

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DA TILÁPIA-DO-
NILO (*Oreochromis niloticus* L.) SOB ESTRESSE POR EXPOSIÇÃO AO
AR**

Roberta Dias da Silva

Orientador: Prof^a. Dr^a. Maria Clorinda Soares Fioravanti

GOIÂNIA
2010

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Roberta Dias da Silva		
E-mail:	diasroberta5@gmail.com		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não	
Vínculo empregatício do autor			
Agência de fomento:		Sigla:	
País:	Brasil	UF:	GO CNPJ:
Título:	Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.) sob estresse por exposição ao ar		
Palavras-chave:	estresse, hematologia, <i>Oreochromis</i> , peixes		
Título em outra língua:	Biochemical and hematological parameters of Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i> L.) under stress by exposure to air		
Palavras-chave em outra língua:	stress, hematology, <i>Oreochromis</i> , fish		
Área de concentração:	Patologia, Clínica e Cirurgia Animal		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	02/03/2010		
Programa de Pós-Graduação:	Ciência Animal		
Orientador (a):	Dr ^a . Maria Clorinda Soares Fioravanti		
E-mail:	clorinda@vet.ufg.br		
Co-orientador (a):*	Dr. Dirson Vieira		
E-mail:	dirson@vet.ufg.br		

*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização? total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

Capítulos. Especifique: _____

Outras restrições: _____

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.



 Assinatura do (a) autor (a)

Data: 02/05/2010

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto a coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

ROBERTA DIAS DA SILVA

PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DA TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus* L.) SOB ESTRESSE POR EXPOSIÇÃO AO AR

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás

Área de concentração:

Patologia, Clínica e Cirurgia Animal

Linha de Pesquisa:

Técnicas de Diagnóstico Aplicadas à Patologia e Clínica Animal

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Maria Clorinda Soares Fioravanti.– UFG

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Dirson Vieira – EV/UFG

Prof. Dr. Renzo Freire de Almeida – FF/UFG

GOIÂNIA

2010

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
GPT/BC/UFG**

Silva, Roberta Dias da.
Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo
(*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar
[manuscrito] / Roberta Dias da Silva. - 2010.
xii, 48 f. : il., figs, tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Clorinda Soares
Fioravanti; Co-orientadores: Prof. Dr. Dirson Vieira e Prof.
Dr. Renzo Freire de Almeida

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás,
Escola de Veterinária, 2010.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras, abreviaturas e tabelas.

Apêndices.

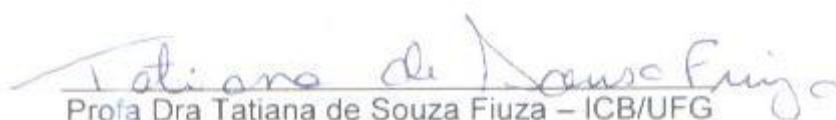
1. estresse 2. Hematologia 3. Oreochromis 4. peixes I. Título.

ROBERTA DIAS DA SILVA

Dissertação defendida e aprovada em **02/03/2010**, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



Profa. Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti
(ORIENTADOR (A))



Profa Dra Tatiana de Souza Fiuza – ICB/UFG



Prof. Dr. Paulo César Silva

DEDICO,

Aos meus pais, Divino Roberto da Silva e Gysele Aparecida de Oliveira Silva por terem acreditado na minha capacidade e força de vontade, e que apesar da distância sempre se fizeram presente.

As minhas irmãs Viviane Peixoto Dias Silva e Wanessa Peixoto Dias da Silva, que são minhas companheiras em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e a oportunidade concedida de poder sempre alcançar de uma forma ou outra meus objetivos, iluminando os meus passos e dando-me forças nos momentos de angústias e dificuldades.

À Universidade Federal de Goiás/Escola de Veterinária, pela oportunidade de realizar este estudo.

Ao Prof. Dr. Dirson Vieira, que me recebeu de braços abertos e que ao longo desse período acompanhou meu crescimento, me incentivando sempre a adquirir novos conhecimentos, e sobre tudo pela amizade, auxílio e ensinamentos durante esses anos de convivência.

Ao Prof. Dr. Paulo César Silva, pela amizade, auxílio e paciência, em momentos cruciais. Seus ensinamentos foram muito importantes não só no direcionamento do experimento, mas também na delimitação dessa dissertação.

A orientadora e amiga, Prof^a. Dr^a. Maria Clorinda Soares Fioravanti, pela confiança em meu trabalho. Meu muito obrigado pela oportunidade, pelos conselhos e ensinamentos dedicados sem os quais não seria possível a realização deste trabalho.

Ao Setor de Piscicultura da Escola de Veterinária/UFG, pela concessão dos animais e material para a realização do experimento. Em especial aos estagiários e funcionários do setor, e a Fernanda Gomes de Paula pela dedicação, empenho e planejamento neste projeto.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, a todos os professores, pelos ensinamentos e oportunidades.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos concedida.

Às amigas, Laudicéia Oliveira Rocha, Cláudia Paula de Freitas Rodrigues, Juliana Luís e Silva, Mariana Batista Rodrigues Faleiro e Joyce Rodrigues Lobo pela convivência e por todos os momentos proporcionados durante esse período.

Ao grande companheiro Bruno Duarte Alves Fortes agradeço pela amizade, pelos diversos momentos de descontração, tanto na faculdade quanto em casa e pela ajuda valiosíssima na realização das análises estatísticas.

As professoras Alessandra Gimenez Mascarenhas e Eliane Sayuri Miyagi que gentilmente ouviram minhas lamurias e alegrias durante e após o experimento, e que sempre ao final de nossas conversas deixavam claro existir uma luz no fim do túnel.

Ao amigo de longa data, Ramias Vieira Calixto Freire pela ajuda concedida na interpretação dos esfregaços sanguíneos e na determinação de alguns eletrólitos.

Aos alunos do Curso de Graduação em Veterinária e Agronomia, Caniggia Lacerda Andrade, Eduardo Vinicius Vaz Gonçalves, Joás Barbosa Bueno e Thyago Campos Barros que contribuíram para realização de todos os experimentos.

Aos funcionários da Escola de Veterinária e do Departamento de Patologia Animal agradeço pela ajuda, apoio, paciência e amizade.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente na realização deste projeto e contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigado!

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Cenário atual da piscicultura	3
2.2 Estresse em peixes.....	5
2.3 Tipos de resposta ao estresse.....	6
2.4 Indicadores de estresse em peixes	8
3 MATERIAIS E MÉTODOS	10
3.1 Instalações do experimento	11
3.2 Seleção dos animais	12
3.3 Alimentação.....	12
3.4 Delineamento experimental.....	12
3.5 Análises de água.....	14
3.6 Análises hematológicas.....	15
3.7 Análises bioquímicas.....	18
3.8 Análise estatística	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5 CONCLUSÃO	29
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Vista parcial do Setor de Piscicultura da EV/UFG, mostrando as caixas experimentais.....	10
Figura 2 – Exemplar adulto de tilápia-do-Nilo.....	10
Figura 3 – Caixas d'água utilizadas na criação em sistema intensivo, situadas no setor de Piscicultura da EV/UFG.....	11
Figura 4 – Tilápias-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) expostas ao ar pela manutenção de uma fina camada de água.....	13
Figura 5 – Oxímetro digital utilizado para monitorar o oxigênio dissolvido e registro dos dados coletados sobre a água.....	15
Figura 6 – Punção realizada na veia caudal de exemplares de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>). A. punção sanguínea com seringa de 5mL sem anticoagulante. B. Volume puncionado em colheita sanguínea.....	16
Figura 7 – Distribuição percentual de neutrófilos e linfócitos em exemplares de <i>O. niloticus</i> sob estresse por exposição ao ar.....	24
Figura 8 – Valores médios de glicose plasmática em tilápias-do-Nilo (<i>O. niloticus</i>) sob estresse por exposição ao ar.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Níveis de garantia dos nutrientes da ração fornecida aos animais durante o experimento.....	12
Tabela 2 – Valores médios das características hematológicas de <i>O. niloticus</i> sob estresse por exposição ao ar.....	20
Tabela 3 – Distribuição percentual das células de defesa orgânica em <i>O. niloticus</i> sob estresse por exposição ao ar. Os dados correspondem aos valores médios \pm desvio padrão.....	23
Tabela 4 – Variáveis bioquímicas de <i>O. niloticus</i> sob estresse por exposição ao ar.....	25
Tabela 5 – Variáveis eletrolíticas de <i>O. niloticus</i> sob estresse por exposição ao ar.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS

%	porcentagem
°C	graus Celsius
ACTH	hormônio adrenocorticotrófico
ANOVA	Análise de variância
cat	categoria
CE	Ceará
CHCM	concentração de hemoglobina corpuscular média
CRF	corticotrofina
DNOCS	Departamento Nacional de Obras Contra as Secas
DIC	delineamento inteiramente casualizado
dL	decilitro
DPA	Departamento de Produção Animal
EDTA	ácido diaminotetracético
EV	Escola de Veterinária
g	grama
h	hora
ha	hectare
Hb	hemoglobina total
HCM	hemoglobina corpuscular média
HHA	eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
HSC	eixo hipotálamo-sistema nervoso simpático-células cromafins
Ht	hematócrito
L	litros
máx	máxima
mEq	mili-equivalente
mín	mínima
mL	mililitro
Na ⁺ /K ⁺ - ATPase	enzima sódio-potássio adenosinatrifosfatase
nm	nanômetro
PB	proteína bruta
pg	picograma
RBC	Contagem de eritrócitos totais
seg	segundo
SNC	sistema nervoso central
SNK	Student-Newman-Keuls
ton	toneladas
UFG	Universidade Federal de Goiás
VGM	volume globular médio
WCB	Contagem de leucócitos totais
µL	microlitro
αMSH	hormônio estimulante de melanócito

RESUMO

No presente trabalho avaliaram-se os parâmetros hematológicos e bioquímicos de exemplares adultos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) sob a influência do fator estresse fisiológico em animais submetidos à exposição ao ar durante a engorda em sistema *raceway*. Foram analisados o eritrograma, teor de hemoglobina, hematócrito, o volume corpuscular médio (VCM), a hemoglobina corpuscular média (HCM), a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), o leucograma, contagem diferencial de leucócitos, o plaquetograma, a glicose, a proteína total, o colesterol, o triglicérideo e os eletrólitos (cálcio, cloretos, sódio e potássio). Os resultados revelaram que houve uma homogeneidade de distribuição para hemácias, hematócrito, hemoglobina, índices hemantimétricos, proteína total, glicose, colesterol, e íons séricos, indicados pelos valores relativamente baixos do coeficiente de variação. Houve correlação positiva somente para leucócitos totais, células de defesa orgânica (neutrófilos e linfócitos), glicose, colesterol, sódio e cálcio. Quanto ao leucograma, à medida que os animais foram expostos ao ar, o número de leucócitos diminuiu gradativamente (leucopenia), ocorrendo simultaneamente neutrofilia e linfopenia. O índice glicêmico constituiu um bom indicador de estresse fisiológico, devido à hiperglicemia ($82,0 \pm 20,88$ mg/dL) demonstrada nos tratamentos. A exposição ao ar constituiu um fator de desequilíbrio na homeostase iônica, e na síntese de colesterol endógeno. Entretanto, o tempo de recuperação não ocasionou a completa reabilitação fisiológica frente ao desafio imposto.

