pm 0,18 ab	1,39 \pm 0,15 bc
PC	92,73 \pm 5,23 b	90,91 \pm 0,71 bc	96,18 \pm 12,18 b*	88,75 \pm 1,03 ac

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

3.3. Concentração de ácido ascórbico no fígado

Na tabela 7 estão apresentadas as concentrações de ácido ascórbico no fígado de matrinxã após as condições experimentais nos períodos de 60 e 90 dias. No período de 60 dias, os grupos alimentados com dieta suplementada com vitamina C apresentaram maior concentração desta vitamina que os grupos Controle e Exe, isto é, que não foram alimentados com dieta suplementada com vitamina C.

Após 90 dias de experimento os grupos Vit.C e Vit.C+Exe apresentaram valores maiores da concentração de vitamina C no fígado (Tabela 7) do que os grupos que foram alimentados com dieta não suplementada com vitamina C. O grupo Exe mantido por 90 dias em experimento mostrou valor semelhante a estes grupos. Deste modo, apenas o grupo Controle mostrou valor significativamente menor neste período.

Tabela 7. Concentração de ácido ascórbico ($\mu\text{mol.g}^{-1}$) no fígado de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe). Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 10).

Concentração de ácido ascórbico no fígado				
	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias	0,49 \pm 0,05 ^a	1,01 \pm 0,18 ^b	0,49 \pm 0,05 ^a	1,87 \pm 0,30 ^c
90 dias	0,40 \pm 0,03 ^{a*}	0,80 \pm 0,11 ^b	0,65 \pm 0,06 ^{b*}	1,15 \pm 0,13 ^{b*}

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

Comparando-se os grupos mantidos por 90 dias com os mantidos por 60 dias em condições experimentais, temos que: os grupos Controle e Vit.C+Exe do período experimental de 60 dias apresentaram maiores valores da concentração hepática de vitamina C que os respectivos grupos após 90 dias; o grupo Exe 60 dias mostrou valor de concentração menor que o grupo Exe 90 dias ($p < 0,05$).

3.4. Hematologia

Na tabela 8 estão apresentados os valores hematológicos de matrinxã após os períodos de 60 e 90 dias em condições experimentais. No período de 60 dias, o menor valor de Hct foi do grupo Controle, sendo os maiores valores apresentados pelos grupos exercitados (Exe e Vit.C+Exe). Após 90 dias de experimento, os grupos exercitados também apresentaram valores significativamente maiores de Hct ($p < 0,05$) que os grupos não exercitados. Os grupos Controle e Exe após 90 dias mostraram valores significativamente maiores que os respectivos grupos do período de 60 dias.

No período experimental de 60 dias, a concentração total de hemoglobina (Hb) apresentou diminuição significativa nos grupos exercitados (Exe e Vit.C+Exe) em relação aos grupos não-exercitados (Controle e Vit.C) (Tabela 8). O grupo Controle 60 dias apresentou o valor significativamente maior de Hb entre os grupos experimentais deste

período. Entretanto, após 90 dias de experimento o maior valor absoluto foi apresentado pelo grupo Vit.C+Exe, sendo o menor valor indicado pelo grupo Exe. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos mantidos por 90 dias em relação aos mantidos por 60 dias ($p > 0,05$).

Tabela 8. Valores hematológicos: hematócrito (Hct = %), concentração total de hemoglobina (Hb = g.dL⁻¹), número de eritrócitos (Er $\times 10^6$ = Er.mm⁻³); e índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM = μm^3), hemoglobina corpuscular média (HCM = pg.cél⁻¹) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM = %) de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 10).

	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
Hct	31,50 \pm 2,87 a	35,72 \pm 5,69 b	37,00 \pm 3,20 bd	39,05 \pm 4,65 cd
Hb	10,57 \pm 0,78 c	9,31 \pm 1,65 b	7,62 \pm 0,87 a	8,85 \pm 1,46 ab
Er $\times 10^6$	2,31 \pm 0,16 a	2,61 \pm 0,24 ac	2,99 \pm 0,24 bc	2,37 \pm 0,33 a
VCM	160,26 \pm 13,93 c	136,82 \pm 16,17 b	113,75 \pm 6,21 a	164,94 \pm 18,75 c
HCM	46,02 \pm 4,69 c	35,93 \pm 5,09 b	27,62 \pm 3,73 a	37,60 \pm 7,82 b
CHCM	28,78 \pm 3,13 c	27,51 \pm 2,93 bc	25,13 \pm 2,74 ab	21,84 \pm 3,66 a
90 dias				
Hct	35,65 \pm 3,26 a*	35,81 \pm 3,81 a	46,65 \pm 5,68 b*	41,75 \pm 3,06 b
Hb	9,78 \pm 1,44 b	9,41 \pm 1,69 bc	7,76 \pm 0,74 ac	10,57 \pm 1,85 b
Er $\times 10^6$	2,32 \pm 0,30 A	2,40 \pm 0,36 a	3,02 \pm 0,28 b	2,54 \pm 0,19 a
VCM	154,58 \pm 15,84 A	161,19 \pm 17,74 a*	150,74 \pm 15,84 a*	164,38 \pm 9,75 a
HCM	42,22 \pm 4,19 b	42,05 \pm 5,49 b*	25,90 \pm 3,52 a	40,28 \pm 6,55 b
CHCM	27,34 \pm 2,45 b	26,19 \pm 2,99 b	16,44 \pm 2,50 a*	24,59 \pm 4,28 b

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

A contagem do número de eritrócitos (Er) aumentou significativamente no grupo Exe, em relação aos demais grupos tanto no período experimental de 60 dias, quanto no

de 90 dias. Não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os demais grupos nos períodos de 60 e 90 dias.

Os valores de volume corpuscular médio (VCM) dos grupos mantidos nas condições experimentais por 60 dias indicaram aumento nos grupos Controle e Vit.C+Exe e diminuição no grupo Exe. Não houve alteração do VCM ($p > 0,05$) entre os grupos mantidos por 90 dias de em experimento. Os valores de VCM dos grupos Vit.C e Exe aos 90 dias indicaram significativamente maiores que os respectivos grupos no período de 60 dias.

A hemoglobina corpuscular média (HCM) do grupo Exe diminuiu em ambos os períodos experimentais. O grupo Controle após 60 dias de experimento apresentou maior valor de HCM ($p < 0,05$). Após 90 dias de período experimental, os grupos Controle, Vit.C e Vit.C+Exe apresentaram valores semelhantes ($p > 0,05$). Apenas o grupo Vit.C 90 dias aumentou significativamente em relação ao seu respectivo grupo do período de 60 dias.

A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) apresentou-se significativamente menor nos grupos exercitados (Exe e Vit.C+Exe) no período de 60 dias. Após 90 dias de experimento o CHCM do grupo Exe mostrou-se menor em relação aos demais do mesmo período. Este grupo também apresentou menor valor em relação ao respectivo grupo mantido por 60 dias (Tabela 8).

3.5. Cortisol

Na tabela 9 estão apresentadas as concentrações de cortisol plasmático de matrinxã após as condições experimentais nos períodos de 60 e 90 dias. Os menores valores foram apresentados pelos grupos Exe de ambos os períodos experimentais. Os grupos que apresentaram maiores valores de cortisol plasmático foram os grupos Vit.C e Vit.C+Exe. Os grupos experimentais em 90 dias não diferiram dos valores dos grupos

após 60 dias, isto é, a concentração de cortisol plasmático entre os períodos foi semelhante.

Tabela 9. Concentração de cortisol plasmático (ng.mL^{-1}) de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe). Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão ($n = 8$).

	Cortisol Plasmático			
	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias	105,95 \pm 14,21 b	204,27 \pm 31,12 de	30,71 \pm 4,11 a	188,48 \pm 24,15 ce
90 dias	90,10 \pm 11,74 b	226,85 \pm 42,23 de	33,01 \pm 6,17 a	195,50 \pm 47,72 ce

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

3.6. Intermediários metabólicos

Na tabela 10 estão apresentados as concentrações dos intermediários metabólicos (glicose, lactato, piruvato e amônia) plasmáticos de matrinxã dos grupos experimentais nos períodos de 60 e 90 dias. A concentração de glicose plasmática diminuiu e a de lactato aumentou nos grupos Exe mantidos em condições experimentais por 60 e 90 dias. A concentração de lactato no grupo Vit.C 90 dias diminuiu em relação ao respectivo grupo após 60 dias de experimento.

A concentração de amônia mostrou tendência semelhante nos grupos de ambos os períodos experimentais, sendo que os valores maiores foram observados nos grupos Vit.C e Vit.C+Exe. Já os grupos Vit.C e Vit.C+Exe em ambos os períodos experimentais, apresentaram valores menores das concentrações de piruvato ($p < 0,05$).

Os valores dos intermediários metabólicos no fígado de matrinxã estão apresentados na Tabela 11. Os níveis hepáticos de glicose aumentaram nos grupos exercitados (Exe e Vit.C+Exe) por 60 dias em relação aos não exercitados. Após 90 dias de experimento, o grupo Exe indicou valor significativamente maior ($p < 0,05$) que os

demais grupos. Comparando-se a concentração de glicose de ambos os períodos experimentais temos que, o grupo Vit.C+Exe mostrou significativa diminuição em relação ao respectivo grupo mantido por 60 dias.

Tabela 10. Valores dos intermediários metabólicos: glicose, lactato, piruvato e amônia plasmáticos de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). Glicose, lactato e amônia em $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ e piruvato em nmol.mL^{-1} .

PLASMA	Controle	Vit. C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
Glicose	1,33 \pm 0,13 ^b	1,32 \pm 0,24 ^b	0,80 \pm 0,06 ^a	1,33 \pm 0,21 ^b
Lactato	0,52 \pm 0,08 ^{bd}	0,57 \pm 0,05 ^b	0,89 \pm 0,08 ^c	0,43 \pm 0,07 ^{ad}
Piruvato	18,84 \pm 3,13 ^b	6,90 \pm 1,02 ^a	18,31 \pm 3,05 ^b	8,15 \pm 1,54 ^a
Amônia	0,19 \pm 0,03 ^a	0,35 \pm 0,05 ^c	0,17 \pm 0,02 ^a	0,27 \pm 0,03 ^b
90 dias				
Glicose	1,27 \pm 0,15 ^b	1,07 \pm 0,18 ^{bc}	0,91 \pm 0,15 ^{ac}	1,19 \pm 0,15 ^b
Lactato	0,43 \pm 0,03 ^b	0,39 \pm 0,07 ^{bd*}	0,62 \pm 0,08 ^c	0,32 \pm 0,05 ^{ad}
Piruvato	22,39 \pm 1,36 ^{bc}	4,16 \pm 0,50 ^{ac}	22,10 \pm 4,24 ^{bc}	2,96 \pm 0,51 ^a
Amônia	0,27 \pm 0,03 ^{bc}	0,36 \pm 0,06 ^b	0,10 \pm 0,03 ^{ac}	0,34 \pm 0,06 ^b

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

As concentrações de lactato no fígado de matrinxã indicaram valores menores nos grupos exercitados (Exe e Vit.C+Exe) por 60 dias. Após 90 dias de experimento apenas o grupo Exe diminuiu significativamente em relação aos demais (Tabela 11). No período experimental de 60 dias, os níveis hepáticos de glicogênio dos grupos Vit.C e Vit.C+Exe diminuíram em relação aos grupos Controle e Exe. De forma que, o grupo Exe mostrou manutenção da concentração de glicogênio no fígado semelhante aos animais do grupo Controle. Após 90 dias de experimento, o grupo Vit.C apresentou o menor valor ($p <$

0,05). Os grupos exercitados (Exe e Vit.C+Exe) apresentaram valores de concentração de glicogênio semelhantes aos do grupo Controle. Apenas o grupo Vit.C+Exe 90 dias aumentou significativamente ($p < 0,05$) em relação ao grupo mantido nas mesmas condições experimentais por 60 dias.

A concentração de piruvato no fígado de matrinxã após 60 dias de experimento aumentou no grupo Exe em relação aos grupos alimentados com dieta suplementada com vitamina C (Tabela 11). No período experimental de 90 dias, os menores valores da concentração de piruvato foram dos grupos Vit.C e Vit.C+Exe. A concentração deste intermediário diminuiu significativamente no grupo Vit.C 90 dias em relação ao respectivo grupo no período de 60 dias.

Tabela 11. Valores dos intermediários metabólicos: glicose, lactato, glicogênio, piruvato e amônia do fígado de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão ($n = 8$). Glicose, lactato, piruvato e amônia em $\mu\text{mol.g tecido}^{-1}$ e glicogênio em $\mu\text{mol de unidades glicosil-glicose.g tecido}^{-1}$.

FÍGADO	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
Glicose	301,41 \pm 62,38 a	369,24 \pm 63,50 a	494,63 \pm 49,91 b	496,18 \pm 75,66 b
Lactato	45,42 \pm 3,07 b	43,80 \pm 8,92 b	18,63 \pm 0,69 a	27,12 \pm 4,44 a
Glicogênio	475,64 \pm 91,47 c	172,34 \pm 34,55 ad	449,85 \pm 69,40 c	201,72 \pm 37,01 bd
Piruvato	0,55 \pm 0,09 ac	0,51 \pm 0,09 a	0,65 \pm 0,03 bc	0,47 \pm 0,08 a
Amônia	9,76 \pm 1,63 a	14,21 \pm 2,50 b	15,17 \pm 2,13 b	15,17 \pm 1,58 b
90 dias				
Glicose	295,96 \pm 54,39 a	363,07 \pm 47,86 a	442,81 \pm 64,49 b	330,82 \pm 40,55 a*
Lactato	29,00 \pm 4,57 b	26,70 \pm 6,14 b	16,81 \pm 1,47 a	24,29 \pm 1,88 b
Glicogênio	423,28 \pm 60,84 b	183,11 \pm 34,00 a	417,00 \pm 65,07 b	384,30 \pm 64,48 b*
Piruvato	0,60 \pm 0,09 b	0,34 \pm 0,03 a*	0,58 \pm 0,10 b	0,44 \pm 0,06 a
Amônia	10,88 \pm 2,33 a	16,73 \pm 2,84 b	17,37 \pm 3,24 b	9,56 \pm 0,93 a*

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

A concentração de amônia no fígado do grupo Controle diminuiu significativamente em relação aos demais grupos mantidos em experimento por 60 dias (Tabela 11). Após o período experimental de 90 dias, os grupos Controle e Vit.C+Exe indicaram os menores valores. O grupo Vit.C+Exe 90 dias apresentou valor significativamente menor em relação ao grupo sob o mesmo tratamento mantido por 60 dias em experimento.

Os valores dos intermediários metabólicos do músculo branco de matrinxã estão apresentados na Tabela 12. A concentração de glicose diminuiu ($p < 0,05$) nos grupos Exe em ambos os períodos experimentais (60 e 90 dias) em relação aos demais grupos. Os níveis de lactato no músculo branco diminuíram nos grupos Exe de ambos os períodos.

Tabela 12. Valores dos intermediários metabólicos: glicose, lactato, glicogênio, piruvato e amônia do músculo branco de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão ($n = 8$). Glicose, lactato, piruvato e amônia em $\mu\text{mol.g tecido}^{-1}$ e glicogênio em $\mu\text{mol de unidades glicosil-glicose.g tecido}^{-1}$.

