

UNIVERSIDADE DO AMAZONAS - UA
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA

TRANSPORTE DE JUVENIS DE TAMBAQUI *Colossoma
macropomum* (Cuvier, 1818) (Teleostei, Characidae)

LEVY DE CARVALHO GOMES

Tese apresentada ao
programa de Pós-graduação
em Biologia Tropical e
Recursos Naturais do
convênio INPA/UA, como
parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor
em Ciências Biológicas.
Curso de Biologia de Água
Doce e Pesca Interior.

T597.5041
G 633†
ex.02

Manaus - 2002

UNIVERSIDADE DO AMAZONAS – UA



INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA

TRANSPORTE DE JUVENIS DE TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Teleostei, Characidae)

LEVY DE CARVALHO GOMES



Orientador: Carlos A. R. M. Araujo-Lima

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas, Curso de Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

T
597.50/1
G633t
ex. 2

Manaus – 2002

FINANCIAMENTO



PROJETO TAMBAQUI

PPD-PPG7 • INPA

FICHA CATALOGRÁFICA

Gomes, Levy de Carvalho

Transporte de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Teleostei, Characidae)/Levy de Carvalho Gomes. –Manaus : UA/INPA, 2002.

xii + 101p.

Tese de Doutorado

1. Aqüicultura 2. Transporte 3. Mortalidade 4. Qualidade da água 5. Estresse 6. Juvenil 7. *Colossoma macropomum* 8. Tambaqui
CDD 19^a ed. 597.5

SINOPSE

Foi realizado um diagnóstico sobre a situação do transporte de juvenis de tambaqui na Amazônia. Após o diagnóstico foram transportados juvenis (2-5 cm) em diferentes densidades por diferentes tempos, para avaliar sua sobrevivência. Também, foram transportados juvenis II (15 cm) em diferentes densidades, com o mesmo propósito. Em uma última etapa foi testada a eficiência do sal de cozinha como redutor de estresse e avaliada a densidade mais adequada para o transporte de juvenis com tamanho de abate (1 kg).

Ao meu pai Levy, à
minha mãe Mariana e à
minha esposa Adriana.
Obrigado pela força.

AGRADECIMENTOS

Esta seção será dividida em duas partes: agradecimentos gerais e por capítulo.

Ao Dr. Carlos Araujo-Lima por ter me orientado nesta tese. Seus ensinamentos, assim como seus conhecimentos de ciência foram fundamentais para minha formação.

À minha esposa Adriana muito obrigado pela grande ajuda e paciência durante a tese, e, também, por todo amor compartilhado nestes anos.

Aos meus pais Levy, Mariana, aos meus irmãos William, Fernando e Ana Claudia, à tia Joana e meus demais familiares por terem me guiado e facilitado minha formação pessoal e profissional.

Ao Dr. Rodrigo Roubach por ter me auxiliado e pela força durante todo período de doutorado. Agradeço também pela amizade formada ao longo destes anos.

À Carminha, por simplesmente tudo que se refere ao BADPI e também pela amizade.

Ao M.Sc. Richard Brinn por toda força manifestada no começo do doutorado.

Aos alunos e amigos do laboratório de ecologia de peixes II: Hermógenes Rabello, Jorge Sanchez, Martha Yossa, Álvaro Lima, Emerson Soarez, Heitor Martins e Michelle Façanha por tudo que compartilhamos.

Aos incansáveis trabalhadores e amigos do laboratório de Ecologia de Peixes II: Dr. Rosseval Galdino, José Vagner Valente e Cristiane Neves.

A todos amigos de curso, pelos bons momentos de convivência.

Aos amigos do Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular LEEM/INPA, em especial a M.Sc. Nazaré Paula, Dra. Vera Val, Dr. Adalberto Val e M.Sc. Nívia Pires Lopes por terem me acolhido no laboratório durante o curso de doutorado e pela amizade.

À Dra. Elisabeth Urbinati por ter possibilitado as análises de cortisol.

Aos professores do BADPI pelos ensinamentos passados e paciência.

Ao CNPq pela bolsa de estudo concedida.

À Dra. Elba Toth (In memoriam), espero que esteja vendo ai de cima que não esqueci seus ensinamentos.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária EMBRAPA-CPAA, por ter facilitado o término do curso.

Agradeço também a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta tese.

Finalmente agradeço aos casais de tambaqui que cederam suas proles para a realização desta tese.

Capítulo III - Agradeço ao Instituto do desenvolvimento Agropecuário do Amazonas - IDAM, pelas informações prestadas e por ter possibilitado fotografar a estação de piscicultura de Balbina.

Capítulo IV - Agradeço aos M.Sc. Adriana Chippari-Gomes, Jorge Ivan Sanchez, Emersom Soares, Paulo Aride, ao Sr. Vagner Valente por terem auxiliado na coleta dos dados. Estendo o agradecimento aos senhores Miguel Farias e Roberval Pinto.

Capítulo V - Agradeço ao M.Sc. Richard Brinn da CAUNESP por sua assistência na análise de cortisol e ao Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular LEEM INPA por ter cedido a centrifuga de micro-hematócrito.

Capítulo VI - Gostaria de agradecer ao Bsc. Flávio Fonseca e ao M.Sc. Bruno Cavero, pela ajuda prestada durante a realização do trabalho. Ao M.Sc. Richard Brinn pela ajuda na análise de cortisol. Ao laboratório de solos e plantas do CPAA/EMBRAPA pela análise dos íons. Também, sou grato ao Dr. Manoel Pereira Filho da Coordenação de Pesquisas em Aquicultura/INPA por ter possibilitado a utilização dos tanques de recuperação deste experimento.

Transporte de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)
(Teleostei, Characidae)

Resumo

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) tem sido intensamente estudado com a finalidade de se estabelecer uma tecnologia de produção, porém existem algumas lacunas a serem preenchidas e o transporte é uma delas. A mortalidade após o transporte é apontada por produtores do Amazonas como um dos principais entraves da criação de tambaqui na região. Diante disso, este trabalho teve como objetivo testar protocolos de transporte para três fases de desenvolvimento do tambaqui: juvenil (2-6 cm), juvenil II (15 cm) e juvenil para abate (1kg). Cada fase de vida citada teve um estudo próprio de acordo com o que é normalmente descrito na literatura e realizado em estações de piscicultura. Os juvenis e juvenis II foram transportados em sistema fechado (sacos plásticos) e os juvenis para abate em sistema aberto (caixas de transporte). Ficou estabelecido neste trabalho, a quantidade de juvenis que pode ser transportada de forma segura por um período máximo de 24 horas. A densidade ideal para o transporte de juvenis II foi estabelecida em 78 g/L de água. Foi verificado que para o transporte de juvenis para abate, a concentração de 8 g de sal/L de água é eficiente para reduzir a maioria das respostas de estresse ao transporte. Em uma segunda etapa ficou estabelecido que o transporte destes peixes pode ser realizado de forma segura com 8 g de sal/L de água em densidades de até 150 g de peixes /L de água. Os resultados obtidos neste trabalho ajudarão a aumentar a eficiência do transporte de tambaqui na Amazônia.

Tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Teleostei, Characidae)
juvenile transportation

Abstract

Tambaqui (*Colossoma macropomum*) has been intensely studied with the purpose to establish a production technology, however some gaps still exist to be filled, and fish transportation is one of them. Mortality after transportation is pointed by fish farmers in the Amazonas state as one of the main restrictions of tambaqui husbandry in the region. Therefore, this study intended to test transportation protocols for three phases of development of tambaqui: juvenile (2-5 cm), juvenile II (15 cm) and young at harvest (1 kg). For each phase appropriate experiments were realized in accordance with the normally described procedure in the literature and carried through in hatchery operations. Juvenile and juvenile II were transported using a closed system (plastic bags) and the young at harvest in open system (transportation can). The study was able to establish the amount of tambaqui juveniles that can be safely transported for a time period up to 24 hours. The ideal transportation density for juvenile II was established at 78 g/L of water. Adding 8 g of common table salt /L of water was enough to reduce the majority of the stress responses due to transportation of young of harvest. In a second stage it was established that the transportation of these fish size can be carried through safely using 8g of common table salt /L of water at fish densities of up to 150 g/L of water. It is our hope that these results will improve transportation guidelines for tambaqui in the Amazon.

ABREVIATURAS E UNIDADES DE MEDIDA

NH ₃	amônia não ionizada
NH ₃ +NH ₄	amônia total
cm	centímetros
CO ₂	dióxido de carbono
g	grama
g/L	grama por litro
°C	graus Celsius
g	gravidade
h	hora
NH ₄	íon amônio
Cl ⁻	íon cloreto
K ⁺	íon potássio
Na ⁺	íon sódio
L	litro
m ²	metro quadrado
μmol/L	micromol por litro
mg/dL	miligrama por decilitro
mg/L	miligrama por litro
mm	milímetro
mmol/L	milimol por litro
min	minuto
NaCl	cloreto de sódio
ng/mL	nanograma por mililitro
kg	kilograma
OD	oxigênio dissolvido

ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS

Capítulo II

- Tabela 1. Nomenclatura de desenvolvimento ontogênico. As fases de salmonídeos são descritas por Pennell *et al.* (2001) e para peixes tropicais descritas por Nakatani *et al.* (2001)..... 11
- Figura 1. "Alevin" (A) e "fry" (B) de Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) (Fonte: Pennell *et al.*, 2001). 11
- Figura 2. Larva pré-flexão (A) e juvenil (B) de tambaqui (*Colossoma macropomum*) (Fonte: Araujo-Lima & Goulding, 1997). 11

Capítulo IV

- Tabela 1. Produtos utilizados durante o transporte de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em sistema fechado e suas respectivas doses.....28
- Tabela 2. Análise de covariância da sobrevivência de juvenis de tambaqui após o transporte realizado em sistema fechado com sal, gesso e benzocaina na água e em diferentes tempos e densidades. $n = 99$ e $r = 0,744$36
- Tabela 3. Análise de covariância da sobrevivência de juvenis de tambaqui 96 horas após o transporte realizado em sistema fechado com sal, gesso e benzocaina na água e em diferentes tempos e densidades, $n = 110$ e $r = 0,49$ 36
- Figura 1. Sobrevivência de juvenis de tambaqui após o transporte (A) e 96 horas após o transporte (B). Os dados são média \pm erro padrão. Os números após os tratamentos significam a dose em mg/L. Benzo = benzocaina e nada = controle. * indica diferença significativa do controle, teste de Dunnett; $P < 0,05$ 37
- Figura 2. Isolíneas da sobrevivência média (%) de juvenis de tambaqui após o transporte não utilizando nada na água e utilizando gesso, de acordo com a densidade e tempo. A equação que descreve as linhas é: $\text{logit sobrevivência} = 12,888 - 0,258 * \text{tempo} - 0,07 * \text{densidade}$. $n = 36$, $p < 0,001$ e $r = 0,76$ 38
- Figura 3. Isolíneas da sobrevivência média (%) de juvenis de tambaqui 96 horas após o transporte para todos tratamentos testados, de acordo com a densidade e tempo. A equação que descreve as linhas é: $\text{logit sobrevivência} = 6,269 - 0,222 * \text{tempo} - 0,04 * \text{densidade}$. $n = 110$, $p < 0,001$ e $r = 0,39$ 39
- Figura 4. Relação entre o dióxido de carbono e a sobrevivência de juvenis de tambaqui após o transporte realizado em sistema fechado com sal, gesso e benzocaina na água e em diferentes tempos e densidades. $n = 91$, $r = 0,42$, $p < 0,001$ 40
- Figura 5. Relação entre oxigênio dissolvido (A), a temperatura (B), o pH (C), a amônia não ionizada (D) e a sobrevivência de juvenis de tambaqui após o transporte realizado em

sistema fechado com sal, gesso e benzocaina na água e em diferentes tempos e densidades..... 41

Capítulo V

- Tabela 1. Qualidade da água imediatamente após 10h de transporte de juvenis II de tambaqui em diferentes densidades. Dados são média \pm erro padrão de seis réplicas (sacos de transporte). Médias em linha marcadas por diferentes letras são significativamente diferentes, ANOVA e Tukey's post-hoc teste. 58
- Figura 1. "Box plot" da mortalidade (A) e mortalidade acumulada em 96h (B) em juvenis II de tambaqui transportados em quatro diferentes densidades. Mediana da mortalidade marcada por diferentes letras são significativamente diferentes (Kruskal-Wallis e post-hoc teste; $P < 0,05$). 59
- Figura 2. Cortisol plasmático durante os procedimentos de transporte. Dados são média \pm erro padrão. AD – antes do distúrbio (9 peixes) do tanque de criação; AT – antes do transporte no tanque de depuração; DT – imediatamente após o transporte; 24 DT e 96 DT - 24 e 96h após o transporte. Colunas marcadas com * são significativamente diferentes do controle (AD) (teste de Dunnett; $P < 0,05$). 60
- Figura 3. Glicose plasmática durante os procedimentos de transporte. Dados são média \pm erro padrão. AD – antes do distúrbio (9 peixes) do tanque de criação; AT – antes do transporte no tanque de depuração; DT – imediatamente após o transporte; 24 DT e 96 DT - 24 e 96h após o transporte. Colunas marcadas com * são significativamente diferentes do controle (AD) (teste de Dunnett; $P < 0,05$). 61
- Figura 4. Hematócrito durante os procedimentos de transporte. Dados são média \pm erro padrão. AD – antes do distúrbio (9 peixes) do tanque de criação; AT – antes do transporte no tanque de depuração; DT – imediatamente após o transporte; 24 DT e 96 DT - 24 e 96h após o transporte. Colunas marcadas com * são significativamente diferentes do controle (AD) (teste de Dunnett; $P < 0,05$). 62

Capítulo VI

- Tabela 1. Qualidade da água durante o transporte de tambaqui com diferentes concentrações de sal de cozinha na água. Letras minúsculas em sobrescrito em linha significam diferença significativa entre as concentrações de sal para cada tempo, teste de Tukey; $P < 0,05$. Letras maiúsculas em sobrescrito em coluna significam diferença estatística entre os diferentes tempos de cada concentração de sal, teste de Tukey; $P < 0,05$. Os resultados são média \pm erro padrão de três repetições de cada concentração de sal. 83
- Tabela 2. Concentrações plasmáticas de Na^+ e K^+ durante o transporte de tambaqui, com diferentes concentrações de sal de cozinha na água. AD antes do distúrbio, AT após o

transporte, 24AT e 96AT 24 e 96 horas após o transporte. * indica diferença significativa do controle (AD), teste de Dunnett; P<0,05. Os resultados são média±erro padrão de três repetições de cada concentração de sal (n=4 para cada repetição).	84
Tabela 3. Qualidade da água durante o transporte de tabaqui em diferentes densidades com 8g/L de sal de cozinha na água. Letras minúsculas em sobrescrito em linha significam diferença significativa entre as concentrações de sal para cada tempo, teste de Tukey; P<0,05. Letras maiúsculas em sobrescrito em coluna significam diferença estatística entre os diferentes tempos de cada concentração de sal teste de Tukey; P<0,05.....	85
Tabela 4. Concentrações plasmáticas de Na ⁺ e K ⁺ durante o transporte de tabaqui em diferentes densidades com 8g/L de sal de cozinha na água. AD antes do distúrbio, AT após o transporte, 24AT e 96AT 24 e 96 horas após o transporte. * indica diferença significativa do controle (AD), teste de Dunnett; P<0,05. Os resultados são média±erro padrão de duas repetições de cada densidade (n=4 para cada repetição).....	86
Figura 1. Concentrações de cortisol plasmático durante o transporte de tabaqui, com diferentes concentrações de sal de cozinha na água. AD antes do distúrbio, AT após o transporte, 24AT e 96AT 24 e 96 horas após o transporte. * indica diferença significativa do controle (AD), teste de Dunnett; P<0,05. Os resultados são média±erro padrão de três repetições de cada concentração de sal (n=4 para cada repetição).	87
Figura 2. Concentrações de glicose plasmática durante o transporte de tabaqui, com diferentes concentrações de sal de cozinha na água. AD antes do distúrbio, AT após o transporte, 24AT e 96AT 24 e 96 horas após o transporte. * indica diferença significativa do controle (AD), teste de Dunnett; P<0,05. Os resultados são média±erro padrão de três repetições de cada concentração de sal (n=4 para cada repetição).	88
Figura 3. Concentrações de cortisol plasmático durante o transporte de tabaqui em diferentes densidades com 8g de sal/L de água. AD antes do distúrbio, AT após o transporte, 24AT e 96AT 24 e 96 horas após o transporte. Os resultados são média±erro padrão de duas repetições de cada densidade (n=4 para cada repetição).	89
Figura 4. Concentrações de glicose plasmática durante o transporte de tabaqui em diferentes densidades com 8g de as;/L de água. AD antes do distúrbio, AT após o transporte, 24AT e 96AT 24 e 96 horas após o transporte. * indica diferença significativa do controle (AD), teste de Dunnett; P<0,05. Os resultados são média±erro padrão de duas repetições de cada densidade (n=4 para cada repetição).....	90

ÍNDICE

CAPÍTULO I – Apresentação	1
CAPÍTULO II – Introdução	4
Sistemas de transporte	5
Sistema fechado.....	5
Sistema aberto	5
Densidade e tempo de transporte	6
Qualidade da água durante o transporte	6
Oxigênio dissolvido	6
Temperatura.....	7
pH, Dióxido de carbono e Amônia	7
O estresse como consequência do transporte.....	8
Nomenclatura utilizada.....	9
Bibliografia citada	12
Objetivos	15
CAPÍTULO III – Diagnóstico do transporte de juvenis na Amazônia	16
Transporte de juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) na Amazônia: maiores problemas	17
Introdução	17
O transporte de Juvenis	18
Uso de anestésicos na água do transporte.....	20
Perspectivas futuras.....	21
Conclusões	21
Bibliografia citada	22
CAPÍTULO IV – Transporte de juvenis.....	23
Transporte de juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) em sistema fechado	24
Resumo.....	24
Abstract.....	25
Introdução	25
Material e Métodos.....	27
Resultados	29

Discussão.....	30
Bibliografia citada.....	33
CAPÍTULO V – Transporte de juvenis II.....	42
Efeito da densidade de peixe nas respostas fisiológicas do estresse e na mortalidade de juvenis II de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) durante o transporte	43
Resumo.....	43
Abstract.....	44
Introdução	45
Material e Métodos.....	46
Resultados	48
Discussão.....	49
Bibliografia citada	53
CAPÍTULO VI – Transporte de juvenis para abate	63
Efeito do sal de cozinha na água nas respostas fisiológicas do estresse em tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) durante o transporte	64
Resumo.....	64
Abstract.....	65
Introdução	66
Material e Métodos.....	68
Resultados	71
Discussão.....	73
Bibliografia citada	78
CAPÍTULO VII – Sumário das conclusões	91
CAPÍTULO VIII – Anexos	95

CAPÍTULO I – Apresentação



O transporte de tabaqui como assunto desta tese, foi concebido a partir da necessidade de realizar este procedimento para o repovoamento de lagos de várzea na Amazônia central, objetivo central do Projeto Tabaqui PPD # 1139/99. Durante os primeiros transportes para repovoamento, obtivemos taxas de mortalidade de até 50% e observamos que não haviam informações na literatura e nem um especialista que nos ajudasse a resolver este problema. Resolvemos assim, obter mais informações sobre o assunto e verificamos que este problema também afetava fortemente os criadores de tabaqui da região. Desta forma, ficou implícita a necessidade de realizar um estudo mais completo sobre o transporte de tabaqui na Amazônia. Esta tese apresenta os resultados dos experimentos que foram feitos para otimizar a sobrevivência de juvenis de tabaqui durante o transporte. A divisão da tese em capítulos pretende reduzir o esforço posterior de dividir o volume para publicação e também para facilitar a leitura na consulta desse volume.

Para uma melhor familiarização do leitor sobre o transporte de peixes, no capítulo II, explicamos os diferentes sistemas de transporte e também foram abordados os principais fatores que podem influenciar no transporte de peixes: densidade, tempo, qualidade da água e estresse. No último tópico da introdução discutimos um pouco sobre a confusão existente sobre a nomenclatura utilizada para peixes tropicais em sistemas de criação, justificando os termos utilizados nesta tese.

No terceiro capítulo, apresentamos um diagnóstico sobre o transporte de tabaqui na Amazônia, para definir precisamente reais problemas da atividade. Ainda neste capítulo, apresentamos os resultados de experimentos pilotos para verificar a eficiência de alguns anestésicos na água do transporte.

No quarto capítulo, que julgamos o mais importante da tese, foi abordado o transporte de juvenis (2-6 cm) em diferentes tempos e densidades para as condições da Amazônia. Peixes deste tamanho são obrigatoriamente transportados de fazendas especializadas em

reprodução para fazendas de engorda, representando assim cerca de 90% do total de peixes transportados.

O quinto capítulo foi realizado com juvenis de 15 cm. A demanda por este tamanho de peixe cresceu na Amazônia, principalmente para povoamento de tanque-rede e liberação de peixes para o projeto de repovoamento. Desta forma, procuramos investigar a densidade adequada de peixe para o tempo médio de transporte na Amazônia.

O sexto capítulo também foi baseado em uma recente demanda, que é o transporte de juvenis de tamanho para abate (1 kg) para formação de estoque de reprodutores, povoamento de fazendas e sítios de pesque-pague e venda de peixe vivo para consumo. Estudamos o sal de cozinha como redutor de estresse e a densidade mais adequada para o transporte de peixes deste tamanho.

Após os capítulos introdutórios e experimentais foram listadas as principais conclusões da tese no capítulo VII.

CAPÍTULO II – Introdução



Sistemas de transporte

Sistema fechado

No sistema fechado os peixes são, normalmente, transportados em sacos plásticos (Ross & Ross, 1999). Neste sistema é adicionada água no saco, o peixe é colocado e em seguida é injetado oxigênio puro. Após a adição de oxigênio o saco é lacrado. O tamanho do saco pode variar com a finalidade do transporte e com o tamanho do peixe. Em fazendas de criação de juvenis normalmente se utilizam sacos de 30 ou 60 litros, onde em 20% do volume é adicionada água e no restante é injetado o oxigênio. O saco pode ser diretamente transportado ou colocado em caixas de papelão ou isopor que oferecem proteção adicional (Piper *et al.*, 1982).

Esse é o sistema mais utilizado no mundo para transporte de juvenis por via rodoviária e é o sistema padrão para transportes por via aérea, sendo inclusive, utilizado para peixes ornamentais (Leite & Zuanon, 1991). Também são transportados nesse sistema peixes grandes e reprodutores, porém em menor escala.

Sistema aberto

No sistema aberto de transporte normalmente são utilizadas caixas rígidas com tampa, o que exerce uma função isolante do ar atmosférico. Estas são feitas dos mais diversos materiais como: plástico, fibra e alumínio, com capacidades que variam de 100 a 4000 litros de água, porém as mais utilizadas são as de 500 e 1000 litros (Kubitza, 1998). Nestas caixas é adicionada água e o peixe. O oxigênio é injetado por meio de borbulhamento durante todo transporte (Piper *et al.*, 1982; Wedemeyer, 1996; Carmichel, *et al.*, 2001), mas em algumas ocasiões, também são utilizados compressores de ar como fonte de oxigênio.

Esse é o sistema de transporte mais utilizado para peixes maiores que 100 gramas. O transporte em sistema aberto é normalmente realizado por via rodoviária. Para peixes grandes

(> 500 gramas) este sistema também é utilizado para o abastecimento de fazendas e sítios de pesque-pague, restaurantes e para a venda de reprodutores. Peixes entre 100 e 500 gramas são transportados nesse sistema para povoamento de viveiros, tanque-rede e projetos de repovoamento.

Densidade e tempo de transporte

A densidade e o tempo, são sem dúvida, duas variáveis que afetam o desempenho dos peixes durante o transporte (Gomes *et al.*, 1999; Carmichel *et al.*, 2001). De forma geral a densidade tem relação inversa ao tempo de transporte, quanto maior o tempo de transporte, menor a densidade de peixes que pode ser transportada. A densidade também é dependente de outros fatores como sistema de transporte, qualidade da água, condição geral do peixe e qualidade do equipamento utilizado (Kubitza, 1998).