Palavras-chave: estresse, hematologia, *Oreochromis*, peixes

ABSTRACT

The present study evaluated the hematological and biochemical parameters of adult tilapia (*Oreochromis niloticus*) under the influence of the physiological stress factor in animals submitted to air exposure during fattening in *raceway* system. Blood cell count, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), leukogram, differential leukocyte count, platelet, glucose, total protein, cholesterol, triglycerides and electrolytes (calcium, chloride, sodium and potassium) were analyzed. The results showed a uniform distribution for red blood cells, hematocrit, hemoglobin, secondary Wintrobe indices, total protein, glucose, cholesterol, and serum ions, indicated by a relatively low variation coefficient. There was positive correlation only for total white blood cells, organic defense cells (neutrophils and lymphocytes), glucose, cholesterol, sodium and calcium. As for the leukocytes (WBC), as the animals were exposed to aeration, the number of leukocytes gradually decreased (leukopenia), simultaneously occurring neutrophilia and lymphopenia. The glycemic index was a good indicator of physiological stress due to hyperglycemia (82.0 ± 20.88 mg/dL) demonstrated in the treatments. The air exposure constituted an imbalance factor at the ion homeostasis and at the endogenous cholesterol synthesis. Besides, the recovery time did not result in the complete physiological rehabilitation face the imposed challenge.

Keywords: stress, hematology, *Oreochromis*, fish

1 INTRODUÇÃO

Todas as formas de vida têm desenvolvido mecanismos para combater o estresse ao longo do tempo, uma vez que são notórios seus efeitos deletérios sobre o indivíduo. Gradualmente foi aceito que os animais também sofrem com o estresse e desenvolvem patologias similares aos seres humanos, quando expostos às situações adversas ao seu organismo, podendo sucumbir às doenças, apresentar atraso no crescimento ou prejuízos reprodutivos. O reconhecimento dos efeitos nocivos do estresse demonstra a sua importância para o bem-estar animal.

O estresse nos animais pode ocorrer por vários motivos, como fome, fadiga, lesão, temperatura ambiente extrema, ou até por fatores psicológicos como contenção, manejo ou variação no manejo, assim como por fatores comportamentais de hierarquia ou de dominância social dentro de uma população. Os peixes, devido ao seu íntimo contato com o ambiente aquático e a sua condição de animal poiquilotérmico, enfrentam constantes desafios desde aspectos físico-químicos e de qualidade da água até os conflitos de dominância dentro do cardume. Sob condições de aquicultura, os desafios naturais se somam àqueles impostos pela atividade aquícola, como por exemplo, as práticas de manejo, transporte, tratamentos e altas densidades de estocagem.

Desse modo, os animais precisam adaptar-se aos desafios a fim de confrontá-los e de superá-los, para garantir a sua sobrevivência. O somatório das mudanças fisiológicas desencadeadas quando o peixe reage a desafios físicos, químicos e biológicos, associado à tentativa de compensação é comumente referido como respostas ao estresse (WEDEMEYER et al., 1990; WENDERLAAR BONGA, 1997).

Apesar da terminologia estresse ser amplamente utilizada, não existe um consenso sobre sua definição. Apesar das reações do estresse serem organizadas para a proteção da homeostasia, estas também contêm elementos que podem aumentar ou diminuir a

predisposição do animal as doenças, embora muitas vezes as reações do estresse por si próprias possam resultar em enfermidades.

Segundo WENDERLAAR BONGA (1997), o estresse pode ser definido como uma condição em que o equilíbrio dinâmico do organismo, ou homeostase, é ameaçado ou perturbado em decorrência da ação de estímulos intrínsecos e/ou extrínsecos denominados estressores. A ação dos estressores é dupla: eles produzem efeitos que ameaçam ou perturbam o equilíbrio homeostático e também provocam um conjunto de respostas comportamentais e fisiológicas como ação compensatória e/ou adaptativa, habilitando o animal à superação das ameaças.

Diferentemente da maioria das doenças, o estresse não apresenta uma etiologia ou prognóstico bem estabelecido. MOBERG (2000) propôs um modelo para servir de fundamentação teórica na sua discussão e reconhecimento. Esse modelo é aplicado na compreensão do estresse em todas as espécies animais, abrangendo desde os animais domésticos, selvagens, de laboratório até os seres humanos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cenário atual da piscicultura

A aqüicultura brasileira tem se desenvolvido muito nos últimos anos, inclusive se impondo como uma nova atividade pecuária. O crescimento médio mundial dessa atividade na última década foi cinco vezes maior quando comparada com outras atividades do setor, tais como a bovinocultura, a suinocultura e a avicultura. No Brasil, a aqüicultura tem se firmado cada vez mais com caráter profissionalizante, em decorrência dos recursos hídricos disponíveis, com aproximadamente 5,5 milhões de hectares de água doce, clima favorável, mão de obra relativamente barata e crescente mercado interno. Somente no ano de 2007, a produção de pescado no Brasil foi de aproximadamente de 1,072 milhões de toneladas, sendo que 783 mil foram provenientes da pesca enquanto que, aproximadamente 289 mil foram oriundos da aqüicultura. Atualmente, o Brasil é o sexto maior produtor de tilápia cultivada no mundo e a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), sozinha, respondeu pela oferta de 100 mil de toneladas em 2005, o que representou aproximadamente 37% da produção total de pescados em aqüicultura de água doce do Brasil (IBAMA, 2007).

A eficiência da aqüicultura intensiva depende da máxima utilização dos recursos hídricos. As densidades de estocagem devem ser as mais altas possíveis, sem afetarem o crescimento, o ganho de peso e a resistência às doenças. Uma característica importante da piscicultura brasileira é o grande número de espécies criadas. Hoje, utilizam-se mais de 30 espécies, com os mais variados hábitos alimentares e ambientes de vida (SCORVO-FILHO, 2003). No entanto, observa-se que as principais espécies cultivadas no país são de origem exótica (tilápia, carpa e bagre americano). O principal estímulo para a produção dessas espécies parece estar mais relacionado com a existência de informações básicas para as criações do que com as características relacionadas às espécies (SCORVO-FILHO, 2003).

A tilápia-do-Nilo é considerada um exemplar exótico por ser procedente da Costa do Marfim, localizada no continente africano, e foi introduzida inicialmente no Brasil na cidade de Pentecostes (CE) pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), em 1971. Essa espécie pertence à família Cichlidae, à sub-família Pseudocrenilabrinae e em particular ao gênero *Oreochromis*. Trata-se de uma espécie onívora que aceita com facilidade vários tipos de alimento, dócil ao manejo em todas as fases de cultivo, boa rusticidade, prolífica e de fácil domínio da reprodução precoce, com alta qualidade de carne-filé (TAVARES-DIAS et al., 2000a).

Uma das principais características fisiológicas desses animais é a sua resistência a enfermidades por patógenos, assim como a tolerância a baixos teores de oxigênio dissolvido na água. Seu melhor desempenho produtivo é obtido em temperatura aquática entre 26°C e 28°C. E ao abate, consegue-se obter filés de excelente qualidade, que correspondem a 37% da carcaça (600g peso total do peixe) e tem como peculiaridade a ausência de espinhos em sua carne, e apresenta sabor bastante atrativo ao paladar (SOUZA & MARANHÃO, 2001).

A tilapicultura firmou-se como atividade empresarial a partir da década de 1980, quando surgiram os empreendimentos pioneiros. Estes foram inicialmente limitados por vários tipos de restrições, como falta de pesquisas, conhecimento incipiente das técnicas de cultivo, inexistência de rações adequadas e baixa qualidade dos alevinos, entre outras. Na década de 1990, surgiram as primeiras pesquisas de manejo e as rações experimentaram sensível evolução, para atender às particularidades da espécie. Foram montadas estruturas de beneficiamento do peixe, o que contribuiu para a sua melhor conservação e apresentação, alcançando mercados antes impossíveis para os produtores locais que se limitavam a vendê-lo fresco (KUBITZA et al, 2007).

Juntamente com o sistema de produção intensiva surgiu a preocupação em conhecer e avaliar as características fisiológicas e morfológicas da tilápia, a fim de definir as condições de equilíbrio normais e patológicas. A avaliação da fisiologia permite determinar a

influência de condições fisiopatológicas que afetam a homeostase, colaborando assim, com o diagnóstico de condições adversas (TAVARES-DIAS et al., 1999).

2.2 Estresse em peixes

O ambiente aquático é extremamente dinâmico e os animais que vivem nesse ambiente enfrentam alterações ambientais dificilmente enfrentadas pelos animais terrestres, como mudanças rápidas ou extremas na salinidade, pH e concentração de oxigênio dissolvido, o que podem ocasionar estresse e reduzir a habilidade em manter a homeostase (WENDERLAAR BONGA , 1997). Sob condições de aqüicultura, os desafios naturais se somam aqueles impostos pela atividade aqüícola (OBA et al., 2009).

Segundo IWAMA (1993), em produções intensivas de peixes, o estresse dos animais é praticamente inevitável. O termo estresse tem sido utilizado para caracterizar um estado de ameaça à homeostase causada por um estímulo estressante (WENDELAAR BONGA, 1997). O termo homeostase foi criado por Walter Cannon para descrever os processos corporais coordenados entre si para manter o meio interno em equilíbrio constante (CANNON, 1929; 1939).