M BRANCO	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
Glicose	30,59 \pm 4,28 ^b	26,87 \pm 4,73 ^b	12,31 \pm 1,58 ^a	27,43 \pm 2,84 ^b
Lactato	117,55 \pm 9,45 ^b	89,64 \pm 16,13 ^b	26,65 \pm 4,53 ^a	116,79 \pm 17,97 ^b
Glicogênio	14,22 \pm 2,35 ^{ac}	12,05 \pm 2,19 ^a	14,65 \pm 1,67 ^{bc}	13,60 \pm 1,24 ^{ac}
Piruvato	0,28 \pm 0,04 ^{ab}	0,24 \pm 0,03 ^a	0,28 \pm 0,05 ^{ab}	0,30 \pm 0,04 ^b
Amônia	9,34 \pm 1,64 ^b	9,43 \pm 1,06 ^b	6,10 \pm 0,88 ^a	10,87 \pm 0,75 ^b
90 dias				
Glicose	33,25 \pm 4,20 ^b	30,30 \pm 2,90 ^b	8,93 \pm 1,30 ^a	33,49 \pm 2,49 ^b
Lactato	100,51 \pm 19,28 ^b	105,59 \pm 11,25 ^b	15,98 \pm 1,88 ^a	110,16 \pm 17,88 ^b
Glicogênio	17,65 \pm 1,79 ^{bc}	14,50 \pm 1,73 ^{ac}	12,19 \pm 0,48 ^a	16,48 \pm 2,55 ^{bc}
Piruvato	0,25 \pm 0,04 ^a	0,37 \pm 0,06 ^{b*}	0,37 \pm 0,05 ^{b*}	0,43 \pm 0,07 ^{b*}
Amônia	9,23 \pm 1,14 ^c	7,12 \pm 0,94 ^b	2,72 \pm 0,38 ^a	8,62 \pm 0,55 ^c

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

O menor valor de concentração de glicogênio no músculo branco foi do grupo Vit.C no período de 60 dias (Tabela 12). No período de 90 dias, o menor nível de glicogênio foi observado no grupo Exe. Os níveis de piruvato do grupo Vit.C mostrou o menor valor após 60 dias de experimento e, no período de 90 dias o menor valor foi do grupo Controle. Além disso, os grupos Vit.C, Exe e Vit.C+Exe mantidos em experimento por 90 dias, apresentaram valores significativamente maiores que os respectivos grupos mantidos por 60 dias. As concentrações de amônia do músculo branco dos grupos Exe, de ambos os períodos, mostraram-se diminuídas ($p < 0,05$) em relação aos demais grupos.

Os valores dos intermediários metabólicos do músculo vermelho de matrinxã estão apresentados na Tabela 13. As concentrações de glicose no músculo vermelho diminuíram nos grupos Exe, de ambos os períodos experimentais. Nos grupos Vit.C e Vit.C+Exe, os níveis de glicose no músculo vermelho mostraram-se semelhantes aos grupos Controle, em ambos os períodos ($p > 0,05$). A concentração de lactato no grupo Exe 60 dias diminuiu ($p < 0,05$) em relação aos grupos Controle e Vit.C+Exe. Os níveis de lactato aumentaram nos grupos Vit.C+Exe, em ambos os períodos experimentais ($p < 0,05$).

As concentrações de glicogênio do músculo vermelho dos grupos Vit.C e Exe, em ambos os períodos experimentais, diminuíram significativamente em relação aos grupos Controle e Vit.C+Exe. Desta forma, os matrinxãs dos grupos Vit.C+Exe mantêm os níveis de glicogênio no músculo vermelho (Tabela 13), mesmo em exercício constante.

Os níveis de piruvato no músculo vermelho de matrinxã apresentaram-se maiores nos grupos Vit.C+Exe e menores no grupo Exe, em ambos os períodos experimentais. Os valores das concentrações de piruvato dos grupos mantidos por 90 dias em experimento não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) em relação aos respectivos grupos aos 60 dias. As concentrações de amônia no músculo vermelho de matrinxã dos grupos Vit.C e Vit.C+Exe, de ambos os períodos experimentais, aumentaram significativamente quando comparados ao grupo Controle.

Tabela 13. Valores dos intermediários metabólicos: glicose, lactato, glicogênio, piruvato e amônia do músculo vermelho de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit.C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). Glicose, lactato, piruvato e amônia em $\mu\text{mol.g tecido}^{-1}$ e glicogênio em $\mu\text{mol de unidades glicosil-glicose.g tecido}^{-1}$.

M VERM	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
Glicose	37,74 \pm 5,57 ^{bc}	31,73 \pm 5,11 ^b	19,43 \pm 3,66 ^a	42,40 \pm 6,65 ^{bc}
Lactato	26,94 \pm 3,63 ^b	21,26 \pm 3,91 ^{bd}	20,29 \pm 3,77 ^{ad}	39,83 \pm 4,45 ^c
Glicogênio	45,53 \pm 7,18 ^b	31,07 \pm 5,84 ^a	25,27 \pm 4,55 ^a	44,97 \pm 8,04 ^b
Piruvato	0,28 \pm 0,04 ^{ac}	0,27 \pm 0,03 ^a	0,23 \pm 0,04 ^a	0,32 \pm 0,06 ^{bc}
Amônia	2,65 \pm 0,40 ^a	4,34 \pm 0,82 ^b	3,29 \pm 0,58 ^{ac}	4,21 \pm 0,28 ^{bc}
90 dias				
Glicose	42,29 \pm 4,62 ^{bc}	38,56 \pm 3,86 ^b	19,31 \pm 3,19 ^a	45,91 \pm 7,74 ^{bc}
Lactato	26,99 \pm 5,17 ^a	26,78 \pm 3,07 ^a	26,21 \pm 3,05 ^a	51,84 \pm 9,39 ^b
Glicogênio	41,94 \pm 7,52 ^b	16,35 \pm 2,10 ^a	18,85 \pm 3,61 ^a	60,19 \pm 10,41 ^b
Piruvato	0,27 \pm 0,05 ^b	0,29 \pm 0,05 ^b	0,18 \pm 0,04 ^a	0,38 \pm 0,03 ^c
Amônia	3,13 \pm 0,43 ^a	3,94 \pm 0,62 ^b	2,98 \pm 0,53 ^a	4,20 \pm 0,63 ^b

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

3.7. Indicadores do estresse oxidativo

Na tabela 14 estão apresentados as atividades das enzimas antioxidantes e da concentração de hidroperóxido de lipídio (HP) no plasma de matrinxãs. Os níveis plasmáticos de HP aumentaram nos grupos Exe, em ambos os períodos experimentais. A atividade da enzima SOD aumentou ($p < 0,05$) nos grupos Exe de ambos os períodos experimentais. As atividades da SOD dos grupos mantidos em experimento por 90 dias aumentaram significativamente em relação aos respectivos grupos no período de 60 dias.

A atividade da enzima glutathiona peroxidase (GSH-Px) diminuiu no grupo Vit. C após 60 dias de experimento, quando comparado aos grupos Controle e Exe. Esta enzima após 90 dias não mostrou diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Os níveis protéicos

no plasma aumentaram ($p < 0,05$) nos grupos Vit.C+Exe em relação aos grupos Exe e Vit.C no período de 60 dias e em relação ao grupo Exe após 90 dias de experimento.

Tabela 14. Valores dos indicadores de estresse oxidativo: concentração de hidroperóxido de lipídio (HP) e atividades das enzimas glutatona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) e concentração de proteína (PT) do plasma de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração+vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit. C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão ($n = 8$). HP em nmol.mL^{-1} ; SOD em $\text{USOD.mg proteína}^{-1}$; GSH-Px em $\text{nmol.mg proteína}^{-1}$; PT em mg.mL^{-1} .

PLASMA	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
HP	17,18 \pm 0,94 a	16,69 \pm 1,88 a	34,19 \pm 5,67 b	17,25 \pm 0,65 A
SOD	85,27 \pm 9,76 b	74,22 \pm 12,13 b	174,96 \pm 15,54 c	54,50 \pm 6,84 A
GSH-Px	5,83 \pm 0,62 b	4,38 \pm 0,74 ac	5,80 \pm 0,72 b	5,05 \pm 0,83 bc
PT	19,74 \pm 1,69 ac	17,66 \pm 3,47 a	17,72 \pm 1,98 a	21,07 \pm 1,37 bc
90 dias				
HP	17,43 \pm 1,01 ac	18,25 \pm 1,01 ac	32,09 \pm 4,95 b	20,87 \pm 2,89 Bc
SOD	133,53 \pm 20,45 a*	132,57 \pm 11,87 a*	204,78 \pm 17,06 b*	119,27 \pm 14,43 A*
GSH-Px	6,52 \pm 0,67 a	5,90 \pm 1,06 a	5,91 \pm 0,83 a	6,11 \pm 0,77 A
PT	17,34 \pm 2,42 ac	17,58 \pm 1,44 ac	16,76 \pm 1,24 a	21,61 \pm 3,28 Bc

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

Os indicadores de estresse oxidativo no fígado de matrinxã estão indicados na Tabela 15. A concentração de HP e as atividades da SOD e da GSH-Px mostraram-se significativamente menores no grupo Exe, do período experimental de 60 dias. A atividade da SOD do grupo Vit.C 60 dias aumentou significativamente em relação aos demais grupos experimentais. A concentração de proteína do grupo Exe no período de 60 dias diminuiu em relação aos grupos Controle e Vit.C+Exe ($p < 0,05$).

Após 90 dias de experimento, a concentração de HP no grupo Exe diminuiu significativamente em relação aos grupos Vit.C e Vit.C+Exe. O grupo Vit.C+Exe apresentou o maior valor de HP neste período. A atividade da SOD diminuiu em todos os

grupos experimentais em relação ao grupo Controle. A menor atividade da GSH-Px foi verificada no grupo Exe neste período de 90 dias de experimento. A concentração de proteína no fígado de matrinxã após 90 dias de experimento não apresentou diferenças estatísticas ($p > 0,05$). O nível de HP no grupo Controle 90 dias indicou diminuição em relação ao valor do grupo aos 60 dias de experimento. A atividade da SOD diminuiu no grupo Vit.C mantido em experimento por 90 dias em relação ao mantido por 60 dias (Tabela 15).

Tabela 15. Valores dos indicadores de estresse oxidativo: concentração de hidroperóxido de lipídio (HP) e atividades das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) e concentração de proteína (PT) do fígado de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit. C e treinados (Vit. C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão ($n = 8$). HP em $\text{nmol.g tecido}^{-1}$; SOD em $\text{USOD.mg proteína}^{-1}$; GSH-Px em $\text{nmol.mg proteína}^{-1}$; PT em mg.g tecido^{-1} .

FÍGADO	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
HP	196,46 \pm 16,40 b	195,27 \pm 22,52 b	168,59 \pm 14,53 a	190,29 \pm 12,93 b
SOD	78,23 \pm 13,64 b	111,14 \pm 14,31 c	47,24 \pm 9,02 a	70,90 \pm 8,72 b
GSH-Px	42,95 \pm 2,80 b	48,30 \pm 8,21 b	18,21 \pm 3,08 a	43,54 \pm 4,00 b
PT	36,53 \pm 3,37 b	34,74 \pm 5,29 bc	30,97 \pm 4,39 ac	38,25 \pm 2,30 b
90 dias				
HP	170,99 \pm 12,59 bd*	185,32 \pm 18,88 b	159,18 \pm 10,78 ad	203,33 \pm 13,75 c
SOD	78,45 \pm 15,70 b	34,65 \pm 5,55 a*	41,24 \pm 5,28 a	39,58 \pm 4,78 a
GSH-Px	46,68 \pm 8,01 b	44,01 \pm 3,43 b	22,75 \pm 3,33 a	43,91 \pm 5,50 b
PT	34,52 \pm 4,02 a	37,14 \pm 4,45 a	32,99 \pm 5,42 a	34,47 \pm 4,23 a

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

Na tabela 16 estão apresentados a concentração de HP e de PT e as atividades das enzimas GSH-Px e SOD no músculo branco de matrinxã após serem submetidos ao exercício físico moderado e à alimentação com dieta suplementada com vitamina C. No

período de 60 dias de experimento, o nível de HP aumentou nos grupos exercitados (Exe e Vit.C+Exe). Após 90 dias de experimento, o grupo Exe apresentou maior nível de HP.

Tabela 16. Valores dos indicadores de estresse oxidativo: concentração de hidroperóxido de lipídio (HP) e atividades das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) e concentração de proteína (PT) do músculo branco de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit. C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). HP em nmol.g tecido⁻¹; SOD em USOD.mg proteína⁻¹; GSH-Px em nmol.mg proteína⁻¹; PT em mg.g tecido⁻¹.

M BRANCO	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
HP	155,46 \pm 27,24 a	151,97 \pm 15,94 a	177,95 \pm 7,58 bc	157,52 \pm 12,70 ac
SOD	68,99 \pm 6,09 a	64,86 \pm 10,95 a	70,68 \pm 9,67 a	103,79 \pm 17,03 b
GSH-Px	68,20 \pm 12,20 b	54,43 \pm 9,61 bc	40,90 \pm 7,07 ac	56,53 \pm 9,98 b
PT	17,12 \pm 3,25 a	17,53 \pm 3,31 a	15,93 \pm 0,52 a	16,23 \pm 2,15 a
90 dias				
HP	151,02 \pm 16,31 a	163,04 \pm 14,01 ac	195,61 \pm 25,14 bc	158,65 \pm 5,36 a
SOD	114,12 \pm 20,18 a	159,23 \pm 28,67 bd*	127,67 \pm 22,10 ad*	402,47 \pm 25,09 c*
GSH-Px	51,97 \pm 9,45 a	74,43 \pm 14,09 b*	48,94 \pm 8,70 a	43,63 \pm 7,43 a
PT	18,85 \pm 3,71 ac	17,22 \pm 3,17 ac	16,54 \pm 0,60 a	20,45 \pm 1,51 bc

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

A atividade da SOD no músculo branco aumentou no grupo Vit.C+Exe, tanto no período de 60 quanto de 90 dias (Tabela 16). Após 60 dias de período experimental, a atividade da GSH-Px diminuiu no grupo Exe em relação ao Controle e ao Vit.C+Exe. No grupo Vit.C a atividade da GSH-Px aumentou em relação aos demais grupos após 90 dias de experimento. Os níveis de proteína no músculo branco de matrinxã após 60 dias de experimento não apresentaram diferenças estatísticas ($p > 0,05$). Após 90 dias de período experimental, o grupo Exe apresentou o menor valor e o grupo Vit.C+Exe o maior

valor em relação aos demais grupos. Aumentos das atividades da enzima SOD nos grupos Vit.C, Exe e Vit.C+Exe e da GSH-Px no grupo Vit.C após 90 dias foram observados em relação aos respectivos grupos do período de 60 dias (Tabela 16).

Na Tabela 17 estão apresentados os valores das concentrações de HP e de PT e das atividades das enzimas SOD e GSH-Px do músculo vermelho de matrinxã. Os níveis destes indicadores neste tecido mostraram tendência semelhante em ambos os períodos experimentais, de modo que não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos nos períodos de 60 e 90 dias ($p > 0,05$).

Tabela 17. Valores dos indicadores de estresse oxidativo: concentração de hidroperóxido de lipídio (HP) e atividades das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) e concentração de proteína (PT) do músculo vermelho de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit. C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão ($n = 8$). HP em $\text{nmol.g tecido}^{-1}$; SOD em $\text{USOD.mg proteína}^{-1}$; GSH-Px em $\text{nmol.mg proteína}^{-1}$; PT em mg.g tecido^{-1} .

M VERM	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
HP	184,58 \pm 8,21 a	185,11 \pm 22,56 a	245,30 \pm 11,06 b	175,99 \pm 20,77 a
SOD	51,19 \pm 7,37 a	167,96 \pm 17,24 a	376,07 \pm 39,37 bc	194,65 \pm 30,68 ac
GSH-Px	125,62 \pm 25,59 b	119,22 \pm 12,84 b	28,60 \pm 5,15 a	132,61 \pm 20,16 b
PT	10,26 \pm 1,12 a	11,49 \pm 2,18 bc	13,86 \pm 1,82 b	8,95 \pm 1,57 ac
90 dias				
HP	179,99 \pm 10,58 a	177,07 \pm 17,52 a	252,71 \pm 14,71 b	185,49 \pm 12,35 a
SOD	33,26 \pm 6,02 a	90,18 \pm 12,55 ad	298,79 \pm 57,40 ce	114,03 \pm 14,75 bde
GSH-Px	151,46 \pm 21,27 b	123,98 \pm 22,02 b	20,85 \pm 3,63 a	151,38 \pm 38,97 b
PT	5,67 \pm 0,52 a	11,07 \pm 1,72 bc	16,65 \pm 3,07 b	8,38 \pm 1,29 ac

Letras diferentes na mesma linha indicam $p < 0,05$. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

Os níveis de HP no músculo vermelho de matrinxã aumentaram nos grupos Exe em relação aos demais grupos dos respectivos períodos (Tabela 17). A atividade da SOD

aumentou nos grupos Exe e Vit.C+Exe em ambos os períodos experimentais. A atividade da GSH-Px diminuiu significativamente nos grupos Exe de ambos os grupos experimentais. As concentrações de proteína em ambos os períodos experimentais diminuíram nos grupos Controle e Vit.C+Exe.