Para juvenis de algumas espécies, como por exemplo, o channel catfish (*Ictalurus punctatus*), existe uma tabela que descreve a densidade correta a ser utilizada para o tempo de transporte desejado (Johnson, 1979). Porém, para o transporte de peixes nativos, não se tem conhecimento de nenhuma tabela desta natureza que tenha sido confeccionada com base em resultados científicos. Portanto, há necessidade da confecção de uma tabela como esta para as principais espécies criadas no Brasil.

Qualidade da água durante o transporte

Oxigênio dissolvido

O oxigênio dissolvido é apontado por Wedemeyer (1996) como o primeiro limitante do transporte de peixes. Segundo esse autor, a quantidade de oxigênio existente na água não é suficiente para suportar as densidades utilizadas durante o transporte, sendo necessário o fornecimento de oxigênio. Para sistemas fechados de transporte é necessário adicionar o

oxigênio no saco plástico e depois lacrá-lo, desta forma o oxigênio adicionado fica pressurizado e é dissolvido na água vagarosamente pelo balanço ocasionado no transporte (Berka, 1986). Para sistemas abertos o ideal é que o oxigênio seja adicionado por borbulhamento ao longo de todo transporte.

O requerimento de oxigênio durante o transporte é dependente da espécie de peixe e do tamanho do corpo (Piper *et al.*, 1982). Segundo Berka (1986), espécies muito ativas e sem tolerância a situações hipóxicas como os salmonídeos, requerem uma quantidade de oxigênio alta. Por outro lado, espécies não muito ativas e que possuem um histórico de hipóxia em seus ambientes naturais como, a carpa, requerem menos oxigênio. Normalmente, peixes maiores consomem menos oxigênio por peso do que peixes menores (Johnson, 1979). Por não existirem valores de requerimento de oxigênio para todas espécies que são transportadas, existe uma padronização na literatura de que o oxigênio fique em torno de 5 mg/L durante o transporte, para que esta variável não seja limitante.

Temperatura

A temperatura é importante, pois influencia diretamente o metabolismo do peixe e, conseqüentemente, outras variáveis como o oxigênio e a toxicidade da amônia. O consumo de oxigênio pelos peixes aumenta com a temperatura. A solubilidade do oxigênio também é afetada pela temperatura, sendo este mais solúvel na água com a diminuição da temperatura, respeitando certos limites (Boyd, 1982). Altas temperaturas favorecem a manutenção da amônia em seu estado tóxico (NH₃).

pH, Dióxido de carbono e Amônia

Estas três variáveis serão apresentadas juntas por estarem intimamente ligadas. A concentração da fração tóxica da amônia (NH₃) é menor em pH ácido. O aumento da

concentração de dióxido de carbono em águas com baixa concentração de carbonato faz com que haja uma acidificação da água do transporte.

A elevação da concentração de dióxido de carbono no meio pode ser um fator limitante no transporte. Quando as concentrações de oxigênio são adequadas os peixes suportam bem o estresse do dióxido de carbono. Por outro lado, se as concentrações de oxigênio forem baixas as conseqüências de altas concentrações de dióxido de carbono podem ser letais (Grottum *et al.*, 1997). O dióxido de carbono geralmente é mais problemático quando se transporta peixes em sistema fechado. Neste sistema todo dióxido de carbono produzido fica acumulado no meio e aumenta gradativamente com o tempo de transporte. No sistema de transporte aberto o dióxido de carbono pode ser volatilizado pela agitação do transporte e pelo borbulhamento do oxigênio.

A amônia total ($\text{NH}_4 + \text{NH}_3$) constitui 80-90% dos produtos nitrogenados excretados pelos peixes (Jobling, 1994). É excretada continuamente durante o transporte, principalmente pelas brânquias. A amônia é extremamente solúvel em água e seu estado não ionizado (NH_3) é tóxico ao peixe. Por outro lado, a fração ionizada (NH_4) é menos tóxica. A porcentagem de amônia não ionizada na água é dependente do pH e da temperatura. Temperaturas altas associadas à pHs altos aumentam a porcentagem de amônia não ionizada. Durante o transporte, o aumento da concentração de dióxido de carbono causa uma diminuição no pH da água e conseqüentemente na fração de amônia tóxica.

O estresse como conseqüência do transporte

A captura, o transporte e o manuseio de peixes em geral constituem-se de procedimentos indispensáveis à maioria das investigações científicas, bem como às práticas rotineiras dos sistemas de piscicultura. Conseqüentemente, as reações fisiológicas dos peixes a esses tipos agudos de estresse necessitam ser consideradas, tanto em relação ao tipo de

resposta, como a caracterização do grau de tolerância de uma determinada espécie em relação ao meio ambiente no qual se encontra (Krieger-Azolini *et al.*, 1989).

Segundo Selye (1950), o estresse é a soma de todas as respostas fisiológicas ativadas pelos animais na tentativa de manter ou restabelecer sua homeostase em situações desfavoráveis. Os peixes parecem responder ao estresse refletindo tanto a severidade quanto a duração do agente estressor. O transporte pode ser considerado um manejo severo, pois em várias etapas do processo os peixes são submetidos a agentes estressores.

O monitoramento dos parâmetros fisiológicos que indicam desequilíbrio na homeostase em peixes tem recebido considerável atenção por vários grupos de pesquisa (Pickering *et al.*, 1982). Contudo, a caracterização desses indicadores de estresse está restrita principalmente às espécies de clima temperado, as quais apresentam grande variabilidade interespecífica quanto à tolerância ao agente estressor (Fletcher, 1984). Para essas espécies existem diversos trabalhos sobre transporte, onde vários aspectos sobre fisiologia do estresse são abordados (Möck & Peters, 1994; Iversen *et al.*, 1998; Barton, 2000). As respostas obtidas nesses trabalhos forneceram importantes informações para o estabelecimento de um protocolo de transporte adequado para as espécies estudadas. Dessa forma, é grande a necessidade de se obter conhecimento sobre o estresse durante o transporte para espécies tropicais e, principalmente, para espécies amazônicas, que são transportadas em situações ambientais muito particulares, como por exemplo: águas ácidas, quentes e pobres em íons.

Nomenclatura utilizada

Na piscicultura Brasileira, normalmente, tambaqui de 2-7 cm é chamado de alevino e de 8-16 cm de alevino II ou alevinão. Apesar de usual esta nomenclatura não é correta pois os peixes tropicais não possuem a fase de alevino durante seu desenvolvimento.

O termo alevino é utilizado a partir das fases de desenvolvimento dos salmonídeos, porém a aplicação do termo é incorreta, pois a fase de alevino dos salmonídeos não corresponde à mesma fase para peixes tropicais (Tabela 1 e Figs. 1 e 2). Para os salmonídeos “alevin” é um peixe com saco vitelínico, fase correspondente aos estágios larvais dos peixes tropicais. No dicionário Aurélio de língua Portuguesa, alevino é definido como “um pequeno peixe com saco vitelínico”, corroborando com a idéia de que a palavra é uma adaptação das fases de desenvolvimento dos salmonídeos.

A única explicação lógica para esse erro de nomenclatura é com relação ao tamanho do peixe de comercialização. Larvas de salmonídeos normalmente são maiores, sendo muitas vezes do mesmo tamanho que os “alevinos” de peixes tropicais. Os salmonídeos muitas vezes são comercializados para sistemas de engorda na fase de “alevin”, e peixes tropicais na fase de “alevino”.

Para peixes tropicais a fase correta de desenvolvimento para os peixes chamados de alevino é a fase juvenil, esta fase se estende desde a complementação dos raios das nadadeiras pares, que para o tambaqui ocorre com cerca de 17,3mm de comprimento padrão Nakatani *et al.*, (2001), até a primeira maturação sexual. Como para sistemas de criação a comercialização de juvenis é feita a partir de tamanho, foi feita uma adaptação entre o que é utilizado e o que é biologicamente correto. Portanto, neste trabalho foi adotada a seguinte nomenclatura:

- Peixes de 2-7 cm - Juvenil
- Peixes de 8-16 cm – Juvenil II
- Peixe de 800-1000g – Juvenil para abate

As duas primeiras fases foram relacionadas ao comprimento por ser a forma de venda usual no Brasil, já os juvenis para abate com cerca de 1 kg são comercializados por peso.

Tabela 1. Nomenclatura de desenvolvimento ontogênico. As fases de salmonídeos são descritas por Pennell *et al.* (2001) e para peixes tropicais descritas por Nakatani *et al.* (2001).

Fases do desenvolvimento	Estágio de desenvolvimento	
	Salmonídeos	Peixes tropicais
Período entre a eclosão e a primeira alimentação exógena	Alevin	Larva vitelínica
Após primeira alimentação exógena até a formação das nadadeiras pares	Alevin	Pré-flexão Flexão Pós-flexão
Metamorfose completa, pequeno adulto	Fry	Juvenil
Fase de crescimento	Parr	Juvenil
Fase de transição da água doce para água salgada	Smolt	-
Primeira maturação sexual	Adulto	Adulto

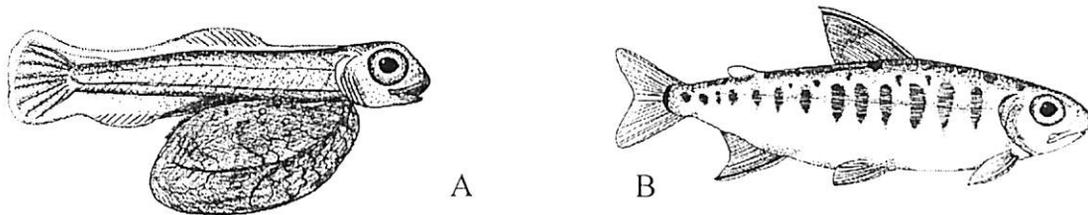


Figura 1. “Alevin” (A) e “fry” (B) de Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) (Fonte: Pennell *et al.*, 2001).

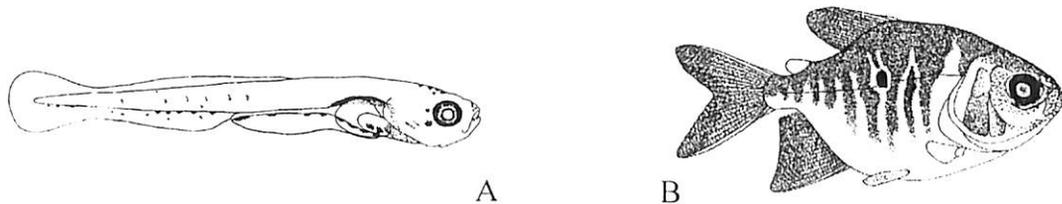


Figura 2. Larva pré-flexão (A) e juvenil (B) de tambaqui (*Colossoma macropomum*) (Fonte: Araujo-Lima & Goulding, 1997).

Bibliografia citada

- Araujo-Lima C.; Goulding, M. 1997. So fruit a fish: ecology, conservation, and aquaculture of the Amazon's tambaqui. Columbia University Press, New York, USA. 157p.
- Barton, B.A. 2000. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. *North American Journal of Aquaculture*, 62:12-18.
- Berka, R. 1986. *The transport of live fish. A review*. EIFAC Technical Papers 48, FAO, Rome, Italy. 57p.
- Boyd, C.E. 1982. Water quality management for pond fish culture. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, 317p.
- Carmichel, G.J.; Tomasso, J.R.; Schwedler, T.E. 2001. Fish transportation. In. Wedemeyer, G. A. (ed.). *Fish Hatchery Management, second edition*. American Fisheries Society, Maryland, USA. p. 641-660.
- Fletcher, D.J. 1984. Plasma glucose and plasma fatty acid levels of *Limanda limanda* in relation to season, stress, glucose cords and nutritional state. *Journal of Fish Biology*, 25:629-648.
- Gomes, L.C.; Chippari-Gomes, A.R.; Golombieski, J.I.; Baldisserotto, B. 1999. Effect of salt in the water of transport on survival and Na⁺ and K⁺ body levels in fingerlings of silver catfish *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). *Journal of Applied Aquaculture*, 9(4):1-9.
- Grottum, J.A.; Staurnes, M.; Sigholt, T. 1997. Effect of oxygenation, aeration and pH control on water quality and survival of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), kept at high densities during transport. *Aquaculture Research*, 28:159-164.
- Iversen, M.; Finstad, B.; Nilssen, K. 1998. Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts. *Aquaculture*, 168:387-394.
- Jobling, M. 1994. *Fish bioenergetics*. Chapman & Hall, London, 294p.
- Johnson, S.K. 1979. *Transport of live fish*. Texas A&M University, Texas, USA. 13p.

- Krieger-Azolini, M.H.; Carosfeld, J.; Delattre, E.; Ceccarelli, P.S.; Menezes, F.V. 1989. Determinação dos indicadores endócrinos e metabólicos no estresse no manejo em pacu juvenil, *Piaractus mesopotamicus* Homlberg, 1887. *Boletim Técnico do CEPTA*, 2:35-42.
- Kubitza, F. 1998. *Técnicas de transporte de peixes vivos*. Campo Grande, Brasil. 44p.
- Leite, R.G.; Zuanon, J.A.S. 1991. Peixes ornamentais – Aspectos de comercialização, ecologia, legislação e propostas de ações para um melhor aproveitamento. In Val, A. L.; Figliuolo, R.; Feldberg, E. (eds.). *Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brasil. p. 327-331.
- Möck, A; Peters, G. 1994. Lysozyme activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), stressed by handling, transport and water pollution. *Journal of Fish Biology*. 37:873-885.
- Nakatani, K.; Agostinho, A.A.; Baumgartner, G.; Bialecki, A.; Sanches, P.V.; Makraris, M.C.; Pavanelli, C.S. 2001. *Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação*. EDUEM, Maringá, Brasil. 378p.
- Pennell, W.; Lane, E.D.; Dalziel, F. 2001. Open systems: the culture of fish for release into natural systems. In. Wedemeyer, G. A. (ed.). *Fish Hatchery Management, second edition*. American Fisheries Society, Maryland, USA. p. 187-240.
- Pickering, A.D.; Pottinger, J.G.; Christie, P. 1982. Recovery of the brown trout, *Salmo trutta* L. From acute handling stress: a time-course study. *Journal of Fish Biology*, 20:229-244.
- Piper, G.R.; McElwain, I.B.; Orme, L.E.; McCraren, J.P.; Fowler, L.G.; Leonard, J.R. 1982. *Fish hatchery management*. Fish and Wildlife Service, Washington, USA. 517p.
- Ross, L.G.; Ross, B. 1999. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. Blackwell Science, Oxford, UK. 159p.

Selye, H. 1950. Stress and the general adaptation syndrome. *British Medical Journal*, 1:1383-1392.

Wedemeyer, G.A. 1996. *Physiology of fish in intensive culture systems*. Chapman & Hall, New York, USA. 232p.

Objetivos

1. Fazer um diagnóstico da situação do transporte de juvenis de tambaqui no Estado do Amazonas;
2. Estimar a sobrevivência durante o transporte de juvenis (3-6 cm), em função da densidade e do tempo;
3. Verificar a eficiência de dois sais e um anestésico na água durante o transporte de juvenis;
4. Desenvolver um protocolo de transporte para juvenis em sistema fechado;
5. Estimar o efeito de diferentes densidades na sobrevivência de juvenis II (15cm), e seu efeito na qualidade da água e no estresse hematológico e metabólico;
6. Testar o sal de cozinha como redutor de estresse em juvenis para abate (1kg), e estimar qual a dose mais eficiente;
7. Testar a densidade adequada para o transporte de juvenis para abate (1kg) usando o sal de cozinha como redutor de estresse;
8. Desenvolver um protocolo de transporte para juvenis para abate (1kg) em sistema aberto.

CAPÍTULO III – Diagnóstico do transporte de juvenis na Amazônia



Este capítulo é a tradução do artigo publicado na World Aquaculture, v. 33, n. 1, p. 51-53, 2002

Transporte de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) na Amazônia: maiores problemas

Introdução

O tambaqui, *Colossoma macropomum*, é um peixe originário da bacia Amazônica e do Orinoco, que ocorre no Brasil, Venezuela, Colômbia, Peru e Bolívia. É considerada a espécie “símbolo” da Amazônia por sua importância no setor pesqueiro e ao fato de ser bem adaptada ao cultivo (Araujo Lima & Goulding, 1997). Possui importante papel sócio-econômico para a região, onde há uma grande procura pela população local tornando essa espécie uma das principais fontes de proteína animal na região (Saint-Paul, 1990).

O Tambaqui é a espécie nativa que se tem mais conhecimentos sobre criação em cativeiro e sucesso em criações na Amazônia (Saint Paul 1986; Araujo Lima & Goulding 1997). É criado no Brasil, Equador, Panamá, Peru, Venezuela e Colômbia (Chellappa *et al.*, 1995), com bons resultados. O Norte do Brasil apresenta algumas vantagens em relação a outras regiões para a criação do tambaqui. Nesta região a oferta de juvenis é contínua, uma vez que se consegue manter lotes em diferentes estádios de maturação durante todo ano e o potencial para engorda é muito bom graças às altas temperaturas (Araujo Lima & Goulding, 1997). Desta forma, a criação de tambaqui está crescendo muito na região.

Apesar dos conhecimentos sobre o cultivo do tambaqui serem satisfatórios, algumas lacunas ainda faltam ser preenchidas para se ter conhecimento técnico suficiente e estabelecer um pacote tecnológico para produção da espécie na Amazônia. Uma das lacunas a serem preenchidas é o transporte de juvenis. Andrade & Randall (1999) em entrevistas com produtores descreveram que a alta taxa de mortalidade de juvenis causada por transporte mal realizado e manejo inadequado, é um dos maiores problemas da criação de tambaqui no estado do Amazonas. Experimentos pilotos realizados com juvenis (2-5cm) confirmaram essa

informação (Gomes, dados não publicados). Os produtores que compram juvenis para estocar em viveiros de engorda normalmente só observam a mortalidade do transporte sem nenhum tipo de avaliação posterior. Como consequência direta desse método de avaliação, a alta mortalidade que ocorre após o transporte não é quantificada e ao final do ciclo de engorda o resultado será uma produção abaixo do esperado (Souza *et al.*, 1998). O transporte de juvenis é um procedimento de rotina em um trabalho de pesquisa envolvendo o repovoamento de tambaqui em lagos de várzea da Amazônia. Dessa forma, está sendo estudado o transporte para buscar soluções para este problema. Neste projeto observou-se que a mortalidade após o transporte é um importante problema a ser resolvido.

O transporte de Juvenis

Kubtiza (2000) cita que embora o transporte seja uma das operações mais importantes no atual estágio da piscicultura, pouca atenção tem sido dada ao assunto no Brasil. Várias fases da criação de peixe envolvem o transporte, porém o transporte de juvenis de estações de reprodução para tanques de engorda em outra propriedade constituem quase a totalidade do tambaqui transportado vivo e tem sido alvo do nosso grupo de estudo desde 2000.

O Amazonas é o maior estado da Amazônia Brasileira. Na amazônia, os juvenis são produzidos principalmente por três fornecedores, um órgão do governo Estadual - Instituto de Desenvolvimento Agropecuário do Amazonas/IDAM e dois produtores particulares. O preço do milheiro de juvenil custa em torno de R\$ 60-80,00. O tamanho de venda no mercado é de 3 a 5cm. Os juvenis são despescados dos tanques de criação e levados em baldes de 20 litros para tanques internos para depuração estomacal por 1-48 horas. Após esta etapa, os peixes são transferidos para sacos plásticos com capacidade de 30-60 litros, onde são colocados 10-20 litros de água e 2 vezes este volume em oxigênio. Os sacos são fechados com ligas de borracha e colocados em caixas de isopor. A densidade de juvenis varia entre 500-1.000 por

saco. O transporte, geralmente, é realizado por via rodoviária e tem duração entre 2 e 24 horas.

Para transportes de aproximadamente 10 horas para um programa de repovoamento, observou-se que 300 juvenis em 10 litros de água está perto da densidade ideal, pois a mortalidade aproximada é de 0%. Este resultado preliminar está sendo refinado em um estudo mais complexo testando diversas densidades para transporte de até 24 horas. Os resultados desse experimento serão vistos no capítulo seguinte.

O transporte de juvenis realizados em 2001 apresentou altas mortalidades mesmo em densidades consideradas seguras. Essa mortalidade deve ter sido causada por desnutrição e infestação de parasitas. Diante desta problemática está se tentando desenvolver uma metodologia para testar a “qualidade dos juvenis”. Os testes estão sendo realizados levando-se em conta a relação peso/comprimento, pois é comum encontrar peixes muito magros nas estações de juvenis. Outra possível metodologia é um teste de resistência fora da água, onde se retira o juvenil fora da água por um determinado período e depois se verifica a mortalidade para diferentes classes de tamanho ou outros fatores de condição.

Na estação de reprodução do estado, a alimentação dos juvenis é o grande problema. A estação administrada pelo governo tem sérios problemas de fornecimento de ração para os juvenis. São comuns cortes de verbas e atraso na entrega da ração. Desta forma é muito comum encontrar juvenis magros que começam a morrer no tanque de depuração logo após a captura no tanque. Sendo assim, esta estação toma como procedimento comum a retirada dos juvenis do tanque de criação e os deixa apenas 1 hora no tanque de depuração antes da embalagem para o transporte, assim, o comprador do juvenil não observa o problema. As perdas subsequentes de juvenis são transferidas para os clientes, produtores de peixe, que observam altas mortalidades no transporte e reportam depois.

Outro problema com esta estação e com as particulares é a infestação de parasitas. A abundância de parasitas nos peixes em alguns casos chegou a 600 parasitas/peixe, na maioria monogênea nos arcos branquiais. O aparecimento desses parasitas deixam os peixes fracos e fazem com que estes não resistam ao transporte. Uma vez detectados estes problemas administradores das estações foram avisados. Na estação do estado, os administradores não estão aptos a lidar com o problema. Enquanto isso, o produtor particular está procurando tomar providências para controlar a infestação, chegando até a sacrificar um lote de peixes doentes para que estes não infestassem os demais juvenis da propriedade. Este mesmo produtor procura ter um manejo adequado para o transporte, como: período de depuração prolongado (24-48 horas), densidade baixa nos tanques de depuração e preocupação com a hora do transporte para que a temperatura esteja amena.

Uso de anestésicos na água do transporte

Os produtores de juvenis no Amazonas colocam azul de metileno com sal de cozinha na água do transporte, porém, não há evidência científica da eficiência destes produtos na diminuição da mortalidade e do estresse. Testou-se a aplicação de anestésicos na água de transporte com a densidade previamente estabelecida (30 peixes/L). Foram testados: anestésico químico MS-222 (Tricaina-metano-sulfonado), anestésico físico como a baixa temperatura e gasoso como o dióxido de carbono. Ross & Ross (1999) citam que o uso de anestésico causa uma melhora considerável na qualidade da água durante o transporte, porém este fato não foi observado quando se adicionou MS222 e CO₂, onde a qualidade da água é semelhante ou inferior a dos peixes que não foram anestesiados.

Os peixes anestesiados com CO₂ foram os que apresentaram menor mortalidade (0% para até 24 horas de transporte) contra 3,5% do grupo sem anestésico. Ao abaixar a temperatura, usando cubos de gelo durante o transporte os resultados foram desastrosos para juvenis de tambaqui, com mortalidades superiores a 43% nas primeiras três horas de

transporte e de até 78% com 24 horas. Estudo posterior testando diferentes densidades de juvenis anestesiados com CO₂ foi realizado e concluiu-se que essa prática só é viável para transporte de até 30 juvenis/L.

Perspectivas futuras

Os estudos que vem sendo realizados já obtiveram resultados importantes. Os problemas da atividade foram identificados e está sendo desenvolvido um protocolo de recomendações para um transporte eficiente. A complementação deste estudo permitirá confeccionar uma tabela que dirá ao transportador, de acordo com a duração de sua viagem, qual a densidade máxima de juvenis que podem ser transportados de forma segura, com mortalidade próxima de 0%.