MOBERG (1985) propôs a teoria, hoje a mais aceita, em que a resposta ao estresse é dividida em três categorias: (a) reconhecimento de uma falha na homeostase, (b) resposta ao estresse propriamente dita, e (c) conseqüências do estresse. Cada categoria compreende uma série de efeitos que iniciam com a percepção do estressor pelo sistema nervoso, mediadas pelo sistema neuro-endócrino e a mobilização de energia para o organismo escapar ou combater o estressor (PICKERING, 1981). A resposta culmina com uma condição biológica, se a alteração na função biológica for severa ou persistente (MOBERG, 1985).

IWAMA (1993) relatou que o estresse ocorre de duas maneiras diferentes, sendo importante diferenciá-las, o estresse agudo e

o estresse crônico. O primeiro geralmente ocorre durante o manejo dos animais, como no transporte ou durante a realização de biometrias, que levam os peixes a um estresse rápido. O segundo tipo de estresse é o crônico, em que as conseqüências geralmente são a redução do crescimento e ganho de peso, queda da resistência à patógenos, devido à resposta imunológica deprimida. Acontece em condições que mantêm os peixes permanentemente estressados, devido a agentes estressores de natureza química, como o pH incorreto, baixo nível de oxigênio dissolvido na água, concentração elevada de amônia (MORAES et al., 2004) e nitrito (COSTA et al., 2004), decorrentes da degradação da matéria orgânica, poluentes orgânicos e inorgânicos (CARVALHO & FERNANDES, 2006), ou podem ser de natureza física, como a alta densidade populacional, confinamento e captura. Dentro deste tipo, o estresse social é particularmente importante (FERNANDES & VOLPATO, 1993).

FERNANDES & VOLPATO (1993) concluíram que o estresse social em peixes é o estresse frente a estímulos sociais ou de agrupamento. Pode inicialmente ser agudo, durante a fase de determinação hierárquica, em que a hierarquia de dominância e submissão é definida como a relação de dois ou mais indivíduos, no qual um ataca o outro em situações de luta, cujo vencedor é o dominante da hierarquia e o perdedor o submisso. Porém, ele passa a ser crônico após este período, sendo mantido pelas sinalizações que mantêm a hierarquia e pelos períodos de arraçoamento que geram interações agonísticas no grupo (MERIGHE et al, 2004).

2.3 Tipos de resposta ao estresse

Quando o peixe é exposto a um agente estressor ambiental e/ou social, iniciam-se as alterações primárias pelo acionamento do hipotálamo pelas vias dos sentidos, ocorrendo à ativação de dois eixos neuro-endócrinos: o eixo hipotálamo-sistema nervoso simpático-células cromafins (HSC) que resulta na liberação de catecolaminas (epinefrina e

norepinefrina - como produtos finais), pelas células cromafins incrustadas na porção anterior do rim, sob estímulo direto do sistema nervoso simpático, e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) que estimula a liberação dos corticosteróides cortisol e cortisona, dos quais, o principal é o cortisol. A ação destes hormônios em diversos órgãos alvo, especialmente naqueles que estão sob múltiplo controle endócrino, resultam em modificações bioquímicas e fisiológicas (estimulando a hidrólise das reservas de glicogênio no fígado, aumentando os níveis de glicose no sangue, diminuindo as proteínas musculares, aumentando os batimentos cardíacos, marcando o início da resposta secundária (SMITH, 1982; PERRY & LAURENT, 1993; WENDELAAR BONGA, 1997).

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) desencadeia outras respostas secundárias. Em peixes, assim como em mamíferos, a síntese e liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela glândula hipófise está sob controle do hipotálamo, via síntese e liberação do fator liberador de corticotrofina (CRF) podendo ser mediada também pelo hormônio estimulante de melanócito (α MSH) e, possivelmente, por β -endorfina (WENDELAAR BONGA, 1997). Quando o sistema sensorial detecta mudanças no meio externo e/ou interno dos peixes ocorre ativação do hipotálamo, que libera CRF, o qual estimula as células corticotróficas da hipófise a produzir e liberar ACTH que, por sua vez, estimula a síntese e liberação dos corticosteróides pelas células da interrenal, localizada na região anterior do rim (NANDI, 1962; DONALDSON, 1981).

Os efeitos terciários incluem as alterações no animal como um todo e na população. A resposta terciária é marcada pela diminuição da resistência dos peixes às doenças, pois ocorre uma diminuição no número de leucócitos, ocorrendo linfocitopenia (diminuição do número de linfócitos) e neutrofilia (aumento do número de neutrófilos circulantes) de acordo com MAZEAUD et al. (1977). Podem ocorrer quedas das taxas de crescimento e alterações de comportamento reprodutivo, além de uma redução na resistência às doenças. Perdas populacionais e

queda do estado geral de ganho de peso ocorrem como efeitos na população (BARTON & IWAMA, 1991).

A acumulação dos efeitos do estresse foi pesquisada por autores como DONALDSON (1981) e WEDEMEYER et al., (1984) e tem sido demonstrada para os estressores mais comuns da aquicultura (CARMICHAEL, 1984) e para as respostas comportamentais (SIGISMONDI & WEBER, 1988). O efeito cumulativo do estresse pode se manifestar na população, ocasionando severa mortalidade. Segundo BARTON & IWAMA (1991), o conceito de estresse cumulativo é importante para os aquicultores, pois indica que distúrbios sub-letais, que não parecem problemáticos, podem se acumular e, se o período entre eles, for insuficiente para a recuperação dos peixes, pode haver efeito detrimental nos peixes individualmente e na população.

2.4 Indicadores de estresse em peixes

Dentre os indicadores de estresse animal, o cortisol plasmático é o indicador mais largamente utilizado em peixes, qualquer que seja o seu estágio de desenvolvimento (WENDELAAR BONGA, 1997). O cortisol em peixes atua via dois tipos de frações, mineralocorticóides e glicocorticóides. Em sua função mineralocorticóide, o cortisol atua na regulação osmótica e iônica; enquanto que na função como glicocorticóide, ele estimula a glicogenólise e a gliconeogênese hepática (PICKERING, 1981; WENDELAAR BONGA, 1997). Dessa forma, a glicose tem sido empregada rotineiramente como indicador de estresse, e os níveis basais de peixes teleósteos podem ser facilmente detectados (SILVA et al., 2009). O desequilíbrio iônico também tem sido relatado no diagnóstico de estresse, por meio da diferenciação de células de cloreto nas brânquias e pela atividade da enzima sódio-potássio adenosinotri-fosfatase (Na^+/K^+ - ATPase) que participa no transporte ativo de íons sódio e cloreto (WENDELAAR BONGA, 1997).

A avaliação imunológica também constitui um bom parâmetro de avaliação, uma vez que, após a liberação de hormônios

glicocorticóides, quer seja endógeno ou exógeno, se reflete de forma quantitativa sobre os leucócitos (RIJNBERK & MOL, 1997). Devido à ação modeladora do cortisol ocorre uma diminuição da atividade fagocitária e da migração de leucócitos para a região inflamada. Esses efeitos provavelmente se devem ao fato do cortisol diminuir a formação de prostaglandinas e leucotrienos a partir do ácido araquidônico nas membranas das células lesadas que, de outro modo, aumentariam a vasodilatação, a permeabilidade capilar e a mobilidade dos leucócitos. Observa-se concomitantemente neutrofilia e linfopenia, em que o aumento de neutrófilos se deve a diminuição na migração de neutrófilos para o compartimento tecidual (diapedese), e aumento do seu tempo na circulação, ou seja, um desvio do compartimento marginal para o circulante. Já a diminuição de linfócitos se deve pela redistribuição dos linfócitos circulantes, com seqüestro nos tecidos linfóides e medula óssea, assim como pela lise de alguns tipos de linfócitos nos linfonodos (MAZEAUD et al., 1977; RIJNBERK & MOL, 1997). A trombocitose (aumento do número de trombócitos ou plaquetas) ocorre devido à contração esplênica, em que o baço seqüestra de $\frac{1}{4}$ a $\frac{2}{3}$ do total de plaquetas para o compartimento circulante, o que resulta também no aumento do volume globular.

Embora haja literatura sobre a hematologia e bioquímica de teleosteos, pouco ou quase nada se conhece sobre a influência de estresse por exposição ao ar na fisiologia da espécie exótica avaliada em questão. Desse modo, informações e conhecimentos sobre suas variáveis hematológicas e bioquímicas podem proporcionar relevantes indicações de alterações em seu estado fisiológico ao piscicultor.

Nesse sentido, objetivou-se comparar os parâmetros sangüíneos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo submetidas à exposição ao ar durante a engorda em viveiros artificiais, e a influência do tempo de exposição como fator de estresse fisiológico dos animais, assim como o tempo de recuperação dos mesmos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Piscicultura (Figura 1) do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (DPA/EV/UFG), em dezembro de 2009, com duração aproximada de 15 dias.



FIGURA 1 – Vista parcial do Setor de Piscicultura da EV/UFG, mostrando as caixas experimentais

Foram utilizados 64 exemplares adultos (Figura 2) de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) com peso médio de 340g, os quais foram distribuídos aleatoriamente em oito caixas d'água de polietileno de 1000L. A densidade populacional empregada para cada caixa foi de 10 peixes.



FIGURA 2 - Exemplar adulto de tilápia-do-Nilo

Todos os procedimentos adotados na condução deste experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética da instituição – 114/2009.

3.1 Instalações do experimento

Os animais foram mantidos em sistema de criação do tipo *raceway*, que consiste na utilização de alto volume de troca de água, ou seja, fluxo intenso. Foram empregadas caixas d'água de polietileno com volume máximo de 1000L por caixa (Figura 3), providas de fluxo individual de água na proporção de 960L/h, com registros e tubulações que permitem controlar a vazão de água de abastecimento, e com sistema de escoamento instalado no fundo de cada caixa, o que permite o auto-sifonamento dos resíduos depositados. Antes da realização das atividades, as caixas foram lavadas e enxaguadas, colocadas sob o sol e em seguida receberam a aplicação de sal comum nas suas paredes internas.



FIGURA 3 -Caixas d'água utilizadas na criação em sistema intensivo, situadas no setor de Piscicultura da EV/UFG

As caixas d'água encontraram-se instaladas a céu aberto e com acesso restrito ao local, sendo protegidas com arandela de arame para evitar o ataque de pássaros e outros possíveis predadores.

3.2 Seleção dos animais

Os animais selecionados foram oriundos do próprio sistema de produção do Setor de Piscicultura – EV/UFG, coletados animais por meio de captura com rede de arrastão. Após a captura, os animais foram pesados para a obtenção de homogeneidade da população a ser analisada durante o ensaio.

