

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO ORAL DE CORTISOL NA GLICOSE SANGÜÍNEA DO MATRINXÃ, *Brycon amazonicus*, FRENTE À PERSEGUIÇÃO E CAPTURA.

André Arroyo Facchini, Márcio Aquio Hoshiba, Elisabeth Criscuolo Urbinati – Recursos Pesqueiros e Engenharia da Pesca – Medicina Veterinária – Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal.

O matrinxã, *Brycon amazonicus*, é um peixe nativo da América do Sul, com importância econômica para a piscicultura, que é criado em várias regiões do Brasil (Howes, 1982; Graef et al., 1987, Gomes & Urbinati, 2005), por suas características favoráveis, como ótima taxa de conversão alimentar (Inoue et al., 2005), carne nobre, crescimento rápido e hábito alimentar onívoro (Werder & Saint Paul, 1978), além de ser muito valorizado na pesca esportiva.

Estudos sobre estresse em peixes brasileiros ainda são incipientes, mas o matrinxã tem sido bastante estudado quanto à sua resposta a diferentes estressores (Carneiro & Urbinati, 2004; Gomes & Urbinati, 2005), incluindo-se transporte (Carneiro & Urbinati, 2001, a, b; Urbinati & Carneiro, 2001; Carneiro & Urbinati, 2002; Urbinati et al., 2004); densidade de estocagem (Rocha et al., 2004) e respostas comportamentais (Ide et al., 2003), além da captura a qual é um dos manejos que causam desequilíbrio homeostático nos peixes, especialmente se ela for realizada de forma repetitiva, sendo que estes estudos poderiam trazer maiores informações, orientando criadores à práticas menos agressivas, logo diminuindo as perdas.

As técnicas de manejo da aquicultura moderna causam estresse, que pode ocorrer de forma aguda ou crônica (Barton & Iwama, 1991; Urbinati & Carneiro, 2004). Essas respostas envolvem modificações comportamentais e fisiológicas controladas por um complexo sistema neuro-endócrino com dois componentes principais: o eixo hipotálamo-pituitária-interrenal e o sistema simpático-cromafim. O primeiro responde por um aumento nos níveis sanguíneos de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) liberado pelo hipotálamo que atua sobre a pituitária causando a liberação de ACTH ou corticotropina (ACTH), hormônio que atua no tecido interrenal, onde ocorre a liberação de cortisol. O segundo consiste na estimulação do tecido cromafim, no rim cefálico, por fibras oriundas do sistema nervoso simpático através da liberação de catecolaminas - adrenalina e noradrenalina (Sumpter, 1997).

O estresse é o estado de adaptação do organismo frente às adversidades do meio, e envolve fatores hormonais e metabólicos que atuam ativamente na proteção e sobrevivência. Selye, em 1950, relatou que o estresse tem três fases distintas, conhecidas como Síndrome Geral de Adaptação (SGA). A primeira fase é uma reação de alarme caracterizada por rápidas respostas fisiológicas, consistindo na liberação de hormônios, como as catecolaminas e o cortisol, seguida de uma fase de resistência, onde os peixes se adaptam aos desafios para recuperar sua homeostase energética e iônica, e a terceira fase ocorre quando o distúrbio é muito intenso ou longo, o que impede que as respostas de adaptação permaneçam ativas, finalizando assim em exaustão e perda da capacidade de adaptação.

Os corticosteróides, produzidos na glândula inter-renal, afetam a fisiologia dos peixes, atuando no metabolismo dos carboidratos, das proteínas e dos lipídios, agindo como um hormônio hiperglicemiante, através do aumento da gliconeogênese hepática e da proteólise periférica (Mommensen et al., 1999). As catecolaminas estimulam a quebra do glicogênio hepático em glicose (Mazeaud & Mazeaud, 1981), enquanto o cortisol mantém o fornecimento de glicose por catabolismo de lipídios e proteína.