Neste momento, a propriedade particular está mais apta a realizar um trabalho melhor, já a estação do governo precisa de maior repasse de verba e uma reestruturação interna no âmbito administrativo.

Caso as metodologias que estão sendo testadas para verificar a "qualidade" do juvenil sejam eficientes será possível estabelecer padrões de qualidade e prever a mortalidade durante o transporte com alto grau de confiança. Os objetivos são desenvolver metodologias facilmente aplicáveis.

Conclusões

- O maior problema do transporte de juvenis na Amazônia parece ser a qualidade dos juvenis;
- A mortalidade de juvenis durante o transporte está relacionada com a densidade de juvenis que são transportados;
- Não há benefício da utilização dos anestésicos testados, sendo preferível não adicionar nada na água de transporte.

Bibliografia citada

- Andrade, S.M.S; Randall, E.F. 1999. Avaliação das condições de manejo e doenças nos cultivos de peixe no estado do Amazonas. In: Tomas Cabrera (ed.) *Memoria del Acuicultura Venezuela 99' – Latin American Chapter of the World Aquaculture Society*. Puerto La Cruz, Venezuela. p. 17-20.
- Araujo-Lima C.; Goulding, M. 1997. So fruit a fish: ecology, conservation, and aquaculture of the Amazon's tambaqui. Columbia University Press, New York, USA. 157p.
- Chellappa, S.; Chellappa, N.T.; Barbosa, W.B.; Huntingford, F.A.; Beveridge, M.C.M. 1995. Growth and production of the Amazonian tambaqui in fixed cages under different feeding regimes. *Aquaculture International*, 3(1):11-21.
- Kubtiza, F. 2000. A safra aquícula 1999/2000. *Panorama da Aquicultura*, 10(58):31-35.
- Ross, L.G.; Ross, B. 1999. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. Blackwell Science, Oxford, UK. 159p.
- Saint-Paul, U. 1986. Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: a review. *Aquaculture*, 54:205-240.
- Saint-Paul, U. 1990. *Aquaculture in Latin America - Bibliography*, European Aquaculture Society - Special Publ, Belgium. p.
- Souza, R.A.L.; Melo, J.S.C.; Pereira, J.A.; Peret, A.C. 1998. Determinação da densidade de estocagem de alevinos de tambaqui *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 (Pisces, Characidae) no estado do Pará - Brasil. *Boletim Técnico do CEPTA*, 11:39-48.

CAPÍTULO IV – Transporte de juvenis



Transporte de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em sistema fechado

Resumo

A mortalidade de juvenis após o transporte é um dos principais entraves da criação de tambaqui na Amazônia. Portanto, este trabalho teve como objetivo testar o transporte de juvenis de tambaqui com a adição de produtos potencialmente redutores de estresse, e estabelecer um protocolo de transporte seguro para a espécie. Os produtos e doses testados foram: sal de cozinha (100, 2000 e 3000mg/L), gesso (100, 300 e 500mg/L) e benzocaina (10, 20 e 30mg/L), além de um tratamento sem adição de nenhum produto (controle). Os peixes foram transportados em sistema fechado em diferentes densidades e por diferentes tempos. Após a abertura dos sacos foi verificada a mortalidade e avaliada a qualidade da água. Os peixes que sobreviveram foram colocados em tanques-rede para avaliar a mortalidade ocorrida até 96 horas após o transporte. Foi estimado o modelo linear para a sobrevivência após o transporte (ST) e 96 horas após o transporte (S96), sendo determinada a melhor densidade de peixe para o tempo necessário de transporte. Foi testado, também, o efeito da qualidade do juvenil (medida pelo fator de condição) sobre a sobrevivência durante o transporte. Como esperado, o tempo e a densidade tiveram relação significativamente inversa com ST e S96. Os tratamentos causaram uma redução significativa na ST, mas não na S96. A ST nos tratamentos com gesso foi significativamente igual ao controle, a sobrevivência dos tratamentos com sal de cozinha e benzocaina foram significativamente inferiores. A qualidade do juvenil não influenciou na ST. A ST estava correlacionada com o aumento da concentração de dióxido de carbono. Foi concluído que os produtos testados não melhoram a sobrevivência dos peixes.

Tambaqui (*Colossoma macropomum*) juvenile transportation in closed system

Abstract

Juvenile mortality after transportation is one of the main impediments of tambaqui culture in the Amazon. Therefore, the present study had the objective to test the transport of juvenile tambaqui using potentially stress reducing products and to establish a safe transportation protocol for the species. The tested products and doses were: table salt (100, 2000 and 3000mg/L), gypsum (100, 300 and 500mg/L) and benzocaine (10, 20 and 30mg/L), besides a treatment without the addition of any product (control). Fish were transported in closed systems at different densities and during different periods of time. Mortality was ascertain and water quality parameters were evaluated. The fish that had survived were placed in floating cages to evaluate mortality that occurred up to 96 hours after transportation. The best fish density at the desired transportation time was estimated with a linear model for fish survival after transportation (ST) and 96 hours after transportation (S96). The effect of juvenile quality (expressed by the condition factor) on ST and S96 was graphically evaluated. As expected, time and density were significantly related with ST and S96. Treatments were significantly related with ST, but not with S96. Fish survival with gypsum treatment was significantly equal to the control and fish survival with table salt and benzocaine treatments were significantly lower. The juvenile quality was not related with either ST and S96. ST was inversely correlated with carbon dioxide concentration. It was concluded that the stress-reducing products did not improve fish transportation survival.

Introdução

O tambaqui, *Colossoma macropomum*, é a espécie mais criada no norte do Brasil (Val *et al.*, 2000). As principais causas são a fácil aceitação de alimento artificial, a boa

produtividade, a facilidade na obtenção de juvenis e a rusticidade (Araujo-Lima & Goulding, 1997). O transporte de juvenis é uma etapa obrigatória para a criação de tambaqui, pois os peixes são criados em fazendas de larvicultura e transportados para fazendas onde são engordados. O tamanho de distribuição dos peixes varia de 2 a 6cm e o principal método de transporte desses peixes é o sistema fechado (Gomes *et al.*, 2002).

A mortalidade de juvenis durante o transporte foi apontada por produtores como um dos principais entraves na criação da espécie no Amazonas (Andrade & Randall, 1999). Gomes *et al.* (2002) em um diagnóstico do transporte do tambaqui confirmaram o problema. As causas para essa mortalidade parecem estar relacionadas com o manejo inadequado e a alimentação dos juvenis durante a larvicultura, o que reflete em um peixe de baixa qualidade.

De acordo com Kubtiza (1998), para que se tenha êxito no transporte de juvenis é necessário se levar em conta uma série de fatores como: duração, temperatura da água, conteúdo de oxigênio, tamanho e densidade dos peixes, condições físicas dos indivíduos, diferença de tamanho no mesmo lote e período de jejum adequado antes de se embalar os juvenis.

A qualidade da água é apontada por Carmichel *et al.* (2001) como um dos principais fatores limitantes do transporte em sistema fechado. A sobrevivência dos juvenis é diretamente relacionada à disponibilidade de oxigênio dissolvido na água (Wedemeyer, 1996). O dióxido de carbono e a amônia podem ter relação com a mortalidade no transporte, pois ficam acumulados na água e muitas vezes atingem valores extremos (Berka, 1986).

O uso de sais e anestésicos durante o transporte de juvenis é amplamente recomendado (Guest & Prentice, 1982; Ross & Ross, 1999). Existem muitos produtos apontados como potencialmente benéficos durante o transporte, dentre estes, o sal de cozinha, o gesso e a benzocaina merecem destaque por serem facilmente obtidos e de baixo custo. O sal e o gesso são utilizados para reduzir o gradiente osmótico entre o peixe e a água do transporte

(Wedemeyer, 1997), dessa forma o peixe mantém sua homeostase e sua saúde não é comprometida durante o transporte. A benzocaina é considerada um anestésico eficiente e seguro para juvenis de tambaqui (Gomes *et al.*, 2001), necessitando testar também sua eficiência durante o transporte.

O transporte envolve custos de obtenção de juvenis, do próprio transporte entre outros, sendo a mortalidade, nesse processo, desastrosa para os produtores. Entretanto, pouco foi feito para determinar as densidades ideais para viagens com duração conhecida, e as concentrações de produtos anti-estressantes na água que otimizam a sobrevivência. O estabelecimento de protocolos é fundamental para que o tambaqui seja transportado com sucesso na Amazônia. Diante disto, este trabalho teve o objetivo de testar a eficiência de três produtos como redutor de mortalidade e estabelecer um protocolo seguro de transporte de tambaqui em períodos de até 24 horas de duração.

Material e Métodos

Foram utilizados juvenis de tambaqui de $4,09 \pm 0,05$ cm e $1,19 \pm 0,06$ g (média \pm erro padrão). Os juvenis foram obtidos na Estação de Piscicultura de Balbina (Presidente Figueireido, Amazonas, Brasil) e na fazenda Santo Antônio (Rio Preto da Eva, Amazonas, Brasil).

Os peixes foram obtidos por desova induzida e criados em viveiros de larvicultura por 30-60 dias. Após o período de larvicultura, os juvenis foram capturados nos viveiros e transferidos para tanques, onde permaneceram por 12-18 horas para depuração estomacal. Após a depuração, os peixes foram transferidos para sacos plásticos com capacidade para 30 litros, onde foram colocados 10 litros de água e 2 vezes esse volume em oxigênio, os sacos foram então fechados com ligas de borracha e colocados individualmente em caixas de isopor. O transporte foi realizado por via rodoviária. Após o transporte foi verificada a sobrevivência (ST), e os juvenis vivos foram colocados em tanques-rede de $1,5\text{m}^2$ sendo monitorada a

mortalidade por 96 horas (S96). Esses tanques-rede foram colocados no lago do Catalão localizado na confluência dos rios Negro e Solimões.

Os juvenis foram transportados em várias densidades de carga (entre 15–180 peixes/l.) e durante períodos de tempo (entre 3 e 24 horas). A unidade de medida peixes/L é a única utilizada em fazendas que vendem juvenis no Brasil, por isso foi aplicada neste estudo.

Três produtos potencialmente redutores de estresse foram testados em diferentes dosagens (Tabela 1).

Tabela 1. Produtos utilizados durante o transporte de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em sistema fechado e suas respectivas doses.

Produto	Dose (mg/L)		
Sal de cozinha ¹ (90% NaCl)	1000	2000	3000
Gesso ² (29% Ca ⁺²)	100	300	500
Benzocaina ³ (ethyl-p-aminobenzoate)	10	20	30

¹ Sal Lebre®, Norsal S.A., RN; ² Ingesel Ltda, PE; ³ Biomedicinal®, AM.

O sal de cozinha e o gesso foram diluídos diretamente na água do transporte. A benzocaina foi diluída na proporção de 100ml de acetona: 10g de benzocaina, sendo esta chamada solução estoque. Cada 1ml da solução estoque continha 100mg de benzocaina e foi adicionada diretamente na água do transporte.

Foram transportados um ou dois sacos de cada produto com as doses acima citadas e um ou dois sacos sem adição de nenhum produto (tratamento controle), cada saco tinha uma densidade e foi aberto em um tempo diferente. Este experimento foi repetido oito vezes, somando oito viagens.

um oxímetro YSI 55, o pH com pHmetro digital, o dióxido de carbono por titulação de acordo com APHA (1992), a amônia total segundo Verdow *et al.* (1978) e a porcentagem de amônia não ionizada calculada de acordo com Boyd (1982).

A ST e a S96 foram transformadas para logit, e os efeitos do tempo, densidade e tratamentos (categórico) foram testados com uma ANCOVA. O mesmo modelo foi realizado com a S96. Para o cálculo da S96 houve uma correção de 0,25% ao dia, que representa a mortalidade natural dos juvenis em viveiros. Essa correção foi baseada em um experimento, no qual, foram distribuídos igualmente 600 juvenis em seis tanques-rede e sua sobrevivência foi medida após 96 horas. A sobrevivência média, após o transporte de cada tratamento, foi comparada contra o controle (nada) através do teste de Dunnett.

Para avaliar a qualidade dos juvenis foi utilizado o fator de condição. Foram medidos e pesados cinco peixes selecionados ao acaso de cada saco. Para calcular o fator de condição foi utilizada a seguinte fórmula: $FC = (P_g)/CT^3_{cm}$, onde, P é peso e CT é o comprimento total. Foi estimado então o fator de condição médio de cada saco, sendo o efeito deste relacionado com os resíduos dos modelos acima descritos.

Os parâmetros de qualidade da água foram analisados graficamente com a sobrevivência e as tendências testadas com análises de correlação.

Resultados

A ST variou significativamente com os tratamentos, com o tempo, e com a densidade (Tabela 2). Os tratamentos com sal e com benzocaina reduziram a ST significativamente em relação ao controle (nada). Mas os tratamentos com gesso, não alteraram a ST (Fig. 1A). A S96 variou significativamente com o tempo e com a densidade mas não com os tratamentos (Tabela 3 e Fig. 1B).

Com o resultado da ANCOVA foi calculada a ST através uma regressão linear múltipla com os tratamentos controle e gesso 100, 300 e 500mg/L. Quando não se adicionou

nada na água ou se adicionou gesso pode-se transportar 100 peixes/L por 3 horas sem mortalidade. Para o transporte de 6, 9, 12, 15, 18 e 24 horas as densidades máximas em que não houve mortalidade foram respectivamente 90, 80, 70, 60, 45 e 25 peixes/L (Fig. 2). O mesmo procedimento foi utilizado com S96. Neste caso, só é possível transportar peixes sem mortalidade em uma densidade de até 20 peixes/L por no máximo 3 horas (Fig. 3). Para o transporte de 3, 6, 9 e 12 horas as densidades mais adequadas, assumindo 5% de mortalidade foram de 60, 50, 30 e 20 peixes/L, respectivamente. Para um transporte de mais de 12 horas a densidade deve ser de 20 peixes/L, assumindo uma mortalidade de até 25% para um transporte de 15 e 18 horas e de 50% para o transporte de 24 horas.

O fator de condição não influenciou a ST e S96. O dióxido de carbono teve uma relação significativa com a mortalidade após o transporte ($n = 91$, $r = 0,42$, $p < 0,001$), sendo menor a sobrevivência com o aumento da concentração de dióxido de carbono (Fig. 4). Mortalidades maiores ocorreram quando a concentração de dióxido de carbono foi superior a 100mg/L. Em concentrações menores que 100mg/L a sobrevivência ficou sempre em torno de 95-98%. O oxigênio dissolvido, a temperatura, o pH e a amônia não ionizada não tiveram uma relação com a sobrevivência após o transporte (Fig. 5).

Discussão

De acordo com Kubitzka (2000), o transporte de peixes é uma das etapas mais importantes do atual estágio da piscicultura brasileira, porém pouca atenção vem sendo dada ao tema. Essa falta de atenção sobre o transporte também afetou a piscicultura de tambaqui no Amazonas, pois o problema havia sido detectado por Andrade & Randall (1999) e nada foi feito até o ano 2000.

Não houve evidência de aumento da eficiência do transporte com o uso de produtos redutores de estresse. O transporte com gesso, nas três dosagens testadas, foi o único que apresentou uma sobrevivência semelhante ao tratamento controle. A benzocaina é eficiente e

segura para anestésias juvenis de tambaqui (Gomes *et al.*, 2001) e recomendada para o transporte de tilápia (*Oreochromis niloticus*) (Ferreira *et al.*, 1984), porém, os resultados com o transporte de juvenis de tambaqui desaconselham essa prática.

A utilização do sal cozinha como redutor de estresse é eficiente para diminuir a mortalidade de juvenis de várias espécies de clupeídeos (Guest & Prentice, 1982). Porém, tal resultado não foi observado neste estudo, onde os tratamentos com sal de cozinha tiveram uma sobrevivência significativamente inferior à do controle. Gomes *et al.* (1999) concluíram que o sal de cozinha não é eficiente no transporte de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), onde a mortalidade chegou a 100% quando se adicionou sal de cozinha na água do transporte, comparada a apenas 5% nos peixes transportados sem adição de sal. Os autores relacionaram a mortalidade com um distúrbio osmorregulatório que ocorre quando se adiciona sal na água. Esse mesmo padrão pode ter acontecido para os juvenis de tambaqui deste estudo.

A sobrevivência dos juvenis quando se adiciona antiestressantes parece estar mais relacionada com produto do que com a dose, pois a ST foi similar entre as doses testadas. A S96 apesar de não ser significativa para os tratamentos apresentou um padrão muito semelhante à ST em todos tratamentos. A provável causa de não haver diferença significativa entre os tratamentos na sobrevivência de 96 horas após o transporte, foi a grande variabilidade dos resultados.

A qualidade do juvenil é uma das possíveis variáveis que afetam a sobrevivência após o transporte (Berka, 1986; Carmichel, 2001). Neste estudo utilizamos o fator de condição como índice de qualidade dos peixes. Com os resultados obtidos não foi possível observar uma relação com a sobrevivência após o transporte e 96 horas após o transporte. Este resultado é inverso ao esperado, pois era comum acharmos peixes “magros” no lote a ser transportado, e este fato era mais evidente em alguns lotes transportados do que em outros. Talvez outros índices de qualidade conhecidos para peixes e camarões, como a exposição a

produtos potencialmente tóxicos como amônia e formalina (Samocha *et al.*, 1998; Cavalli *et al.*, 2000) ou um teste de estresse com a retirada dos animais da água por um determinado tempo (Sakakura *et al.*, 1998), possam ser mais eficientes para estimar a qualidade dos juvenis e melhorar os requisitos para o transporte.

Com exceção do dióxido de carbono os parâmetros de qualidade da água não tiveram relação com a sobrevivência. A temperatura da água para o transporte na Amazônia, 26-32°C, é geralmente mais alta que a temperatura máxima recomendada (28°C) para o transporte de peixes por Kubtiza (1998), mas não teve efeito claro na sobrevivência. Segundo Ismiño-Orbe (1997) o tambaqui é uma espécie resistente à toxidez da amônia. As concentrações de amônia não ionizada observadas neste estudo foram inferiores às consideradas letais para a espécie (27,06µmol/L) (Ismiño-Orbe, 1997), desta forma a amônia não foi prejudicial aos juvenis.

O dióxido de carbono teve uma relação inversa com a sobrevivência, sendo menor a sobrevivência com o aumento das concentrações de dióxido de carbono. De acordo com Berka (1986), os valores críticos de dióxido de carbono durante o transporte de juvenis em sistema fechado dependem da espécie, porém variam de 40mg/L para espécies de clima temperado até 140mg/L para peixes tropicais. Neste estudo, a sobrevivência foi menor quando as concentrações de dióxido de carbono foram superiores a 100mg/L, indicando que essa é a concentração crítica para juvenis de tambaqui.

A relação água:oxigênio utilizada neste estudo foi menor do que a recomendada na bibliografia especializada, porém é a relação padrão utilizada para o transporte em caixas de isopor individuais. A utilização desse método é mais eficiente para as condições locais, pois a caixa de isopor, isola e protege os sacos de transporte do calor e do sol, além de facilitar o empilhamento da carga. Como não houve uma relação do oxigênio dissolvido com a sobrevivência, esse método pode ser confirmado como adequado para juvenis de tambaqui.

As densidades estabelecidas neste estudo para uma sobrevivência de 100% após o transporte, são semelhantes às recomendadas para o transporte de juvenis de ciprinídeos por Berka (1986) e maiores que as recomendações de Kubtiza (1998) para o transporte de tambaqui, quando corrigida a relação água:oxigênio. Kubtiza (1998) recomenda uma relação de 1:5 entre água e oxigênio injetado, neste experimento a relação foi de 1:2. No entanto, seria mais conservador utilizar as densidades descritas para a sobrevivência de 96 horas após o transporte. Tendo como parâmetro a sobrevivência de 96 horas após o transporte, o produtor teria uma idéia mais completa do processo de mortalidade que ocorre no viveiro e, dependendo do tempo de transporte necessário, este já pode corrigir a mortalidade que provavelmente ocorrerá.

Com os resultados obtidos nesse estudo é possível transportar juvenis de forma segura e ficou evidente que a utilização dos produtos testados não é recomendada. Sendo necessário agora, um estudo endereçando o estabelecimento de um índice de qualidade dos juvenis que são transportados, para que os resultados obtidos neste estudo possam ser maximizados com o transporte de densidades maiores do que as aqui estabelecidas.

Bibliografia citada

- Andrade, S.M.S; Randall, E.F. 1999. Avaliação das condições de manejo e doenças nos cultivos de peixe no estado do Amazonas. In: Tomas Cabrera (ed.) *Memoria del Acuicultura Venezuela 99' – Latin American Chapter of the World Aquaculture Society*. Puerto La Cruz, Venezuela. p. 17-20.
- APHA (American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation). 1992. *Standard methods for the examination of water and wastewater, 18th edition*. American Public Health Association, New York, USA.
- Araujo-Lima C.; Goulding, M. 1997. *So fruit a fish: ecology, conservation, and aquaculture of the Amazon's tambaqui*. Columbia University Press, New York, USA. 157p.

- Berka, R. 1986. *The transport of live fish. A review*. EIFAC Technical Papers 48, FAO, Rome, Italy. 57p.
- Boyd, C.E. 1982. *Water quality management for pond fish culture*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, 317p.
- Carmichel, G.J.; Tomasso, J.R.; Schwedler, T.E. 2001. Fish transportation. In. Wedemeyer, G. A. (ed.). *Fish Hatchery Management, second edition*. American Fisheries Society, Maryland, USA. p. 641-660.
- Cavalli, R.O.; Berghe, E.V.; Lavens, P.; Thuy, N.T.T.; Wille, M.; Sorgeloos, P. 2000. Ammonia toxicity as a criterion for the evaluation of larval quality in the prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 125C:333-343.
- Ferreira, J.T.; Schoonbee, H.J.; Smit, G.L. 1984. The use of benzocaine-hydrochloride as an aid in the transport of fish. *Aquaculture*, 42:69-174.
- Gomes, L.C.; Chippari-Gomes, A.R.; Lopes, N.P.; Roubach, R.; Araujo-Lima, C.A.R.M. 2001. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 32:426-431.
- Gomes, L.C.; Golombieski, J.I.; Chippari-Gomes, A.R.; Baldissarotto, B. 1999. Effect of salt in the water of transport on survival and Na^+ and K^+ body levels in fingerlings of silver catfish *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). *Journal of Applied Aquaculture*, 9(4):1-9.
- Gomes, L.C.; Roubach, R.; Araujo-Lima, C.A.R.M. 2002. Transportation of tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*) in Amazon: main problems. *World Aquaculture*, 33: 51-53.
- Guest, W.C.; Prentice, J.A. 1982. Transportation techniques for blueback herring. *The Progressive Fish-Culturist*, 44:183-185.
- Ismiño-Orbe, R.A. 1997. *Excreção e efeito da amônia sobre o crescimento do tambaqui (Colossoma macropomum CUVIER, 1818)*. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional

- de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 40p.
- Kubitza, F. 1998. *Técnicas de transporte de peixes vivos*. Campo Grande, Brasil. 44p.
- Kubitza, F. 2000. A safra aquícola 1999/2000. *Panorama da Aquicultura*, 10(58):31-35.
- Ross, L.G.; Ross, B. 1999. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. Blackwell Science, Oxford, UK. 159p.
- Sakakura, Y.; Koshio, S.; Iida, Y; Tsukamoto, K.; Kida, T.; Blom, J.H. 1998. Dietary vitamin C improves the quality of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) seedlings. *Aquaculture*, 161:427-436.
- Samocha, T.M.; Guajardo, H.; Lawrence, A.L.; Castille, F.L.; Speed, M.; McKee, D.A.; Page, K.I. 1998. A simple stress test for *Penaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture*, 165:233-242.
- Val, A.L.; Rolim, P.R.; Rabelo, H. 2000. Situação atual da aquíicultura na região norte. In: Valente, W.C.; Poli, C.R.; Pereira, J.A.; Borghetti, J.R. *Aquíicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável*. CNPq/MCT, Brasília, Brasil. p. 247-266.
- Verdow, H.; Vanechted, C.J.A.; Dekkers, E.M.J. 1978. Ammonia determination based on indophenol with sodium salicylate. *Water Research*, 12:399-402.
- Wedemeyer, G.A. 1996. *Physiology of fish in intensive culture systems*. Chapman & Hall, New York, USA. 232p.
- Wedemeyer, G.A. 1997. Effect of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. In: Iwama, G. K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P.; Schreck, C. B. (eds.). *Fish stress and health in aquaculture*. Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p. 35-71.