Os valores das concentrações de HP e de PT e das atividades das enzimas SOD e GSH-Px no músculo cardíaco de matrinxã estão apresentados na Tabela 18. A concentração de HP diminuiu nos grupos mantidos em exercício físico moderado e contínuo (Exe e Vit.C+Exe) em ambos os períodos experimentais (60 e 90 dias). A atividade da SOD diminuiu significativamente nos grupos Exe de ambos os períodos experimentais. Os grupos do período experimental 90 dias, Controle e Vit.C, apresentaram atividade da SOD aumentada em relação aos respectivos grupos no período de 60 dias. Os grupos Exe e Vit.C+Exe do período experimental 90 dias diminuíram a atividade da SOD em relação aos respectivos grupos do período de 60 dias (Tabela 18).

A atividade da GSH-Px aumentou nos grupos Vit.C e Exe em ambos os períodos experimentais. A concentração protéica diminuiu significativamente no grupo Vit.C após 60 dias e no grupo Exe após 90 dias de experimento. Os grupos mantidos por 90 dias em condições experimentais não apresentaram diferenças significativas em relação à concentração de proteína ($p > 0,05$) em relação aos grupos mantidos por 60 dias (Tabela 8).

Tabela 18 Valores dos indicadores de estresse oxidativo: concentração de hidroperóxido de lipídio (HP) e atividades das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) e concentração de proteína (PT) do músculo cardíaco de matrinxã, *Brycon cephalus*, dos grupos não-treinado (Controle), alimentados com ração + vitamina C (Vit.C), treinados (Exe) e alimentados com ração + Vit. C e treinados (Vit.C+Exe) por 60 e 90 dias. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). HP em nmol.g tecido⁻¹; SOD em USOD.mg proteína⁻¹; GSH-Px em nmol.mg proteína⁻¹; PT em mg.g tecido⁻¹.

CORAÇÃO	Controle	Vit.C	Exe	Vit.C+Exe
60 dias				
HP	712,84 \pm 126,32 c	617,75 \pm 100,89 cd	365,90 \pm 66,71 a	516,17 \pm 98,25 bd
SOD	316,15 \pm 56,07 b	365,94 \pm 44,44 bd	107,17 \pm 20,33 a	446,41 \pm 80,06 cd
GSH-Px	19,78 \pm 2,89 a	82,07 \pm 14,62 b	60,06 \pm 8,98 b	26,14 \pm 4,37 a
PT	22,49 \pm 4,35 b	15,06 \pm 2,07 ac	19,89 \pm 3,72 bc	20,26 \pm 3,55 bc
90 dias				
HP	717,86 \pm 87,43 b	944,12 \pm 168,37 b	264,01 \pm 39,13 ac	348,08 \pm 50,97 bc
SOD	405,95 \pm 60,76 b*	492,79 \pm 79,97 b*	49,07 \pm 7,49 ac*	113,84 \pm 14,47 bc*
GSH-Px	38,10 \pm 5,44 a	119,25 \pm 17,32 bc	71,36 \pm 13,51 ac	32,45 \pm 5,54 a
PT	26,22 \pm 4,81 b	21,29 \pm 2,36 bc	13,96 \pm 1,50 ac	21,55 \pm 4,08 b

Letras diferentes na mesma linha indicam p < 0,05. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos 60 e 90 dias, sob mesmo tipo de tratamento.

4. Discussão

4.1. Efeitos do exercício físico no crescimento

O exercício físico em peixes tem mostrado efeitos positivos em relação à eficiência de conversão, sendo que, uma velocidade de natação adequada leva ao aumento no crescimento (TOTLAND et al., 1987; DAVISON, 1989; ADAMS et al., 1995), além de promover mudanças importantes na qualidade da carne (TOTLAND et al., 1987; JOHNSTON, 1999; JOHNSTON et al., 2000b; BJØRNEVIK et al., 2003). No presente estudo, o exercício físico foi utilizado para verificar o crescimento dos animais em natação em velocidade moderada e contínua. Além disto, o exercício por atenuar o nível de estresse hierárquico existente dentro de um grupo de matrinxãs, favorece a todos os animais do grupo acesso ao alimento, permitindo a obtenção de maior taxa de crescimento e maior homogeneidade de tamanho dos animais.

Neste estudo, a velocidade da corrente d'água gerada nos tanques de exercício pelas bombas d'água foi de 20 cm.s^{-1} . Ao início do experimento, os animais apresentavam comprimento (padrão) de cerca de 11 cm, de forma que a velocidade de natação era, praticamente, de 2 BL.s^{-1} . Ao final de ambos os períodos experimentais (60 e 90 dias), os matrinxãs apresentavam comprimento (padrão) em torno de 20 cm, sendo que a velocidade de natação se manteve em 1 BL.s^{-1} . Deste modo, neste estudo, considerou-se que a velocidade de natação utilizada foi entre 1 e 2 BL.s^{-1} , com manutenção da corrente d'água constante.

Neste tipo de estudo com exercício físico, os salmonídeos (trutas e salmões) estão entre as espécies mais utilizadas por diversos motivos, como por exemplo, por serem comercialmente cultivados, pela facilidade de serem encontrados em cativeiro e por serem geneticamente mais homogêneos que os selvagens. Além disso, estes animais são encontrados naturalmente em águas correntes e, portanto, são nadadores facilmente adaptáveis a estas condições (TOTLAND et al., 1987; DAVISON, 1989; FARRELL et al.,

1991; ADAMS et al., 1995; DAVISON, 1997; JOHNSTON et al., 2000b; MILLIGAN, 2003). Nesses salmonídeos o exercício promove crescimento, com a maior taxa ocorrendo em exercício contínuo com velocidade de 1 a 1,5 BL.s⁻¹. É também de grande importância a quantidade de alimento fornecida aos animais. Quando alimentados *ad libitum* e mantidos em exercício, o crescimento ocorre mais rápido do que em animais dos grupos controles, mantidos em águas paradas (também denominados como animais sedentários) (DAVISON & GOLDSPINK, 1977; DAVIE et al., 1986; KIESSLING et al., 1994). Isto ocorre devido à alta eficiência de conversão, que por sua vez, é muito importante numa produção comercial.

O apetite dos animais é estimulado pelo exercício fazendo com que o peixe coma mais e, mesmo havendo maior gasto energético devido à natação, o crescimento é maior e mais rápido, com menor quantidade de alimento (DAVISON, 1989). Isto ocorre devido a um melhor aproveitamento dos nutrientes provenientes da alimentação (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990). Este melhor aproveitamento dos nutrientes pode refletir na taxa de conversão alimentar (TC). Os matrinxãs dos grupos Exe apresentaram baixa TC, indicando grande ganho de peso com menor quantidade de alimento consumido (Tabela 4), o que de acordo com DAVISON (1989) reflete em crescimento, em consequência à aplicação do exercício físico moderado. Os valores de TC para os grupos Exe foram bem similares aos dos grupos Controles, em ambos os períodos. Os grupos que foram alimentados com dieta suplementada com vitamina C (Vit.C e Vit.C+Exe) apresentaram TC muito elevadas, indicando grande consumo alimentar com menor ganho de peso.

As taxas de crescimento refletem a disponibilidade de alimento, o apetite e o consumo, a absorção intestinal e a taxa metabólica e todos estes fatores podem ser influenciados pelos estressores, além disso, altos níveis de cortisol no plasma influenciam o sistema imune, aumentando a também a susceptibilidade a patógenos (WENDELAAR BONGA, 1997). Em matrinxãs, a taxa específica de crescimento (TEC) dos grupos Exe, de

ambos os períodos experimentais, foi maior que dos demais tratamentos, mostrando maior ganho de peso, provavelmente, devido aos menores níveis de estresse nestes animais. Os grupos Vit.C mostraram as menores TEC, até mesmo em relação aos grupos Controles (Tabela 4). Isto indica uma desvantagem da suplementação da dieta com vitamina C na concentração utilizada para os matrinxãs, *B. cephalus*. Entretanto, para pacu, *P. mesopotamicus*, praticamente a mesma quantidade de vitamina C na dieta promoveu o crescimento desta espécie (ALMEIDA, 2003). Além disso, menores quantidades de vitamina C na dieta, 45 e 118 mg AA.kg⁻¹, favoreceram o crescimento de *Cyprinus carpio* (GOUILLOU-COUSTANS et al., 1998) e de *Oplegnathus fasciatus* (WANG et al., 2003), respectivamente.

No presente estudo, os animais que foram mantidos em natação contínua (Exe e Vit.C+Exe) mostraram aumentos de peso, de comprimento, de altura e largura em relação aos não-exercitados (Controle e Vit.C). Isto ocorreu em maior grau após 90 dias de período experimental (Tabela 5). O crescimento mais rápido nos matrinxãs mantidos em exercício contínuo e moderado por longos períodos, foi também observado em *Salvelinus alpinus* por CHRISTIANSEN & JOBLING (1990) e ADAMS et al. (1995), quando comparado aos animais dos grupos Controles. Estudos com truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (HOULIHAN & LAURENT, 1987; FARRELL et al., 1990) e salmão do Atlântico, *Salmo salar* (TOTLAND et al., 1987) demonstraram crescimento destes animais em consequência ao exercício. DAVISON & GOLDSPINK (1977) verificaram que trutas marrom, *Salmo trutta*, treinadas por 28 dias em velocidades entre 1,5 e 3,0 BL.s⁻¹ cresceram mais rapidamente, convertendo o alimento em carne (músculo) mais eficientemente que os animais do grupo Controle. A velocidade mais baixa, de 1,5 BL.s⁻¹, produziu grandes taxas de crescimento para truta arco-íris, *O. mykiss* (FARRELL et al., 1990) e para *Morone saxatilis* (YOUNG & CECH, 1994 a,b). CHRISTIANSEN & JOBLING (1990) e ADAMS et al. (1995) sugerem que a diminuição no custo energético ocorre

devido à redução da agressividade entre os indivíduos, permitindo acesso dos indivíduos subordinados ao alimento, conseqüentemente, possibilitando o crescimento destes. Assim, maiores crescimento e homogeneidade de tamanho entre os animais são obtidos devido à utilização do exercício contínuo e moderado, como também observado no presente estudo.

DAVISON & GOLDSPINK (1977) verificaram que truta marrom, *Salmo trutta*, responderam ao treinamento com o aumento de massa muscular, devido ao aumento do tamanho das fibras musculares. O treinamento em velocidades moderadas parece promover a hipertrofia das fibras musculares lentas e rápidas, porém não promove maior densidade mitocondrial nas fibras lentas e nem aumento das atividades das enzimas do metabolismo aeróbico (GREER-WALKER & PULL, 1973; DAVISON & GOLDSPINK, 1977; GREER-WALKER & EMERSON, 1978; JOHNSTON & MOON, 1980a; DAVIE et al., 1986). O crescimento ocorre quando a taxa de síntese protéica excede a taxa de degradação da proteína. O exercício estimula a síntese de proteínas e aumenta a sua deposição, especialmente, na musculatura de natação de truta arco-íris, *O. mykiss*. Este estímulo da síntese protéica pode ocorrer devido ao aumento do fluxo sanguíneo durante a natação (HOULIHAN & LAURENT, 1987). Além disso, peixes que nadam em velocidades intermediárias podem apresentar redução do custo energético pela mudança da ventilação das brânquias de ativo (bomba opercular) para ventilação "ram" (STEFFENSEN, 1985).

Os peixes podem ser forçados a um exercício contínuo, numa única sessão prolongada de natação e em baixa velocidade, sendo considerada como uma atividade aeróbica (DAVISON & GOLDSPINK, 1977, 1978; MILLIGAN & WOOD, 1987). Sendo assim, durante o treinamento em $1 \text{ BL}\cdot\text{s}^{-1}$, o músculo vermelho é a parte muscular utilizada quase que exclusivamente, enquanto que em velocidades mais altas (até $4 \text{ BL}\cdot\text{s}^{-1}$), a musculatura branca é que produz a força propulsiva para a natação (HOULIHAN &

LAURENT, 1987). JOHNSTON & MOON (1980a) confirmaram por eletromiografias, que truta, *Salvelinus fontinalis*, apresentaram atividade elétrica apenas na região do músculo vermelho em velocidade de natação de $1 \text{ BL}\cdot\text{s}^{-1}$, sendo que a atividade no músculo branco foi verificada somente em velocidades acima de $1,8 \text{ BL}\cdot\text{s}^{-1}$. SMIT et al. (1971) verificaram que, em baixa velocidade de natação, *Carassius auratus* utiliza as fibras vermelhas aeróbicas, o que significa uma taxa relativamente alta de consumo de O_2 . Em altas velocidades, muitas fibras brancas anaeróbicas estão também ativas e, desta maneira, o consumo de O_2 é relativamente baixo.

No presente estudo a concentração utilizada de vitamina C na ração foi de $432 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de ração, que em matrinxã não possibilitou o ganho de peso em relação aos grupos Controles (em ambos os períodos experimentais; Tabela 5). Em relação à administração de vitamina C na dieta dos animais, ALMEIDA (2003) demonstrou que $423,1 \text{ mg}$ de vitamina $\text{C}\cdot\text{kg}^{-1}$ de ração era a quantidade ideal para que o pacu, *Piaractus mesopotamicus*, apresentasse o maior ganho de peso. Na realidade, $254,0 \text{ mg}$ de vitamina $\text{C}\cdot\text{kg}^{-1}$ era a quantidade suficiente para garantir a sanidade e o desempenho adequados desta espécie, de acordo com ALMEIDA (2003).

4.1.1. Observações comportamentais

Os matrinxãs dos grupos submetidos à natação forçada aprenderam a nadar contra a corrente d'água rapidamente, provavelmente, pelo fato de serem reofílicos por natureza. Além disso, os animais mantidos em exercício apresentaram apetite e voracidade maiores do que os animais que não foram submetidos à natação forçada. Quando a ração era fornecida aos animais, era rapidamente apanhada e com grande eficiência pelos animais dos grupos exercitados (tanto os alimentados com ração suplementada, quanto não-suplementada com vitamina C). Entretanto, isto não ocorreu nos grupos Controles e Vit.C, que além de apanharem a ração de modo pouco freqüente,

mostravam-se estressados. Os animais dos grupos Exe consumiram, em média, o dobro da quantidade de ração consumida pelos grupos Controles, o que proporcionou maiores TC e TCE (Tabela 4).

O estresse comportamental demonstrado pelos animais dos grupos Controles (não exercitados) refletiu sobre a alta TM nestes grupos, que foi de cerca de 45%, enquanto que, nos grupos exercitados (Exe e Vit.C+EXe) foi de 20% (Tabela 4). Esta mortalidade ocorreu, principalmente, no primeiro mês de experimento. A alta taxa de mortalidade observada nos grupos Controles foi, muito provavelmente, devida ao alto grau de agressão, fazendo com que os animais mais fracos, ou subordinados, ficassem separados do grupo. Assim, separados do grupo maior, eram geralmente atacados por alguns do grupo (provavelmente, pelos indivíduos dominantes) e apresentavam perda de escamas e de cor, além de escoriações na pele, principalmente, na parte ventral do corpo. Com o passar do tempo, eram cada vez mais atacados pelos demais do grupo e, por fim, se não retirados do tanque eram devorados pelos demais, o que demonstra o forte comportamento de canibalismo nesta espécie. Os matrinxãs, após este comportamento agressivo, não se alimentavam por alguns dias, provavelmente, pelo estresse gerado devido à grande interação social ocorrida, indicado também pelo comportamento natatório em círculos. Este comportamento de canibalismo também foi relatado para *Paralichthys olivaceus* por DOU et al. (2000) e para *Sciaenops ocellatus* por LIAO & CHANG (2002). De acordo com DOU et al. (2004), a interação agressiva entre os indivíduos de uma mesma espécie promove o estresse de dominância devido à competição por espaço e alimento, favorecendo os dominantes (geralmente, maiores) e causando um aumento da heterogeneidade de tamanho entre os indivíduos do grupo, o que não é interessante para os produtores de peixes. Além disso, esta maior agressividade entre os indivíduos se dá, geralmente, em condições de alta densidade de estocagem, a qual é muito utilizada em cultivos intensivos, mas a prevenção deste

canibalismo pode se dar pela alimentação *ad libitum*, segundo DOU et al. (2004), por diminuir a competição pelo alimento.