Atualmente, na criação intensiva, várias práticas de manejo são consideradas estressantes, entre as quais a captura que compreende uma sequência de estímulos que inclui a fase de perseguição e natação forçada do animal, a exposição do peixe ao ar e a abrasão do seu corpo com a rede e com outros peixes. Tanto o exercício físico da fuga (Milligan et al., 2000), como a hipóxia provocada pela retirada do peixe da água (Arends et al., 1999) e as injúrias na superfície do corpo (Ross & Ross, 1999) são estressores isolados e sucessivos que geram uma resposta de estresse acumulativa (Schreck, 2000). Mortalidade elevada tem sido relatada por criadores, normalmente associada a estímulos agudos como a captura (Inoue et al., 2005). Assim sendo, o reconhecimento do estado de estresse e o manejo adequado do peixe são críticos para o sucesso da aquicultura e estratégias visando a

diminuição dos fatores nocivos aos peixes devem ser adotadas como rotina na criação, para otimizar a produção em cultivo (Urbinati & Carneiro, 2004). O objetivo dessa pesquisa foi estudar, em matrinxã, *Brycon amazonicus*, a participação do cortisol administrado exogenamente, por adição na alimentação, em respostas fisiológicas indicadoras de estresse metabólicas (glicose) após captura dos peixes (perseguição e exposição aérea), para avaliar se o tratamento prévio com cortisol tem efeito protetor nas respostas de estresse. Além disso, foram realizadas duas capturas, com intervalo de 24 horas entre elas, no sentido de se observar acumulação de respostas de estresse por exposição sequencial a estressores.

O experimento foi realizado no Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP) e no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, no segundo semestre de 2005 e primeiro semestre de 2006.

Foram utilizados 320 peixes da espécie matrinxã, *Brycon amazonicus*, com peso médio de $102,7 \pm 30,3$ gramas e $19,3 \pm 1,8$ cm de comprimento total, que após um período de aclimação foram distribuídos e em oito tanques de amianto com 1000L, na proporção de 40 peixes por tanque. Durante a aclimação, os peixes foram alimentados com ração comercial (28 % de proteína bruta), numa taxa de 5 % da massa corpórea, duas vezes ao dia, no período da manhã (9 horas) e no período da tarde (17 horas). Após aclimação, os oito tanques foram sorteados em dois tratamentos, o controle e o experimental (quatro repetições por tratamento). Durante sete dias, o grupo experimental foi alimentado com ração comercial enriquecida com cortisol (400 mg de cortisol por kg de ração), enquanto o grupo controle recebeu apenas ração comercial. A incorporação do cortisol foi feita por diluição de um grama de hidrocortisona SIGMA[®] em 300mL de álcool que era espalhada sobre a ração com borrifadores. A ração do grupo controle também recebeu um banho de álcool, para evitar diferença na palatabilidade.

Após sete dias de alimentação, os peixes foram submetidos à captura. Para isso, as caixas foram forradas com uma rede de pesca feita de nylon, com diâmetro de 12mm entre nós. Inicialmente, os peixes de cada caixa foram perseguidos com puçás por 1 minuto, e, em seguida, envolvidos pela rede que forrava a caixa e expostos ao ar durante 3 minutos, após o que eram devolvidos às suas respectivas caixas e amostrados 15, 30, 60 minutos e 24 horas depois. O manejo estressante da captura foi repetido 24 horas depois e os peixes foram amostrados nos mesmos tempos. Um grupo de peixes foi amostrado antes de ter início da alimentação com cortisol e foi considerado grupo testemunha.

Em cada amostragem, os peixes foram capturados, anestesiados (benzocaína, 1g/15L), pesados, mensurados e amostras de sangue foram coletadas de cada peixe por punção caudal. O sangue foi acondicionado em um tubo com anticoagulante (fluoreto) para separação de plasma, o qual foi usado para determinação de glicose (Kit Labtest), considerado um dos principais indicadores sanguíneos de estresse.

Os resultados da resposta fisiológica avaliada estão apresentados na Figura 1.

A partir dos resultados de glicemia encontrados pode-se constatar que as respostas de estresse se elevam após 15 minutos da primeira exposição, especialmente nos peixes previamente alimentados com cortisol, retornando aos valores do grupo testemunha nas outras amostragens, com exceção dos peixes alimentados com hormônio nos quais aos 60 minutos as concentrações de glicose são significativamente menores, embora essa resposta não crie um padrão regular. A segunda exposição ao estressor não parece causar estresse acumulativo, embora se repita a resposta exacerbada dos peixes alimentados com cortisol, mas dessa vez aos 60min da exposição. O aumento da glicose é uma resposta esperada, pois tanto as catecolaminas, como o cortisol liberados no estresse, atuam na quebra do glicogênio hepático (Svobodová et al., 1999) para disponibilizar energia na situação adversa em que o animal se encontra.