Tabela 2. Análise de covariância da sobrevivência de juvenis de tambaqui após o transporte realizado em sistema fechado com sal, gesso e benzocaina na água e em diferentes tempos e densidades. $n = 99$ e $r = 0,744$.

Fonte	Soma dos quadrados	gl	Quadrado médio	F	P
Tratamento	133,621	9	14,847	5,450	<0,001
Tempo	369,537	1	369,537	135,652	<0,001
Densidade	447,231	1	447,231	164,172	<0,001
Erro	237,001	87	2,724		

Tabela 3. Análise de covariância da sobrevivência de juvenis de tambaqui 96 horas após o transporte realizado em sistema fechado com sal, gesso e benzocaina na água e em diferentes tempos e densidades, $n = 110$ e $r = 0,49$.

Fonte	Soma dos quadrados	gl	Quadrado médio	F	P
Tratamento	62,957	9	6,995	1,872	0,065
Tempo	200,668	1	200,668	53,698	<0,001
Densidade	203,043	1	203,043	54,334	<0,001
Erro	366,221	98	3,737		

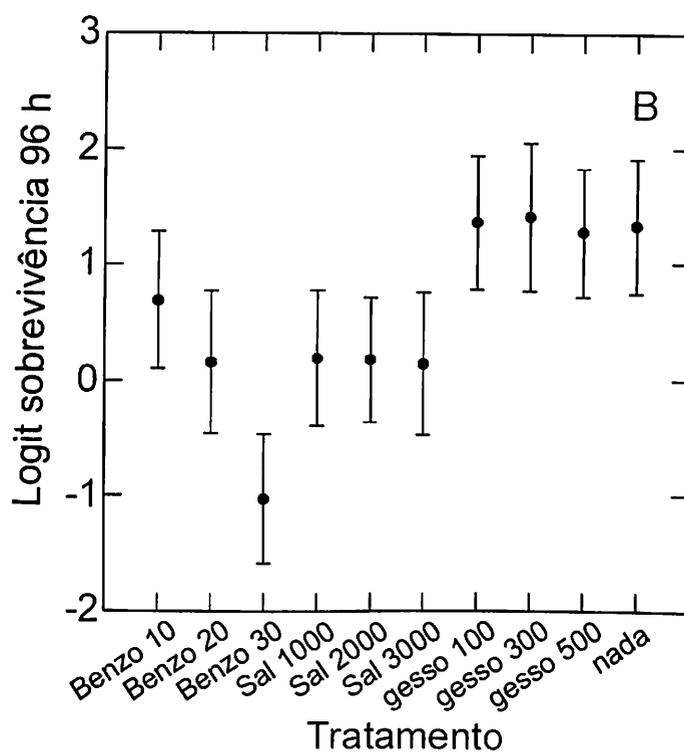
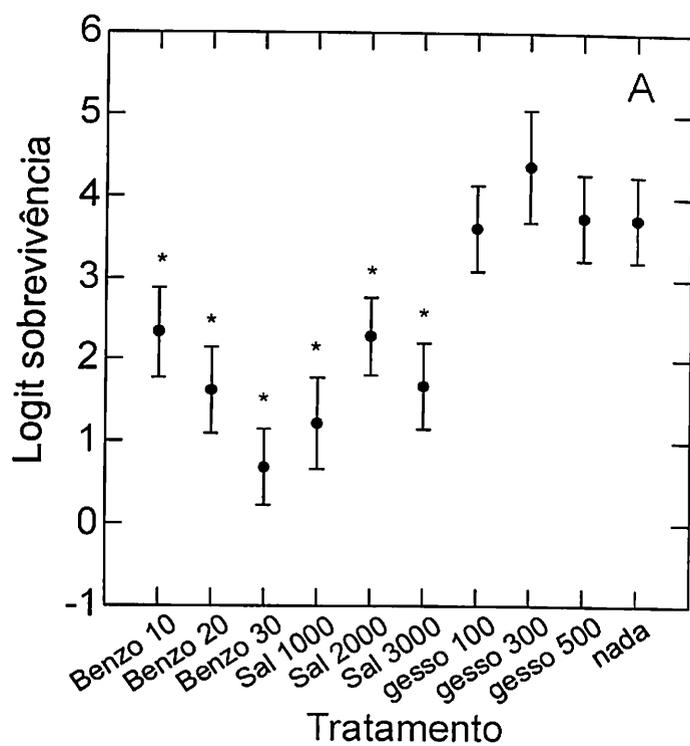


Figura 1. Sobrevivência de juvenis de tambaqui após o transporte (A) e 96 horas após o transporte (B). Os dados são média \pm erro padrão. Os números após os tratamentos significam a dose em mg/L. Benzo = benzocaina e nada = controle. * indica diferença significativa do controle, teste de Dunnett; $P < 0,05$.

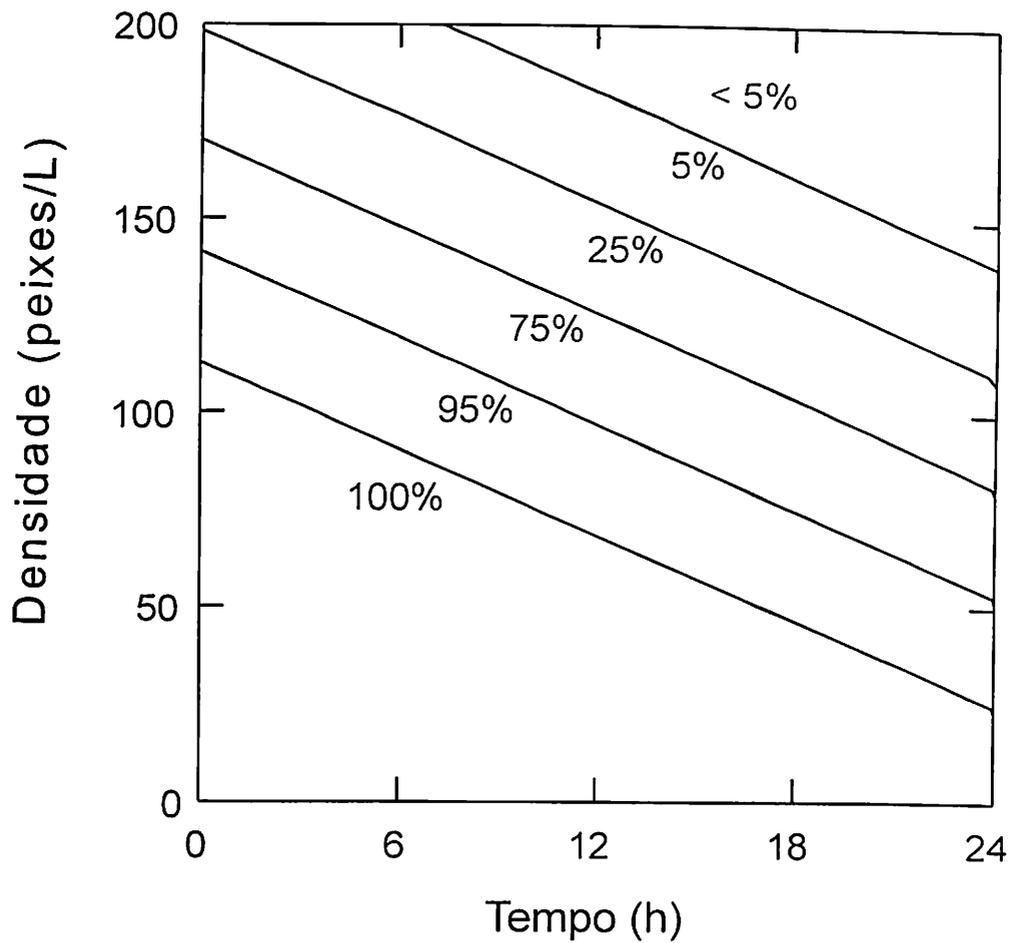


Figura 2. Isolíneas da sobrevivência média (%) de juvenis de tambaqui após o transporte não utilizando nada na água e utilizando gesso, de acordo com a densidade e tempo. A equação que descreve as linhas é: $\text{logit sobrevivência} = 12,888 - 0,258 \cdot \text{tempo} - 0,07 \cdot \text{densidade}$. $n = 36$, $p < 0,001$ e $r = 0,76$.

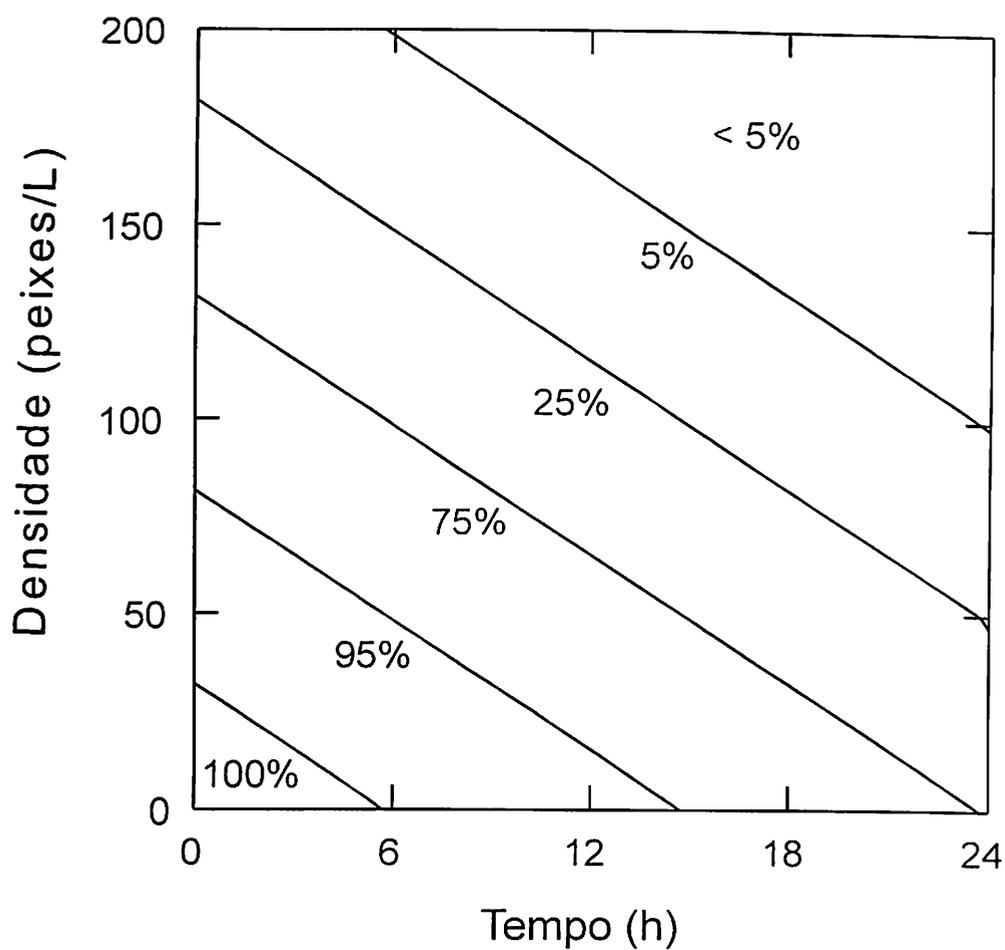


Figura 3. Isolíneas da sobrevivência média (%) de juvenis de tambaqui 96 horas após o transporte para todos tratamentos testados, de acordo com a densidade e tempo. A equação que descreve as linhas é: $\text{logit sobrevivência} = 6,269 - 0,222 \cdot \text{tempo} - 0,04 \cdot \text{densidade}$. $n = 110$, $p < 0,001$ e $r = 0,39$.

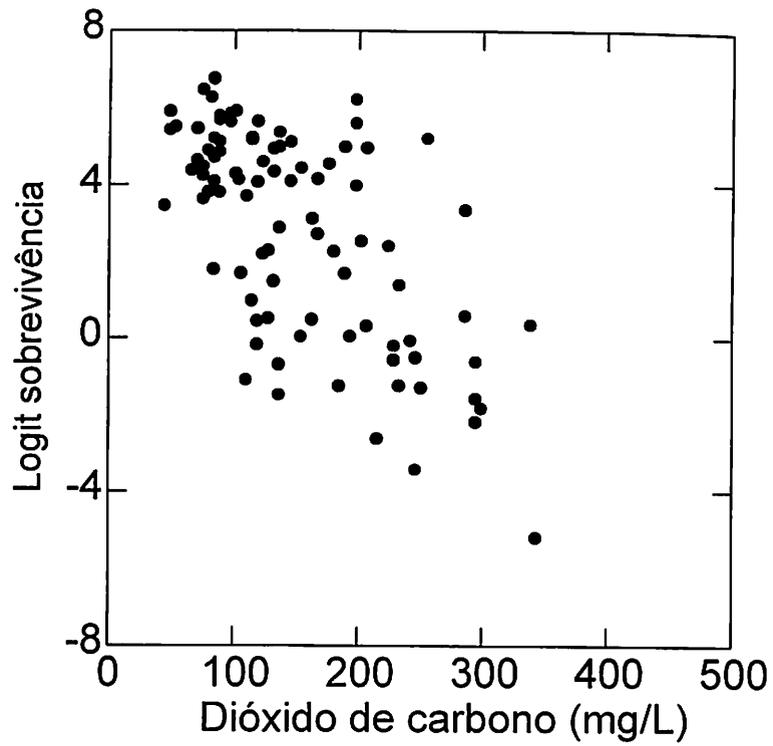


Figura 4. Relação entre o dióxido de carbono e a sobrevivência de juvenis de tambaqui após o transporte realizado em sistema fechado com sal, gesso e benzocaina na água e em diferentes tempos e densidades. $n = 91$, $r = 0,42$, $p < 0,001$.

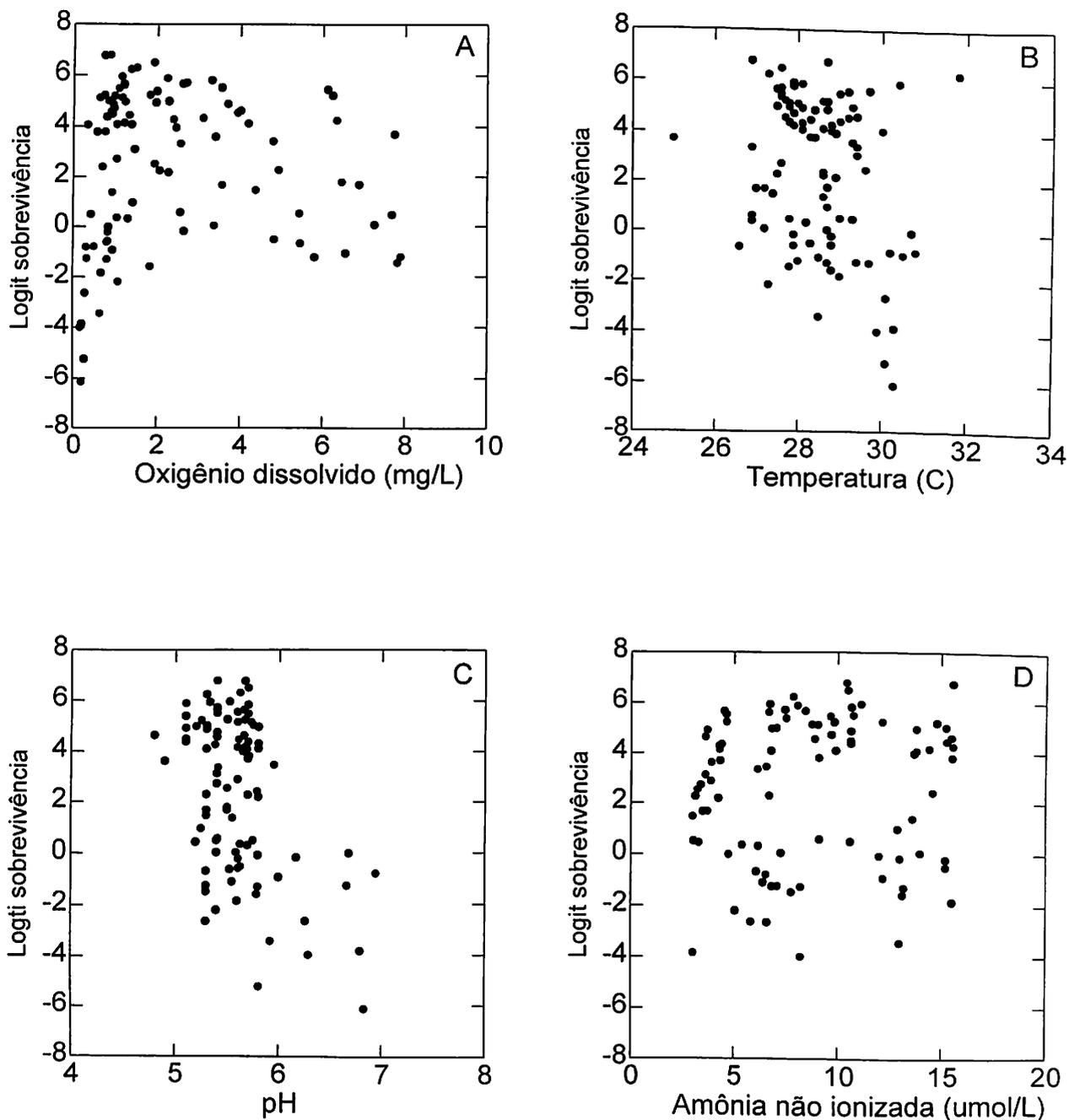


Figura 5. Relação entre oxigênio dissolvido (A), a temperatura (B), o pH (C), a amônia não ionizada (D) e a sobrevivência de juvenis de tambaqui após o transporte realizado em sistema fechado com sal, gesso e benzocaina na água e em diferentes tempos e densidades.

CAPÍTULO V – Transporte de juvenis II



Artigo Submetido para publicação no Journal of the World Aquaculture Society em Dezembro de 2001

Efeito da densidade de peixe nas respostas fisiológicas do estresse e na mortalidade de juvenis II de tambaqui (*Colossoma macropomum*) durante o transporte

Resumo

O aumento da demanda de juvenis II de tambaqui (*Colossoma macropomum*) para viveiros de engorda e para programas de repovoamento na Amazônia, aumentou a necessidade de transportar estes peixes. Este estudo foi realizado para determinar a melhor densidade para o transporte de juvenis II de tambaqui em sistema fechado. Os peixes ($51,9 \pm 3,3\text{g}$ e $14,9 \pm 0,4\text{cm}$) foram capturados em um viveiro e mantidos por 16h em um tanque de depuração antes do transporte. Após esse período, foram embalados em sacos plásticos e transportados por 10h em quatro diferentes densidades: 78, 156, 234 e 312 g/L de água (seis repetições). Após o transporte os sacos foram abertos e os peixes mortos contados. Os peixes vivos de cada saco foram colocados em um tanque de 500L para se estimar a mortalidade acumulada (96h após o transporte). A qualidade da água foi monitorada nos sacos plásticos antes e após o transporte. Os parâmetros sanguíneos para monitoramento do estresse foram determinados antes da captura no viveiro, antes da captura no tanque de depuração, após o transporte e 24 e 96h após o transporte. A mortalidade após o transporte foi significativamente menor nas densidades 78 e 156 g/L de água do que nas densidades 234 e 312 g/L de água. A mortalidade acumulada foi significativamente menor na densidade de 78 g/L de água. O oxigênio dissolvido após o transporte foi significativamente maior na densidade de 78 g/L de água e alcançou valores críticos nas demais densidades. As concentrações de amônia apresentaram valores significativamente maiores na menor densidade. Por outro lado, a concentração de dióxido de carbono foi significativamente menor na densidade de 78 g/L de água. A glicose e o cortisol plasmático aumentaram significativamente após o transporte nas densidades de 156, 234 e 312 g/L de água, retornando para valores similares ao controle após 24h. A melhor

densidade para o transporte de 10h em sistema fechado é 78 g/L de água. Nesta densidade não há mortalidade dos peixes, a qualidade da água se mantém em valores adequados e os peixes não apresentam nenhum estresse mensurável.

Effect of fish density on the physiological stress responses and mortality of juvenile II tambaqui *Colossoma macropomum* during transportation

Abstract

The increased demand for juvenile II tambaqui (*Colossoma macropomum*) for grow-out ponds and stocking programs in the Amazon state has increased the fish transportation. This study was designed to estimate the optimum density of juvenile II tambaqui during transportation in closed systems. Fish ($51.9 \pm 3.3\text{g}$ and $14.9 \pm 0.4\text{cm}$) were taken from a nursery tank and remained for 16 h in a depuration tank before transportation. Right after, fish were packed in plastic bags and transported for 10 h at four densities: 78, 156, 234 and 312 g/L of water (six transportation procedures). After transportation, the bags were opened, dead fish were counted, and live fish from each density were kept in separate 500L tanks to estimate the 96h cumulative mortality. The water quality was monitored before capture in the depuration tank and immediately after transportation in the bags. Blood parameters were monitored before capture in the nursery tank, before capture in the depuration tank, immediately after transportation and at 24h and 96h after the transportation. Fish mortality after transportation was significantly lower at densities of 78 and 156 g/L of water than at 234 and 312 g/L of water. Cumulative mortality was significantly lower at density of 78 g/L of water. Dissolved oxygen after 10h of transportation was significantly higher at a density of 78 g/L of water, and reached critically low values at all other densities. Ammonia concentration behaved similar to dissolved oxygen, reaching significantly higher values at the lower density and lower values at the other densities. Otherwise, carbon dioxide concentration was lower at

the density of 78 g/L of water and higher in the others. Plasma glucose and cortisol increased significantly immediately after transportation at densities of 156, 234 and 312 g/L of water, returning to control values up to 24h. The best density for juvenile tambaqui during a 10h transportation in a closed system was 78 g/L of water. At this density there was no fish mortality, water quality was kept within acceptable values and fish did not present any measurable stress physiological indicator.

Introdução

O tambaqui, *Colossoma macropomum*, é uma das espécies nativas com mais conhecimento para criação em cativeiro. É o peixe produzido com mais sucesso por fazendas de criação no Brasil (Saint Paul, 1986; Araujo-Lima & Goulding, 1997). Esta espécie tem sido utilizada para engorda e, também, em programas de repovoamento na Amazônia. A criação de tambaqui tem crescido rapidamente na região, principalmente, pelo fornecimento de juvenis o ano inteiro e às altas taxas de crescimento obtidas em viveiros e tanques-rede, devido à temperatura relativamente alta e constante (Araujo-Lima & Goulding, 1997).

O transporte de juvenis II é atualmente uma das principais operações em estações de piscicultura. Esta prática causa um grande estresse nos peixes (Kubitza, 1997; Iversen *et al.*, 1998; Carneiro & Urbinati, 2001). De acordo com Ross & Ross (1999), o principal precursor do estresse é a abrasão mecânica causada pelo inevitável contato entre os peixes quando transportados, principalmente em altas densidades. Os peixes irão responder ao estresse de forma a refletir a severidade e a duração do agente estressor (Barton, 1997). O transporte pode ser considerado um agente estressor severo quando realizado em média ou longa duração (Robertson *et al.*, 1988). Em sistemas fechados de transporte, a qualidade da água, também é importante precursora de estresse e em muitos casos um fator limitante (Berka, 1986; Ross & Ross, 1999). A quantidade de oxigênio disponível e o rápido aumento nas concentrações de amônia e dióxido de carbono são considerados os principais limitantes (Erikson *et al.*, 1997;

Grottum *et al.*, 1997; Gomes *et al.*, 1999). Peixes mal manejados, em altas densidades e sem um período de depuração adequado (esvaziamento gastrintestinal) têm uma forte tendência a ficarem estressados e rapidamente deteriorarem a qualidade da água durante o transporte (Jensen, 1990; Emata, 2000).