No presente estudo, a agressividade observada entre os indivíduos apresentou-se maior nos grupos de peixes mantidos em águas paradas, isto é, mantidos sedentários, por possibilitar o aumento do comportamento de dominância (hierarquia), resultando em menor quantidade de comida para os subordinados e em maior heterogeneidade de tamanho. Isto também verificado em *Salvelinus alpinus* por ADAMS et al. (1995). Além disso, no presente estudo, o treinamento reduziu a TM (Tabela 4), além de possibilitar melhor condição física e de saúde dos animais treinados, como relatado também por TOTLAND et al. (1987).

O apetite dos animais aumenta com o exercício físico fazendo com que o peixe coma mais e, mesmo havendo maior gasto energético devido à natação, o crescimento é maior e mais rápido, com menor quantidade de alimento (DAVISON, 1989). Isto ocorre devido a um melhor aproveitamento dos nutrientes provenientes da alimentação (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990). Além disso, uma economia de energia pode ocorrer devido à utilização da ventilação "ram" nos peixes em exercício (RANDALL, 1982; STEFFENSEN, 1985). Apesar disto, KIESSLING et al. (1994) consideram que o aumento da quantidade de comida oferecida não altera o crescimento de *Oncorhynchus tshawytscha* em qualquer velocidade de natação (de 0,5 a 1,5 BL.s⁻¹). Estes autores sugeriram que, em muitos casos, os peixes consomem mais alimento quando em velocidades de natação maiores, devido ao seu maior apetite, mas sem melhorar o aproveitamento dos nutrientes (diminuição da eficiência alimentar). Provavelmente, isto possa ocorrer devido às variações de comportamento entre espécies (DAVISON & GOLDSPINK, 1978; TURNER et al., 1983b; MILLIGAN & WOOD, 1987).

4.2. Índices

O IHS pode ser considerado como uma medida indireta da taxa de crescimento, pelo peixe estocar energia no tecido muscular e hepático em períodos de maior tomada energética, sendo grande parte desta energia estocada como glicogênio. Desta forma, o tamanho relativo do fígado correlaciona o estado nutricional com a taxa de crescimento do peixe (ADAMS & MCLEAN, 1985). Nos matrinxãs dos grupos Exe o IHS aumentou, indicando melhora do estado nutricional dos animais devido ao exercício físico moderado (Tabela 6). Este aumento do IHS também foi observado em *Oncorhynchus tshawytscha* treinado em velocidade de 1,5 BL.s⁻¹ (KIESSLING et al., 1994) e em bacalhau do Atlântico, *Gadus morhua*, treinado em velocidade de 1,0 BL.s⁻¹ (BJØRNEVIK et al., 2003). A suplementação da dieta com vitamina C não promoveu alteração do IHS de matrinxãs (Tabela 6), como ocorreu em *Sparus aurata*, relatado por HENRIQUE et al. (1998).

Os grupos Vit.C e Vit.C+Exe não mostraram aumento do IHS em relação ao grupo Controle, em ambos os períodos. Apesar disto, verificou-se que houve aumento da concentração de vitamina C no fígado destes grupos (Tabela 6). Este aumento do IHS do grupo Exe poderia ser devido ao aumento do armazenamento de glicogênio, de proteína e, até mesmo, de lipídios. Nas tabelas 11 e 15 temos as concentrações de glicogênio e de proteína no fígado dos grupos experimentais, mas não se observou que este aumento de IHS tenha ocorrido em decorrência do aumento da concentração destes. Existe a possibilidade deste aumento ter ocorrido pelo crescimento do animal como um todo, isto é, crescimento dos músculos e demais órgãos em conjunto, devido ao aproveitamento adequado dos nutrientes da alimentação (DAVISON, 1989; CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990) e devido às alterações metabólicas dos animais em decorrência ao exercício físico (JOHNSTON, 1999; JOHNSTON et al., 2000 a,b). O aumento do IHS também ocorreu em *Oncorhynchus tshawytscha*, entretanto, decorrente do aumento da velocidade de natação e da quantidade de alimento oferecida aos animais (KIESSLING et al., 1994).

Os menores índices de gordura perivisceral em matrinxã foram verificados nos grupos Exe, em ambos os períodos experimentais (Tabela 6), provavelmente, devido à utilização de lipídios para a manutenção dos processos oxidativos do organismo. Os valores do ILS nos grupos Vit.C+Exe foram os maiores ($p < 0,05$), podendo indicar a utilização da vitamina C como recurso energético, pois é um derivado da glicose (BENZIE, 2000; HERMES-LIMA, 2004). As fontes dos ácidos graxos são os lipídios da dieta e a síntese "de novo" a partir de acetil-CoA proveniente de carboidratos, de modo que, os processos metabólicos dos carboidratos e dos lipídios estão ligados.

A vitamina C é um nutriente essencial durante a síntese de carnitina (MORRIS, 1991; MAYES, 2002). De acordo com MURRAY et al. (2002), a continuação da oxidação de ácidos graxos ocorre quando moléculas de acil-CoA atravessam as membranas da mitocôndria, da seguinte maneira: pela ação da enzima carnitina acetil-transferase, presente na membrana externa da mitocôndria, acil-CoA liga-se à carnitina (β hidroxil- γ -trimetilamônio butirato) formando acilcarnitina. A ação da enzima carnitina acilcarnitina translocase, na membrana interna da mitocôndria, faz com que a acilcarnitina seja transportada para o lado interno da membrana interna da mitocôndria. A carnitina palmitoil transferase II (na membrana interna da mitocôndria), reage com CoA e acilcarnitina, sendo acil-CoA novamente formada na matriz mitocondrial e a carnitina é liberada. Deste modo, com a molécula acil-CoA presente no interior da mitocôndria, tem-se continuidade o processo de β -oxidação. De acordo com a explicação acima, pode haver uma relação entre a utilização de vitamina C, da carnitina, dos lipídios e dos carboidratos nos matrinxãs, principalmente, nos animais dos grupos que receberam dieta suplementada com a vitamina C, devido aos maiores valores de ILS apresentados (Tabela 6).

Nos grupos Exe ocorreu diminuição significativa do ILS, acompanhados pelo aumento do fator de condição aparente (FCA) (Tabela 6). Assim, pode-se supor que o crescimento dos animais que foram mantidos em exercício foi promovido pelo aumento das reservas nutricionais, tanto no músculo quanto no fígado, e não pelo aumento da gordura perivisceral. Este aumento das reservas nutricionais no músculo é de grande importância para o produtor, por ser a obtenção da carne dos peixes o objetivo final principal. Devido a algumas alterações na composição da musculatura dos animais mantidos em exercício, pode ocorrer também melhora no sabor da carne, além de mudanças em sua textura (JOHNSTON, 1999; JOHNSTON et al., 2000 a,b; BJØRNEVIK et al., 2003). Segundo CHRISTIANSEN et al. (1989), *Salvelinus alpinus* exercitados entre 1,1 a 2,3 BL.s⁻¹, apresentaram aumento na taxa de crescimento e isto, provavelmente, estava associado com a diminuição dos níveis totais de lipídios corporais e com os níveis elevados de proteína corporal. Isto sugere que o aumento do crescimento resultante do exercício sustentado pode ser, em parte, consequência da mudança induzida pela natação na alocação de energia dos depósitos de gordura para a produção de tecido muscular. Este processo acima citado pode ter ocorrido nos matrinxãs dos grupos exercitados no presente estudo, já que houve tanto crescimento, quanto diminuição do ILS nestes animais (Tabelas 4, 5 e 6).

O IC mostrou valores semelhantes quando comparados os dois períodos experimentais (Tabela 6). Os maiores valores de IC foram apresentados pelos grupos alimentados com dieta suplementada com vitamina C (Vit.C e Vit.C+Exe). Assim, pode-se dizer que os animais exercitados apresentaram aumento do coração em proporção ao aumento do corpo (isométrico), de modo semelhante ao ocorrido com os grupos Controles, isto é, crescimento normal. Deste modo, sugere-se que, nos animais treinados as fibras do músculo cardíaco apresentam maior força de contração (inotropismo), além de um volume sistólico maior, permitindo assim, maior eficiência cardíaca, necessária ao

suprimento adequado de sangue aos tecidos, promovendo crescimento corporal. Estes resultados também estão de acordo com os obtidos por FARRELL et al. (1990, 1991) para truta arco-íris, *O. mykiss*, visto que, o crescimento isométrico do coração e o maior volume sistólico favoreceram e permitiram o adequado transporte de oxigênio durante o exercício físico.

O FCA mostrou-se significativamente maior no grupo Exe 60 dias em relação aos demais no mesmo período (Tabela 6). O grupo Controle 90 dias mostrou menor valor de FCA em relação aos demais grupos, sendo os maiores valores apresentados pelos grupos Exe e Vit.C+Exe. Deste modo, o FCA aumentou com o exercício físico moderado. Esta melhoria na condição dos animais também foi relatada para salmão do Atlântico, *Salmo salar*, por TOTLAND et al. (1987). O FCA reflete o estado físico do animal em relação à sua saúde, informando também se está havendo uma adequada utilização dos recursos alimentares pelo indivíduo (WEATHERLEY, 1972). Durante períodos de aquisição de energia pelo peixe, o crescimento dos tecidos e o armazenamento desta energia no músculo e no fígado (reflete no IHS) pode levar o indivíduo a apresentar um peso maior em relação a um dado comprimento. Este excesso é, usualmente, mostrado pelo FCA (LE CREN, 1951; WEATHERLEY, 1972; KIESSLING et al., 1994).

Os valores de PC dos animais mantidos por 60 dias em experimento indicaram valores semelhantes, sendo que o grupo Exe apresentou significativamente o menor valor de PC (Tabela 6). Após 90 dias, o menor valor apresentado foi do grupo Vit.C+Exe e o maior do grupo Exe. Visto que o PC é valor do peso da carcaça em relação ao peso do peixe, muito provavelmente os menores valores de PC foram devido aos maiores valores de IHS, principalmente, no caso do grupo Exe 60 dias; menor valor de IHS para o grupo Exe 90 dias e de maior ILS para o grupo Vit.C+Exe 90 dias. *Oncorhynchus tshawytscha* mostraram mesmo padrão de diminuição de PC devido ao aumento de IHS, segundo observações de KIESSLING et al. (1994).

4.3. Concentração de ácido ascórbico hepático

A capacidade de síntese do AA está ausente em alguns animais como os teleósteos, por não apresentarem atividade da enzima GLO no fígado, nos rins anterior e posterior (FRACALOSSI et al., 2001). Deste modo, há a necessidade de fornecimento desta vitamina na dieta, de modo a permitir crescimento, evitando o aparecimento de sinais clínicos de deficiência.

A suplementação de ácido ascórbico na ração, no presente estudo, foi realizada para verificar se o aumento da concentração deste antioxidante na dieta promoveria a diminuição do estresse e, conseqüentemente, o crescimento dos animais. Verificou-se que o exercício físico moderado promove diminuição do estresse, levando ao crescimento (Tabelas 4 e 5). Entretanto, os grupos Vit.C e Vit.C+Exe não apresentaram crescimento como os grupos Exe (Tabela 5). A concentração de vitamina C suplementada não foi tão alta (apenas o dobro da já existente na ração comercial) e não promoveu crescimento em matrinxãs. A vitamina C, em concentrações menores que a deste estudo, promoveu crescimento de *Cyprinus carpio* (GOUILLOU-COUSTANS et al., 1998) e de *Oplegnathus fasciatus* (WANG et al., 2003), indicando com isto, grandes diferenças entre as espécies de peixes quanto às quantidades de certos nutrientes na alimentação. Além disso, segundo LIM et al. (2000), uma concentração mais alta de vitamina C, entre 1,0 a 2,0 g AA.kg⁻¹ de ração, pode aumentar a resposta imune e a resistência a bactérias dos peixes.

Os valores da concentração de ácido ascórbico no fígado de matrinxã (Tabela 7), indicam que os grupos alimentados com dieta não suplementada com vitamina C (Controles e Exe) apresentam a concentração média de 0,52 µmol.g⁻¹. De acordo com FRACALOSSI et al. (2001) espécies amazônicas da ordem Characiformes apresentam valores de concentração de vitamina C no fígado em torno de 0,21 a 0,58 µmol.g⁻¹. Por exemplo, para a piranha mucura, *Serrasalmus elongatus*, o valor da concentração

hepática de vitamina C é de $0,58 \pm 0,15 \mu\text{mol.g}^{-1}$ e para o tambaqui, *Colossoma macropomum*, de $0,29 \pm 0,13 \mu\text{mol.g}^{-1}$.

Os grupos alimentados com dieta suplementada com vitamina C (Vit.C e Vit.C+Exe) apresentaram valores mais altos da concentração hepática de vitamina C (Tabela 7), o que era esperado devido ao aumento do fornecimento desta vitamina na dieta. Este aumento da concentração de vitamina C no fígado com a suplementação desta na dieta também foi observado em *Astronotus ocellatus* (FRACALOSSO et al., 1998), em *Lateolabrax japonicus* (AI et al., 2004), em *Oncorhynchus mykiss* (DABROWSKI et al., 2004) e em *Epinephelus malabaricus* (LIN & SHIAU, 2005).

4.4. Hematologia

Durante o exercício físico ocorre aumento da utilização de energia havendo, deste modo, a necessidade de aumento do transporte de oxigênio para as fibras musculares, via brânquias e sistema circulatório (SMIT et al., 1971). O aumento da densidade de capilares sanguíneos, que ocorre devido ao exercício moderado, favorece a capacidade aeróbica dos peixes permitindo que mais sangue e nutrientes cheguem às fibras musculares (DAVISON & GOLDSPINK, 1977; BESNER & SMITH, 1983; DAVIE et al., 1986; SÄNGER, 1992).

Os matrinxãs, mantidos em exercício moderado e contínuo, mostraram aumento da porcentagem de células vermelhas, isto é, do Hct (Tabela 8). De acordo com DAVISON (1989) e WELLS & WEBER (1990) o treinamento promove o aumento do Hct e, conseqüentemente, aumentos na concentração de hemoglobina e na capacidade de transporte de oxigênio pelo sangue. Além disso, a maior porcentagem de células vermelhas no sangue permite que menor quantidade de sangue seja desviada para o intestino, permitindo que o suprimento de sangue, tanto para o metabolismo aeróbico dos músculos, quanto para a digestão do alimento, não seja dificultada. Este fato é de

extrema importância para os animais em natação contínua (THORARENSEN et al., 1993; GALLAUGHER et al., 1995). Com a digestão, o fluxo sanguíneo para os órgãos como estômago, intestino e fígado aumenta, de modo a auxiliar na absorção de substâncias no intestino e na transferência destes nutrientes para o fígado. Deste modo, os peixes integram as necessidades fisiológicas da digestão e da natação, além de que a presença de alimento no tubo digestivo não permite a diminuição do fluxo sanguíneo neste, fato que, geralmente, ocorre em peixes quando exercitados sem alimentação (FARRELL et al., 2001).

No presente estudo, apesar do aumento do Hct nos grupos exercitados (Exe e Vit.C+Exe), menores concentrações de Hb foram observadas nestes grupos (Tabela 8). Nos estudos com truta arco-íris, WANG et al. (1994) observaram a ocorrência do aumento do Hct, entretanto, com manutenção dos valores de concentração de hemoglobina. A diminuição ou a manutenção das concentrações de Hb, de acordo com DAVISON (1997), não proporcionariam aumento da capacidade de transporte de oxigênio para os tecidos, quando em exercício físico. Entretanto, segundo RANDALL et al. (1967) e JONES & RANDALL (1978), alguns fatores como o aumento do fluxo de água sobre as brânquias, a maior rigidez das lamelas secundárias (maior recrutamento lamelar) e o aumento da frequência cardíaca ou do volume sistólico possibilitam maior oxigenação do organismo, inclusive quando em natação. Além disso, em águas com correnteza, o peixe pode parar a sua respiração rítmica ventilando de modo "ram", apenas movimentando-se para frente com a boca aberta (RANDALL, 1982; STEFFENSEN, 1985). Este mecanismo possibilita a oxigenação do sangue com grande economia de energia, inclusive com uma menor concentração de hemoglobina no sangue.

A suplementação de vitamina C na ração poderia promover o aumento dos valores de Hct nos peixes por auxiliar a absorção de ferro da dieta, entretanto, em truta arco-íris, *O. mykiss*, alimentadas com ração suplementada com vitamina C (10 a 1000 mg AA.kg

dieta⁻¹) isto não ocorreu (DABROWSKI et al., 2004). Do mesmo modo, após 90 dias de alimentação com dieta suplementada com vitamina C (432 mg AA.kg⁻¹), os matrinxãs não apresentaram alteração nos valores de Hct ($p < 0,05$). No período de 60 dias, o Hct do grupo Controle, alimentado com dieta não-suplementada com vitamina C (248 mg AA.kg⁻¹), mostrou-se menor em relação aos demais grupos (Tabela 8).