Os dados do presente experimento não confirmam ação protetora do cortisol administrado previamente à exposição ao estressor e a acumulação de estresse gerado por exposições consecutivas pode ser observada não é muito evidente sendo demonstrado em apenas alguns dos indicadores utilizados.

O matrinxã demonstrou desse modo ser uma espécie de peixe com tolerância ao manejo de criação.

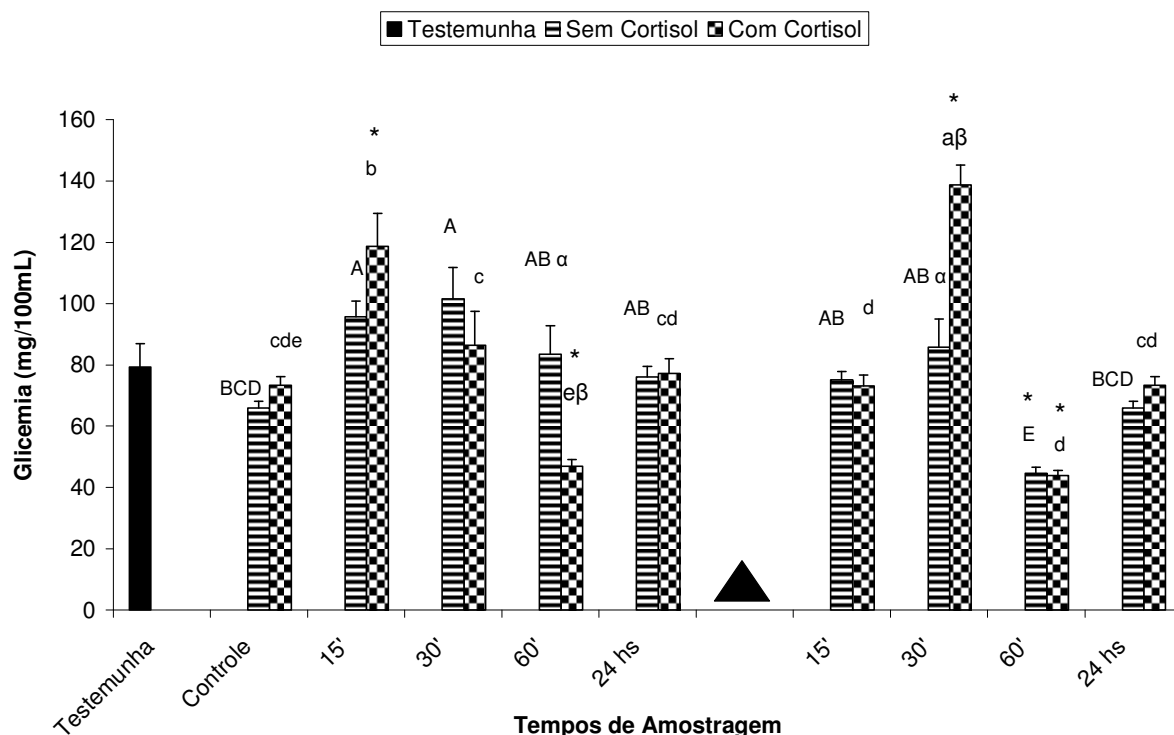


Figura 1. Valores médios de glicemia em matrinxã alimentado com ração sem e com cortisol, submetido a 2 procedimentos consecutivos de captura. Letras maiúsculas diferentes significam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tempos de amostragem para o tratamento sem cortisol; letras minúsculas diferentes entre os tempos de amostragem para o tratamento com cortisol e letras gregas indicam diferenças significativas entre os tratamentos dentro de cada tempo; (*) significa diferença significativa com relação à coleta testemunha; o triângulo refere-se ao início do segundo período de estresse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arends, R.J.; Mancera, J.M.; Muñoz, J.L.; Wendelaar Bonga, S.E.; Flik, G. The stress response of the gilthead seabream (*Sparus aurata*) to air exposure and confinement. *J. Endocrinol.* 163: 149-157, 1999.
- Barton, B.A.; Iwama, G.K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Rev. Fish Dis.* 1:3-26, 1991.
- Carneiro, P.C.F.; Urbinati, E.C. Electrolyte disturbance in matrinxã *Brycon cephalus* following transport stress under benzocaine effect. *J. Appl. Aquac.* 11: 1-13, 2001.
- Carneiro, P.C.F.; Urbinati, E.C. Salt as a stress response mitigator of matrinxã *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) during transport. *Aquac. Res.* 32: 1-8, 2001.
- Carneiro P.C.F. & Urbinati, E.C. Transport stress in matrinxã, *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae), at different densities. *Aquac. International* 34: 1-9, 2002.
- Graef, E.W.; Resende, E.K.; Petry, P.; Storti-Filho, A. Policultivo de matrinxã (*Brycon* sp) e jaraqui (*Samaprochilodus* sp) em pequenas represas. *Acta Amazônica* 17: 33-42, 1987.
- Gomes, L.C.; Urbinati, E.C. Matrinxã (*Brycon amazonicus*). In *Espécies nativas com potencial para a piscicultura*. Baldisseroto, B., Gomes, L.C. (Eds.). Editora U. Federal de Santa Maria, p. 149-168, 2005.
- Howes, G.J. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Zool.* 43 (1): 1-47, 1982.