O cortisol, principal corticosteróide em peixes, é considerado um bom indicador para avaliação de estresse. Outro bom indicador é a glicose do sangue ou plasma, pois esta avaliação pode ser facilmente realizada na criação, com medidores de glicose de simples utilização e baixo custo que podem ser facilmente encontrados no mercado (Svobodová *et al.*, 1999; Barton, 2000).

O sistema mais utilizado para o transporte de tambaqui na região Amazônica é o fechado, realizado em sacos plásticos inflados com oxigênio (Gomes *et al.*, 2002). Com o aumento da demanda de juvenis II de tambaqui (12-16cm) na região é necessária a determinação da densidade adequada para um transporte eficiente com o maior número de peixes transportados de forma saudável no menor volume de água possível. Para determinar a densidade apropriada de juvenis II de tambaqui para o transporte em sistema fechado de média duração, foi avaliada a mortalidade após 10 horas de transporte, a mortalidade acumulada 96 horas após o transporte, a qualidade da água após o transporte e a intensidade e duração do estresse sofrido através de respostas fisiológicas.

Material e Métodos

Os juvenis de tambaqui foram obtidos na estação de piscicultura de Balbina (Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil) e transferidos para um viveiro de 200m² na fazenda Santo Antônio (Rio Preto da Eva, Amazonas, Brasil). Os peixes foram mantidos nesse viveiro por 3 meses e alimentados duas vezes ao dia com ração comercial (TR 36; Purina, AgribRANDS do Brasil Ltda., Paulínia, SP).

Os peixes (peso $51,9 \pm 3,3$ g e comprimento total $14,9 \pm 0,4$ cm; média \pm erro padrão) foram capturados no viveiro e transferidos para um tanque de 3000 litros para depuração gastrintestinal onde permaneceram por 16 horas (Grottum *et al.*, 1997). Após esse período, os peixes foram colocados em sacos plásticos de 30 litros com 10 litros de água em quatro diferentes densidades: 78, 156, 234 e 312 g/L de água (15, 30, 45 e 60 peixes/10L respectivamente), os sacos foram inflados com oxigênio e fechados com liga de borracha (Gomes *et al.*, 2002). Os sacos cheios foram acondicionados em caixas de isopor confeccionadas para o transporte de peixes. O transporte foi realizado seis vezes em estrada asfaltada com duração de 10 horas. Este tempo foi utilizado pois representa o tempo médio de transporte utilizado na Amazônia central. Cada transporte tinha um saco de cada densidade. Após o transporte os peixes foram transferidos para 4 tanques de 500 litros com aeração contínua e sistema de recirculação de água com filtragem mecânica para avaliação da mortalidade acumulada (96 horas). Os peixes de cada saco foram colocados em um tanque.

A temperatura da água e o oxigênio dissolvido foram medidos com oxímetro YSI 55 (Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, Ohio, USA) e o pH com um pHmetro digital (Digimed modelo DMPH-2, São Paulo, SP, Brasil). Amostras de água para determinação da amônia total ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4$) foram filtradas e estocadas em frascos escuros na geladeira (4°C) por 12 horas. A determinação da amônia foi realizada de acordo com Verdow *et al.* (1978). As concentrações de NH_3 foram calculadas baseadas na amônia total, temperatura e pH de acordo com Boyd (1982). As concentrações de CO_2 foram medidas por titulação (APHA, 1992).

A mortalidade e a qualidade da água foram estimadas quando os sacos foram abertos (após 10 horas de transporte), antes dos peixes serem transferidos para os tanques de 500 litros. A mortalidade acumulada foi estimada após 96 horas.

As respostas dos peixes ao estresse foram avaliadas no viveiro de criação (controle: antes do distúrbio AD, n=9); antes do transporte no tanque de depuração (AT, n=8-10 para cada transporte); imediatamente depois do transporte (DT, n=4-5 para 3 repetições de cada densidade) e 24 e 96 horas depois do transporte (24DT e 96DT, n=4-5 para 3 repetições de cada densidade). O sangue foi retirado por punção caudal com auxílio de seringas heparinizadas. O Hematócrito foi determinado pela centrifugação (12.000 g, 10 minutos) do sangue em tubos microcapilares. O plasma foi separado por centrifugação (3.000 g, 10 minutos). As concentrações de glicose plasmática foram medidas com auxílio de kits enzimáticos (Doles®, Goiás, Brasil). Uma fração do plasma foi congelada à -80 °C para análise de cortisol, que foi realizada pela técnica de radioimunoensaio (Coat-A-Count® kit, DPC®, CA, USA) de acordo com o descrito por Carneiro & Urbinati (2001).

Diferenças entre os tratamentos (densidades) para mortalidade e mortalidade acumulada foram analisadas por uma análise de variância não paramétrica e teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). A qualidade da água de cada densidade foi comparada por uma análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$). Os parâmetros de estresse avaliados nos diferentes tempos de amostragem foram comparados com o controle (antes do distúrbio no viveiro; AD) por uma análise de variância e teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Resultados

A mediana da mortalidade após o transporte nas duas menores densidades (78 e 156 g/L de água) foi zero, não havendo diferença significativa. Nas duas maiores densidades a mediana da mortalidade aumentou significativamente para 6,67 e 24,17% (Fig. 1A). A mortalidade acumulada após 96 horas do transporte foi significativamente maior, e igual nas 3 maiores densidades (31,67, 43,34, e 65,00%, respectivamente) quando comparadas à mortalidade na menor densidade (78 g/L de água), onde a mediana foi igual a zero (Fig. 1B).

As variações nas concentrações plasmáticas de cortisol (Fig. 2) e glicose (Fig. 3) apresentaram o mesmo padrão. Imediatamente após o transporte há um aumento significativo desses dois parâmetros nas densidades de 156, 234 e 312 g/L de água. Após 24 horas as concentrações de cortisol e glicose retornaram para valores significativamente iguais ao do grupo controle (AD). Nos peixes transportados na densidade de 78 g/L de água não foi verificada nenhuma alteração significativa nas concentrações plasmáticas de cortisol e glicose após o transporte. O Hematócrito apresentou uma diferença significativa após o transporte apenas nos peixes da densidade de 156 g/L de água, retornando para valores significativamente iguais ao do controle (AD) após 24 horas (Fig. 4).

A qualidade da água no tanque de depuração antes do transporte era a seguinte: oxigênio dissolvido (OD) $3,61 \pm 0,35$ mg/L, temperatura $28,8 \pm 0,4$ °C, pH $4,24 \pm 0,31$, dióxido de carbono (CO₂) $9,24 \pm 0,44$ mg/L, amônia não ionizada (NH₃) $0,06 \pm 0,02$ μmol/L.

Os resultados dos parâmetros de qualidade da água depois do transporte estão representados na Tabela 1. A temperatura e o pH não tiveram alterações significativas entre as densidades. As concentrações de OD e NH₃ foram significativamente maiores na densidade de 78 g/L de água, enquanto as concentrações de CO₂ foram significativamente menores na densidade de 78 g/L de água quando comparada as densidades de 243 e 312 g/L de água. Para os peixes transportados na densidade de 156 g/L de água, a concentração de CO₂ não foi significativamente diferente de nenhuma outra densidade.

Discussão

Monitorar o estresse em peixes por meio de medidas fisiológicas pode ser uma importante ferramenta para que o produtor tenha conhecimento das condições de saúde do seu estoque (Barton, 2000). Também é importante o estabelecimento de práticas adequadas de manejo em operações potencialmente estressoras como o transporte. Atualmente estão disponíveis no mercado kits simples e baratos que podem ser convenientemente utilizados

para acessar alguns parâmetros indicadores de estresse como por exemplo a glicose (Morgan & Iwama, 1997; Gomes *et al.*, 2001). O cortisol do plasma, apesar de não ser tão facilmente mensurado como a glicose plasmática, é um bom indicador de estresse. Por ser um hormônio largamente estudado tem uma vasta gama de valores de referência, facilitando assim as comparações. Medir o cortisol plasmático também é importante, porque o aumento dos níveis desse hormônio é a primeira resposta a condições estressantes (McDonald & Milligan, 1997; Barton, 2000; Sloman *et al.*, 2001; Urbinati & Carneiro, 2001). Esse hormônio é liberado pela glândula intra-renal poucos minutos após o contato com o agente estressor (Mommsen *et al.*, 1999; Ross & Ross, 1999). O aumento da glicose plasmática é uma resposta secundária, induzida pelo cortisol e outros hormônios, principalmente, as catecolaminas. Esse aumento é importante para fornecer energia ao peixe para que ele se recupere da situação de estresse (Mommsen *et al.*, 1999).

É muito bem documentado que altas densidades causam estresse nos peixes (Procarione *et al.*, 1999; Sloman *et al.*, 2001), mas existem poucas informações sobre o efeito da densidade durante o transporte. Neste estudo foi observado que quando transportado em baixa densidade (78 g/L de água), o tambaqui no tamanho estudado parece passar todo o processo do transporte sem ter alteração em nenhum dos indicadores de estresse avaliados (cortisol, glicose e hematócrito). Por outro lado, em todas as outras densidades testadas houve um aumento significativo no cortisol e na glicose plasmática após o transporte. Estas alterações foram provavelmente causadas pela baixa concentração de OD na água e pela abrasão entre os peixes, uma vez que o espaço nos sacos era limitado. O estresse severo que os peixes das maiores densidades sofreram durante o transporte, provavelmente foi a principal causa da mortalidade, uma vez que a maior parte da mortalidade ocorreu nas primeiras 24 horas após o transporte.

Carneiro & Urbinati (2001) durante 4 horas de transporte de matrinxã (*Brycon cephalus*), em sistema aberto, observaram que o cortisol do plasma aumenta após o transporte e retorna para valores basais após 24 horas, enquanto a glicose plasmática só retorna a valores semelhantes aos iniciais após 96 horas. Barton (2000), transportando por 2 horas quatro espécies de salmonídeos em sistema aberto, observou que 48 horas após o transporte os valores de cortisol não tinham retornado para valores basais. Comparando com os resultados acima, observamos que o tambaqui demonstra ser uma espécie rústica. A glicose e o cortisol plasmático aumentaram após o transporte e retornaram para valores semelhantes aos do controle em 24 horas. Estes resultados mostram que mesmo em situações extremas de estresse o tambaqui é hábil em restabelecer sua homeostase rapidamente.

Wedemeyer (1996) cita que o limite de tolerância dos peixes a condições estressantes do cultivo é geneticamente determinado, e que, algumas espécies são inerentemente mais resistentes que outras. Durante as operações de transporte a mortalidade de peixes pode ocorrer por diversas razões. De acordo com Kubitzka (1998), os principais fatores são: 1) a quantidade de oxigênio dissolvido disponível e a deterioração da qualidade da água durante o transporte e, 2) duração e intensidade do estresse ao qual o peixe é submetido durante o transporte.

Neste estudo, o período de depuração gastrointestinal (16h) foi inferior ao recomendado para várias espécies de clima temperado (Ross & Ross, 1999). Apesar disso, devido a temperatura da água (28°C) nos tanques de depuração, os resultados sugerem que esse período é suficiente para juvenis II de tambaqui, uma vez que praticamente não haviam sólidos em suspensão na água após o transporte.

As altas densidades utilizadas no transporte combinado com sua duração, ocasionaram um alto consumo de oxigênio pelos peixes, os quais praticamente esgotaram oxigênio disponível nos sacos de transporte, alcançando, pois, valores críticos ao final do transporte

(0,80 e 0,90mg/L). O tambaqui é conhecido por sua tolerância às condições hipóxicas (Saint-Paul, 1984; Saint-Paul, 1988), mas as baixas concentrações de oxigênio observadas nas densidades de 234 e 312 g/L de água, provavelmente foram críticas e estimularam a expansão dos lábios, uma adaptação morfológica da espécie quando a concentração de oxigênio dissolvido disponível é crítica (Saint-Paul, 1988). Mesmo com concentrações críticas de oxigênio na água, a mortalidade não atingiu valores extremos, mas o efeito do estresse foi refletido na mortalidade acumulada. A mais provável causa desse efeito é o aumento da perfusão das brânquias, que causa um distúrbio osmorregulatório no peixe e tem como consequência sua morte (McDonald & Milligan, 1997). Essa mortalidade acumulada é comumente chamada de "hauling loss" (Wedemeyer, 1996).

A quantidade de oxigênio injetado nos sacos de transporte corresponde, aproximadamente, à metade da capacidade do seu volume total. Essa quantidade é inferior a recomendada por Berka (1986) e Kubtiza (1997), mas é o volume permitido nesse caso, pois a bolsa quando inflada deve caber nas caixas de isopor para proteção e isolamento térmico durante o transporte. Este tipo de caixa de isopor é comumente utilizado por exportadores de peixes ornamentais da Amazônia, devido ao seu baixo custo (Leite & Zuanon, 1991).

O pH e a temperatura são fatores que influenciam a toxicidade da amônia (Boyd, 1982). O caráter ácido da água usada neste experimento, com pH em cerca de 5, mesmo em altas temperaturas, fez com que apenas 0,08% da amônia estivesse em sua forma tóxica (NH_3). Dessa forma, a toxicidade da amônia foi extremamente baixa. De acordo com Ismiño-Orbe (1997) o tambaqui é uma espécie resistente aos efeitos tóxicos da amônia. As concentrações obtidas durante este estudo não foram prejudiciais aos juvenis II de tambaqui durante o transporte e estão bem abaixo da concentração considerada letal para a espécie (27,06 $\mu\text{mol/L}$) (Ismiño-Orbe, 1997), bem como para outros teleósteos, como o bagre do canal

Ictalurus punctatus (14,12 μ mol/L) (Tomasso, 1994) e o turbot *Scophthalmus maximus* (23,53 μ mol/L) (Grottum *et al.*, 1997).

De acordo com Colt & Orwicz (1991), a acidez da água do transporte é inversamente relacionada com o CO₂ excretado pelo peixe. Entretanto, esse padrão não foi observado em nosso experimento, pois o pH foi semelhante em todas densidades e o CO₂ aumentou nas maiores densidades de peixes (234 e 312 g/L de água). As concentrações de CO₂ alcançaram altos valores nas maiores densidades, mas o valor máximo não é tóxico para outras espécies e provavelmente, também não foi para o tambaqui. Grottum *et al.* (1997), por exemplo, observaram que 150mg/L de CO₂ não causa nenhum efeito em turbot durante o transporte.

A maioria das fazendas que cria tambaqui para engorda, é localizadas entre 6-12 horas das fazendas que vendem os juvenis II. Para programas de repovoamento, o tempo de transporte é de normalmente 5 a 8 horas. Na primeira parte o transporte é realizado por via rodoviária (3-5 horas). Na segunda parte, as caixas de transporte são transferidas para barcos, que as levam para os lagos onde os peixes serão soltos (1-3 horas). Apesar do tempo de transporte deste trabalho ter sido fixo, ele pode ser extrapolado para a maioria das operações de transporte de juvenis II na Amazônia. De acordo com os resultados, a densidade apropriada para o transporte de tambaqui do tamanho estudado na Amazônia é de 78 g/L de água, nesta densidade não há mortalidade, os parâmetros de qualidade da água avaliados ficam em níveis adequados para o transporte e não ocorre estresse durante o transporte e após o mesmo.

Bibliografia citada

APHA (American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation). 1992. *Stand methods for the examination of water and wastewater, 18th edition*. American Public Health Association, New York, USA.

- Araujo-Lima, C. R. M.; Goulding, M. 1997. *So fruitful a fish. Ecology, conservation, and aquaculture of the amazon's tambaqui*. Columbia University Press, New York, USA. 157p.
- Barton, B.A. 1997. Stress in finfish: past, present and future – a historical perspective. In: Iwama, G. K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P.; Schreck, C. B. (eds.). *Fish stress and health in aquaculture*. Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p. 1-33.
- Barton, B.A. 2000. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. *North American Journal of Aquaculture*, 62:12-18.
- Berka, R. 1986. *The transport of live fish. A review*. EIFAC Technical Papers 48, FAO, Rome, Italy. 57p.
- Boyd, C.E. 1982. *Water quality management for pond fish culture*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands. 317p.
- Carneiro, P.C.F.; Urbinati, E.C. 2001. Salt as a stress response mitigator of matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther), during transport. *Aquaculture Research*, 32:298-307.
- Colt, J.; Orwicz, K. 1991. Modeling production capacity of aquatic culture systems under freshwater conditions. *Aquaculture Engineering*, 10:1-29.
- Emata, C. 2000. Live transport of pond-reared milkfish *Chanos chanos* forskal broodstock. *Journal of the World Aquaculture Society*, 31:279-282.
- Erikson, U.; Sigholt, T.; Seland, A. 1997. Handling stress and water quality during live transportation and slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 149:243-252.
- Gomes, L.C.; Chippari-Gomes, A.R.; Lopes, N.P.; Roubach, R.; Araujo-Lima, C.A.R.M. 2001. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 32:426-431.

- Gomes, L.C.; Golombieski, J.I.; Chippari-Gomes, A.R.; Baldisserotto, B. 1999. Effect of salt in the water of transport on survival and Na⁺ and K⁺ body levels in fingerlings of silver catfish *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). *Journal of Applied Aquaculture*, 9(4):1-9.
- Gomes, L.C.; Roubach, R.; Araujo-Lima, C.A.R.M. 2002. Transportation of tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*) in Amazon: main problems. *World Aquaculture*, 33(1):51-53.
- Grottum, J.A.; Staurnes, M.; Sigholt, T. 1997. Effect of oxygenation, aeration and pH control on water quality and survival of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), kept at high densities during transport. *Aquaculture Research*, 28:159-164.
- Ismiño-Orbe, R.A. 1997. *Excreção e efeito da amônia sobre o crescimento do tambaqui (Colossoma macropomum CUVIER, 1818)*. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas, 40p.
- Iversen, M.; Finstad, B.; Nilssen, K. 1998. Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts. *Aquaculture*, 168:387-394.
- Jensen, G. 1990. *Transportation of warmwater fish. Procedures and loading rates*. SRAC publication 392. Texas A&M University, Texas, USA. 2p.
- Kubitz, F. 1997. Transporte de peixes vivos. *Panorama da Aquicultura*, 7(43):20-27.
- Kubitz, F. 1998. *Técnicas de transporte de peixes vivos*. Campo Grande, MS, 44 p.
- Leite, R.G.; Zuanon, J.A.S. 1991. Peixes ornamentais – Aspectos de comercialização, ecologia, legislação e propostas de ações para um melhor aproveitamento. In Val, A. L., Figliuolo, R., Feldberg, E. (eds.). *Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus. Brasil. p. 327-331.

- McDonald, D.G.; Milligan, L. 1997. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: Iwama, G. K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P.; Schreck, C. B. (eds.). *Fish stress and health in aquaculture*. Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p. 119-144.
- Mommsen, T.P.; Vijayan, M.M.; Moon, T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9:211-268.
- Morgan, J.D., Iwama, G.K.. 1997. Measurements of stressed states in the field. In: Iwama, G. K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P.; Schreck, C. B. (eds.). *Fish stress and health in aquaculture*. Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p. 247-270.
- Procarione, L.S.; Barry, T.P.; Malison, J.A. 1999. Effects of high rearing density and loading rates on the growth and stress responses of juvenile rainbow trout. *North American Journal of Aquaculture*, 61:91-96.
- Robertson, L.; Thomas, P.; Arnold, C.R. 1988. Plasma cortisol and secondary stress responses of cultured Red drum (*Sciaenops ocellatus*) to several transportation procedures. *Aquaculture*, 68:115-130.
- Ross, L.G.; Ross, B. 1999. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. Blackwell Science, Oxford, UK. 159p.
- Saint-Paul, U. 1984. Physiological adaptation to hypoxia of a neotropical characoid fish *Colossoma macropomum*, Serrasalminidae. *Environmental Biology of Fishes*, 11:53-62.
- Saint-Paul, U. 1986. Potential for aquaculture of south American freshwater fishes: a review. *Aquaculture*, 54:205-240.

- Saint-Paul, U. 1988. Diurnal routine O₂ consumption at different O₂ concentrations by *Colossoma macropomum* and *Colossoma brachypomum* (Teleostei: Serrasalminidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 89A:675-682.
- Sloman, K.A.; Taylor, A.C.; Metcalfe, N.B.; Gilmour, K.M. 2001. Stress from air immersion fails to alter chloride cell numbers in the gills of rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 59:186-190.
- Svobodová, Z.; Kaláb, P.; Dusek, L.; Vykusová, B.; Kolárová, J.; Janousková, D. 1999. The effect of handling and transport on the concentration of glucose and cortisol in blood plasma of common carp. *Acta Veterinaria Brno*, 68:265-274.
- Tomasso, J.R. 1994. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. *Reviews in Fisheries Science*, 2:291-314.
- Urbinati, E.C.; P.C.F. Carneiro. 2001. Metabolic and hormonal responses of matrinxã, *Brycon cephalus*, (Teleostei: Characidae) to transport stress under influence of benzocaine. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 16:75-85.
- Verdow, H.; Vanechted, C.J.A.; Dekkers, E.M.J. 1978. Ammonia determination based on indophenol with sodium salicylate. *Water Research*, 12:399-402.
- Wedemeyer, G.A. 1996. Physiology of fish in intensive culture systems. Chapman & Hall, New York, USA. 232p.

Tabela 1. Qualidade da água imediatamente após 10h de transporte de juvenis II de tambaqui em diferentes densidades. Dados são média \pm erro padrão de seis réplicas (sacos de transporte). Médias em linha marcadas por diferentes letras são significativamente diferentes, ANOVA e Tukey's post-hoc teste.

Parâmetros	Densidade (g/L de água)			
	78	156	234	312
Temperatura (°C)	30,47 \pm 0,24 ^a	31,03 \pm 0,30 ^a	31,45 \pm 0,44 ^a	31,00 \pm 0,15 ^a
OD (mg/L)	10,34 \pm 1,81 ^a	1,98 \pm 0,52 ^b	0,80 \pm 0,14 ^b	0,90 \pm 0,37 ^b
pH (unidades)	5,61 \pm 0,37 ^a	5,46 \pm 0,28 ^a	5,51 \pm 0,33 ^a	5,53 \pm 0,25 ^a
CO ₂ (mg/L)	47,58 \pm 5,74 ^a	73,88 \pm 6,71 ^{ab}	95,92 \pm 11,53 ^b	101,02 \pm 10,63 ^b
NH ₃ (μ mol/L)	15,00 \pm 2,00 ^a	7,00 \pm 1,03 ^b	6,31 \pm 1,02 ^b	5,50 \pm 2,00 ^b

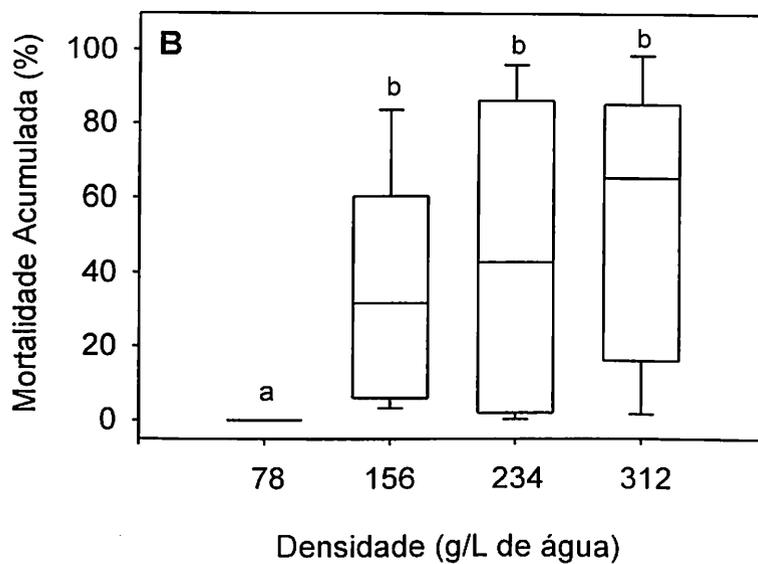
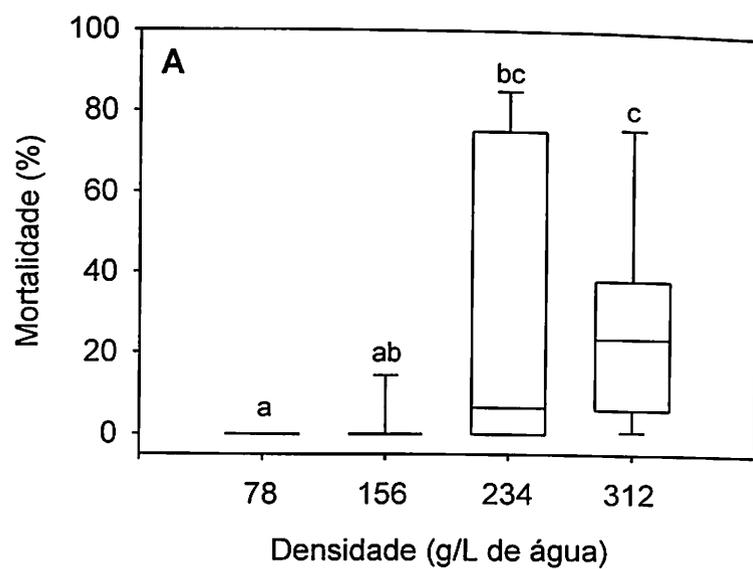


Figura 1. “Box plot” da mortalidade (A) e mortalidade acumulada em 96h (B) em juvenis II de tambaqui transportados em quatro diferentes densidades. Mediana da mortalidade marcada por diferentes letras são significativamente diferentes (Kruskal-Wallis e post-hoc teste; $P < 0.05$).