O AA pode auxiliar na absorção de ferro da dieta e evitar, com isto, a anemia decorrente de dietas deficientes de AA (HALLIWELL, 1996). SHIAU & JAN (1992) verificaram a influência da deficiência de vitamina C na dieta sobre a redução da absorção de ferro em tilápias híbridas (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*), com redução da síntese de hemoglobina levando, conseqüentemente, à anemia. Segundo FRACALOSSO et al. (1998), apaiaris, *A. ocellatus*, alimentados com dieta sem suplementação de AA não apresentaram valores menores de Hct do que os que receberam dieta suplementada com vitamina C (de 25 a 200 mg AA.kg dieta⁻¹), apesar de indicarem tendência à diminuição. Os menores valores de Hb nos matrinxãs dos grupos Exe (sem suplementação de vitamina C na dieta) em ambos os períodos experimentais podem ter ocorrido em função da menor quantidade de AA na dieta, o que pode ser confirmado pelos valores diminuídos de HCM e de CHCM (Tabela 8).

Os matrinxãs dos grupos Exe e Vit.C+Exe apresentaram HCM significativamente diminuído e, os dos grupos Exe, diminuição do CHCM, em ambos os períodos experimentais (Tabela 8). A diminuição dos valores de HCM e CHCM após o exercício moderado e após a alimentação com dieta suplementada com vitamina C não era esperada, pelo fato de que ambos os fatores podem elevar a concentração de hemoglobina no sangue (DAVISON, 1989; THORARENSEN et al., 1993; FARRELL et al., 2001). Segundo PEARSON & STEVENS (1990) trutas arco-íris, *O. mykiss*, exercitadas apresentaram diminuição do CHCM, que foi atribuída à liberação dos eritrócitos do baço (estimulação esplênica adrenérgica). Os matrinxãs exercitados (Exe e Vit.C+Exe)

apresentaram valores maiores de Hct, sendo que, nos grupos Exe este aumento ocorreu devido à maior quantidade de eritrócitos na circulação (Tabela 8). Além disso, os grupos Exe apresentaram menor valores de Hb, de CHCM e de VCM, provavelmente, devido às diferenças dos eritrócitos da circulação e do baço em relação tanto à concentração de Hb, quanto ao volume das células (MILLIGAN & WOOD, 1987; WELLS & WEBER, 1990; PEARSON & STEVENS, 1991). A redução dos níveis de Hb pode ocorrer devido à aumentada permeabilidade branquial à água, resultando em hemodiluição e perda de íons (WENDELAAR BONGA, 1997; RUANE et al., 2001).

4.5. Cortisol plasmático

Em peixes, o cortisol apresenta ação tanto glicocorticóide, quanto mineralocorticóide. Este hormônio apresenta efeito sobre o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios. O cortisol apresenta papel importante no metabolismo de carboidratos, visto que, sua presença na circulação produz hiperglicemia (mobilização de energia), mais provavelmente via gliconeogênese (LIDMAN et al., 1979; BARNETT & PANKHURST, 1998). Uma elevação do cortisol plasmático é o indicador de estresse em peixe mais utilizado. O nível de cortisol plasmático se eleva poucos minutos após a exposição ao estressor agudo, retornando aos níveis normais em uma ou mais horas. Quando o estressor é crônico, os níveis de cortisol mantêm-se elevados, embora abaixo dos valores de pico (WENDELAAR BONGA, 1997).

Os níveis de cortisol dos grupos Controles no presente estudo apresentaram-se em torno de 95 ng.mL^{-1} (Tabela 9). Segundo CARNEIRO & URBINATI (2001a) o nível basal de cortisol encontrado em juvenis de matrinxã é em torno de 60 ng.mL^{-1} , sendo que no indivíduo adulto este nível está em torno de $110,60 \text{ ng.mL}^{-1}$. Com a administração da dieta suplementada com vitamina C os níveis de cortisol aumentaram, mesmo nos grupos que além de receberem a dieta suplementada, foram exercitados (Vit.C+Exe, Tabela 9).

Os níveis de cortisol de *Sparus aurata* não se alteraram com o aumento da concentração de vitamina C na dieta (HENRIQUE et al., 1998), sendo que, a ausência de vitamina C na dieta promoveu o aumento dos níveis de cortisol nesta espécie. Além disso, estes autores acreditam que exista um possível papel do ascorbato na produção de cortisol ou na liberação deste na circulação sanguínea, devido à ligação do metabolismo da glicose e do ácido ascórbico. Em humanos, o aumento de cortisol está ligado ao aumento de AA no plasma, sugerindo que ocorra liberação concomitante de cortisol e AA pelas glândulas adrenais (GLEESON et al., 1987; MURRAY et al., 2002).

Os matrinxãs exercitados apresentaram redução significativa dos níveis de cortisol plasmático (Tabela 9), indicando que o reduzido nível de hormônios do estresse promove uma economia de energia para o peixe, podendo, deste modo, converter esta energia em crescimento. Os níveis de catecolaminas e de cortisol após treinamento diminuíram em *O. mykiss* (WOODWARD & SMITH, 1985) e em *Morone saxatilis* (YOUNG & CECH, 1994b). Segundo KIESSLING et al. (1994) os benefícios relatados nos estudos em relação ao crescimento em consequência ao exercício podem ter ocorrido não pelo exercício *per se*, mas devido à diminuição da demanda energética pela ausência de interações agressivas. Além disso, o exercício também favorece o melhor aproveitamento dos nutrientes da ração (DAVISON, 1989; CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990).

Deste modo, o exercício físico moderado pode levar à diminuição do estresse, proporcionando menores níveis de cortisol e diminuição dos níveis de agressão dos animais dominantes em relação aos subordinados (TOTLAND et al., 1987; ADAMS et al., 1995). Com isto, obtém-se crescimento acelerado e homogêneo em peixes, como no presente estudo. DAVISON & GOLDSPINK (1977) sugeriram que baixos níveis dos hormônios do estresse (tais como catecolaminas e cortisol) foram parte responsável pelo aumento das taxas de crescimento após o treinamento da truta marrom, *Salmo trutta*. O

estresse pode ser amenizado pelo treinamento dos animais, devido à redução dos níveis dos hormônios do estresse (SCHRECK, 1981; DAVISON, 1989).

4.6. Intermediários metabólicos

No presente estudo, a concentração de glicose plasmática dos matrinxãs diminuiu nos grupos Exe 60 e 90 dias. Já nos grupos Vit.C+Exe este nível de glicose no plasma se manteve semelhante ao do grupo Controle ($p > 0,05$) (Tabela 10). De acordo com WOODWARD & SMITH (1985) o nível de glicose sanguínea também diminuiu em truta arco-íris, *O. mykiss*, exercitadas. No plasma deste peixe também foi observada a manutenção da concentração de glicose, apesar de ter ocorrido aumento significativo dos níveis de lactato, piruvato e amônia nos exercitados, quando comparados aos sedentários (WANG et al., 1994). De acordo com estes autores, o exercício foi realizado por perseguição manual das trutas por um período de 6 min, mostrando que este tipo de exercício leva a um aumento do nível de lactato plasmático, devido ao estresse. Este lactato pode ser proveniente da glicogenólise, além de promover também a proteólise, verificada pelo aumento da concentração de amônia. Alguns estudos mostram que modificações metabólicas como as mencionadas acima podem resultar da natação (exercício), mas, muito provavelmente, ocorram devido ao estresse gerado pelo manuseio durante determinadas práticas laboratoriais, como esta de perseguição manual dos animais (MILLIGAN et al., 2000; MILLIGAN, 2003).

A manutenção dos níveis de amônia plasmática em matrinxãs mantidos em exercício sustentado (Tabela 10), pode ser benéfico para estes peixes, pois o aumento e o acúmulo de amônia no plasma de salmonídeos (truta marrom, *S. trutta*; truta arco-íris, *O. mykiss*; salmão coho, *O. kisutch*) como relatado por MCKENZIE et al. (2003), podem prejudicar grandemente a performance (ou desempenho) natatória quando em velocidades próximas do U_{crit} (velocidade de natação crítica). Este prejuízo se dá devido

aos efeitos tóxicos da amônia, prejudicando a despolarização da membrana de certos tecidos, como o músculo branco e cérebro, impedindo o animal de locomover-se coordenadamente.

A diminuição das concentrações plasmáticas de glicose nos grupos Exe (Tabela 10) pode estar relacionada com a concentração diminuída de cortisol (Tabela 9). Enquanto que, nos grupos exercitados e alimentados com dieta suplementada com vitamina C (Vit.C+Exe), apesar da manutenção dos níveis de glicose, ocorreu aumento dos níveis de cortisol. As concentrações plasmáticas de glicose e de cortisol em *Sparus aurata* aumentaram significativamente nos indivíduos alimentados com dieta deficiente em vitamina C (HENRIQUE et al., 1998). Deste modo, estes autores acreditam que haja um possível papel do ascorbato na produção de cortisol ou na liberação deste na circulação sanguínea, devido à ligação do metabolismo da glicose e do ácido ascórbico. Em humanos, o aumento de cortisol está ligado ao aumento de AA no plasma, sugerindo que ocorra liberação concomitante de cortisol e AA pelas glândulas adrenais (GLEESON et al., 1987; MURRAY et al., 2002).

O estresse é caracterizado pela mobilização de energia (aumento dos níveis de glicose e cortisol plasmáticos), supressão do crescimento, da reprodução e do sistema imune e desequilíbrio hidromineral, como relatado por WENDELAAR BONGA (1997). Durante o estresse pode ocorrer também o aumento dos valores de hematócrito favorecendo o suprimento de oxigênio, devido à maior demanda metabólica. Além disso, ocorre aumento da permeabilidade à água nas membranas das brânquias, resultando em hemodiluição e perda de íons, promovendo a diminuição da concentração de hemoglobina no sangue. No presente estudo, o aumento de Hct e a diminuição da Hb nos matrinxãs exercitados (Tabela 8), podem ser indicativo de estresse. Mas, devido à manutenção dos níveis plasmáticos de proteína (Tabela 14) não houve hemodiluição. Isto nos mostra que, como foi relatado em outros estudos (DAVISON, 1989; FARRELL et al., 2001), o aumento

de Hct pode ocorrer em consequência ao exercício físico. Além disso, outros fatores como níveis plasmáticos de cortisol e de glicose reduzidos e o crescimento acentuado nos grupos exercitados, reforçam o fato que os matrinxãs não estavam estressados, uma vez que a velocidade de natação utilizada neste estudo era moderada e adequada para o objetivo proposto (diminuição do estresse e do canibalismo, devido à hierarquia social presente em matrinxãs, favorecendo o crescimento).

O exercício, em baixa velocidade de natação, induz ao aumento do número de capilares, tanto nas fibras musculares brancas quanto nas vermelhas, permitindo um aumento na perfusão tecidual e, conseqüentemente, isto contribui para a diminuição da acidose pela retirada de H^+ (DAVISON & GOLDSPINK, 1977; BESNER & SMITH, 1983; DAVIE et al., 1986; SÄNGER, 1992). Segundo FARRELL et al. (1998), quando a velocidade de natação é aeróbica, ocorre utilização do lactato como fonte energética; enquanto que, no exercício exaustivo o resultado é o acúmulo de lactato no músculo e no sangue com redução dos estoques de glicogênio (HAMMOND & HICKMAN, 1966; PAGNOTTA & MILLIGAN, 1991; STOREY, 1991; WANG et al., 1994; MILLIGAN, 2003; CZESNY et al., 2003). Segundo STOREY (1991) o aumento dos níveis de lactato também ocorre no fígado, nas brânquias e no músculo cardíaco após o exercício exaustivo, indicando contribuição da glicólise anaeróbica para o metabolismo durante o exercício devido à limitação, em algum grau, de oxigênio aos tecidos. Em peixes treinados, após o exercício exaustivo, o lactato tanto do sangue quanto do músculo, é eliminado mais rapidamente (HAMMOND & HICKMAN, 1966), além disso, a restauração dos níveis de glicogênio no músculo é acelerada pela utilização da maioria do lactato produzido no próprio músculo (MILLIGAN & WOOD, 1986, 1987; MILLIGAN & GIRARD, 1993; MILLIGAN, 1996, 2003).

Em mamíferos, o ciclo de Cori (ou ciclo do ácido láctico) promove a passagem do lactato do músculo e do sangue para o fígado, no qual é transformado em glicose, tornando-se novamente disponível na circulação, para oxidação nos tecidos (MAUGHAN et

al., 2000; MURRAY et al., 2002). DANDO (1969) afirmou que o lactato produzido no músculo branco de peixes é, preferencialmente, oxidado *in situ*, ao invés de no fígado. Deste modo, o ciclo de Cori apresenta pouco ou talvez nenhum papel na síntese de glicogênio no músculo de peixes (MILLIGAN & WOOD, 1987; WEST et al., 1994). Além disso, a proposta de que não ocorra o ciclo de Cori nos peixes traz vantagens, visto que evita a perda da nova glicose formada para outros tecidos (MILLIGAN & WOOD, 1986; WANG et al., 1994; BARNETT & PANKHURST, 1998).

Diversos trabalhos realizados com *Pleuronectes platessa* (WARDLE, 1978), *Oncorhynchus mykiss* (MILLIGAN & WOOD, 1986; PAGNOTTA & MILLIGAN, 1991; WANG et al., 1994) e *Platichthys stellatus* (MILLIGAN & WOOD, 1987) mostraram que uma grande porção (de 80 a 85 %) do lactato gerado pelo músculo em exercício é retida na massa muscular em trabalho e utilizada *in situ* para repor o suprimento de glicogênio. A energia para este processo pode ser proveniente da oxidação dos ácidos graxos (MILLIGAN & WOOD, 1986). O processo de oxidação dos ácidos graxos inibe a enzima piruvato desidrogenase (MOYES et al., 1992) e, deste modo, a oxidação de piruvato e de lactato. O lactato seria utilizado para a síntese de glicogênio. Nos matrinxãs, o nível de lactato diminuiu no músculo branco e manteve-se no vermelho (Tabelas 12 e 13), indicando que pode não ter ocorrido produção devido à velocidade de natação utilizada durante o exercício ser baixa (metabolismo aeróbico), ou mesmo, devido à utilização deste recurso, pela oxidação (utilização como antioxidante). DAVIE et al. (1986) concluíram que o treinamento produz mudanças metabólicas favorecendo a oxidação do lactato, o que implica que o exercício produz aumento da capacidade aeróbica. Segundo MILLIGAN & WOOD (1986), no músculo branco ocorre oxidação do lactato e, posteriormente, a utilização deste no processo de gliconeogênese. O aumento do nível de piruvato, observado em matrinxãs, corrobora com este argumento, verificado pela diminuição da relação lactato:piruvato tanto no plasma (Tabela 10) quanto no músculo

branco (Tabela 12, aos 90 dias). MILLIGAN & WOOD (1987) verificaram diminuição da relação lactato:piruvato em *Platichthys stellatus* após exercício exaustivo.

No presente estudo, os menores níveis de glicogênio no músculo branco devem ter favorecido o aumento dos níveis de piruvato nestes grupos (Tabela 12). No músculo vermelho também ocorreu diminuição da concentração de glicogênio nos grupos Vit.C (60 e 90 dias) e a energia pode ter sido obtida por degradação de proteínas (proteólise), pois ocorreu aumento do nível de amônia (Tabela 13). No grupo Exe a diminuição na concentração de glicogênio no músculo vermelho não resultou em aumento dos níveis de glicose, lactato ou piruvato. Muito provavelmente, a energia para o gasto metabólico deste grupo pode ter sido proveniente tanto da alimentação, quanto da utilização de lipídios (não determinados no presente estudo). Em truta marrom, *Salmo trutta*, houve aumento das concentrações de glicogênio, de lipídio e de proteína nos músculos branco e vermelho, após 28 dias de natação a uma velocidade de $1,5 \text{ BL}\cdot\text{s}^{-1}$ (DAVISON & GOLDSPINK, 1977). Os aumentos de lactato, glicogênio e amônia no músculo vermelho e manutenção destes no músculo branco nos grupos Vit.C+Exe (60 e 90 dias) (Tabela 12 e 13), sugerem que a suplementação de vitamina C na dieta auxilia na manutenção do metabolismo energético dos animais, quando mantidos em exercício moderado e constante.