3.3 Alimentação

Os peixes foram alimentados com ração extrusada comercial (32% de proteína bruta) com seis a oito mm de diâmetro duas vezes ao dia, às 9h e 17h, durante todo o experimento. A dieta foi fornecida *ad libitum* e suspensa 12 horas antes do início das atividades com as exposições ao ar e a colheita das amostras.

TABELA 1 - Níveis de garantia dos nutrientes da ração fornecida aos animais durante o experimento

Níveis de garantia	(%)
Umidade (máx) (%)	12
Proteína bruta (mín) (%)	32
Extrato etéreo (min.) (%)	4
Matéria fibrosa (máx) (%)	10
Matéria mineral (máx.) (%)	12
Cálcio (máx) (%)	3
Fósforo (mín) (%)	0,6

Fonte: Rações VB (2009)

3.4 Delineamento experimental

O delineamento empregado no experimento foi o inteiramente casualizado (DIC), em que os animais foram distribuídos em oito caixas d'água de polietileno (n = 10 animais em cada caixa), sendo que cada caixa constituiu uma unidade experimental, o que totalizou oito tratamentos:

C – controle;

E30' – exposição por meia hora;

E60' – exposição por uma hora;

E90' – exposição por uma hora e meia;

E60'R30' – uma hora de exposição e meia hora de recuperação;

E60'R90' – uma hora de exposição e uma hora e meia de recuperação;

E90'R30' – uma hora e meia de exposição e meia hora de recuperação;

E90'R90' – uma hora e meia de exposição e uma hora e meia de recuperação.

Para promover a exposição ao ar dos animais foi adotado o seguinte procedimento: após o período de adaptação de aproximadamente 15 dias, inicialmente foi fechado o fluxo individual de entrada de água nas caixas, seguida pela remoção de água por sifonamento, que acarretou na diminuição do nível de água dentro das caixas, e conseqüentemente, da quantidade de oxigênio disponível. A água das caixas foi lentamente removida para promover a exposição ao ar por períodos diferenciados de tempo por meio de um sifão para não causar distúrbios aos animais. Uma fina camada de água de aproximadamente 5 cm foi deixada no fundo da caixa para manter a umidade do ambiente e evitar a dessecação, o que caracterizou o período de exposição (figura 4).



FIGURA 4 - Tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostas ao ar pela manutenção de uma fina camada de água

Para as avaliações de recuperação, as caixas foram acrescidas novamente de água por meio da abertura do fluxo individual para elevar o nível das caixas, a fim de se estabelecer as condições ambientais anteriores à exposição ao ar.

Para o procedimento de colheita das amostras de oito exemplares por caixa, foi empregado o puçá para a remoção dos animais, seguido pelo acondicionamento em baldes plásticos. Na caixa destinada ao grupo controle, não ocorreu à exposição ao ar e os animais ficaram expostos somente o tempo necessário para a colheita das amostras, não excedendo um minuto por colheita sanguínea.

Imediatamente após o período de exposição ao ar (E30', E60' e E90'), assim como de controle (C) e recuperação (E60'R30', E60'R90', E90'R30', E90'R90') e a colheita do sangue, os animais foram descartados e encaminhados posteriormente à venda. Ao final, obtiveram-se 64 amostras para análises hematológicas e bioquímicas.

3.5 Análises de água

As análises de água das caixas experimentais foram realizadas no Setor de Piscicultura diariamente, sendo observados os seguintes parâmetros: temperatura da água e do ambiente, oxigênio dissolvido, índice de saturação de oxigênio por meio da utilização de oxímetro microprocessado digital – AT 150 da AlfaKit®. A cada dois dias foi mensurada a vazão de cada caixa individualmente. Todos os dados obtidos foram registrados e arquivados para posterior análise, caso necessário (Figura 5).



FIGURA 5 - Oxímetro digital utilizado para monitorar o oxigênio dissolvido e registro dos dados coletados sobre a água

3.6 Análises hematológicas

Os peixes foram acondicionados em balde plásticos de 20L antes do procedimento de colheita do sangue, e posterior punção da veia caudal (Figura 6), utilizando seringas descartáveis de 5 mL sem anticoagulantes. Sendo que, os 2 mL iniciais foram acondicionados e homogeneizados em tubos plásticos previamente identificados, que continham EDTA como anticoagulante para a preservação das amostras destinadas a ensaios hematológicos (TAVARES-DIAS et al., 2000a, 2001). Os demais 3 mL da seringa foram armazenados em tubos plásticos sem anticoagulante para a obtenção de soro para as dosagens bioquímicas e tubos com anticoagulante fluoreto de sódio para a determinação de glicose plasmática.

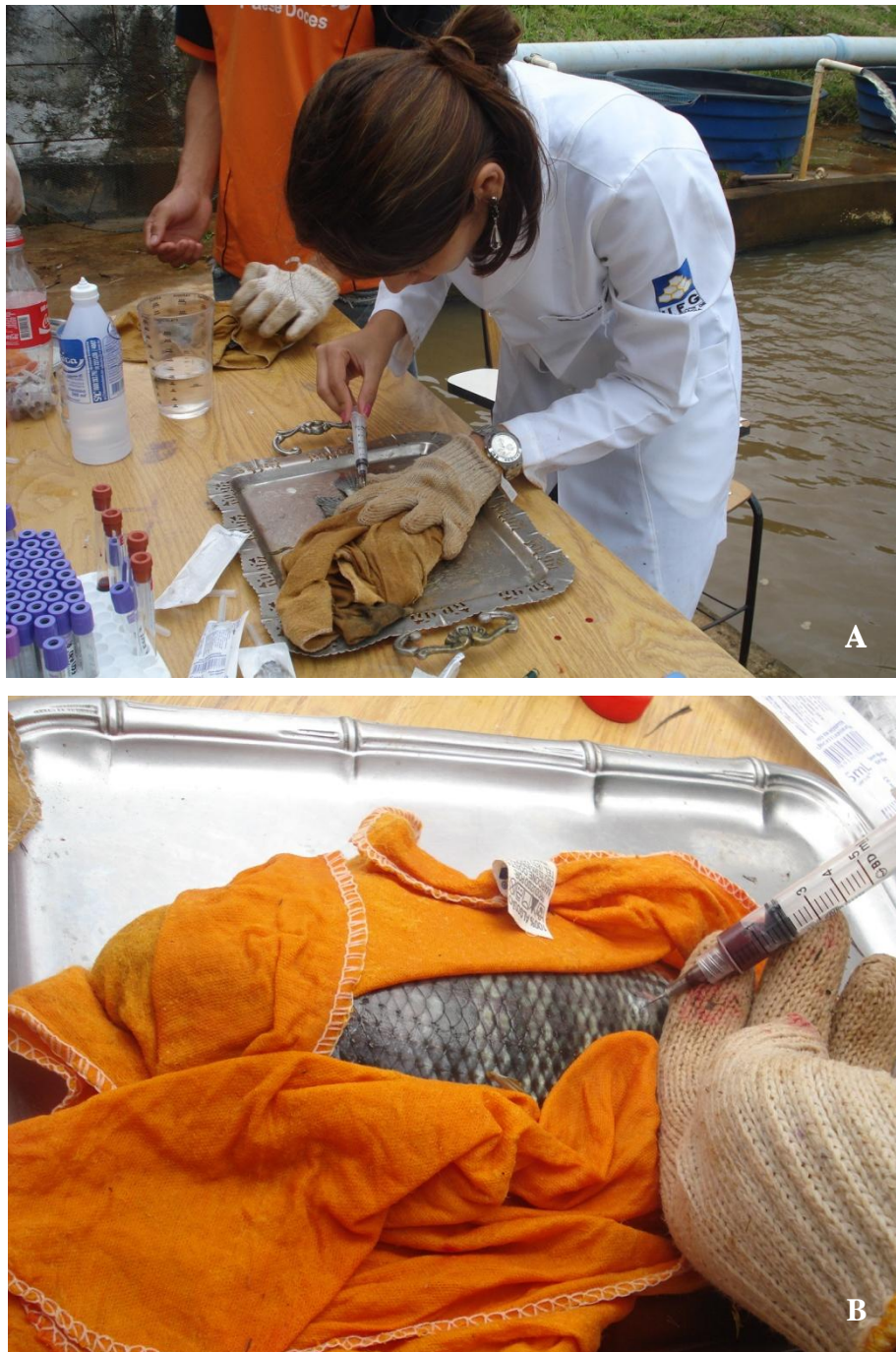


FIGURA 6- Punção realizada na veia caudal de exemplares de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). A. punção sanguínea com seringa de 5 mL sem anticoagulante. B. Volume puncionado em colheita sanguínea.

Após a obtenção das amostras, as mesmas foram encaminhadas ao Laboratório Multiusuário do Programa de Pós-Graduação da Escola de Veterinária, situado no Setor de Medicina

Veterinária Preventiva para o armazenamento e processamento das análises.

O hematócrito (Ht em %) foi determinado por meio da técnica de microhematócrito com capilares heparinizados, segundo a técnica de GOLDENFARB et al. (1971).

Para a contagem de eritrócitos (He/ μ L) foi empregada a solução de formol citrato modificada por OLIVEIRA-JUNIOR et al. (2008).

A concentração de hemoglobina total ([Hb]= g/dL) foi determinada a partir da técnica da cianeto hemoglobina, proposta por COLLIER (1944), com a utilização de reagente comercial Hemoglobina cat. 43 da Labtest[®], em que a leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro de onda de 540 nm.

A partir da determinação dos valores de hematócrito, contagem de eritrócitos e dosagem de hemoglobina total foram determinados os índices hematimétricos, utilizando-se as formulações estabelecidas por WINTROBE (1934).

Na contagem de leucócitos foi utilizada a metodologia proposta por BERRA et al. (1993), em que a contagem dos leucócitos totais foi realizada de forma direta em câmara de Neubauer.

Para a contagem diferencial (neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos) foram confeccionados esfregaços sangüíneos sem o uso de anticoagulantes, que posteriormente foram corados pancromaticamente pelo método de ROSENFELD (1947), e contados 100 células em cada extensão sangüínea, e foi estabelecido o percentual de cada componente celular.