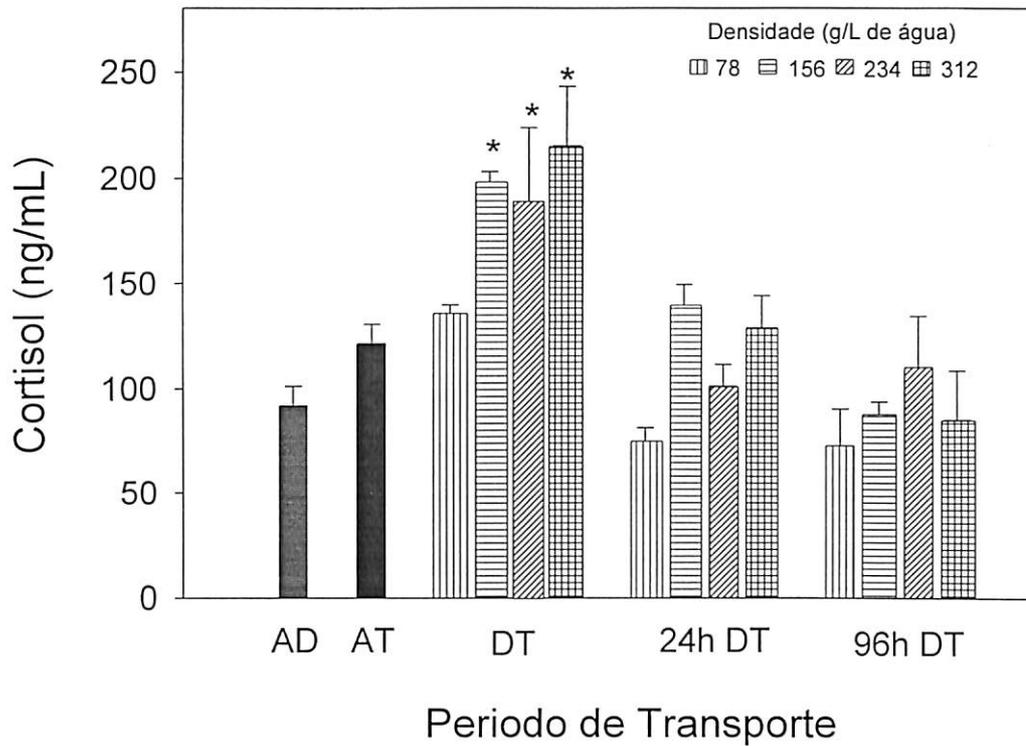


Figura 2. Cortisol plasmático durante os procedimentos de transporte. Dados são média \pm erro padrão. AD – antes do distúrbio (9 peixes) do tanque de criação; AT – antes do transporte no tanque de depuração; DT – imediatamente após o transporte; 24 DT e 96 DT - 24 e 96h após o transporte. Colunas marcadas com * são significativamente diferentes do controle (AD) (teste de Dunnett; $P < 0,05$).

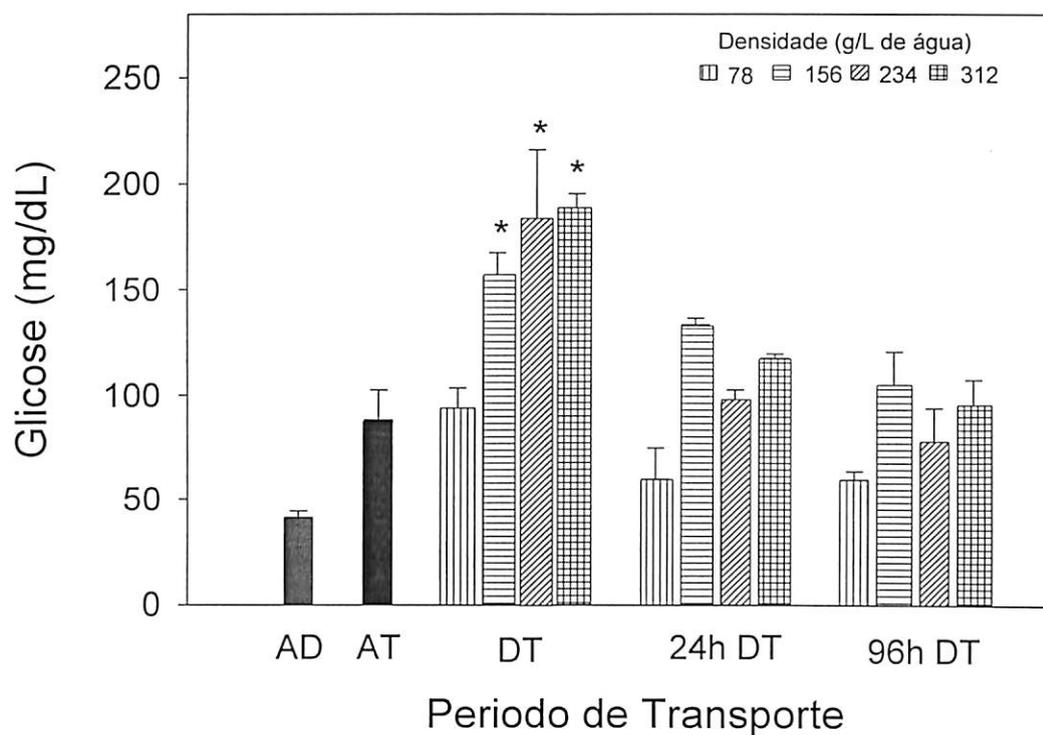


Figura 3. Glicose plasmática durante os procedimentos de transporte. Dados são média \pm erro padrão. AD – antes do distúrbio (9 peixes) do tanque de criação; AT – antes do transporte no tanque de depuração; DT – imediatamente após o transporte; 24 DT e 96 DT - 24 e 96h após o transporte. Colunas marcadas com * são significativamente diferentes do controle (AD) (teste de Dunnett; $P < 0,05$).

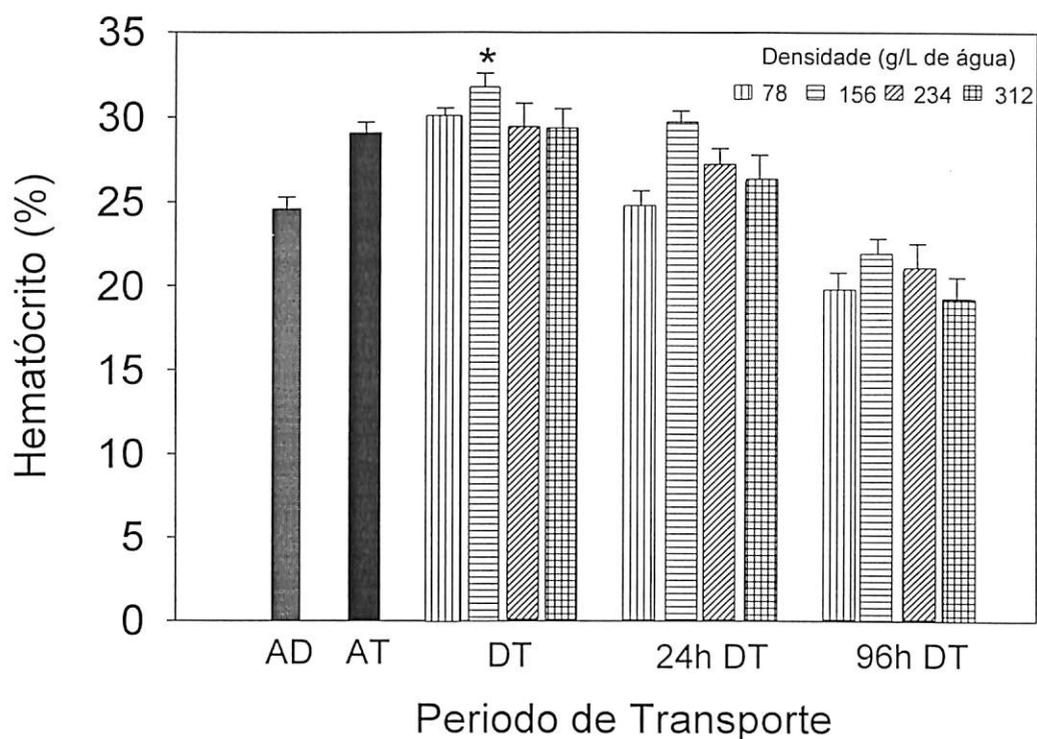


Figura 4. Hematócrito durante os procedimentos de transporte. Dados são média \pm erro padrão. AD – antes do distúrbio (9 peixes) do tanque de criação; AT – antes do transporte no tanque de depuração; DT – imediatamente após o transporte; 24 DT e 96 DT - 24 e 96h após o transporte. Colunas marcadas com * são significativamente diferentes do controle (AD) (teste de Dunnett; $P < 0,05$).

CAPÍTULO VI – Transporte de juvenis para abate



Efeito do sal de cozinha na água nas respostas fisiológicas do estresse em tambaqui
(*Colossoma macropomum*) durante o transporte

Resumo

Juvenis de tambaqui foram transportados por três horas em caixas plásticas de 200L adaptadas para o transporte de peixes. No primeiro experimento foram testadas diferentes concentrações de sal de cozinha e no segundo experimento o transporte foi realizado em diferentes densidades com 8g/L de sal de cozinha na água. Para avaliar a melhor dose de sal e a melhor densidade no transporte foi levado em consideração a qualidade da água, as respostas fisiológicas do estresse por meio do cortisol e da glicose (antes, durante e depois do transporte), o distúrbio eletrolítico por análise dos íons Na^+ e K^+ no plasma e a mortalidade após o transporte. No primeiro experimento não houve diferença significativa entre os parâmetros de água analisados. O cortisol plasmático sofreu um aumento significativo após o transporte no tratamento sem sal e com 2g de sal /L de água, só retornando para níveis normais após 96 horas. A glicose plasmática sofreu um aumento logo após o transporte em todas as concentrações de sal testadas com exceção da maior (8g de sal/L de água), retornando para níveis normais em 24 horas. Não houve distúrbio eletrolítico durante o transporte em peixes de todas as concentrações de sal de cozinha. Nos peixes transportados no segundo experimento com 8g de sal/L de água não foi verificada uma mudança significativa no cortisol plasmático. A glicose sofreu um aumento significativo em todas as densidades após o transporte retornando para níveis normais em 24 horas. Também não houve desbalanço eletrolítico nos peixes transportados nas diferentes densidades. Houve uma mortalidade de 11% em uma das repetições da densidade de 200g de peixe /L de água, sendo um indicativo que esta densidade é muito alta para o transporte em caixas adaptadas. O sal de cozinha na concentração de 8g/L de água é um produto eficiente para reduzir as respostas de estresse em

tambaqui durante o transporte. Quando o transporte for realizado com 8g de sal /L de água a densidade máxima a ser utilizada é 150g de peixe /L de água, pois nesta densidade a água se mantém em níveis adequados, as respostas ao estresse são mínimas e a mortalidade muito baixa.

Effect of table salt on physiological stress responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) during transportation

Abstract

Tambaqui juvenile were transported during three hours in customized 200L plastic cans. In the first experiment different concentrations of common table salt in the water were tested, in the second experiment fish transportation was realized using different fish densities with 8g of salt/L of water. To better evaluate the best salt dosage and the best density during transportation we analysed water quality, fish physiological stress responses (plasma cortisol and glucose) before, during, and after transportation. The electrolytic disturbance was evaluated through analysis of plasma Na^+ and K^+ and fish mortality was observed after transportation. In the first experiment, water quality parameters did not presented a significant difference. Fish plasma cortisol presented a significant increase after transportation on treatment without salt and with 2g of salt/L of water, only returning to normal levels after 96 hours. Plasma glucose response increased in fish under all salt concentrations after transportation, excepting for the higher salt dose (8g/L of water), returning to normal levels in 24 hours. Also, there was no electrolytic misbalance during fish transportation in all salt concentrations. Fish transported at different densities with 8g of salt /L of water did not presented a significant change in plasma cortisol after transportation. In all fish densities, plasma glucose increased after transportation, returning to normal levels in 24 hours. Again,

there was no electrolytic misbalance during fish transportation at the different fish densities tested. Fish transported at a density of 200g/L of water had a 11% mortality of in one of the repetitions, suggesting that this density was too high for tambaqui transportation in our conditions. Common table salt at a concentration of 8g/L of water is an efficient product to reduce the stress responses in tambaqui during transportation. For tambaqui transportation using 8g of salt /L of water, the maximum density that should be used is 150g of fish /L of water, since at this density the water parameters were under adequate levels, stress responses were minimum and fish mortality very low.

Introdução

O transporte é uma prática rotineira em sistemas de criação de peixes (Piper *et al.*, 1982; Carmichel *et al.*, 2001). No Norte do Brasil, o transporte de juvenis (1-2Kg) vem aumentando consideravelmente. As principais finalidades deste transporte são o comércio de peixe vivo em feiras para consumo, fornecimento de peixes para fazendas e sítios de pesque-pague e formação de plantel de reprodutores.

O sistema mais utilizado para o transporte desses peixes é o aberto com fornecimento constante de oxigênio. Obtenção de caixas confeccionadas especialmente para o transporte é difícil na região, além disto, o custo da caixa e do frete são proibitivos para a maioria dos produtores. Desta forma, as caixas mais utilizadas para este fim são galões plásticos, cilíndricos, com capacidade para 200 litros, confeccionados originalmente para o transporte de produtos em conserva (Kubitza, 1998). Estes galões também são utilizados para o transporte de peixes em outras partes do mundo (Berka, 1986).

Durante o processo de transporte, os peixes são afetados por uma série de agentes estressores como a captura, o confinamento, o manuseio e o próprio transporte. A quantificação do estresse ao qual o peixe é submetido durante o processo de transporte é fundamental para que se estabeleçam práticas de manejo adequadas (Wedemeyer, 1997). As

respostas ao estresse são divididas em três categorias: primária, secundária e terciária (Mazeaud *et al.*, 1977; Wedemeyer & McLeay, 1981). As respostas primárias são as hormonais, as secundárias são as mudanças nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos e as terciárias são o comprometimento na performance, mudanças no comportamento e aumento da suscetibilidade a doenças. Vários tipos de medidas são utilizadas para avaliação de estresse, porém as mais utilizadas e que normalmente dão uma boa resposta são a glicose e o cortisol plasmáticos (Robertson *et al.*, 1987; Svobodová *et al.*, 1999; Barton, 2000). O cortisol é utilizado para caracterizar a resposta primária, e a glicose, a resposta secundária.

Os distúrbios osmorregulatórios também são comuns em situações estressoras como o transporte, e bons indicadores das respostas secundárias (Barton, 1997). Em situação de estresse ocorre uma elevação nas concentrações de corticosteróide no sangue, causando um aumento na permeabilidade da membrana branquial. Normalmente, os peixes perdem íons através do epitélio branquial apresentando uma alteração no balanço eletrolítico (Eddy, 1982; McDonald & Milligan, 1997).

O uso do sal de cozinha como redutor de estresse é amplamente difundido na aqüicultura. O sal é utilizado para igualar o gradiente osmótico entre a água e o plasma do peixe, fazendo com que haja uma redução na difusão de íons para a água. O sal também estimula a secreção de muco sobre o epitélio branquial, dificultando a passagem de íons através das membranas celulares (Wurts, 1995). Além de reduzir o estresse o sal também tem efeito profilático, é de fácil obtenção e tem baixo custo, sendo eficiente para várias espécies e utilizado em operações potencialmente estressoras (Barton & Zitzow, 1995; Allyn *et al.*, 2001). Por estas propriedades, o sal é normalmente utilizado durante o transporte de peixes. No entanto, os produtores o usam de forma desordenada e sem conhecimento da melhor concentração. Não existem estudos utilizando o sal de cozinha como redutor de estresse para a

maioria das espécies amazônicas, sendo então importante determinar para as diferentes espécies a concentração mais eficiente.

O tambaqui é o principal peixe criado na região amazônica (Val *et al.*, 2000), principalmente pela fácil obtenção de alevinos, bom potencial de crescimento, alta produtividade e rusticidade (Araujo-Lima & Goulding, 1997). O tambaqui também é uma das espécies mais importantes do setor pesqueiro na Amazônia central, porém a intensa captura tem levado ao declínio de seus estoques (Araujo-Lima & Goulding, 1997), aumentando, desta forma, a importância da criação em cativeiro. É um peixe muito apreciado pela população local e a demanda por sua carne é grande (Goulding & Carvalho, 1982). Por ser uma espécie da região Amazônica o tambaqui alcança altos valores em outras regiões do Brasil e também no exterior. Diante do exposto, muitos pesquisadores e produtores têm intensificado esforços para estabelecer um pacote tecnológico para a criação da espécie, mesmo assim, pouca atenção foi dada ao transporte.

Este trabalho teve dois objetivos principais, o primeiro testar a eficiência do sal como redutor do estresse e o segundo verificar a melhor densidade de transporte de juvenis de tambaqui em caixas adaptadas. Para avaliação da eficiência do sal de cozinha e a determinação da densidade ideal, foi analisado o distúrbio fisiológico do cortisol e da glicose, o distúrbio osmorregulatório de Na^+ e K^+ plasmático e da qualidade da água antes e depois do transporte.

Material e Métodos

Juvenis de tambaqui foram estocados com cerca de 20g em um viveiro de 500m² na piscicultura e pesque pague San Diego (Manaus, AM, Brasil). O viveiro era abastecido por água de poço artesiano e tinha aeradores mecânicos ligados em dias em que a concentração de oxigênio na água era inferior a 3mg/L. Neste viveiro os peixes receberam ração comercial

(TR 24; Purina, Agribands do Brazil Ltda., SP, Brasil), 4 vezes por semana durante 1 ano, quando atingiram peso médio de 846 ± 25 g (média \pm erro padrão).

Antes do transporte os peixes ficaram sem alimentação por 48 horas para depuração gastrointestinal (Grottum *et al.*, 1997). Após este período, foi passado um arrasto no viveiro e os peixes transferidos rapidamente para caixas com um puça. A água utilizada para encher as caixas de transporte foi de poço artesiano, descansada por 16 horas e previamente aerada.

O transporte foi realizado com 3 caixas plásticas cilíndricas, com capacidade para 200L cada, com a face externa pintada de branco. Estas caixas são confeccionadas originalmente para o transporte de produtos em conserva e adaptadas para o transporte de peixes. O transporte de peixe vivo nesse tipo de caixa é muito comum no Brasil (Kubitza, 1998). Durante o transporte as caixas tiveram suprimento individual de oxigênio por um cilindro acoplado a um manômetro com 6 saídas reguláveis, a difusão do oxigênio na água era realizada por uma pedra porosa de 20cm, as concentrações de oxigênio foram monitoradas a cada 30 minutos e mantidas entre 4,0 e 8,0 mg/L. O transporte foi realizado por via rodoviária em uma pick-up com duração de 3 horas. Após o transporte, os peixes de cada caixa foram capturados com uma rede de mão, colocados em baldes com água misturada (metade do viveiro e metade da caixa de transporte) e cuidadosamente levados para 3 viveiros de 25m² na Coordenação de Pesquisa em Aqüicultura CPAQ/INPA, onde permaneceram por 96 horas. Durante este período foi fornecido ração comercial (TR 24; Purina) diariamente às 7:30 e 16 horas e foram avaliados o comportamento alimentar, as respostas fisiológicas e a mortalidade após o transporte.

No primeiro experimento os peixes foram transportados na densidade de 65g/L de água (15 peixes) em águas que continham diferentes concentrações de sal de cozinha (Sal Lebre[®], NORSAL SA., RN, Brasil): 0, 2, 5 e 8g/L. estas concentrações foram escolhidas por estarem dentro da faixa recomendada pela literatura especializada. Para este experimento

foram realizadas 4 viagens, em cada viagem havia 3 caixas com concentrações de sal diferentes, desta forma cada concentração de sal foi repetida três vezes.

No segundo experimento foram testadas diferentes densidades de peixe: 100, 150 e 200g/L de água (23, 35 e 46 peixes respectivamente), durante o transporte usando a concentração de 8g de sal/L de água. Esta concentração foi escolhida por ser a mais eficiente do experimento 1. Foram realizadas duas viagens sendo cada densidade repetida 2 vezes.

A qualidade da água foi avaliada nos tempos 0h, 1h e 30min e 3h de transporte. Oxigênio e temperatura foram medidos com um oxímetro YSI 55 (Yellow Springs Instruments, Ohio, USA), pH com pHmetro digital (Digimed modelo DMPH-2, SP, Brasil), dióxido de carbono por titulação de acordo com APHA (1992). A amônia total ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4$) foi medida segundo Verdow *et al.* (1978). As concentrações da amônia não ionizada (NH_3) foram calculadas de acordo com Boyd (1982).

Foi coletado sangue de 4 peixes de cada repetição nos seguintes momentos: captura no viveiro (antes do distúrbio, AD), imediatamente após o transporte (AT), e 24 e 96 horas após o transporte (24AT e 96AT). Para a coleta os peixes foram rapidamente capturados e anestesiados com 100mg de benzocaina /L de água (Gomes *et al.*, 2001). O sangue foi coletado da veia caudal com a utilização de seringas heparinizadas e transferido para tubos de eppendorf, sendo mantido sempre em gelo fundente. O plasma foi então separado por centrifugação a 3000g, durante 10 minutos. Os níveis de glicose plasmática foram determinados com auxílio de um sistema enzimático colorimétrico (Kit Glucox 500, Doles® GO, Brasil). Uma alíquota de plasma foi congelada a -80°C para futura análise de cortisol pela técnica de radioimunoensaio (kit Coat-A-Count®, DPC®, CA, USA). A determinação de Na^+ e K^+ plasmático foi realizada em um fotômetro de chama.

Os parâmetros de qualidade da água de cada tempo foram comparados entre os tratamentos e também de um mesmo tratamento ao longo do tempo, por meio de uma análise

de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$). Os parâmetros de estresse nos diferentes tempos de amostragem foram comparados contra o controle (antes do distúrbio AD) por uma análise de variância de teste de Dunnett's ($p < 0,05$).

Resultados

Experimento 1

Os resultados dos parâmetros de qualidade da água estão na tabela 1. Em nenhum parâmetro analisado houve diferença significativa entre os tratamentos nos diferentes tempos de amostragem. A temperatura teve um aumento significativo no tempo 3h em todos tratamentos com exceção do sem adição de sal (0g de sal/L de água). As concentrações de pH e CO₂ não tiveram alteração significativa entre os diferentes tempos em nenhum tratamento. O NH₃ apresentou um resultado similar em todos tratamentos. Houve um aumento significativo do tempo 0h para o tempo 1h e 30 min, permanecendo com valores significativamente iguais a este no tempo 3h.