No músculo branco durante o exercício, a amônia é liberada pela desaminação dos adenilatos. Deste modo, a adenilato monofosfato (AMP) é convertida em amônia (NH_3) e inositol monofosfato (IMP) via enzima AMP desaminase (WANG et al., 1994; RANDALL & TSUI, 2002). No presente estudo, após o exercício físico e moderado ocorreu diminuição dos níveis de amônia no músculo branco apenas grupo Exe, em relação aos demais grupos (Tabela 12). Enquanto que, no músculo vermelho, os níveis de amônia mantiveram-se praticamente inalterados (Tabela 13). Em geral, o aumento dos níveis de amônia ocorre em velocidades maiores de natação, provavelmente devido ao

recrutamento de um maior número de fibras musculares e do metabolismo de adenilatos (ATP, ADP e AMP) (TODGHAM et al., 2001) e de aminoácidos e amidas (WALTON & COWEY, 1982).

O exercício físico em velocidades moderadas estimula o crescimento do peixe (TOTLAND et al., 1987; YOUNG & CECH, 1993; DAVISON, 1997). Isto está relacionado com o aumento da taxa de síntese de proteína em relação à sua degradação (HOULIHAN & LAURENT, 1987), o que resulta em hipertrofia das fibras musculares, tanto lentas quanto rápidas (JOHNSTON & MOON, 1980a; TOTLAND et al., 1987; YOUNG & CECH, 1994a), não resultando no aumento da densidade mitocondrial de fibras lentas e nem no aumento das atividades das enzimas do metabolismo aeróbico (DAVISON & GOLDSPINK, 1977; HOULIHAN & LAURENT, 1987).

Na velocidade de natação utilizada no presente estudo, a musculatura branca (glicolítica) não é a utilizada ativamente, apresentando, deste modo, a manutenção dos níveis de proteína. O estímulo da síntese protéica pode ocorrer devido ao aumento do fluxo sanguíneo durante a natação, de acordo com HOULIHAN & LAURENT (1987). Além disso, peixes que nadam em velocidades intermediárias e constantes podem apresentar redução do custo energético pela mudança da ventilação branquial ativa (bomba opercular) para ventilação do tipo "ram" (STEFFENSEN, 1985), favorecendo o crescimento.

4.7. Indicadores do estresse oxidativo

Os peixes apresentam defesa antioxidante contra ERO, podendo esta defesa ser enzimática ou não-enzimática. As enzimas antioxidantes enzimáticas mais relevantes são: a superóxido dismutase (SOD), a glutatona peroxidase (GSH-Px), a catalase (CAT), a glutatona-S-transferase (GST) e a glutatona redutase (GR); e as defesas antioxidantes não-enzimáticas incluem o ascorbato (vitamina C), o α -tocoferol (vitamina E), a glutatona

(GSH), a vitamina A, o ubiquinol 10 e o β -caroteno (WINSTON, 1991; WILHELM FILHO et al., 1993; BENZIE, 2003).

As concentrações plasmáticas de HP aumentaram nos matrinxãs dos grupos Exe após 60 e 90 dias de experimento (Tabela 14). O exercício físico em cavalos induziu o aumento da concentração plasmática de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), que quantifica a peroxidação lipídica pelo nível de malondialdeído (MDA) (CLARKSON & THOMPSON, 2000; MARLIN et al., 2002). Outros métodos de avaliação da peroxidação lipídica, como o conhecido ensaio TBARS, quantificam os produtos finais da cadeia de peroxidação lipídica como o MDA. Segundo STOREY (1996) o ensaio FOX (oxidação do ferro pelo xilenol orange), utilizado no presente estudo, apresenta uma boa correlação com o ensaio TBARS.

No presente estudo, pode-se verificar que o exercício físico causou aumentos significativos nos níveis de HP, tanto no plasma quanto nos músculos branco e vermelho (Tabelas 14, 16 e 17). Estes níveis elevados de HP nos tecidos podem indicar a ineficiência do organismo, na ausência de vitamina C, em aumentar e/ou manter a expressão da GSH-Px, que é a principal responsável pelo combate a peroxidação lipídica.

Em estudos com humanos os níveis de peroxidação lipídica apresentam uma variedade de resultados. De acordo com ØRTENBLAD et al. (1997), estas variações podem ter ocorrido pelos diferentes tipos e intensidade de exercício, como também às diferentes metodologias de coleta de tecidos para estas análises. Os níveis de HP no fígado e no músculo cardíaco de matrinxãs diminuíram nos grupos Exe, de ambos os períodos de tempo (Tabela 15 e 18), indicando a ausência de danos oxidativos a estes tecidos.

A atividade da SOD aumentou no plasma de matrinxãs exercitados (Exe) (Tabela 14), no músculo branco dos grupos Vit.C+Exe (60 e 90 dias; Tabela 16) e no músculo vermelho dos grupos Exe e Vit.C+Exe (Tabela 16), em ambos os períodos experimentais.

O aumento da atividade da SOD pode atuar como potencializador do estresse oxidativo, quando há aumentos dos níveis de H_2O_2 . Entretanto, no músculo cardíaco a atividade desta enzima diminuiu (Tabela 18). De acordo com LEEUWENBURGH et al. (1999), o exercício intenso leva ao aumento da produção de ERO, especificamente do OH^* no músculo cardíaco de ratos, verificado pelo aumento da oxidação de proteínas neste tecido. Entretanto, a velocidade de natação aplicada aos matrinxãs no presente estudo foi moderada, de modo que, não promoveu danos oxidativos no músculo cardíaco destes peixes, muito provavelmente, prevenido pela atividade da enzima GSH-Px, visto que, esta enzima atua no combate a peroxidação lipídica. A expressão da SOD é induzida pela geração de O_2^{*-} , a qual altera a atividade da enzima. No grupo Vit.C+Exe, a atividade da SOD diminuiu no plasma (60 dias) e no músculo vermelho (60 e 90 dias) em relação aos grupos Exe, indicando a ação antioxidante protetora da vitamina C.

A relação lactato:piruvato do plasma foi maior nos animais dos grupos Vit.C e Vit.C+Exe, que naqueles que não foram alimentados com esta dieta (Controle e Exe) (Tabela 9). Estudos com humanos sugerem que a relação lactato:piruvato possa ser um indicativo do estresse oxidativo, visto que, GROUSSARD et al. (2000) demonstraram que o lactato retira radicais hidroxila e superóxido dos tecidos (não os radicais lipídicos), reduzindo os danos oxidativos.

No presente estudo, os níveis de GSH e GSSG não foram medidos. Entretanto, em relação ao antioxidante enzimático que medeia a reação de GSH para GSSG, a glutathione peroxidase (GSH-Px), com o consumo de peróxidos (como o H_2O_2), foi determinada. Assim, na Tabela 14, temos que, após 60 dias de experimento, a atividade plasmática da GSH-Px diminuiu apenas no grupo Vit.C, com a manutenção desta atividade nos demais grupos. Esta reduzida atividade da GSH-Px pode ter como consequência o aumento dos níveis de GSH ou diminuição de GSSG. Assim, pode-se supor que ocorreu diminuição da relação GSSG/GSH em matrinxãs após a alimentação com dieta suplementada com

vitamina C. Em humanos foi verificada uma relação da diminuição da relação GSSG/GSH com o aumento da relação lactato:piruvato (SASTRE et al., 1992).

Segundo SASTRE et al. (1992), esta relação linear das taxas de GSSG/GSH e de lactato:piruvato no sangue foi observada antes, durante e após exercício. Isto mostra que o aumento do nível de GSSG nas células possa ser utilizado como sinal de estresse oxidativo, já que o estresse oxidativo é o desbalanço entre os níveis de pró-oxidantes e antioxidantes em favor dos pró-oxidantes (SIES, 1986). O aumento do consumo de oxigênio, nas mitocôndrias dos músculos de ratos exercitados, pode promover danos oxidativos, e estes danos podem ser prevenidos pela suplementação da alimentação com vitamina C (SASTRE et al., 1992). Provavelmente, a redução ocorrida da atividade plasmática da GSH-Px no grupo Vit.C 60 dias e sua manutenção nos grupos Vit.C+Exe (60 e 90 dias), pode ter sido favorecida pela suplementação da dieta com um antioxidante não-enzimático. Visto que um antioxidante é uma substância que, mesmo em baixas concentrações, comparadas com as concentrações das substâncias oxidáveis, significativamente previne ou atrasa a oxidação de moléculas, como proteínas, lipídios, carboidratos e DNA (HALLIWELL, 1996).

O esturjão, *Acipenser fulvescens*, apresenta síntese renal de vitamina C, segundo MOREAU et al. (1999). O estresse gerado por fatores ambientais e por patologias pode levar ao aumento da necessidade de vitamina C, de modo que, este animal responde com o aumento da síntese de AA, mesmo havendo suprimento de AA exógeno. Além disso, acredita-se que devido à produção de H_2O_2 com a oxidação da L-gulonolactona a AA, o sistema de defesa antioxidante do animal deva ser ativado, por exemplo, pela ação da GSH-Px.

O aumento dos níveis de lactato plasmáticos nos grupos Exe (60 e 90 dias) promoveu, provavelmente, a manutenção dos níveis de GSH-Px nestes grupos (Tabelas 10 e 14). GOHIL et al. (1988) afirmou que o lactato pode reduzir espécies oxidadas por

sua ação como doador de hidrogênio, prevenindo a oxidação da GSH e, conseqüentemente, reduzindo ou mantendo a atividade da GSH-Px. Além disso, o aumento do consumo de oxigênio, durante o exercício, induz a enzima GSH-Px a remover peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos da célula (TIIDUS et al., 1996). Desta forma, o lactato pode agir como um antioxidante por ser capaz de retirar $O_2^{\bullet-}$ e OH^{\bullet} , produzidos durante o exercício, reduzindo os danos oxidativos causados por estes radicais (GROUSSARD et al., 2000), por sua oxidação. O aumento das defesas antioxidantes nestes animais pode ser verificado pela diminuição da relação lactato:piruvato nos grupos exercitados.

5. Considerações finais

De acordo com o resultados obtidos no presente estudo utilizando-se a aplicação do exercício físico moderado, este foi eficaz na obtenção de maior crescimento dos animais, além de proporcionar melhor aproveitamento pelos peixes dos nutrientes da ração.

A soma da alimentação com dieta suplementada com vitamina C e do exercício físico moderado não se sobressaiu em relação a estes tratamentos em separado como era esperado. Entretanto, o estresse oxidativo foi amenizado nos grupos alimentados com dieta suplementada com vitamina C, de modo que, o aumento deste antioxidante da dieta favoreceu melhor combate aos radicais livres, porventura, gerados no organismo.

De acordo com estes resultados, pode-se recomendar aos produtores de peixes reofílicos, como o matrinxã, a utilização do exercício físico moderado (treinamento de baixa intensidade) para aumentar o ganho de peso dos animais (com conseqüente aumento da quantidade de filés) devido ao melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta, além de se obter maior homogeneidade de tamanho entre os animais, possibilitando ao produtor obter melhor relação custo-benefício.

6. Conclusões

A aplicação do exercício físico moderado utilizando-se velocidade de natação de 1 a 2 BL.s⁻¹ e o fornecimento de alimentação com dieta suplementada com vitamina C (432 mg AA.kg dieta⁻¹) pelos períodos de 60 e 90 dias, foi possível verificar em matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) que:

- 1) Os matrinxãs submetidos ao exercício físico moderado apresentaram alta taxa de crescimento e baixa taxa de mortalidade. A alimentação com dieta suplementada com vitamina C não favoreceu o crescimento, sendo este aumentado apenas quando associado ao exercício.
- 2) O exercício físico moderado e contínuo favoreceu a saúde e o crescimento dos matrinxãs por promover aumento do índice hepato-somático e do fator de condição aparente. A dieta suplementada com vitamina C promoveu a manutenção ou o aumento da quantidade de gordura perivisceral, constatado pelos valores do índice lipo-somático.
- 3) O exercício físico e moderado promoveu o aumento do hematócrito, devido ao aumento de células vermelhas na circulação favorecendo, a capacidade de transporte de oxigênio pelo sangue.
- 4) O exercício físico promoveu diminuição da concentração de hemoglobina no sangue nos matrinxãs, apesar do aumento do hematócrito. Esta diminuição ocorreu devido à liberação de células vermelhas novas na circulação, de maneira que mesmo com a diminuição da concentração de hemoglobina, ocorreu a manutenção a transferência de O₂ para os tecidos, assegurando o metabolismo aeróbico.
- 5) A suplementação da vitamina C na dieta aumentou os níveis desta vitamina no fígado de matrinxã, favorecendo a manutenção dos níveis deste antioxidante não-enzimático no organismo.

6) O exercício físico moderado promoveu a diminuição da agressividade nos matrinxãs, verificado pelos menores níveis do hormônio do estresse, o cortisol. Estes menores níveis refletiram em economia de energia, possibilitando maiores crescimento e sobrevivência, além de homogeneidade de tamanho entre os animais.

7) A aplicação do exercício físico moderado em matrinxãs reduziu a concentração de glicose plasmática, devido à diminuição do estresse observado pela redução do nível de cortisol plasmático.

8) O exercício físico promoveu manutenção dos níveis hepáticos de glicogênio, manutenção da concentração de lactato no músculo vermelho e aumento dos níveis de proteína muscular, possibilitando maior crescimento em menor período de tempo, pelo melhor aproveitamento dos nutrientes obtidos da alimentação.

8) A aumentada atividade da enzima superóxido dismutase no músculo vermelho de matrinxãs dos grupos exercitados (alimentados ou não com dieta suplementada) ocorreu pelo aumento do consumo de oxigênio neste tecido, ocasionado pelo aumento do trabalho deste tecido durante o exercício físico.

9) O exercício físico moderado e a alimentação com dieta suplementada com vitamina C promoveram modificações no estresse oxidativo de matrinxã, de modo que, mesmo com o aumento dos níveis de peroxidação lipídica em alguns tecidos, a capacidade antioxidante dos animais se manteve eficaz no combate aos radicais livres gerados durante a atividade física.

7. Referências Bibliográficas

- ABELE, D.; PUNTARULO, S. (2004). Formation of reactive species and induction of antioxidant defence systems in polar and temperate marine invertebrates and fish. **Comp. Biochem. Physiol.**, 138 C, 405-415.
- ADAMS, S.M.; MCLEAN, R.B. (1985). Estimation of largemouth bass, *Micropterus salmoides* Lacépède, growth using the liver somatic index and physiological variables. **J. Fish Biol.**, 26, 111-126.
- ADAMS, C.E.; HUNTINFORD, F.A.; KRPAL, J.; JOBLING, M.; BURNETT, S.J. (1995). Exercise, agonistic behaviour and food acquisition in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. **Environ. Biol. Fishes**, 43, 213-218.
- AI, Q.; MAI, K.; ZHANG, C.; XU, W.; DUAN, Q.; TAN, B.; LIUFU, Z. (2004). Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, 242, 489-500.
- ALMEIDA, G.S.C. (2003). Suplementação dietética de vitamina C, desenvolvimento e sanidade de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). USP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq), Piracicaba, SP, Dissertação de Mestrado, 47p.
- ANDERSEN, F.; LYGREN, B.; MAAGE, A.; WAAGBØ, R. (1998). Interaction between two dietary levels of iron and two forms of ascorbic acid and the effect on growth, antioxidant status and some non-specific immune parameters in Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. **Aquaculture**, 161, 437-451.
- BÁNHEGYI, G.; BRAUN, L.; CSALA, M.; PUSKÁS, F.; MANDI, J. (1997). Ascorbate metabolism and its regulation in animals. **Free Radic. Biol. Med.**, 23 (5), 793-803.
- BARNETT, C.W.; PAHKHURST, N.W. (1998). The effects of common laboratory and husbandry practices on the stress response of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* (Günther, 1862). **Aquaculture**, 162, 313-329.