No mesmo esfregaço sangüíneo usado na diferencial de leucócitos, foi quantificado o número de trombócitos (por μ L) utilizando-se da seguinte fórmula:

$$\text{Trombócitos} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ trombócitos na extensão} \times \text{n}^{\circ} \text{ de eritrócitos (por } \mu\text{L)}}{2000 \text{ eritrócitos contados na extensão sangüínea}}$$

3.7 Análises bioquímicas

Para a determinação quantitativa dos parâmetros bioquímicos foram utilizadas as frações de soro obtidas por centrifugação das amostras sem o uso de anticoagulante. As atividades enzimáticas foram determinadas na temperatura de 37°C, com a utilização de reagentes comerciais padronizados.

A concentração de glicose plasmática foi realizada por método enzimático, utilizando-se o reagente comercial Glicose HK Liquiform cat. 85 da Labtest[®], em que a leitura das amostras foi efetuada em espectrofotômetro de onda de 510 nm (TAVARES-DIAS & SANDRIM, 1999).

O nível sérico do colesterol foi determinado pelo método enzimático colorimétrico, em uma reação catalisada pela colesterol oxidase, com a utilização do reagente comercial Colesterol Liquiform cat. 76 da Labtest[®], que permitiu quantificar a concentração de colesterol por meio da metodologia enzimática (BERGMEYER, 1984), em que a leitura das amostras foi efetuada em espectrofotômetro de onda de 500 nm

A concentração de triglicérides foi realizada por método enzimático colorimétrico, em uma reação catalisada pela glicerolfosfato oxidase, empregando-se o reagente comercial Triglicérides Liquiform cat. 87 da Labtest[®], em que a leitura das amostras foi efetuada em espectrofotômetro de onda de 505 nm (TRINDER, 1969).

Para a determinação de proteína total utilizou-se o método do biureto modificado, utilizando-se o reagente comercial Proteína Total cat. 99 da Labtest[®], em que a leitura das amostras será efetuada em espectrofotômetro de onda de 545 nm (HENRY et al., 1974).

A concentração dos íons séricos foi determinada em fotômetro de chama (Zeiss M4Q2) para a emissão de sódio e potássio, enquanto que os íons cloreto e cálcio foram quantificados por metodologia colorimétrica empregando-se os reagentes comerciais Cloretos cat. 49 e Cálcio Liquiform cat.90 da Labtest[®], respectivamente, em que a leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro de onda de 470 nm e 570 nm.

3.8 Análise estatística

Os resultados das variáveis hematológicas e bioquímicas avaliadas foram submetidos à análise de variância pelo pacote computacional SISVAR (Sistemas para Análises de Variância), segundo FERREIRA (2000). Para as variáveis quantitativas que apresentaram homogeneidade e distribuição normal (hemácias, hematócrito, hemoglobina, índices hemantimétricos, leucócitos, percentual de distribuição celular - neutrófilos, linfócitos e trombócitos, proteína total, colesterol, glicose e os íons séricos) foram aplicadas ANOVA e teste de SNK (Student-Newman-Keuls) para se realizar a comparação entre os grupos ($P < 0,05$). Para as variáveis quantitativas que não apresentaram distribuição normal (percentual de distribuição celular - monócitos e eosinófilos, triglicérides) foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os peixes utilizados encontravam-se sem lesões externas e aparentemente isentos de ectoparasitas. Durante o período de cultivo dos animais para as análises, a temperatura variou de 24,3°C a 27,6°C, o oxigênio dissolvido na água oscilou de 5,18 mg/L a 5,70 mg/L e a taxa de saturação de oxigênio entre 66,1% e 71,8%. Os valores médios dos parâmetros hematológicos (hemácias – RBC, hematócrito – Ht, hemoglobina – Hb, volume corpuscular médio – VCM, hemoglobina corpuscular média – HCM, concentração de hemoglobina corpuscular média – CHCM e leucócitos totais) de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) antes e após a submissão de estresse por exposição ao ar estão apresentados nas tabelas 2 e 3.

TABELA 2 – Valores médios das características hematológicas de *O. niloticus* sob estresse por exposição ao ar

Tratamentos	Características						
	RBC ² , (10 ⁶ /μL)	Ht ² , (%)	Hb ² , (g/dL)	VCM ² , (%)	HCM ² , (pg)	CHCM ² , (%)	Leucócitos ¹ , (μL)
Controle	1,757	29,75	7,97	169,0	45,7	26,9	13854,62b
E30'	1,480	29,62	8,12	204,8	57,9	27,9	11928,50ab
E60'	1,490	29,87	8,66	203,2	58,9	29,0	9784,00ab
E90'	1,552	29,25	8,20	189,7	53,6	28,5	7084,50a
E60'R30'	1,494	28,75	7,60	193,2	51,5	26,8	9377,87ab
E60'R90'	1,524	29,00	8,23	193,2	54,9	28,5	11979,00ab
E90'R30'	1,585	28,62	7,88	182,0	50,0	27,7	6710,12a
E90'R90'	1,536	29,57	8,94	193,2	58,5	30,9	10749,00ab
Média	1,552	29,30	8,203	191,2	53,9	28,3	10183,45
Coef. Variação, %	11,84	9,77	11,80	13,31	19,62	16,31	35,67
Erro-padrão	0,065	1,012	0,342	8,999	3,741	1,631	1284,383
Probabilidade	0,083	0,979	0,165	0,169	0,171	0,722	0,002

¹ Médias seguidas de mesmas letras minúscula, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste SNK, 5% de significância

² (P>0,05)

Os tratamentos empregados não influenciaram (P>0,05) a contagem total de hemácias, o percentual de hematócrito, o teor de hemoglobina e os índices hemantimétricos (VGM, HCM e CHCM). A contagem total das células leucocitárias apresentou valores progressivamente menores de acordo com o aumento do período de exposição (estresse mais intenso). De acordo com RANZANI-PAIVA (1991), as oscilações dos valores hematológicos em peixes são

influenciadas pela temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade e pH, assim como por estresse, ciclo sazonal e fatores endógenos como o sexo, estágio de maturação gonadal, estado nutricional e doenças. O autor enfatiza que essa variação ocorre não só entre espécies, mas também entre indivíduos da mesma espécie, de acordo com as condições fisiológicas dos animais.

Neste estudo, comparando-se com dados obtidos em tilápias-do-Nilo no Brasil, o número de eritrócitos encontrado foi semelhante ao observado por BARROS et al. (2002), MARTINS et al. (2004) e GHIRALDELLI et al. (2006). Entretanto, estes resultados foram divergentes ao encontrados por AZEVEDO et al. (2006), que encontraram valores menores dessa variável ao se trabalhar com exemplares mantidos em piscicultura consorciada com suínos. TAVARES-DIAS & MORAES (2003) avaliaram exemplares machos de *O. niloticus* e *O. rendalli* Boulenger, 1896 mantidos em pesque-pague e encontraram resultados similares ao observado nessa pesquisa.

A média geral por tratamento do percentual de hematócrito mostrou uniformidade e dentro da normalidade, sendo similar aos dados obtidos por TAVARES-DIAS & FAUSTINO (1998), YILDIZ & PULATSÜ (1999), TAVARES-DIAS et al. (2000a e b), TAVARES-DIAS & MORAES (2003), BENLI & YILDIZ (2004), AZEVEDO et al. (2006), mas menores do que o verificado em condições de laboratório por MARTINS et al. (2004). Esse parâmetro pode, em parte, revelar o nível de estresse a que os peixes estão submetidos, embora na presença de diferentes agentes estressantes tais como peixes expostos a estímulos únicos e consecutivos de estresse, possa variar (MARTINS et al., 2002).

O teor de hemoglobina encontrado no ensaio foi análogo aos observados por TAVARES-DIAS & FAUSTINO (1998), UEDA et al. (1997) TAVARES-DIAS et al. (2000a). Porém, foi maior do que o encontrado por SILVEIRA & RIGORES (1989) ao trabalhar em *O. aureus*, e por WEPENER et al. (1992) ao avaliar *Tilapia sparrmanii*. Todavia, tais discrepâncias entre tilápias do mesmo gênero provavelmente se devem a escolha do anticoagulante utilizado na colheita das amostras, em que amostras oriundas de plasma

heparinizado são maiores quando comparados as amostras obtidas com a utilização de EDTA (TAVARES-DIAS & SANDRIM, 1998).

Neste trabalho, o número total de trombócitos foi obtido a partir das extensões sangüíneas e não em hemocitômetro. Tal procedimento tornou o resultado mais seguro, pois o núcleo da hemácia de peixes poderia ser confundido com trombócito, se o exame fosse feito através de hemocitômetro. Em peixes, além de sua influência na coagulação do sangue, pouco se conhece sobre as funções dos trombócitos, por serem células ainda pouco estudadas, mas acredita-se que possam estar relacionadas com o sistema de defesa (presente em exsudatos inflamatórios e atividade fagocitária), como relatado por MATUSHIMA & MARIANO (1996). Por este motivo, optou-se por sua contagem e distribuição juntamente com os leucócitos, denominando-se esse conjunto de células sanguíneas de defesa orgânica (MATUSHIMA & MARIANO, 1996; AZEVEDO et al., 2006). Os trombócitos foram contados juntamente com os diversos tipos de leucócitos, todavia, eles não foram considerados como célula de linhagem leucocitária (MATUSHIMA & MARIANO, 1996).

Verificou-se neste ensaio, a ocorrência de diferença significativa somente para a variável leucocitária, em que o E90' foi divergente do controle quanto à exposição, sendo similar aos demais tratamentos. Isso demonstra que, a quantidade de leucócitos circulantes foi inversamente proporcional ao intervalo de exposição dos animais ao estresse por exposição ao ar. Esses resultados corroboram os descritos por FALCON et al. (2008), que demonstraram que o estresse pelo frio pode levar a uma queda da resistência imunológica dos peixes, o que contribui para quadros de infecção patogênica.

Essa redução no número total de células brancas pode ser ainda justificada pela variação das células analisadas, sendo que os linfócitos, os quais estão relacionados à produção de anticorpos e resposta celular humoral, representam a quase totalidade dos leucócitos. Resultados análogos foram reportados por BARTON & IWAMA (1991) ao constatarem a queda do número de células brancas totais e de linfócitos, pós-estresse.