O cortisol plasmático apresentou um aumento significativo nos tratamentos com 0 e 2g de sal/L de água no momento AT (Fig. 1). Na amostragem de 24AT os valores do cortisol destes tratamentos e do tratamento 5g de sal/L de água foram significativamente superiores ao controle. As concentrações de cortisol retornaram para valores significativamente iguais ao do controle na amostragem de 96AT para todos tratamentos. O tratamento com 8g de sal/L de água não teve alteração significativa em nenhum momento de amostragem. Na glicose plasmática verificou-se um aumento significativo nos tratamentos 0, 2 e 5g de sal/L de água no momento AT, retornando para valores significativamente iguais ao controle no momento 24AT (Fig. 2). Igualmente ao cortisol, o tratamento com 8g de sal/L de água não teve alteração significativa em nenhum momento de amostragem.

O Na^+ plasmático apresentou diferença significativa em relação ao controle no tratamento 8g de sal/L de água na amostragem de 24AT. O K^+ plasmático teve um aumento significativo logo após o transporte (AT) no tratamento 0g de sal/L de água (Tabela 2).

Os peixes de todos tratamentos aceitaram ração na primeira vez que foi oferecida (± 18 horas após o transporte), porém passaram a se alimentar da forma habitual após 48 horas. Não foi observada nenhuma diferença no padrão alimentar dos peixes dos diferentes tratamentos. Neste experimento não houve mortalidade.

Experimento 2

Não houve diferença significativa na temperatura, pH, CO_2 e NH_3 da água entre as diferentes densidades de peixe (Tabela 3). A temperatura aumentou significativamente no tempo 3 horas para as densidades de 100 e 150g de peixe/L de água. O CO_2 teve um aumento significativo do tempo 0h para o tempo 1h e 30min na densidade de 100g de peixe/L de água e um aumento em todos os tempos de amostragem na densidade 150g de peixe/L de água. A densidade de 200g de peixe/L de água não apresentou diferença no CO_2 ao longo do tempo. A amônia total aumentou de forma significativa de um tempo para outro em todas densidades.

As concentrações de cortisol plasmático não tiveram alteração significativa em nenhuma densidade em nenhum momento de amostragem (Fig. 3). As concentrações de cortisol das densidades testadas nos diferentes tempos de amostragem foram semelhantes as obtidas no tratamento 8g de sal/L de água do experimento 1, assim como, os valores nos controles dos dois experimentos (teste T; $P=0,22$). A glicose plasmática sofreu uma alteração significativa no momento AT nas três densidades, retornando para valores significativamente iguais ao do controle no momento 24AT (Fig. 4). As concentrações de glicose das diferentes densidades obtidas no momento AT foram semelhantes ao tratamento 8g de sal/L de água do experimento 1.

O Na⁺ plasmático apresentou diferença significativa do controle na densidade 200g de peixe/L de água na amostragem de 24AT. O K⁺ plasmático teve um aumento significativo na densidade de 150g de peixe/L de água no momento 24AT (Tabela 4).

Os peixes de todas densidades aceitaram ração na primeira vez em que foi oferecida (± 18 horas após o transporte), retornado a seu consumo habitual após 48 horas. As exceções, foram os peixes da maior densidade (200g de peixe/L de água) que se alimentaram de forma mais tímida durante as 96 horas. Na maior densidade testada ocorreu uma mortalidade de 11,43% (4 peixes) em uma das repetições e, nesta repetição também haviam peixes que apresentavam lesões no corpo. Na outra repetição desta densidade não houve mortalidade, porém, também haviam peixes com lesão. Em ambas repetições os peixes apresentavam um comportamento incomum, uma natação lenta junto a superfície nas primeiras 48 horas após o transporte. Após esse período os peixes voltaram a apresentar um comportamento normal nadando em meia água.

Discussão

Experimento 1

Os parâmetros de qualidade da água analisados não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. A temperatura da água em tanques de criação de peixes na Amazônia (26-30°C) é normalmente mais alta que a recomendada para o transporte de peixes (20-25°C) (Gomes *et al.*, 2002). Desta forma, deve se procurar realizar o transporte no início da manhã (6-8h) quando a temperatura ambiental e da água é menor. Os resultados mostraram que o aumento significativo na temperatura ocorreu no final do transporte, quando a temperatura ambiental é mais alta (9-11h).

O CO₂ inicial foi alto por ser utilizada água de poço artesiano. Mesmo com a manutenção e movimentação desta água na caixa de transporte antes do experimento, não foi suficiente para retirar todo CO₂ existente. A manutenção dos valores em níveis baixos se deve

principalmente à baixa densidade de peixes utilizadas neste experimento. O efeito benéfico de concentrações semelhantes de CO₂ no transporte de tambaqui em baixa densidade já havia sido observado por Gomes *et al.* (2002), além disto, estas concentrações estiveram bem abaixo das consideradas críticas para a maioria dos peixes durante o transporte (Berka, 1986; Eriksson *et al.*, 1997; Grottum *et al.*, 1997). Desta forma, o CO₂ não deve ter sido causador de distúrbios durante o transporte.

Águas ácidas são as mais comuns em estações de piscicultura da região amazônica, e é uma característica marcante de muitos corpos de água da Amazônia (Wood *et al.*, 1998). O caráter ácido da água utilizada no experimento, fez com que apenas 0,08% da amônia total (NH₃+NH₄) estivesse em seu estado tóxico (NH₃). Desta forma, a amônia teve uma importância secundária durante este transporte de curta distância. O mesmo resultado foi observado por Gomes *et al.* (1999) durante o transporte de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen*, em sistema fechado no sul do Brasil onde o pH (± 7) mais alto que os da região amazônica.

Em situações de altas concentrações de amônia em águas onde foi adicionado sal de cozinha (NaCl), pode haver uma troca iônica via um transporte ativo do íon amônio NH₄ por íon Na⁺, elevando a concentração de Na⁺ no plasma e de amônia no meio (Tomasso, 1994). Como não houve uma alteração significativa do Na⁺ após o transporte em nenhuma concentração de sal de cozinha testado, corrobora com a afirmação acima de que a amônia não atingiu concentrações indesejadas, e a forma de excreção foi através do transporte passivo, o que é o normal para a espécie.

O sal de cozinha na maior concentração testada (8g/L de água) foi eficiente para suprimir a liberação de cortisol. Este mesmo padrão já havia sido observado para matrinxã por Carneiro & Urbinati (2001). A principal causa deve ter sido um ajuste de gradiente entre o peixe e o ambiente, diminuindo a pressão osmótica e o trabalho osmorregulatório (Ross &

Ross, 1999), A concentração de glicose em peixes transportados com 8g de sal /L de água reforça o argumento de que esta concentração de sal de cozinha utilizada não causa um custo energético para o peixe durante o processo de transporte.

Os valores basais do Na^+ (174-178mmol/L) e K^+ (4,9mmol/L) plasmático dos tambaquis são semelhantes aos obtidos para peixes da mesma espécie por Brinn (1999), 150-170mmol/L e 3,5-4,5mmol/L respectivamente. No momento AT houve um aumento significativo na concentração plasmática de K^+ no tratamento sem sal (0 g/L), isto é um indicativo de rompimento celular, pois existe uma quantidade de K^+ muito maior dentro da célula que no plasma (Kirschner, 1991). O distúrbio no Na^+ plasmático durante o processo de transporte ocorreu apenas nos peixes do tratamento com 8g/L de sal de cozinha na amostragem de 24AT. Os resultados dos íons estudados demonstram que não houve um padrão no desbalanço eletrolítico dos peixes transportados nas diferentes concentrações de sal. Este resultado é similar aos obtidos por Forsberg *et al.* (1999) após o transporte de alevinos de walleyes (*Stizostedion vitreum*).

O sal de cozinha na maior concentração testada (8g/L de água) se mostrou eficiente para diminuir a maioria das respostas fisiológicas do estresse em tambaquis durante o transporte e doses mais baixas de sal são apenas parcialmente eficientes.

Experimento 2

Os parâmetros de qualidade da água foram similares entre as diferentes densidades, porém, os valores de CO_2 e NH_3 , variáveis potencialmente afetadas pela densidade, tiveram um aumento nos seus valores com o aumento da densidade e provavelmente não foi observada uma diferença significativa pelo baixo número de repetições deste experimento.

Altas densidades durante o transporte são estressantes ao tambaqui como já visto no capítulo anterior, elevando a glicose e o cortisol plasmático após o transporte e causando mortalidade. A principal causa desse estresse é o inevitável encontro entre os peixes e este

tipo de estresse é definido por Ross & Ross (1999) como estresse abrasivo. No experimento 2, ficou evidente que o sal de cozinha é eficiente em causar uma supressão de cortisol em transportes com altas densidades. Mesmo na densidade de 200g/L de peixe em que houve uma resposta secundária do estresse (elevação da glicemia) e mortalidade não houve uma resposta primária do cortisol. Os valores obtidos nas densidades testadas foram muito semelhantes em todos momentos de amostragem.

O aumento da glicose está normalmente relacionada com a liberação de cortisol e outros hormônios, principalmente catecolaminas (Morgan & Iwama, 1997; Barnett & Pankhurst, 1998; Mommsen *et al.*, 1999). No experimento 2, a alteração da glicose plasmática deve ter sido ocasionada pela liberação das catecolaminas, pois o cortisol plasmático permaneceu inalterado, enquanto a glicose plasmática foi significativamente mais alta no momento AT em todas as densidades. Como a resposta da glicose e do cortisol apresentaram um padrão diferente para o tambaqui no segundo experimento, a conclusão se um peixe experimentou ou não uma situação estressora não pode ser baseada em apenas um critério, quando se adiciona o sal de cozinha como redutor de estresse.

Da mesma forma que para o cortisol, o sal de cozinha na concentração de 8g/L de água foi eficiente para reduzir a resposta da glicose. No primeiro experimento, a concentração de glicose foi $223,34 \pm 18,69$ mg/dL no tratamento sem sal (0g/L de água), e $103,83 \pm 3,70$ mg/dL no tratamento 8g de sal/L de água no momento AT. No segundo experimento o valor da glicose nas diferentes densidades foi muito similar e variaram de 92,23 a 100,56mg/dL no momento AT, valores estes semelhantes aos obtidos no primeiro experimento com 8g de sal/L de água. Estes valores também são cerca de 2,2 vezes mais baixos que os do tratamento sem sal do experimento 1.

Nos dois experimentos a alteração da glicose só ocorreu após o transporte, retornando para níveis normais na amostragem de 24AT, mostrando que o tambaqui recuperou

rapidamente sua condição glicêmica normal. Esta rápida recuperação glicêmica a situações estressoras, já é conhecida para a espécie e foi verificada por Wood *et al.* (1998) e no capítulo anterior durante o transporte de juvenis de tambaqui (15cm). Resultado semelhante foi obtido por Robertson *et al.* (1987) com red drum (*Sciaenops ocellatus*) e por Gomes & Chippari-Gomes (1999) com juvenis de jaraqui escama grossa (*Semaprochilodus insignis*). Outro caraciforme da Amazônia, o matrinxã, tem uma recuperação mais lenta em situações estressantes do transporte levando 96 horas (Carneiro & Urbinati, 2001) ou mais (Urbinati & Carneiro, 2001) para retornar aos valores normais.

Para o transporte com 8g de sal /L de água a densidade de 150g de peixe/L de água é a mais adequada, pois se pode transportar o peixe de forma segura. A densidade 200g de peixe/L de água, apesar de ter respostas fisiológicas similares às demais densidades, apresentou peixes com lesões e mortalidade em uma repetição e peixes com lesões na outra repetição, além de um comportamento anormal durante o período de recuperação do transporte, com os peixes nadando lentamente em torno da superfície, mostrando sintomas da resposta terciária do estresse com a perda da capacidade de natação e reação a estímulos. Este resultado é um indicativo de que essa densidade é extrema para o tambaqui transportado em caixas adaptadas.

A baixa capacidade de carga (150g de peixe/L de água) é um limitante para o transporte de grandes quantidades de peixes nas caixas utilizadas neste trabalho, e é a metade da recomendada por Kubitzka (1998), para o transporte de tambaqui em caixas apropriadas (300g de peixe/L de água). Mesmo assim as caixas se mostraram eficientes para o transporte de pequenas quantidades de tambaqui. Para os pequenos produtores, a utilização dessas caixas é uma grande vantagem, pois normalmente duas ou três caixas são suficientes para transportar o peixe desejado (60 a 90Kg), e os custos de transporte são muito inferiores levando em

consideração o custo de obtenção das caixas e a quantidade de vezes que o pequeno produtor transporta peixes.

Segundo Grottum *et al.* (1997) e Wedemeyer (1997), o principal objetivo do transporte de peixes vivos é transportar o maior volume de peixe no menor volume de água possível, sem que haja mortalidade, deterioração da qualidade da água e estresse. Pode-se, então, considerar que a colocação de 8g/L de sal de cozinha com uma densidade de 150g/L de peixe, é uma forma eficiente para o transporte de tambaqui utilizando caixas adaptadas de 200 L na região Amazônica, pois a qualidade da água durante o transporte se mantém em níveis adequados e há uma supressão da maioria das respostas de estresse e não há mortalidade.

Bibliografia citada

- Allyn, M.L.; Sheehan, R.J.; Kohler, C.C. 2001. The effects of capture and transportation stress on white bass semen osmolality and their alleviation via sodium chloride. *Transactions of the American Fisheries Society*, 130:706-711.
- APHA (American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation). 1992. *Stand methods for the examination of water and wastewater, 18th edition*. American Public Health Association, New York, USA.
- Araujo-Lima, C. R. M.; Goulding, M. 1997. So fruitful a fish. Ecology, conservation, and aquaculture of the amazon's tambaqui. Columbia University Press, New York, USA. 157p.
- Barnett, C.W.; Pankhurst, N.W. 1998. The effects of common laboratory and husbandry practices on the stress response of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* (Günther, 1862). *Aquaculture*, 162:313-329.
- Barton, B.A. 1997. Stress in finfish: past, present and future – a historical perspective. In: Iwama, G. K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P.; Schreck, C.B., (eds.). *Fish stress and*

- health in aquaculture*. Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p. 1-33.
- Barton, B.A. 2000. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. *North American Journal of Aquaculture*, 62:12-18.
- Barton, B.A.; Zitzow, R.E. 1995. Physiological responses of juvenile walleyes to handling stress with recovery in saline water. *The Progressive Fish-Culturist*, 57:267-276.
- Berka, R. 1986. *The transport of live fish. A review*. EIFAC Technical Papers 48, FAO, Rome, Italy. 57p.
- Boyd, C.E. 1982. *Water quality management for pond fish culture*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands. 317p.
- Brinn, R.P. 1999. Efeitos da salinidade na homeostase iônica, DL₅₀ e fluxo iônico do tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818). Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 41p.
- Carmichel, G.J.; Tomasso, J.R.; Schwedler, T.E. 2001. Fish transportation. In: Wedemeyer, G. A. (ed.). *Fish Hatchery Management, second edition*. American Fisheries Society, Maryland, USA. p. 641-660.
- Carneiro, P.C.F.; Urbinati, E.C. 2001. Salt as a stress response mitigator of matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther), during transport. *Aquaculture Research*, 32:298-307.
- Eddy, F.B. 1982. Osmotic and ionic regulation in captive fish with particular reference to salmonids. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 73B:125-141.
- Erikson, U.; Sigholt, T.; Seland, A. 1997. Handling stress and water quality during live transportation and slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 149:243-252.

- Forsberg, J. A.; Summerfelt, R.C.; Barton, B.A. 1999. Effects of ram-air ventilation during transportation on water quality and Physiology of fingerlings walleyes. *North American Journal of Aquaculture*, 61:220-229.
- Gomes, L. C.; Chippari-Gomes, A. R. 1999. Respostas hematológicas e metabólicas após a captura e manejo em jaraqui escama grossa, *Semaprochilodus insignis* In: Cabrera, T. (ed.). *Memorias del Acuicultura Venezuela 99' – Latin American Chapter of the World Aquaculture Society*, Puerto La Cruz, Venezuela. p. 125-130.
- Gomes, L.C.; Golombieski, J.I.; Chippari-Gomes, A.R.; Baldisserotto, B. 1999. Effect of salt in the water of transport on survival and Na⁺ and K⁺ body levels in fingerlings of silver catfish *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). *Journal of Applied Aquaculture*, 9(4):1-9.
- Gomes, L.C.; Roubach, R.; Araujo-Lima, C.A.R.M. 2002. Transportation of tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*) in Amazon: main problems. *World Aquaculture*, 33(1):51-53.
- Gomes, L.C.; Chippari-Gomes, A.R.; Lopes, N.P.; Roubach, R.; Araujo-Lima, C.A.R.M. 2001. Efficacy of benzocaine as anesthetic for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 31:426-431.
- Goulding, M.; Carvalho, M.L. 1982. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): an important Amazonian food fish. *Revista Brasileira de Zoologia*, 1:107-133.
- Grottum, J.A.; Staurnes, M.; Sigholt, T., 1997. Effect of oxygenation, aeration and pH control on water quality and survival of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), kept at high densities during transport. *Aquaculture Research*, 28:159-164.
- Kirshner, L.B. 1991. *Water and ions*. In. Prosser, C. C. (ed.). Wiley-liss, Jonh Wiley & Sons. Inc., Publication. p. 13-107.
- Kubitza, F. 1998. *Técnicas de transporte de peixes vivos*. Campo Grande, MS, 44 p.

- Mazeaud, M.M.; Mazeaud, F.; Donaldson, E.M. 1977. primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. *Transactions of the American Fisheries Society*, 106:201-218.
- McDonald, D.G.; L. Milligan. 1997. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: Iwama, G. K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P.; Schreck, C. B. (eds.). *Fish stress and health in aquaculture*. Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p. 119-144
- Mommsen, T.P.; Vijayan, M.M.; Moon, T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9:211-268.
- Morgan, J.D.; Iwama, G.K., 1997. Measurements of stressed states in the field. In: Iwama, G. K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P.; Schreck, C. B. (eds.). *Fish stress and health in aquaculture*. Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p. 247-270.
- Piper, G.R.; McElwain, I.B.; Orme, L.E.; McCraren, J.P.; Fowler, L.G.; Leonard, J.R. 1982. *Fish hatchery management*. United States Department of the Interior, Washington, USA. 517p.
- Robertson, L.; Thomas, P.; Arnold, C.R.; Trant, J.M. 1987. Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling, transport, rearing density, and a disease outbreak. *The Progressive Fish-Culturist*, 49:1-12.
- Ross, L.G.; Ross, B., 1999. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. Blackwell Science, Oxford, UK. 159p.
- Svobodová, Z.; Kaláb, P.; Dusek, L.; Vykusová, B.; Kolárová, J.; Janousková, D. 1999. The effect of handling and transport on the concentration of glucose and cortisol in blood plasma of common carp. *Acta Veterinaria Brno*, 68:265-274.

- Tomasso, J.R. 1994. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. *Reviews in Fisheries Science*, 2:291-314.
- Urbinati, E.C.; Carneiro, P.C.F. 2001. Metabolic and hormonal responses of matrinxã, *Brycon cephalus*, (Teleost: Characidae) to transport stress under influence of benzocaine. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 16:75-85.
- Val, A.L.; Rolim, P.R.; Rabelo, H. 2000. Situação atual da aqüicultura na região norte. In: Valente, W.C.; Poli, C.R.; Pereira, J.A.; Borghetti, J.R. *Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável*. CNPq/MCT, Brasília, Brasil. p. 247-266.
- Verdow, H.; Vanechted, C.J.A.; Dekkers, E.M.J. 1978. Ammonia determination based on indophenol with sodium salicylate. *Water Research*, 12:399-402.
- Wedemeyer, G.A. 1997. Effect of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. In: Iwama, G. K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P.; Schreck, C. B. (eds.). *Fish stress and health in aquaculture*. Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p. 35-71.
- Wedemeyer, G.A.; McLeay, D.J. 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: Pickering, A.D. (ed.). *Stress and Fish*. Academic press, London, UK. p. 247-275.
- Wood, C.M.; Wilson, R.W.; Gonzalez, R.J.; Patrick, M.L.; Bergman, H.L.; Narahara, A.; Val, A.L. 1998. Responses of an Amazonian teleost, the tambaqui (*Colossoma macropomum*), to low pH in extremely soft water. *Physiological Zoology*, 71:658-670.
- Wurts, W.A. 1995. Using salt to reduce handling stress in channel catfish. *World Aquaculture*, 26:80-81.

Tabela 1. Qualidade da água durante o transporte de tabaqui com diferentes concentrações de sal de cozinha na água. Letras minúsculas em sobrescrito em linha significam diferença significativa entre as concentrações de sal para cada tempo, teste de Tukey; $P < 0,05$. Letras maiúsculas em sobrescrito em coluna significam diferença estatística entre os diferentes tempos de cada concentração de sal, teste de Tukey; $P < 0,05$. Os resultados são média \pm erro padrão de três repetições de cada concentração de sal.

Tempo de amostragem (h)	Sal de cozinha (g/L)			
	0	2	5	8
Temperatura ($^{\circ}$C)				
0	26,9 \pm 0,67 ^{aA}	26,9 \pm 0,06 ^{aA}	26,4 \pm 0,30 ^{aA}	26,8 \pm 0,09 ^{aA}
1,5	27,7 \pm 0,10 ^{aA}	27,3 \pm 0,17 ^{aA}	27,4 \pm 0,20 ^{aB}	27,3 \pm 0,12 ^{aA}
3	28,3 \pm 0,24 ^{aA}	28,1 \pm 0,29 ^{aB}	28,0 \pm 0,15 ^{aB}	28,2 \pm 0,24 ^{aB}
pH				
0	5,02 \pm 0,54 ^{aA}	5,20 \pm 0,46 ^{aA}	5,43 \pm 0,09 ^{aA}	5,22 \pm 0,44 ^{aA}
1,5	5,11 \pm 0,25 ^{aA}	5,17 \pm 0,31 ^{aA}	5,51 \pm 0,01 ^{aA}	5,29 \pm 0,29 ^{aA}
3	5,34 \pm 0,24 ^{aA}	5,21 \pm 0,22 ^{aA}	5,42 \pm 0,09 ^{aA}	5,15 \pm 0,20 ^{aA}
CO₂ (mg/L)				
0	34,47 \pm 7,66 ^{aA}	25,67 \pm 9,19 ^{aA}	35,93 \pm 12,07 ^{aA}	25,67 \pm 11,53 ^{aA}
1,5	38,13 \pm 4,81 ^{aA}	33,00 \pm 19,05 ^{aA}	28,60 \pm 6,60 ^{aA}	24,20 \pm 4,58 ^{aA}
3	41,80 \pm 7,07 ^{aA}	35,20 \pm 6,72 ^{aA}	38,13 \pm 10,65 ^{aA}	33,00 \pm 5,54 ^{aA}
NH₃ (μmol/L)				
0	0,03 \pm 0,03 ^{aA}	0,07 \pm 0,03 ^{aA}	0,09 \pm 0,02 ^{aA}	0,09 \pm 0,06 ^{aA}
1,5	3,71 \pm 0,58 ^{aB}	2,77 \pm 0,23 ^{aB}	3,54 \pm 0,61 ^{aB}	3,32 \pm 0,79 ^{aB}
3	5,34 \pm 1,19 ^{aB}	6,30 \pm 1,85 ^{aB}	5,86 \pm 0,84 ^{aB}	5,01 \pm 0,19 ^{aB}

Tabela 2. Concentrações plasmáticas de Na⁺ e K⁺ durante o transporte de tabaqui, com diferentes concentrações de sal de cozinha na água. AD antes do distúrbio, AT após o transporte, 24AT e 96AT 24 e 96 horas após o transporte. * indica diferença significativa do controle (AD), teste de Dunnett; P<0,05. Os resultados são média±erro padrão de três repetições de cada concentração de sal (n=4 para cada repetição).