- BARTON, B.A.; IWAMA, G.K. (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Rev. Fish Dis.**, 1, 3-26.
- BENZIE, I.F.F. (2003). Evolution of dietary antioxidants (review). **Comp. Biochem. Physiol.**, 136A, 113-126.
- BENZIE, I.F.F. (2000). Evolution of antioxidant defence mechanisms. **Eur. J. Nutr.**, 39, 53-61.
- BESNER, M.; SMITH, L.S. (1983). Modification of swimming mode and stamina in two stocks of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) by differing levels of long term continuous exercise. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, 40, 933-939.
- BIDINOTTO, P.M.; SOUZA, R.H.S.; MORAES, G. (1997). Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of micro samples. **Bol. Tec. Cepta**, 10, 53-60.
- BJØRNEVIK, M.; KARLSEN, Ø.; JOHNSTON, I.A.; KIESSLING, A. (2003). Effect of sustained exercise on white muscle structure and flesh quality in farmed cod (*Gadus morhua* L.). **Aquac. Res.**, 34, 55-64.
- BORGHETTI, J.R.; OSTRENSKY, A. (2000). A cadeia produtiva da aquicultura brasileira. **In:** Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. W.C. Valenti, C.R. Poli, J.A. Pereira, J.R. Borgetti (Eds.), Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, pp 73-106.
- BRADFORD, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.**, 72, 248-254.
- BUSACKER, G.P.; ADELMAN, I.R.; GOOLISH, E.M. (1990). Growth. **In:** Schreck, C.B. & Moyle, P.B. (Eds.), Methods for fish biology. Maryland: American Fisheries Society, pp. 363-387.

- CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. (2001a). Salt as a stress response mitigator of matrinxã, *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) during transport. **Aquac. Res.**, 32, 297-304.
- CARR, A.; FREI, B. (1999). Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? **FASEB J.**, 13, 1007-1024.
- CARR, R.S.; BALLY, M.B.; THOMAS, P.; NEFF, J.M. (1983). Comparison methods for determination of ascorbic acid in animal tissues. **Anal. Chem.**, 55 (8), 1229-1232.
- CASTAGNOLLI, N. (1997). Piscicultura intensiva e sustentável de espécies nativas brasileiras. **In:** Anais do Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Peixes. Cyrino, J.E.P. & Kubitza, F. (Eds.), pp. 117-130. Piracicaba: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal.
- CASTAGNOLLI, N. (1992). Criação de peixes de água doce. Jaboticabal, SP, Unesp, 189 p.
- CHATTERJEE, I.B. (1973). Evolution and the biosynthesis of ascorbic acid. **Science**, 182, 1271-1272.
- CHEN, R.; LOCHMANN, R.; GOODWIN, A.; PRAVEEN, K.; DABROWSKI, K.; LEE, K.-J. (2004). Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). **Aquaculture**, 242, 553-569.
- CHOW, C.K. (1991). Vitamin E and oxidative stress. **Free Radic. Biol. Med.**, 11, 215-232.
- CHOW, C.K.; IBRAHIM, W.; WEI, Z.; CHAN, A.C. (1999). Vitamin E regulates mitochondrial hydrogen peroxide generation. **Free Radic. Biol. Med.**, 27 (5/6), 580-587.
- CHRISTIANSEN, J.S.; JOBLING, M. (1990). The behaviour and the relationship between food intake and growth of juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L., subjected to sustained exercise. **Can. J. Zool.**, 68, 2185-2191.

- CHRISTIANSEN, J.S.; RINGO, E.; JOBLING, M. (1989). Effects of sustained exercise on growth and body composition of first-feeding fry of Arctic charr *Salvelinus alpinus*. **Aquaculture**, 79, 329-335.
- CLARKSON, P.M.; THOMPSON, H.S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? **Am. J. Clin. Nutr.**, 72, 637S-646S.
- COLLINS, A.L.; ANDERSON, T.A. (1997). The influence of changes in food availability on the activities of key degradative and metabolic enzymes in the liver and epaxial muscle of the golden perch. **J. Fish Biol.**, 50, 1158-1165.
- CROUCH, R.K.; GANDY, S.E.; KIMSEY, G.; GALBRAITH, R.A.; GALBRAITH, G.M.P.; BUSE, M.G. (1981). The inhibition of islet superoxide dismutase by diabetogenic drugs. **Diabetes**, 30, 235-241.
- CZESNY, S.; RINCHARD, J.; GARCIA ABIADO, M.A.; DABROWSKI, K. (2003). The effect of fasting, prolonged swimming, and predator presence on energy utilization and stress in juvenile walleye (*Stizostedion vitreum*). **Physiol. Behav.**, 79, 597-603.
- DABROWSKI, K.; LEE, K.-J.; GUZ, L.; VERLHAC, V.; GABAUDAN, J. (2004). Effects of dietary ascorbic acid on oxygen stress (hypoxia and hyperoxia), growth and tissue vitamin concentrations in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, 233, 383-392.
- DANDO, P.R. (1969). Lactate metabolism in fish. **J. Mar. Biol. Ass. U.K.**, 49, 209-223.
- DAVIE, P.S.; WELLS, R.M.G.; TETENS, V. (1986). Effects of sustained swimming on rainbow trout musculature structure, blood oxygen transport, and lactate dehydrogenase isozymes: evidence for increased aerobic capacity of white muscle. **J. exp. Zool.**, 237, 159-171.
- DAVIES, K.J.A. (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems (critical review). **IUBMB Life**, 50, 279-289.
- DAVISON, W. (1997). The effects of exercise training on teleost fish, a review of recent literature. **Comp. Biochem. Physiol.**, 117A (1), 67-75.

- DAVISON, W. (1989). Training and its effects on teleost fish (mini review). **Comp. Biochem. Physiol.**, 94A (1), 1-10.
- DAVISON, W.; GOLDSPINK, G. (1978). The effect of training on the swimming muscles of the goldfish (*Carassius auratus*). **J. Exp. Biol.**, 74, 115-122.
- DAVISON, W.; GOLDSPINK, G. (1977). The effect of prolonged exercise on the lateral musculature of the brown trout (*Salmo trutta*). **J. Exp. Biol.**, 70, 1-12.
- DEATON, C.M.; MARLIN, D.J. (2003). Exercise-associated oxidative stress. **Clin. Tech. Eq. Pract.**, 2 (3), 278-291.
- DOU, S.-Z.; SEIKAI, T.; TSUKAMOTO, K. (2000). Cannibalism in Japanese flounder juveniles, *Paralichthys olivaceus*, reared under controlled conditions. **Aquaculture**, 182, 149-159.
- DOU, S.-Z.; MASUDA, R.; TANAKA, M.; TSUKAMOTO, K. (2004). Size hierarchies affecting the social interactions and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, 233, 237-249.
- DRÖGE, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol. Rev.**, 82, 17-95.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K; REBERS, P.A.; SMITH, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem.**, 28 (3), 350- 356.
- EDDY, F.B. (1981). Effects of stress on osmotic and ionic regulation in fish. **In: Stress and fish**. Pickering, A.D. (Ed.). London: Academic Press, pp. 77-102.
- ELANGOVAN, A.; SHIM, K.F. (2000). The influence of replacing fish meal partially in the diet with soybean meal on growth and body composition of juvenile foil barb (*Barbodes altus*). **Aquaculture**, 189, 133-144.
- FANG, Y.-Z.; YANG, S.; WU, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, 18, 872-879.

- FARRELL, A.P.; GAMPERL, A.K.; BIRTWELL, I.K. (1998). Prolonged swimming, recovery and repeat swimming performance of mature sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* exposed to moderate hypoxia and pentachlorophenol. **J. Exp. Biol.**, 201, 2183-2193.
- FARRELL, A.P.; JOHANSEN, J.A.; SUAREZ, R.K. (1991). Effects of exercise-training on cardiac performance and muscle enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Fish Physiol. Biochem.**, 9 (4), 303-312.
- FARRELL, A.P.; THORARENSEN, H.; AXELSSON, M.; CROCKER, C.E.; GAMPERL, A.K.; CECH, J.J.Jr. (2001). Gut blood flow in fish during exercise and severe hypercapnia (review). **Comp. Biochem. Physiol.**, 128 A, 551-563.
- FARRELL, A.P.; JOHANSEN, J.A.; STEFFENSEN, J.F.; MOYES, C.D.; WEST, T.G.; SUAREZ, R.K. (1990). Effects of exercise training and coronary artery ablation on swimming performance, heart size, and cardiac enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Can. J. Zool.**, 68, 1174-1179.
- FRACALOSSO, D.M.; ALLEN, M.E.; YUYAMA, L.K.; OFTEDAL, O.T. (2001). Ascorbic acid biosynthesis in Amazonian fishes. **Aquaculture**, 192, 321-332.
- FRACALOSSO, D.M.; ALLEN, M.E.; NICHOLS, D.K.; OFTEDAL, O.T. (1998). Oscars, *Astronotus ocellatus*, have a dietary requirement for vitamin C. **J. Nutr.**, 128, 1745-1751.
- FRIDOVICH, I. (1998). Oxygen toxicity: a radical explanation. **J. Exp. Biol.**, 201, 1203-1209.
- GAETKE, L.M.; CHOW, C.K. (2003). Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. **Toxicology**, 189, 147-163.
- GALLAUGHER, P.; THORARENSEN, H.; FARRELL, A.P. (1995). Hematocrit in oxygen transport and swimming in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Respir. Physiol.**, 102, 279-292.
- GENTZKOW, C.J.; MASEN, J.M. (1942). An accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization. **J. Biol. Chem.**, 143, 531-544.

- GLEESON, M.; ROBERTSON, J.D.; MAUGHAN, R.J. (1987). Influence of exercise on ascorbic acid status in man. **Clin. Sci.** (Lond), 73, 501-505.
- GOHIL, K.; VIGUIE, C.; STANLEY, W.C.; BROOKS, G.A.; PACKER, L. (1988). Blood glutathione oxidation during human exercise. **J. Appl. Physiol.**, 64 (1), 115-119.
- GOUILLOU-COUSTANS, M.F.; BERGOT, P.; KAUSHIK, S.J. (1998). Dietary ascorbic acid needs of common carp (*Cyprinus carpio*) larvae. **Aquaculture**, 161, 453-461.
- GOULDING, M. (1980). The fishes and forest: explorations in Amazonian natural history. Los Angeles: University of California Press, 280p.
- GRAEF, E.W.; RESENDE, E.K.; PETRY, P.; STORTI FILHO, A. (1986). Policultivo de matrinhã (*Brycon* sp) e jaraqui (*Semaprochilodus* sp) em pequenas represas. **Acta Amazon.**, 16/17, 33-42.
- GREER-WALKER, M.; EMERSON, L. (1978). Sustained swimming speeds and myotomal muscle function in the trout, *Salmo gairdneri*. **J. Fish Biol.**, 13, 475-481.
- GREER-WALKER, M.; PULL, G. (1973). Skeletal muscle function and sustained swimming speeds in the coalfish (*Gadus virens* L.). **Comp. Biochem. Physiol.**, 44A, 495-501.
- GROUSSARD, C.; MOREL, I.; CHEVANNE, M.; MONNIER, M.; CILLARD, J.; DELAMARCHE, A. (2000). Free radical scavenging and antioxidant effects of lactate ion: an in vitro study. **J. Appl. Physiol.**, 89, 169-175.
- HAFEMAN, D.G.; SUNDE, R.A.; HOEKSTRA, W.G. (1974). Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. **J. Nutr.**, 104, 580-587.
- HALLIWELL, B. (2001). Vitamin C and genomic stability (review). **Mut. Res.**, 475, 29-35.
- HALLIWELL, B. (2000). The antioxidant paradox. **Lancet**, 355, 1179-1180.
- HALLIWELL, B. (1996). Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? **Free Radic. Res.**, 25, 439-454.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. (1999). Free radicals in biology and medicine. Third edition, Oxford: Clarendon Press, pp. 900.

- HALLIWELL, B.; CLEMENT, M.V.; RAMALINGAM, J.; LONG, L.H. (2000). Hydrogen peroxide: ubiquitous in cell culture and in vivo? *IUBMB Life*, 50, 251-257.
- HAMMOND, B.R.; HICKMAN, C.P.Jr. (1966). The effect of physical conditioning on the metabolism of lactate, phosphate, and glucose in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. **J. Fish. Res. Bd. Can.**, 23(1), 65-83.
- HARROWER, J.R.; BROWN, C.H. (1972). Blood lactic acid. A micromethod adapted to field collection of microliter samples. **J. Appl. Physiol.**, 32 (5), 709-711.
- HENRIQUE, M.M.F.; GOMES, E.F.; GOUILLOU-COUSTANS, M.F.; OLIVA-TELES, A.; DAVIES, S.J. (1998). Influence of supplementation of practical diets with vitamin C on growth and response to hypoxic stress of seabream, *Sparus aurata*. **Aquaculture**, 161, 415-426.
- HERMES-LIMA, M. (2004). Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. **In:** Functional metabolism: regulation and adaptation. Storey, K.B. (Eds.), New York, Wiley & Sons, Inc., pp. 319-368.
- HOULIHAN, D.F.; LAURENT, P. (1987). Effect of exercise training on the performance, growth, and protein turnover of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, 44, 1614-1621.
- HOUSTON, A.H. (1990). Blood and circulation. **In:** Methods of fish biology. Schreck, C.B.; Moyle, P.B. (Eds.), American Fisheries Society, Maryland, USA, pp. 273-334.
- JACKSON, M.J. (2000). Reactive oxygen species and redox-regulation of skeletal muscle adaptation to exercise. **Phil. Trans. Royal Soc. B – Biol. Sci.**, 360, 2285-2291.
- JANSSENS, B.J.; CHILDRESS, J.J.; BAGUET, F.; REES, J.-F. (2000). Reduced enzymatic antioxidative defense in deep-sea fish. **J. Exp. Biol.**, 203, 3717-3725.
- JIANG, Z.-Y.; WOOLLARD, A.C.S.; WOLF, S.P. (1991). Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe²⁺ in the presence of xylenol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method. **Lipids**, 26 (10), 853-856.
- JOBLING, M. (1994). Fish Bioenergetics. London, U.K: Chapman & Hall, 309p.

- JOHNSTON, I.A. (1999). Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. **Aquaculture**, 177, 99-115.
- JOHNSTON, I.A.; ALDERSON, R.; SANDHAM, C.; DINGWALL, A.; MITCHEL, D.; SELKIRK, C.; NICKELL, D.; BAKER, R.; ROBERTSON, B.; WHYTE, D.; SPRINGATE, J. (2000b). Muscle fibre density in relation to the colour and texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, 189, 335-349.
- JOHNSTON, I.A.; ALDERSON, R.; SANDHAM, C.; MITCHEL, D.; SELKIRK, C.; DINGWALL, A.; NICKELL, D.; BAKER, R.; ROBERTSON, B.; WHYTE, D.; SPRINGATE, J. (2000a). Patterns of muscle growth in early and late maturing populations of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, 189, 307-333.
- JOHNSTON, I.A.; MOON, T.W. (1980a). Exercise training in the skeletal muscle of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). **J. Exp. Biol.**, 87, 177-194.
- JONES, D.R.; RANDALL, D.J. (1978). The respiratory and circulatory systems during exercise. **In:** Hoar, W.S.; Randall, D.J. (Eds.), *Fish Physiology*, Vol. VII, New York & London, Academic Press, , pp. 425-492.
- KIEFFER, J.D. (2000). Limits to exhaustive exercise in fish (review). **Comp. Biochem. Physiol.**, 126 A, 161-179.
- KIEFFER, J.D.; WAKEFIELD, A.M.; LITVAK, M.K. (2001). Juvenile sturgeon exhibit reduced physiological responses to exercise. **J. Exp. Biol.**, 204, 4281-4289.
- KIESSLING, A.; HIGGS, D.A.; DOSANJH, B.S.; EALES, J.E. (1994). Influence of sustained exercise at two ration levels on growth and thyroid function of all-female chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in seawater. **Can. J. Fish Aquat. Sci.**, 51, 1975-1984.
- LAM, F.L.; HOLCOMB, I.J.; FUSARI, S.A. (1984). Liquid chromatography assay of ascorbic acid, niacinamide, pyridoxine, thiamine and riboflavin in mineral preparations. *J. Assoc. of Anal. Chem.*, 67 (5), 1007-1011.
- LE CREN, E.D. (1951). The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). **J. Anim. Ecol.**, 20, 201-219.