- Ide, L. M.; Urbinati, E.C.; Hoffmann, A. The role of olfaction in the behavioral and physiological responses to conspecific skin extract in a teleost fish, *Brycon cephalus*. J. Fish Biol. 63: 332-343, 2003.
- Mazeaud, M.M.; Mazeaud, F. 1981. Adrenergic responses to stress in fish. In: Pickering A. D. (Ed), Stress and fish. Academic Press, pp. 49-76.
- Milligan, C.L.; Hooke, G.B.; Johnson, C. Sustained swimming at low velocity following a bout of exhaustive exercises enhances metabolic recovery in rainbow trout. J. Exp. Biol. 203: 921-926, 2000.
- Mommsen, T.P.; Vijayan, M.M.; Moon, T.W. Cortisol in teleost: dynamics, mechanism of action, and metabolic regulation. Rev. Fish Biol. Fish. 9: 211-268, 1999.
- Narvaware, Y.K.; Baker, B. I.; Tomlinson, M.G. The effects of various stress, corticosteroids and adrenergic agents on phagocytosis in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Fish Physiol. Biochem. 13:31-40, 1994.
- Pickering, A. D.; Pottinger, T.G. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. Fish Physiol. Biochem. 7: 253-258, 1989.
- Rocha, R. M.; Carvalho, E. G.; Urbinati, E.C. Physiological responses associated with capture and crowding stress in matrinxã, *Brycon cephalus*, (Gunther, 1869), Teleostei: Characidae. Aquac. Res. 35: 1-5, 2004.
- Ross, L.G.; Ross, B. Anesthetic and sedative techniques for aquatic animals. *Blackwell Science*, Oxford, UK. 1999. Ruane, N. M., Nolan, D. T., Rotllant, J., Tort, L., Balm, P. H. M., Wendelar Bonga, S. E. 1999. Modulation of the response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) to confinement by an ectoparasitic (*Argulus foliaceus* L.) infestation and cortisol feeding. Fish Physiol. Biochem. 20: 43-51.
- Schreck, C.B. Accumulation and long-term effects on stress in fishes. In: G.P. Moberg & J.A. Manch (eds.), The Biology of Animal Stress. CAB International, p.147-158, 2000.
- Sumpter, J.P. 1997. The endocrinology of stress. Pages 95-118 in Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P. e Schreck, C.B. Fish stress and health in aquaculture. Cambridge University Press, New York.
- Svobodová et al. The effect of handling and transport on the concentration of glucose and cortisol in blood plasma of common carp. Acta Vet. BRNO 68: 265-274, 1999.
- Urbinati, E.C.; Carneiro, P.C.F. Metabolic and hormonal responses of the matrinxã *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) to the stress of transport under the influence of benzocaine. J. Aquac. Trop. 16(1): 75-85, 2001.
- Urbinati, E. C.; Carneiro, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: Cyrino, J.E.P., Urbinati, E.C., Francalossi, D.M., Castagnolli, N. Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva. 1ª ed. São Paulo: TecArt, 2004, 171-193.
- Urbinati, E.C.; Abreu, J.S.; Camargo, A.C.S.; Landines, M.A. Loading and transport stress in juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*) at various densities. Aquaculture 229: 389-400, 2004.
- Werder, U.; Saint Paul, U. Feeding trials with herbivorous and omnivorous Amazonian fishes. Aquaculture 15: 175-177, 1978.