TABELA 3 – Distribuição percentual das células de defesa orgânica em *O. niloticus* sob estresse por exposição ao ar. Os dados correspondem aos valores médios \pm desvio padrão

Tratamentos	Características				
	Neutrófilo ¹ (%)	Linfócito ¹ (%)	Monócito ^{2,3} (%)	Eosinófilo ^{2,3} (%)	Trombócito ² (%)
Controle	13,3 \pm 4,9b	37,8 \pm 10,4a	4,9 \pm 3,9	0,25 \pm 0,5	43,9 \pm 12,9
E30'	14,3 \pm 6,1b	34,0 \pm 7,7ab	5,3 \pm 2,9	0,5 \pm 0,8	46,0 \pm 9,8
E60'	22,1 \pm 6,7ab	29,1 \pm 11,3ab	4,6 \pm 2,6	0,8 \pm 0,9	43,4 \pm 7,9
E90'	23,0 \pm 8,7ab	26,4 \pm 9,3ab	5,1 \pm 2,7	0,8 \pm 1,2	44,8 \pm 7,5
E60'R30'	20,6 \pm 6,3ab	29,5 \pm 7,4ab	4,6 \pm 2,0	0,5 \pm 0,8	44,8 \pm 6,2
E60'R90'	24,8 \pm 6,8a	26,8 \pm 9,4ab	5,1 \pm 1,7	0,8 \pm 0,7	42,6 \pm 7,5
E90'R30'	26,8 \pm 7,3a	21,1 \pm 8,8ab	5,1 \pm 2,7	0,8 \pm 0,9	46,3 \pm 7,5
E90'R90'	25,1 \pm 9,6a	26,0 \pm 11,4b	5,1 \pm 2,4	0,6 \pm 0,8	43,1 \pm 7,2
Média	21,4	28,7	5,00	0,6	44,3
Coef. Variação, %	33,69	33,26	50,59	137,82	19,26
Erro-padrão	2,544	3,379	0,894	0,289	3,017
Probabilidade	0,001	0,034	0,998	0,809	0,983

¹ Médias seguidas de mesmas letras minúscula, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste SNK, 5% de significância

² (P>0,05)

³ Variáveis submetidas ao teste de Kruskal-Wallis (P<0,05), por apresentarem Coef. de Variação >50%.

Observou-se que houve predominância de linfócitos seguidos de neutrófilos e monócitos na contagem diferencial de leucócitos (figura 7), semelhante ao observado por EZZAT et al. (1974), LEA MASTER et al. (1990), TAVARES-DIAS & FAUSTINO (1998), TAVARES-DIAS et al. (2000b), TAVARES-DIAS & MORAES (2004) e AZEVEDO et al. (2006). Outros autores, UEDA et al. (1997) e TAVARES-DIAS et al. (2000a), verificaram predominância de neutrófilos na contagem diferencial. A predominância de linfócitos no sangue de peixes não está bem esclarecida. Nos tecidos, as células mononucleares (linfócitos e macrófagos) prevalecem na reação de defesa do organismo, porém, em situações de estresse, o número de linfócitos circulantes diminui. Dessa forma, os linfócitos em peixes podem estar presentes no processo inflamatório, na resposta humoral e também mediada por células frente a diversas situações (IWAMA & NAKANISHI, 1996).

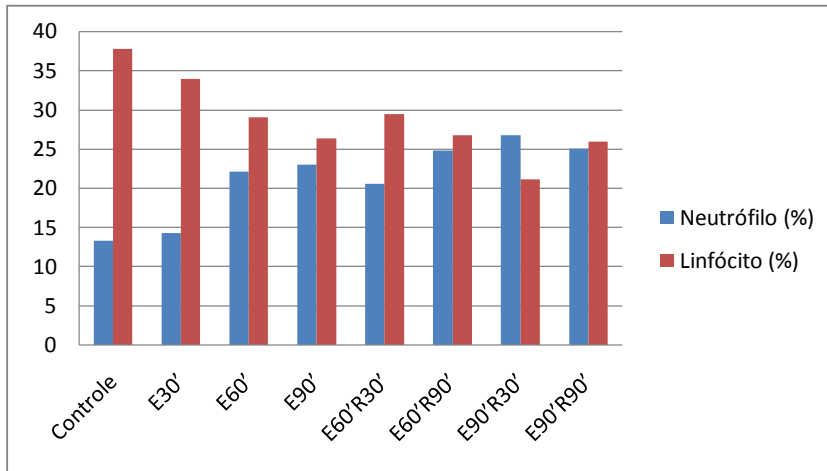


FIGURA 7 – Distribuição percentual de neutrófilos e linfócitos em exemplares de *O. niloticus* sob estresse por exposição ao ar

PICKERING (1981) relatou que a queda de linfócitos pode estar relacionada com redução da capacidade do peixe de se defender contra agentes patógenos. Trata-se do resultado que reafirma a hipótese anteriormente apresentada por BARTON & IWAMA (1991) e demonstra a severidade do estresse, o qual poderia, por período prolongado, vencer o sistema de defesa do organismo. Pois, juntamente com a perda das funções fagocitárias das células de defesa orgânica, o número total de leucócitos circulantes foi também reduzido em peixes estressados.

Os neutrófilos são componentes do sistema imunológico que formam a primeira linha de defesa celular contra agentes invasores e têm como função a fagocitose. Sob estresse agudo um aumento da resposta imune inata tem sido descrita, enquanto os efeitos deletérios têm sido observados como consequência de estresse crônico (VAZZANA et al., 2002). Os monócitos são células com função fagocitária e de eliminação de bactérias. São precursores de macrófagos e consideradas células essenciais à vida (FELDMAN et al., 2000). A função normal dos linfócitos dos peixes é dependente da adaptação da membrana lipoprotéica; portanto, a composição dos ácidos graxos e a temperatura ambiente estão descritas como fatores que determinam a fluidez e permeabilidade das membranas (TAVARES-DIAS & MORAES, 2004).

Nos tratamentos estabelecidos como períodos de recuperação (E60'R30', E60'R90', E90'R30' e E90'R90') frente ao estresse ao qual foram submetidos os animais, verificou-se que os intervalos de tempo empregados não foram satisfatórios para verificar o retorno dos valores médios das células de defesa aos valores basais (controle). Comportamento semelhante foi observado no peixe onívoro híbrido tambacu (*Piaractus mesopotamicus* macho x *Colossoma macropomum* fêmea) por MARTINS et al. (2002), ao avaliarem estresse simples e consecutivo. Isso sugere que os animais avaliados no presente estudo iriam precisar de mais tempo para retornar aos valores basais, uma vez que, o maior intervalo de tempo empregado no ensaio foi insuficiente para o retorno da contagem de linfócitos e neutrófilos aos valores médios obtidos com os exemplares do grupo controle.

Os valores médios para as variáveis bioquímicas analisadas durante o experimento encontram-se relacionadas na tabela 4 e 5.

TABELA 4 – Variáveis bioquímicas de *O. niloticus* sob estresse por exposição ao ar.

Tratamentos	Características			
	Prot. Total ² (g/dL)	Colesterol ¹ (mg/dL)	Triglicérides ^{2,3} (g/dL)	Glicose ¹ , (mg/dL)
Controle	2,83	99,62ab	216,91	39,75d
E30'	2,97	100,50ab	251,01	79,00ac
E60'	2,92	101,37ab	215,63	67,25c
E90'	2,83	115,57a	174,86	84,00abc
E60'R30'	2,91	106,62a	251,63	97,12ab
E60'R90'	2,80	76,75b	168,22	103,87b
E90'R30'	2,97	94,25ab	141,62	99,75ab
E90'R90'	3,11	98,86ab	140,82	88,42ab
Média	2,92	99,19	195,09	82,39
Coef. Variação, %	10,02	17,30	55,61	18,84
Erro-padrão	0,103	6,068	38,354	5,487
Probabilidade	0,477	0,004	0,234	0,001

¹ Médias seguidas de mesmas letras minúscula, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste SNK, 5% de significância

² (P>0,05)

³ Variáveis submetidas ao teste de Kruskal-Wallis (P<0,05), por apresentarem Coef. de Variação acima de 50%.

Neste experimento, a glicemia foi afetada (P<0,05), pelos diferentes tratamentos avaliados, o controle apresentou menor valor glicêmico que os demais tratamentos empregados (figura 8). Os tratamentos E30', E60' e E90' demonstraram resultados similares entre si, com resposta

intermediária para essa variável, enquanto o tratamento E60'R90' apresentou maior glicemia, embora seu resultado seja análogo aos demonstrados pelos tratamentos E90'R30' e E90'R90'. Em contraste, na exposição ao ar dos exemplares após 30, 60 e 90 minutos, assim como o intervalo de recuperação de 30 minutos após exposição por 60 minutos, pode-se caracterizar a elevação nos níveis de glicose como consequência de uma situação de estresse. A glicose plasmática é bom indicador de estresse, pois as alterações são facilmente detectáveis e sua avaliação pode ser realizada com medidores de glicose de simples utilização (GOMES et al., 2005, SIMÕES & GOMES, 2009), para diagnosticar a ocorrência de estresse fisiológico (WEDEMEYER et al., 1990).

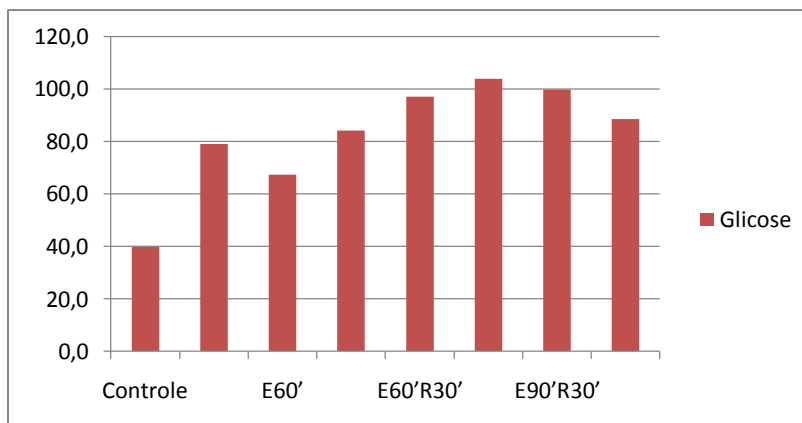


FIGURA 8 – Valores médios de glicose plasmática em tilápias-do-Nilo (*O. niloticus*) sob estresse por exposição ao ar

Este resultado evidencia que a exposição ao ar é estressante aos peixes, e que tais dados corroboram aos encontrados por MARTINS et al. (2004), SILVA et al. (2009), SIMÕES & GOMES (2009). Contraditoriamente, DERIGGI et al. (2006) verificaram valores médios menores para esta variável quando trabalharam com respostas metabólicas de *O. niloticus* submetidas ao manuseio e ao anestésico eugenol.