- LEEJWENBURGH, C.; HANSEN, P.A.; HOLLOSZY, J.O.; HEINECKE, J.W. (1999). Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine. **Free Radic. Biol. Med.**, 27, 186-192.
- LENAZ, G. (1998). Role of mitochondria on oxidative stress and ageing. **Biochim. Biophys. Acta**, 1366, 53-67.
- LIAO, I.C.; CHANG, E.Y. (2002). Timing and factors affecting cannibalism in red drum *Sciaenops ocellatus* larvae in captivity. **Environ. Biol. Fishes**, 63, 229-233.
- LIDMAN, U.; DAVE, G.; JOHANSSON-SJÖBECK, M.-J.; LARSSON, A.; LEWANDER, K. (1979). Metabolic effects of cortisol in the European eel, *Anguilla anguilla* (L.). **Comp. Biochem. Physiol.**, 63A, 339-344.
- LIM, C.; KLESZIUS, P.H.; LI, M.H.; ROBINSON, E.H. (2000). Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. **Aquaculture**, 185, 313-327.
- Lin, M.-F.; Shiao, S.-Y. (2005). Dietary L-ascorbic acid affects growth, nonspecific immune responses and disease resistance in juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. **Aquaculture**, 244, 215-221.
- LIVINGSTONE, D.R. (2001). Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. **Mar. Pollut. Bull.**, 42 (8), 656-666.
- LU, G.D. (1939). 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.
- MARLIN, D.J.; FENN, K.; SMITH, N.; DEATON, C.D.; ROBERTS, C.A.; HARRIS, P.A.; DUNSTER, C.; KELLY, F.J. (2002). Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. **J. Nutr.**, 132, 1622S-1627S.
- MAUGHAN, R.; GLEESON, M.; GREENHAFF, P.L. (2000). Bioquímica do exercício e do treinamento. São Paulo, SP: Editora Manole Ltda., 240 p.

- MAYES, P.A. (2002). Estrutura e função das vitaminas hidrossolúveis. **In:** Murray, R.K.; Granner, D.K.; Mayes, P. A.; Rodwell, V.W. (Eds.), Harper: Bioquímica. São Paulo, SP: Atheneu Editora, pp. 627-641.
- MAZEAUD, M.M.; MAZEAUD, F. (1981). Adrenergic responses to stress in fish. **In:** Pickering, A.D. (Ed.). Stress and Fish. London: Academic Press, pp. 49-75.
- MCCALL, M.R.; FREI, B. (1999). Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? **Free Radic. Biol. Med.**, 26, 1034-1053.
- MCKENZIE, D.J.; SHINGLES, A.; TAYLOR, E.W. (2003). Sub-lethal plasma ammonia accumulation and the exercise performance of salmonids (review). **Comp. Biochem. Physiol.**, 135 A, 515-526.
- MILLIGAN, C.L. (2003). A regulatory role for cortisol in muscle glycogen metabolism in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. **J. Exp. Biol.**, 206, 3167-3173.
- MILLIGAN, C.L. (1996). Metabolic recovery from exhaustive exercise in rainbow trout (review). **Comp. Biochem. Physiol.**, 113A (1), 51-60.
- MILLIGAN, C.L.; GIRARD, S.S. (1993). Lactate metabolism in rainbow trout. **J. Exp. Biol.**, 180, 175-193.
- MILLIGAN, C.L.; WOOD, C.M. (1987). Muscle and liver intracellular acid –base and metabolite status after strenuous activity in the inactive, benthic starry flounder *Platichthys stellatus*. **Physiol. Zool.**, 60(1), 54-68.
- MILLIGAN, C.L.; WOOD, C.M. (1986). Tissue intracellular acid-base status and the fate of lactate after exhaustive exercise in the rainbow trout. **J. Exp. Biol.**, 123, 123-144.
- MILLIGAN, C.L.; HOOKE, G.B.; JOHNSON, C. (2000). Sustained swimming at low velocity following a bout of exhaustive exercise enhances metabolic recovery in rainbow trout. **J. Exp. Biol.**, 203, 921-926.
- MOREAU, R.; DABROWSKI, K.; SATO, P.H. (1999). Renal L-gulonono-1,4-lactone oxidase activity as affected by dietary ascorbic acid in lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*). **Aquaculture**, 180, 359-372.

- MORRIS, J.G. (1991). Nutrition. **In:** Environmental and metabolic animal Physiology. Comparative Animal Physiology. Prosser, C.L. (Eds.), Fourth Edition, New York: Willey-Liss, Inc., pp. 231-276.
- MOYES, C.D.; WEST, T.G. (1995). Exercise metabolism of fish. **In:** Hochachka, P.W. & Mommsen, T.P. (Eds.), Biochemistry and molecular biology of fishes, vol. 4, Amsterdam: Elsevier Science, pp 367-392.
- MOYES, C.D.; SCHULTE, P.M.; WEST, T.G. (1992). Recovery metabolism of trout white muscle: role of mitochondria. **Am. J. Physiol.**, 262, R295-R304.
- MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. (2002). Harper: Bioquímica. 9ª. Edição, São Paulo: Atheneu Editora São Paulo Ltda., pp. 919.
- ØRTENBLAD, N.; MADSEN, K.; DJURHUUS, M.S. (1997). Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. **Am. J. Physiol.**, 272, R1258-R1263.
- ORTUÑO, J.; ESTEBAN, M.A.; MESEGUER, J. (2003). The effect of dietary intake of vitamins C and E on the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). **Fish Shellfish Immunol.**, 14, 145-156.
- ÖTLES, S. (1995). Comparative determination of ascorbic acid in bass (*Morone lebrax*) liver by HPLC and DNPH methods. **Int. J. Food Sci. Nutr.**, 46, 229-232.
- PAGNOTTA, A.; MILLIGAN, C.L. (1991). The role of blood glucose in restoration of muscle glycogen during recovery from exhaustive exercise in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). **J. Exp. Biol.**, 161, 489-508.
- PEARSON, M.P.; STEVENS, E.D. (1991). Size and hematological impact of the splenic erythrocyte reservoir in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Fish Physiol. Biochem.**, 9 (1), 39-50.
- PEARSON, M.P.; SPRIET, L.L.; STEVENS, E.D. (1990). Effect of sprint training on swim performance and white muscle metabolism during exercise and recovery in rainbow trout (*Salmo gairdner*). **J. Exp. Biol.**, 149, 45-60.

PEZZATO, L.E.; SCORVO Fo, J.D. (2000). Situação atual da aquicultura na região sudeste.

In: Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. W.C. Valenti, C.R. Poli, J.A. Pereira, J.R. Borgetti (Eds.), Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, pp 303-322.

PICKERING, A.D.; POTTINGER, T.G. (1995). Biochemical effects of stress. **In:** Biochemistry and molecular biology of fishes, Hochachka, P.W. & Mommsen, T.P. (Eds.), vol. 5., Amsterdam: Elsevier, pp. 349-379.

POLI, C.R.; GRUMANN, A.; BORGHETTI, J.R. (2000). Situação atual da aquicultura na região sul. **In:** Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. W.C. Valenti, C.R. Poli, J.A. Pereira, J.R. Borgetti (Eds.), Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, pp 324-351.

RANDALL, D. (1982). The control of respiration and circulation in fish during exercise and hypoxia. **J. Exp. Biol.**, 100, 275-288.

RANDALL, D.; TSUI, T.K.N. (2002). Ammonia toxicity in fish. **Mar. Pollut. Bull.**, 45, 17-23.

RANDALL, D.; HOLETON, G.F.; STEVENS, E.D. (1967). The exchange of oxygen and carbon dioxide across the gills of rainbow trout. **J. Exp. Biol.**, 6, 339-348.

REID, S.F.; BERNIER, N.J.; PERRY, S.F. (1998). The adrenergic stress response in fish: control of catecholamine storage and release. **Comp. Biochem. Physiol.**, 120C, 1-27.

REIMER, G. (1982). The influence of diet on the digestive enzymes of the Amazon fish matrinchã, *Brycon cf. melanopterus*. **J. Fish Biol.**, 21, 637-642.

RUANE, N.M.; HUSMAN, E.A.; KOMEN, J. (2001). Plasma cortisol and metabolite level profiles in two isogenic strains of common carp during confinement. **J. Fish. Biol.**, 59, 1-12.

SAINT-PAUL, U. (1986). Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: a review. **Aquaculture**, 54 (3), p. 205-240.

- SÄNGER, A.M. (1992). Effects of training on axial muscle of two cyprinid species: *Chondrostoma nasus* (L.) and *Leuciscus cephalus* (L.). **J. Fish Biol.**, 40, 637-646.
- SASTRE, J.; ASENSI, M.; GASGO, E.; PALLARDO, F.; FERRERO, J.; FURUKAWA, T.; VINA, J. (1992). Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. **Am. J. Physiol.**, 263, R992-R995.
- SCHRECK, C.B. (1981). Stress and compensation in teleostean fishes: response to social and physical factors. **In:** Pickering, A.D. (Ed.). *Stress and Fish*. Academic Press, London, pp. 295-321.
- SCORVO-FILHO, J.D.; MARTINS, N.B.; AYROSA, L.M.S. (1998). Piscicultura em São Paulo: custos e retornos diferentes sistemas de produção na safra de 1996/1997. **Inf. Econ.**, 28, 41-60.
- SHIAU, S.-Y.; JAN, F.-L. (1992). Dietary ascorbic acid requirement of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.**, 58 (4), 671-675.
- SIES, H. (1986). Biochemistry of oxidative stress (review). **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, 25, 1058-1071.
- SMIT, H.; AMELINK-KOUSTSTAAL, J.M.; VIJVERBERG, J.; VON VAUPEL-KLEIN, J.C. (1971). Oxygen consumption and efficiency of swimming goldfish. **Comp. Biochem. Physiol.**, 39A, 1-28.
- STEFFENSEN, J.F. (1985). The transition between branchial pumping and ram ventilation in fishes: energetic consequences and dependence on water oxygen tensions. **J. Exp. Biol.**, 114, 141-150.
- STEBBENS, W.E. (2003). Oxidative stress, toxic hepatitis, and antioxidants with particular emphasis on zinc. **Exp. Mol. Pathol.**, 75, 265-276.
- STOREY, K.B. (1996). Oxidative stress: animal adaptations in nature. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 29, 1715-1733.
- STOREY, K.B. (1991). Metabolic consequences of exercise in organs of rainbow trout. **J. Exp. Zool.**, 260, 157-164.

- THORARENSEN, H.; GALLAUGHER, P.E.; KIESSLING, A.K.; FARRELL, A.P. (1993). Intestinal blood flow in swimming chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* and the effects of haematocrit on blood flow distribution. **J. Exp. Biol.**, 179, 115-129.
- TIIDUS, P.M.; PUSHKARENKO, J.; HOUSTON, M.E. (1996). Lack of antioxidant adaptation to short-term aerobic training in human muscle. **Am. J. Physiol.**, 271, R832-R836.
- TODGHAM, A.E.; ANDERSON, P.M.; WRIGHT, P.A. (2001). Effects of exercise on nitrogen excretion, carbamoyl phosphate synthetase III activity and related urea cycle enzymes in muscle and liver tissues of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comp. Biochem. Physiol.**, 129A, 527-539.
- TOTLAND, G.K.; KRYVI, H.; JØDESTØL, K.A.; CHRISTIANSEN, E.N.; TANGERÅS, A.; SLINDE, E. (1987). Growth and composition of the swimming muscle of adult Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during long-term sustained swimming. **Aquaculture**, 66, 299-313.
- TURNER, J.D.; WOOD, C.M.; HOBE, H. (1983b). Physiological consequences of severe exercise in the inactive benthic flathead sole (*Hippoglossoides elassodon*): a comparison with the active pelagic rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **J. Exp. Biol.**, 104, 269-288.
- URSO, M.L.; CLARKSON, P.M. (2003). Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. **Toxicology**, 189, 41-54.
- VALENTI, W.C. (2000). Introdução. **In:** Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. W.C. Valenti, C.R. Poli, J.A. Pereira, J.R. Borgetti (Eds.), Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, pp 25-32.
- VAN HAM, E.H.; VAN ANHOLT, R.D.; KRUITWAGEN, G.; IMSLAND, A.K.; FOSS, A.; SVEINSBØ, B.O.; FITZGERALD, R.; PARPOURA, A.C.; STEFANSSON, S.O.; WENDELAAR BONGA, S.E. (2003). Environment affects stress in exercised trout. **Comp. Biochem. Physiol.**, 136 A, 525-538.
- WALTON, M.J.; COWEY, C.B. (1982). Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish. **Comp. Biochem. Physiol.**, 73B (1), 59-79.

- WANG, X.; KIM, K.-W.; BAI, S.C.; HUH, M.-D.; CHO, B.-Y. (2003). Effects of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). **Aquaculture**, 215, 203-211.
- WANG, Y.; WILKIE, M. P.; HEIGENHAUSER, G.J.F.; WOOD, C.M. (1994). The analysis of metabolites in rainbow trout white muscle: a comparison of different sampling and processing methods. **J. Fish Biol.**, 45, 855-873.
- WARDLE, C.S. (1978). Non-release of lactic acid from anaerobic swimming muscle of plaice, *Pleuronectes platessa*. L. A stress reaction. **J. exp. Biol.**, 77, 141-155.
- WEATHERLEY, A.H. (1972). Growth processes in fish. **In:** Growth and ecology of fish populations. Weatherley, A.H. (Ed.), London: Academic Press, pp. 73-128.
- WEBER, J.-M.; HAMAN, F. (1996). Pathways for metabolic fuels and oxygen in high performance fish (review). **Comp. Biochem. Physiol.**, 113A (1), 33-38.
- WEDEMEYER, G.A.; MCLEAY, D.J. (1981). Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. **In:** Pickering, A.D. (Ed.), Stress and Fish, London: Academic Press, pp. 247-275.
- WELLS, R.M.G.; WEBER, R.E. (1990). The spleen in hypoxic and exercise rainbow trout. (short communication). **J. Exp. Biol.**, 150, 461-466.
- WELLS, R.M.G.; BALDWIN, J.; SEYMOUR, R.S.; BAUDINETTE, R.V.; CHRISTIAN, K.; BENNETT, M.B. (2003). Oxygen transport capacity in the air-breathing fish, *Megalops cyprinoides*: compensations for strenuous exercise. **Comp. Biochem. Physiol.**, 134A, 45-53.
- WENDELAAR BONGA, S.E. (1997). The stress response in fish. **Physiol. Rev.**, 77, 591-625.
- WEST, T.G.; SCHULTE, P.M.; HOCHACHKA, P.W. (1994). Implications of hyperglycemia for post-exercise resynthesis of glycogen in trout skeletal muscle. **J. exp. Biol.**, 189, 69-84.

- WILHELM FILHO, D.; GIULIVI, C; BOVERIS, A. (1993). Antioxidant defences in marine fish – I. Teleosts. **Comp. Biochem. Physiol.**, 106C (2), 409-413.
- WILHELM FILHO, D.; TORRES, M.A.; ZANIBONI-FILHO, E.; PEDROSA, R.C. (2005). Effect of different oxygen tensions on weight gain, feed conversion, and antioxidant status in piapara, *Leporinus elongatus* (Valenciennes, 1847). **Aquaculture**, 244, 349-357.
- WILHELM FILHO, D.; TORRES, M.A.; MARCON, J.L.; FRAGA, C.G.; BOVERIS, A. (2000). Comparative antioxidant defences in vertebrates – emphasis on fish and mammals. **Trends Comp. Biochem. Physiol.**, 7, 33-45.
- WINSTON, G.R. (1991). Oxidants and antioxidants in aquatic animals. **Comp. Biochem. Physiol.**, 100C (1/2), 173-176.
- WOODWARD, B. (1994). Dietary vitamin requirements of cultured young fish, with emphasis on quantitative estimates for salmonids (review). **Aquaculture**, 124, 133-168.
- WOODWARD, J.J.; SMITH, L.S. (1985). Exercise training and the stress response in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. **J. Fish Biol.**, 26, 435-447.
- YOUNG, P.S.; CECH, J.J.Jr. (1994b). Effects of different exercise conditioning velocities on the energy reserves and swimming stress responses in young-of-the-year striped bass (*Morone saxatilis*). **Can. J. Fish Aquat. Sci.**, 51, 1528-1534.
- YOUNG, P.S.; CECH, J.J.Jr. (1994a). Optimum exercise conditioning velocity for growth, muscular development, and swimming performance in young-of-the-year striped bass (*Morone saxatilis*). **Can. J. Fish Aquat. Sci.**, 51, 1519-1527.
- YOUNG, P.S.; CECH, J.J.Jr. (1993). Improved growth, swimming performance, and muscular development in exercised-conditioned young-of-the-year striped bass (*Morone saxatilis*). **Can. J. Fish Aquat. Sci.**, 50, 703-707.