A proteína total e os triglicerídeos não foram afetados ($P > 0,05$) pelos diferentes tratamentos aos quais foram submetidos os animais. A determinação da concentração de proteína total no plasma e de suas frações é de grande importância clínica, pois sua concentração plasmática

é responsável pela pressão coloidosmótica desse líquido corporal. a proteína total é alterada principalmente por mudanças no volume plasmático, em que a saída dos fluidos do plasma é causada por desequilíbrio osmótico entre os compartimentos extracelular e intracelular, e qualquer estresse que induz tal desequilíbrio pode levar a um aumento de proteína no plasma (MCDONALD & MILLIGAN, 1992). BARROS et al. (2002) e MELO et al. (2009) verificaram valores médios de proteína total superiores aos encontrados neste trabalho. Dessa forma, os resultados deste estudo permitem concluir, de forma indireta, que, embora tenham sido utilizados diferentes períodos de exposição e de recuperação, esses não determinaram prejuízo aparente e o nível de proteína e energia das rações foi adequado para manter o desempenho dos peixes.

O colesterol sérico foi menor no tratamento E60'R90' em relação aos tratamentos E90' e E60'R30', sendo que os demais tratamentos não se diferenciaram entre si. Isso demonstra que o colesterol foi consumido para obtenção de pregnenolona, que é precursora na síntese de cortisol, que por sua vez, estaria atuando sobre a fisiologia do animal promovendo alterações metabólicas (OBA et al., 2009).

TABELA 5 – Variáveis eletrolíticas de *O. niloticus* sob estresse por exposição ao ar

Tratamentos	Características			
	Cálcio ¹ , (mg/dL)	Cloreto ² , (mEq/L)	Sódio ¹ , (g/dL)	Potássio ² , (mg/dL)
Controle	12,53ab	138,75	137,50ab	3,12
E30'	13,10ab	136,87	137,12ab	3,26
E60'	12,82ab	137,75	135,25b	3,02
E90'	13,22a	136,86	142,50ab	3,12
E60'R30'	12,12ab	137,00	139,00ab	3,00
E60'R90'	12,28ab	133,87	137,12ab	3,00
E90'R30'	12,33ab	132,12	146,37a	3,08
E90'R90'	11,73b	134,00	144,37ab	3,02
Média	12,52	135,90	139,90	3,08
Coef.	7,53	3,45	4,82	19,07
Varição, %	0,333	1,659	2,386	0,207
Probabilidade	0,039	0,087	0,013	0,987

¹ Médias seguidas de mesmas letras minúscula, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste SNK, 5% de significância

² (P>0,05)

Observa-se que houve diferenças significativas ($P > 0,05$) nos resultados de cálcio e sódio, em virtude dos diferentes tratamentos empregados. O menor valor de cálcio foi obtido no E90'R90', sendo divergente do E90' e similar aos demais tratamentos empregados na condução do ensaio. ARAUJO et al. (2004) verificaram valores inferiores aos obtidos neste ensaio, ao se utilizar exemplares onívoros de tambaqui (*Colossoma macropomun*) submetidos a banhos terapêuticos de formalina. O equilíbrio nos níveis de cálcio deve ser mantido para o perfeito funcionamento das funções neuromusculares e manutenção da homeostase orgânica (SHIAU & HWANG, 1993; BJÖRNSSON et al., 1999).

Durante o estresse, o peixe apresenta aumento no fluxo sanguíneo e na permeabilidade das brânquias, principalmente por ação de catecolaminas e cortisol, o que facilita o transporte de oxigênio para atender a demanda biológica dos tecidos. Entretanto, a mudança da permeabilidade branquial leva à perda de eletrólitos sanguíneos e distúrbios osmorregulatórios nos peixes de água doce (MCDONALD & MILLIGAN, 1997). O sódio por sua vez foi maior no E90'R30' quando comparado ao tratamento E60' que apresentou o menor índice para esse eletrólito, entretanto o resultado obtido foi semelhante aos evidenciados nos demais tratamentos.

Nesse ensaio, os íons cloretos e potássio não se alteraram após os estímulos estressantes. Os resultados obtidos foram similares aos demonstrados por CHAGAS et al. (2003), ao analisarem eletrólitos de tambaquis (*Colossoma macropomun*) oriundos de cultivos em tanque-rede. Esses autores verificaram que não houve diferença significativa para os íons séricos cloretos, e potássio plasmático de exemplares no período anterior à exposição, bem como nos tempos de exposição de 30, 60 e 120 minutos e após 24 horas de recuperação.

Assim, estas informações e conhecimentos sobre as variáveis hematológicas e bioquímicas da tilápia-do-Nilo submetidas ao estresse por exposição ao ar podem ser utilizadas pelo piscicultor como ferramenta de avaliação do seu sistema de criação.

5 CONCLUSÃO

O estresse por exposição ao ar em intervalos distintos constituiu um fator estressante para os animais, sendo observada a leucopenia, com a ocorrência de linfopenia e neutrofilia, hiperglicemia, e alterações iônicas em sódio e cálcio. O tempo de recuperação dos animais não promoveu o retorno às condições fisiológicas basais.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, L. D.; CHAGAS, E. C.; GOMES, L. C.; BRANDÃO, F. R. Efeito de banhos terapêuticos com formalina sobre indicadores de estresse em tabaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 3, p. 217-221, 2004.

AZEVEDO, T. M. P.; MARTINS, M. L.; YAMASHITA, M. M.; FRANCISCO C. J. Hematologia de *Oreochromis niloticus*: comparação entre peixes mantidos em piscicultura consorciada com suínos e pesque-pague no vale do rio Tijucas, Santa Catarina, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 41-49, 2006.

BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; KLEEMANN, G. K.; HISANO, H.; ROSA, G. J. M. Níveis de vitamina C e ferro para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, p. 2149-2156, 2002.

BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**, New York, v.1, p.3-26, 1991.

BENLI, A. C. K.; YILDIZ, H. Y. Blood parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) spontaneously infected with *Edwardsiella tarda*. **Aquaculture research**, Oxford, v.35, p.1388-1390, 2004.

BERGMEYER, H. U. **Methods of enzymatic analysis**, 3.ed., Weinheim: Verlag Chemie Publishers, v. 8, p. 141-148, 1984.

BERRA, J. A. P.; FIOCCO, R. A.; RAMOS, R. O.; RAMOS, S. M. Técnicas para contagem global de globules brancos em peixes. **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v.6, n.2, p.63-66, 1993.

BJÖRNSSON, B. T.; PERSSON, P.; LARSSON, D.; JOHANNSSON, S. H.; SUNDELL, K. Calcium balance in teleost fish and endocrine control mechanisms. In: DANKS, J.; DACKER, C.; FLIK, G.; GAY, C. (Ed.). **Calcium metabolism**. Bristol: BioScientifica, 1999. p.1-10.

CANNON, W. Organization for physiology homeostase. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 9, p.399-431, 1929.

CANNON, W. **The wisdom of the body**. New York: Peter Smith Publishing Incorporation, 1939. 333p.

CARMICHAEL, G. J. Long distance truck transport of intensively reared largemouth bass. **The Progressive Fish-Culturist**, Bethesda, v. 46, n.2, p.111-115, 1984.

CARVALHO, C. S.; FERNANDES, M. N, Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus*

scrofa at low and high pH. **Aquaculture**, Atlantic, v. 251, n.1, p.109-117, 2006.

CHAGAS, E. C.; LOURENÇO, J. N. P.; GOMES, L. C.; VAL, A. L. Desempenho e estado de saúde de tambaquis cultivados em tanques-rede sob diferentes densidades de estocagem. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 12., 2003, Goiânia. **Anais...** Jaboticabal: Aquabio, 2003. p.83-93.

COLLIER, H. B. The standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, Ottawa, v. 50, p.550-552, 1944.

COSTA, O. F. T.; FERREIRA, D. J. S.; MENDONÇA, F. L. P.; FERNANDES, M. N. Susceptibility of the amazonian fish, *Colossoma macropomun* (Serrasalminae) to short-term exposure to nitrite. **Aquaculture**, Atlantic, v. 232, p.627-636, 2004.

DERIGGI, G. F.; INOUE, L. A. K. A.; MORAES, G. Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an alternative anesthetic **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 28, n. 3, p. 269-274, 2006.

DONALDSON E. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In: PICKERING, A. D. (Ed.) **Stress and fish**. London: Academic Press, 1981. p.11-47.

EZZAT, A. A.; SHABANA, M. B.; FARGHALY, A. M. Studies on the blood characteristics of *Tilapia zilli* (Gervais) I. Blood cells. **Journal of Fish Biology**, London, v. 6, p. 1-12, 1974.

FALCON, D. R.; BARROS, M. M., PEZZATO, L. E.; SOLARTE, W. V. N.; GUIMARÃES, I. G. Leucograma da tilápia-do-nilo arraçoada com dietas suplementadas com níveis de vitamina c e lipídeo submetidas a estresse por baixa temperatura. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 3, p. 543-551, 2008.

FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344 p.

FERREIRA, D. F. **Sistema para Análise de Variância para Dados Balanceados (SISVAR)**. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2000. 92p.

FERNANDES, M. O.; VOLPATO, G. L. Estresse social e crescimento de peixes. In: Congresso de Etiologia, 11. 1993. Bauru. **Anais...** Bauru, São Paulo, 1993. p. 29-141.

GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL, E.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit

determination. **American Journal of Clinical Pathology**, New York, v. 56, p. 35-39, 1971.

GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C.; CRESCÊNCIO, R.; PESSOA, M. A.; SILVA, A. L. F.; CARVALHO, E. S.; ANDRADE JUNIOR, G. ; BRITO, M. V. T. ; PORTO, M. S. A. Validation of a simple portable instrument for measurement of blood glucose in four amazon fishes. **Journal of Aquaculture in the Tropics**, Calcutta, v. 20, p. 101-109, 2005.

GHIRALDELLI, L.; MARTINS, M. L.; YAMASHITA, M. M.; JERÔNIMO, G. T. Haematology of *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) and *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) maintained in different conditions of handling and feeding from the State of Santa Catarina, Brazil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 28, n. 4, p. 319-325, 2006.

HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WINKELMAN, J. W. **Clinical Chemistry: Principles and Technics**, 2.ed. New York: Harper & Row, 1974, p. 405-435.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA: Diretoria de Uso Sustentável da Biodiversidade e Florestas. **Estatística da Pesca 2007** [on-line], 2007. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/documentos/estatistica-pesqueira/> Acesso em: 05 jan. 2010.

IWAMA, G. K. Intensive fish productions, **Guided Independent Study – Course Manual UBC Access**, The University of British Columbia, Vancouver, 1993.

IWAMA, G.; NAKANISHI, T. **The fish immune system**. London: Academic Press, 1996. 380p.

LEA MASTER, B. R.; BROCK, J. A; FUJIOKA, R. S.; NAKAMURA, R. M. Hematologic and blood chemistry values for *Sarotherodon melanotheron* and a red hybrid tilapia in freshwater and seawater. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 97A, n. 4, p. 525-529, 1990.

KUBITZA, F.; ONO, E. A.; CAMPOS, J. L. Os caminhos da produção de peixes nativos no Brasil: Uma análise da produção e obstáculos da piscicultura. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 102, p. 14-23, 2007.

MARTINS, M. L.; MORAES, F. R.; FUJIMOTO, R Y.; NOMURA, D. T.; FENERICK Jr, Respostas do híbrido tambacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 macho x *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 fêmea) a estímulos simples e consecutivos de captura. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 195-204, 2002.

MARTINS, M. L.; PILARSKY, F.; ONAKA, E. M.; NOMURA, D. T.; FENERICK Jr.; RIBEIRO, K.; YIAZAKI, D. M. Y.; CASTRO, M. P.; MALHEIROS, E. B. Hematologia e resposta inflamatória aguda em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) submetida aos estímulos

único e consecutivo de estresse de captura. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 30, p. 71-80, 2004.

MATUSHIMA, E. R.; MARIANO, M. Kinetics of the inflammatory reaction induced by carrageenin in the swimbladder of *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 33, p. 5-10, 1996.

MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E. M. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v. 106, n. 3, p. 201-212, 1977.

McDONALD, D. G.; MILLIGAN, C. L. Chemical properties of the blood. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J.; FARREL, A.P. (Eds.). **Fish Physiology**. San Diego: Academic, 1992. v.XIIB, p.55-134.

McDONALD, G.; MILLIGAN, L. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: IWANA, G.K. et al. (Ed.). **Fish stress and health in aquaculture**. New York: Cambridge University Press, 1997. cap. 5, p. 119-144.

MELO, D. C.; OLIVEIRA, D. A. A.; MELO, M. M.; JÚNIOR D. V.; TEIXEIRA, E. A.; GUIMARÃES, S. R. Perfil protéico de tilápia nilótica chitralada (*Oreochromis niloticus*), submetida ao estresse crônico por hipóxia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 5, p. 1183-1190, 2009.

MERIGHE, G. K. F.; PEREIRA-DA-SILVA, E. M.; NEGRÃO, J. A.; RIBEIRO, S. Efeito da Cor do Ambiente sobre o Estresse Social em Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 828-837, 2004.

MOBERG, G. P. Biological response to stress: Key to assessment of well-being? In: MOBERG, G. P. (ed.) **Animal stress**. Bethesda: American Physiological Society, 1985. p. 27-29.

MOBERG, G. P. Biological response to stress: implications for animal welfare. In: MOBERG, G.; MENCH, J. A. **The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare**. Davis: University of California, 2000. p. 1-22.

MORAES, G.; POLEZ, V. L. P; IWAMA, G. K. Biochemical responses of two erythrinidae fish to environmental ammonia. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 64, n. 1, p. 95-102, 2004.

NANDI, J. The structure of the interrenal gland in teleost fishes. **University of California Publications in Zoology**, Los Angeles, v. 65, p. 129-211, 1962.

OBA, E. T.; MARIANO, W. S.; SANTOS, L. R. B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. TAVARES-

DIAS, M. (Org). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Emprapa Amapá, 2009, cap.8, p. 226-247.

OLIVEIRA-JUNIOR, A. A.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J. L. Biochemical and hematological reference ranges for Amazon freshwater turtle, *Podocnemis expansa* (Reptilia: Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells. **Research in Veterinary Science**, London, v. 86, p. 146-151, 2008.

PERRY, S. F.; LAURENT, P. Environmental effects on fish gill structure and function. In: RANKIN, J. C.; JENSEN, F. B. **Fish Ecophysiology**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 231-264.

PICKERING, A. D. (Ed.). **Stress and fish**. London: Academic Press, 1981.

RANZANI-PAIVA, M. J. T. Hematologia de peixes, In: SANTOS, H. S. L. **Histologia de peixes**, São Paulo: FCAVJ-UNESP, 1991, p. 65-70.

RIJNBERK, A.; MOL, J. A. Adrenocortical function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animal**. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. p. 533-568.

ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grunwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. **Memórias do Instituto Butantan**, São Paulo, v. 20, p. 329-334, 1947.

SCORVO-FILHO, J. D. Panorama da Aqüicultura Nacional. In: **Informes Técnicos** – Associação Catarinense de Aqüicultura, 2003. Disponível em:

http://www.acaq.org.br/arquivos/Panorama_aquicultura_nacional.pdf.

Acesso em: 18 set. 2009.

SHIAU, S. Y.; HWANG, J. Y. Vitamin D requirements of juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Bulletin of the Japanese Society for Scientific Fisheries**, Tokyo, v. 59, p. 553-558, 1993.

SIGISMONDI, L. A.; WEBER, L. J. Chances in avoidance response time of juvenile Chinook salmon exposed to multiple handling stress. **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v. 117, p. 196-201, 1988.

SILVA, R. D. SILVA; ROCHA, L. O.; FORTES, B. D. A.; RODRIGUES, C. P. F.; LOBO, J. R.; FALEIRO, M. B. R.; DE PAULA, F. G.; VIEIRA, D. Determinação de glicose plasmática em exemplares adultos de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) por glicosímetro digital portátil e por método enzimático. In: Congresso de Ensino Pesquisa e Extensão, 6., 2009, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG, 2009, p. 5914-5919.

SILVEIRA, R.; RIGORES, C. Características hematológicas normales de *Oreochromis niloticus* em cultivo. *Revista Latinoamericana de Acuicultura*, Havana, v. 39, p. 54-56, 1989.

SMITH, L. S. **Introduction of Fish Physiology**. Los Angeles: T. H. F. Publications Incorporation, 1982. 353 p.

SIMÕES, L. N.; GOMES, L. C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 3, p. 613-620, 2009.

SOUZA, M. L. R.; MARANHÃO, T. C. F. Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L), em função do peso corporal. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 897-901, 2001.

TAVARES-DIAS, M.; FAUSTINO, C. D. Parâmetros hematológicos da Tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) em cultivo extensivo. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 14, p. 254-263, 1998.

TAVARES-DIAS, M.; SANDRIM, E. F. S. Influence of anticoagulants and blood storage on hematological values in tambaqui, *Colossoma macropomum*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 20, p. 151-155, 1998.

TAVARES-DIAS, M.; SANDRIM, E. F. S. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. I. Série vermelha e dosagens de cortisol e glicose do plasma sanguíneo de espécimes de *Colossoma macropomum* em condições de cultivo. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 20, p. 157-160, 1999a.

TAVARES-DIAS, M.; SANDRIM, E. F. S.; CAMPOS-FILHO, E. Características hematológicas do tambaqui *Colossoma macropomum* Cuvier (Osteichthyes:Characidae) em sistema de monocultivo intensivo. II. Leucócitos. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 16, p. 175-184, 1999.

TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S. H. C.; MARTINS, M. L.; MORAES, F. R. Características hematológicas de *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) cultivadas intensivamente em "pesque-pague" do município de Franca, São Paulo, Brasil. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 16, n. 2, p. 76-82, 2000a.

TAVARES-DIAS, M.; FRASCÁ-SCORVO, C. M. D.; NOVATO, P. F. C.; MORAES, F.R. Hematological characteristics of hybrid Florida red tilapia, *Oreochromis urolepis* hornorun x *O. mossambicus* under intensive rearing. In: INTERNATRIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5., 2000, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Panorama da Aqüicultura Magazine, 2000b. p. 533-541.

TAVARES-DIAS, M.; SANDRIM, E. F. S.; MORAES, F. R.; CARNEIRO, P. C. F. Physiological responses of "tambaqui" *Colossoma macropomum*

(Characidae) to acute stress. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 43-48, 2001.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. Características hematológicas da *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em “pesque-pague” de Franca. São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 19, n. 1, p. 107-114, 2003.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Villimpress, Ribeirão Preto, SP, 2004.144 p,

TRINDER, P. **Annals of Clinical Biochemistry**, London, v. 6, p. 24, 1969

UEDA, I. K.; EGAMI, M. I.; SASSO, W. S.; MATUSHIMA, E. R. Estudos hematológicos em *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) (Cichlidae, Teleostei) – Parte I **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 270-275, 1997.

VAZZANA, M.; CAMMARATA, M.; COOPER, E. L.; PARRINELLO, N. Confinement stress in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) depresses peritoneal leukocyte cytotoxicity. **Aquaculture**, Atlantic, v. 210, p. 231-243, 2002.

WEDEMEYER, G. A.; BARTON, B. A.; McLEAVY, D. J. Stress and acclimation. In: SCHRECK, C. B.; MOYLE, P. B. (Ed.). **Methods for fish biology**. Bethesda: American Fisheries Society, 1990. p. 451-490.

WEDEMEYER, G. A.; Mc LEAY, D. J.; GOODYEAR, C. P. Assessing the tolerance of fish and fish populations to environmental stress: The problems and Methods of monitoring. In: Cairns, V.W.; Hodson, P.V.; Nriagu, J. O. (Ed.) **Contaminant effects on fisheries**, New York: Wiley, 1984. p. 163-95.

WENDERLAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, Washington, v. 77, n. 4, p. 591-625, 1997.

WEPENER, V.; VUREN, J. H. J.; PREEZ, H. H. The effect of manganese and iron at a neutral and acid pH on the haematology of the banded tilapia (*Tilapia sparrmanii*). **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, New York, v. 49, p. 613-619, 1992.

WINTROBE, M. M. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood various vertebrates. **Folia Haematologica**, Leipzig, v. 5, p. 32-49, 1934.

YILDIZ, H. Y.; PULATSÜ, S. Evaluation of the secondary stress response in healthy Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) after treatment with a mixture of formalin, malachite green and methylen blue. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 30, p. 379-383, 1999.