Sal de cozinha (g/L)	Período de transporte			
	Controle (AD)	AT	24AT	96AT
Na⁺ (mmol/L)				
0	174,09±7,56	172,83±6,33	178,92±5,75	181,75±9,00
2	174,09±7,56	167,67±9,05	166,63±2,47	192,08±10,28
5	174,09±7,56	171,33±9,23	187,92±8,74	201,67±12,99
8	174,09±7,56	176,82±9,15	216,17±10,34*	188,75±8,85
K⁺ (mmol/L)				
0	4,88±0,48	7,00±0,52*	5,17±0,44	5,67±0,14
2	4,88±0,48	4,67±0,41	4,13±0,23	6,00±0,39
5	4,88±0,48	5,50±0,50	5,00±0,43	4,42±0,19
8	4,88±0,48	4,82±0,33	5,50±0,31	5,50±3,14

Tabela 3. Qualidade da água durante o transporte de tambaqui em diferentes densidades com 8g/L de sal de cozinha na água. Letras minúsculas em sobrescrito em linha significam diferença significativa entre as concentrações de sal para cada tempo, teste de Tukey; $P < 0,05$. Letras maiúsculas em sobrescrito em coluna significam diferença estatística entre os diferentes tempos de cada concentração de sal teste de Tukey; $P < 0,05$. Os resultados são média \pm erro padrão de duas repetições de cada densidade.

Tempo de amostragem (h)	Densidade (g/L)		
	100	150	200
Temperatura ($^{\circ}$C)			
0 h	27,85 \pm 0,05 ^{aA}	27,95 \pm 0,05 ^{aA}	26,75 \pm 1,15 ^{aA}
1.5 h	28,10 \pm 0,10 ^{aA}	28,15 \pm 0,05 ^{aA}	27,05 \pm 1,05 ^{aA}
3 h	28,85 \pm 0,05 ^{aB}	28,85 \pm 0,05 ^{aB}	27,6 \pm 0,5 ^{aA}
pH			
0 h	5,48 \pm 0,17 ^{aA}	5,50 \pm 0,12 ^{aA}	5,43 \pm 0,05 ^{aA}
1.5 h	5,34 \pm 0,14 ^{aA}	5,56 \pm 0,10 ^{aA}	5,60 \pm 0,06 ^{aA}
3 h	5,60 \pm 0,06 ^{aA}	5,81 \pm 0,15 ^{aA}	5,81 \pm 0,15 ^{aA}
CO₂ (mg/L)			
0 h	22,0 \pm 0,0 ^{aA}	22,0 \pm 0,0 ^{aA}	17,6 \pm 4,4 ^{aA}
1.5 h	31,9 \pm 1,1 ^{aB}	34,1 \pm 1,1 ^{aB}	35,2 \pm 0,0 ^{aA}
3 h	33,0 \pm 2,2 ^{aB}	42,9 \pm 1,1 ^{aC}	56,1 \pm 12,11 ^{aA}
NH₃ (μmol/L)			
0 h	0,11 \pm 0,09 ^{aA}	0,17 \pm 0,14 ^{aA}	0,09 \pm 0,06 ^{aA}
1.5 h	4,66 \pm 0,05 ^{aB}	5,41 \pm 0,96 ^{aB}	6,64 \pm 0,13 ^{aB}
3 h	6,84 \pm 0,32 ^{aC}	8,22 \pm 0,93 ^{aB}	10,07 \pm 0,24 ^{aC}

Tabela 4. Concentrações plasmáticas de Na⁺ e K⁺ durante o transporte de tabaqui em diferentes densidades com 8g/L de sal de cozinha na água. AD antes do distúrbio, AT após o transporte, 24AT e 96AT 24 e 96 horas após o transporte. * indica diferença significativa do controle (AD), teste de Dunnett; P<0,05. Os resultados são média±erro padrão de duas repetições de cada densidade (n=4 para cada repetição).

Densidade (g/L)	Período de transporte			
	Controle (AD)	AT	24AT	96AT
Na⁺ (mmol/L)				
100	179,00±12,13	178,50±3,93	224,13±15,87	210,50±12,45
150	179,00±12,13	189,00±12,10	211,63±18,17	193,75±11,26
200	179,00±12,13	182,38±1,98	226,63±16,85*	196,50±10,53
K⁺ (mmol/L)				
100	4,88±0,47	4,63±0,26	6,38±0,50	6,38±0,32
150	4,88±0,47	5,00±0,33	7,75±0,62*	5,38±0,26
200	4,88±0,47	5,00±0,19	5,50±0,54	4,88±0,40

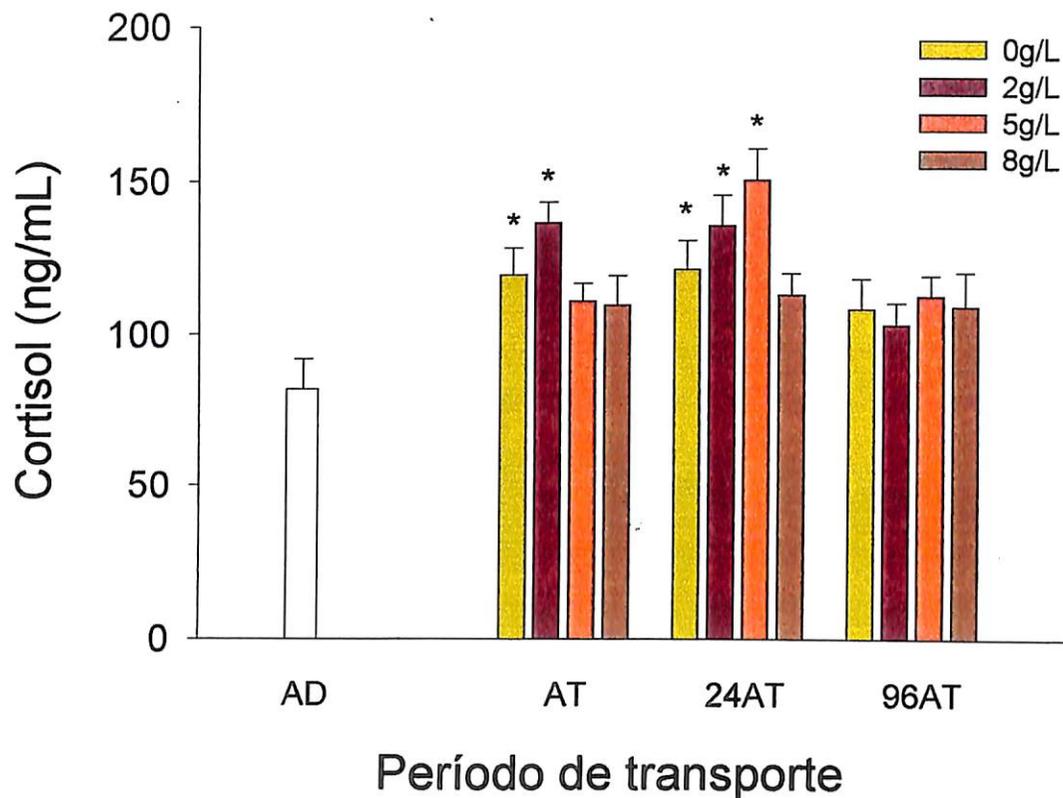


Figura 1. Concentrações de cortisol plasmático durante o transporte de tabaqui, com diferentes concentrações de sal de cozinha na água. AD antes do distúrbio, AT após o transporte, 24AT e 96AT 24 e 96 horas após o transporte. * indica diferença significativa do controle (AD), teste de Dunnett; $P < 0,05$. Os resultados são média \pm erro padrão de três repetições de cada concentração de sal ($n=4$ para cada repetição).

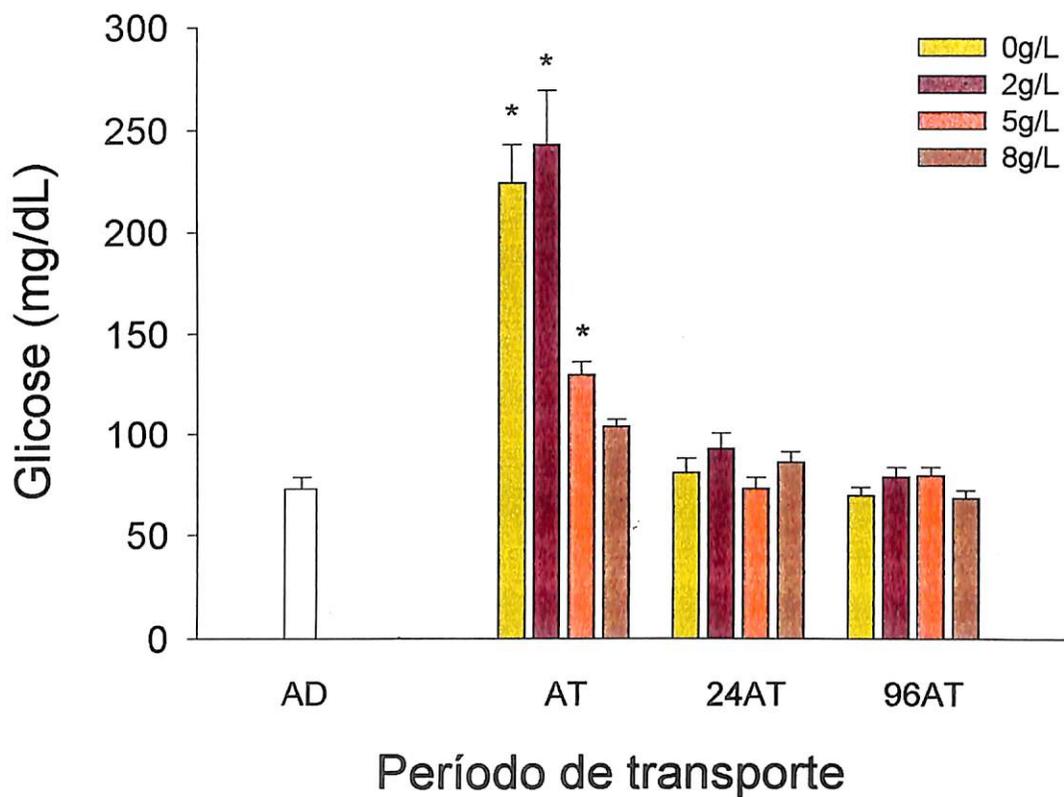


Figura 2. Concentrações de glicose plasmática durante o transporte de tabaqui, com diferentes concentrações de sal de cozinha na água. AD antes do distúrbio, AT após o transporte, 24AT e 96AT 24 e 96 horas após o transporte. * indica diferença significativa do controle (AD), teste de Dunnett; $P < 0,05$. Os resultados são média \pm erro padrão de três repetições de cada concentração de sal ($n=4$ para cada repetição).

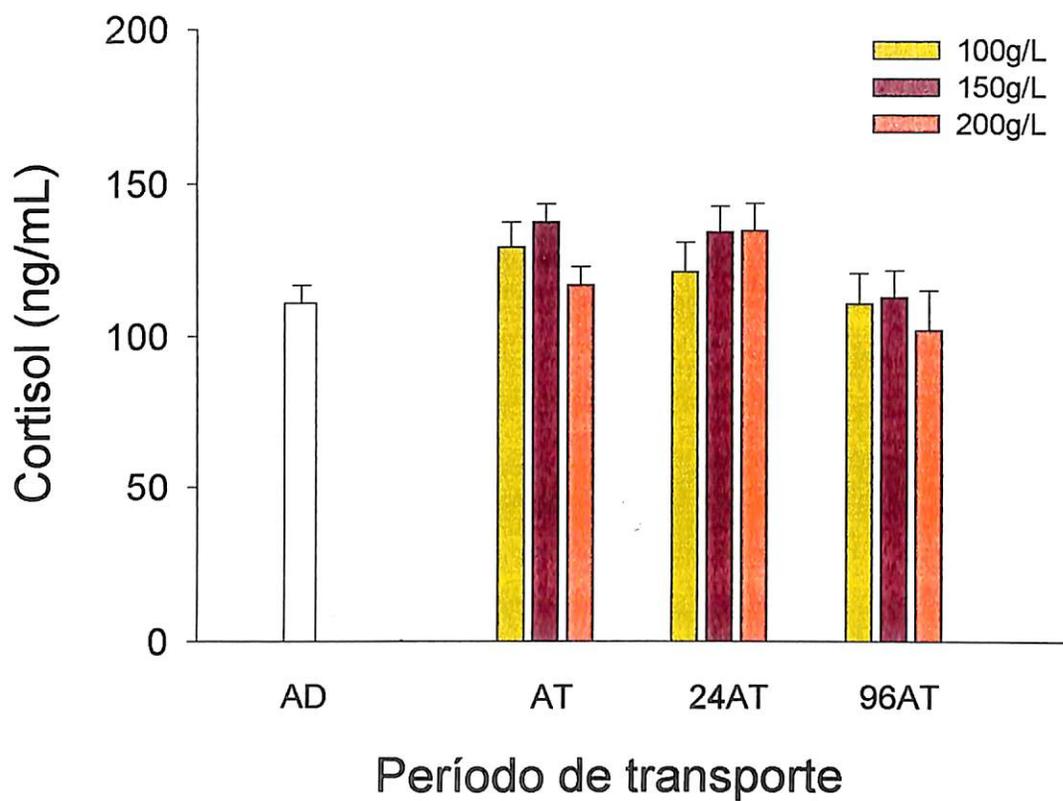


Figura 3. Concentrações de cortisol plasmático durante o transporte de tabaqui em diferentes densidades com 8g de sal/L de água. AD antes do distúrbio, AT após o transporte, 24AT e 96AT 24 e 96 horas após o transporte. Os resultados são média±erro padrão de duas repetições de cada densidade (n=4 para cada repetição).

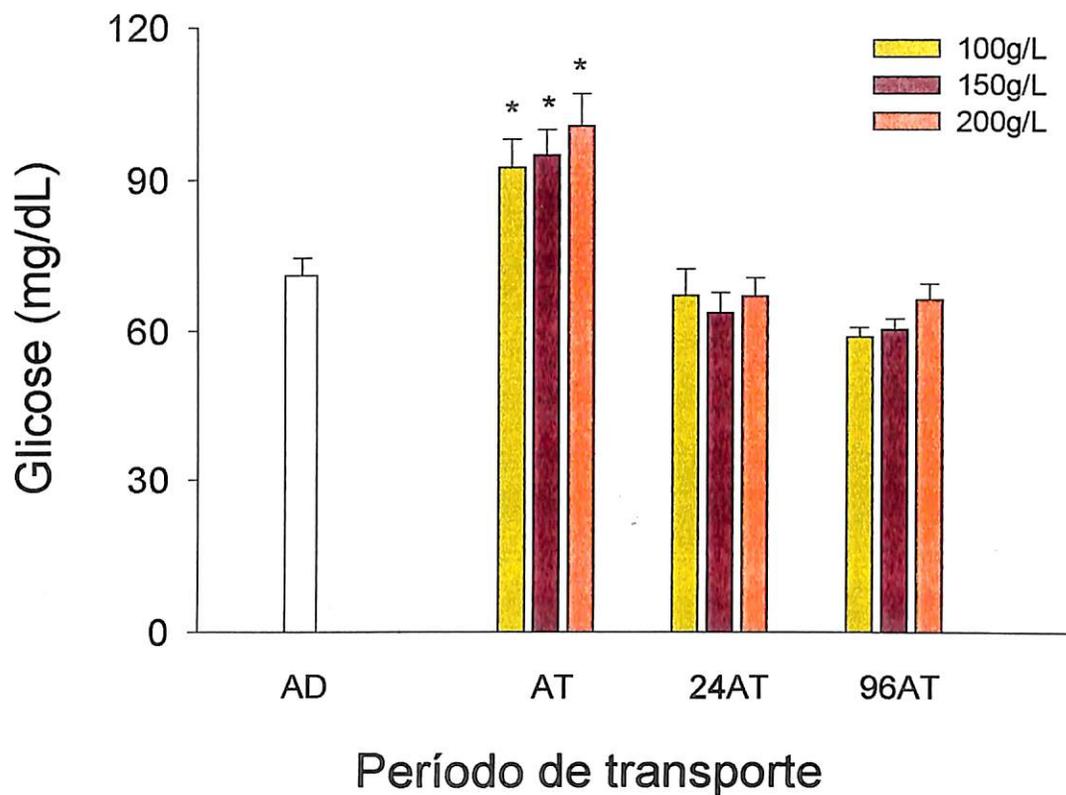


Figura 4. Concentrações de glicose plasmática durante o transporte de tabaqui em diferentes densidades com 8g de as/L de água. AD antes do distúrbio, AT após o transporte, 24AT e 96AT 24 e 96 horas após o transporte. * indica diferença significativa do controle (AD), teste de Dunnett; $P < 0,05$. Os resultados são média \pm erro padrão de duas repetições de cada densidade ($n=4$ para cada repetição).

CAPÍTULO VII – Sumário das conclusões



Neste capítulo serão apresentadas as principais conclusões da tese em forma de Boas Práticas de Manejo (BPMs). As BPMs serão apresentadas em tópicos para facilitar o entendimento. Para juvenis e juvenis II serão apresentadas juntas por serem bastante semelhantes.

1) Juvenis e Juvenis II

- Para o transporte devem ser selecionados peixes em boas condições de saúde;
- A depuração gastrintestinal é uma etapa indispensável e deve durar entre 12-24 horas. A depuração deve ocorrer em tanques apropriados e, se possível, colocar fluxo de água para renovação contínua da água. Durante a depuração, o lote de peixe deve ser novamente avaliado para saber se tem condições de suportar o transporte. Peixes debilitados dificilmente suportarão o manejo do transporte, aumentando, assim, as chances de mortalidade;
- Para estes peixes o sistema de transporte mais adequado é o fechado. O transporte deve ser realizado em sacos de 30L, com 10 litros de água e duas vezes esse volume em oxigênio. Após ser lacrado o saco deve ser condicionado em caixas de isopor. A utilização da caixa de isopor é fundamental para fornecer proteção e isolamento térmico ao saco de transporte. Essas caixas também facilitam o empilhamento da carga;
- Não há aumento da sobrevivência de juvenis quando se adicionam produtos potencialmente redutores de estresse na água. O uso de gesso durante o transporte de juvenis não melhora a resistência dos peixes em relação ao grupo controle (sem adição de produto na água). A sobrevivência destes peixes no transporte é menor com benzocaina e sal. Portanto, o transporte de juvenis deve ser realizado sem a adição de nenhum tipo de produto na água;

- Os fornecedores de juvenis de tambaqui do Estado do Amazonas transportam juvenis em densidades entre 50 a 100 peixes/L, sem considerar de forma precisa o tempo de transporte. Portanto, fica agora estabelecida a densidade segura de juvenis para o tempo necessário de transporte. Para o transporte de 6, 9, 12, 15, 18 e 24 horas as densidades máximas em que não há mortalidade são respectivamente 90, 80, 70, 60, 45 e 25 peixes/L. Levando em consideração a mortalidade 96 horas após o transporte, só é possível transportar peixes sem mortalidade em uma densidade de até 20 peixes/L por no máximo 3 horas. Para o transporte de 3, 6, 9 e 12 horas as densidades mais adequadas, assumindo 5% de mortalidade são de 60, 50, 30 e 20 peixes/L, respectivamente. Para um transporte de mais de 12 horas a densidade deve ser de 20 peixes/L, assumindo uma mortalidade de até 25% para um transporte de 15 e 18 horas e de 50% para o transporte de 24 horas. É mais conservador levar em consideração a mortalidade 96 horas após o transporte, desta forma, o produtor pode corrigir a mortalidade acumulada que provavelmente ocorrerá;
- Os fornecedores de juvenis II (15 cm) do Estado do Amazonas ainda não tinham uma densidade estabelecida para o transporte destes peixes. Fica, então, esclarecido que a densidade adequada para o transporte de juvenis II (15 cm) é de 78 g/L de água;
- O aumento do CO₂ está associado ao aumento da mortalidade de juvenis;
- Após o transporte os sacos devem ser colocados por 15-20 minutos na água onde os peixes serão soltos para que haja uma aclimatação térmica. Após este período, o saco deve ser aberto e a água vagorosamente misturada com a água do tanque para que a composição físico-química fique semelhante e não cause nenhum tipo de injúria nos peixes;
- Deve haver um acompanhamento dos juvenis durante os cinco dias seguintes ao transporte para avaliar a mortalidade acumulada.

2) Juvenis para abate

- Para o transporte devem ser selecionados peixes em boas condições de saúde;
- A depuração gastrintestinal deve durar no mínimo 24 horas. A depuração de peixes deste tamanho é inviável em tanques pequenos, portanto deve ser realizada no próprio tanque de criação;
- Para este tamanho de peixe o sistema de transporte mais adequado é o aberto, realizado em caixas com fornecimento constante de oxigênio. As caixas podem ser especialmente construídas para o transporte de peixes ou adaptadas. As caixas adaptadas mais comumente encontradas são as confeccionadas para o transporte de produtos em conserva com capacidade para 200L. Estas caixas são uma boa alternativa para pequenos produtores que não tem como arcar com o custo de uma caixa apropriada. É importante que a caixa de transporte esteja totalmente cheia de água, pois caixas com água pela metade fazem com que haja um balanço interno muito grande aumentando a abrasão entre os peixes e conseqüentemente a mortalidade;
- O sal de cozinha na concentração de 8 g/L de água é eficiente para o transporte de juvenis para abate;
- A densidade ideal para o transporte destes peixes é de 150 g de peixe/L de água;
- Na chegada do peixe ao destino final deve-se trocar a metade da água da caixa por água do local onde o peixe será estocado, para que a composição físico-química da água fique semelhante e não cause nenhum tipo de injúria nos peixes. Caso não seja possível a troca de água os peixes devem ser cuidadosamente colocados no local de destino.

CAPÍTULO VIII – Anexos



Transportation of Tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*) in Amazon: Main problems

LEVY DE CARVALHO GOMES,¹ RODRIGO ROUBACH² AND CARLOS A.R.M. ARAUJO-LIMA³

Tambaqui (pronounced 'tom-bah-key'), *Colossoma macropomum*, is a fish from the Amazon and the Orinoco basin that occurs in Brazil, Venezuela, Colombia, Peru and Bolivia and is an icon of the Amazon (Araujo-Lima and Goulding 1997). Because of the socio-economic role of fisheries in the region, the high market demand and its yield, tambaqui is one of the most important local fish (Saint-Paul 1990).

Tambaqui is also the Amazonian native fish, which has the largest database of husbandry, and the one with the best farming success (Saint-Paul 1986, Araujo-Lima and Goulding 1997). It is raised in Brazil, Equador, Panama, Peru, Venezuela and Colombia (Chellappa et al. 1995) with good results. The North of Brazil offers several advantages over other regions. The availability of juveniles is continuous throughout the year, because it is possible to maintain and obtain different batches of fish at different maturation stages year around. The growth rate in ponds is good due to the relatively high water temperature (Araujo-Lima and Goulding 1997). Therefore, tambaqui farming is booming in the region.

Although the knowledge base for tambaqui husbandry is good, there are still some voids that need improvement to build an efficient technological production package for this fish locally. One of these voids is juvenile fish transportation. Andrade and Randall (1999), in a fish farmer's survey, reported that the high juvenile mortality rates as a result of poor transportation and handling conditions is one of the major problems for tambaqui farmers in the region. Pilot studies done with 2-5 cm juveniles confirmed this in-

formation (Gomes, unpublished). Fish farmers that buy juveniles for stocking growout ponds normally assess only immediate mortality, without any further evaluation of the transportation stress. As a direct consequence of this method of assessment, the mortality rate is higher after transport and the growout cycle produces unpredictable results; normally production is lower than expected (Souza et al. 1998). Juvenile transportation has been a routine procedure in our research project involving stock enhancement of tambaqui in Central Amazonian "varzea" lakes. So, we have been using it to study transportation and improve our knowledge of this problem. In this project we also observed that mortality after transportation could be an important bottleneck.

Juvenile Fish Transportation

Kubitza (2000) mentioned that even though fish juvenile transportation is one of the most important operations at the present stage of aquaculture development, little attention has been paid to the subject in Brazil. Several phases of fish culture involve transport, although transportation of fish alevins and juveniles from hatcheries to growout ponds or tanks is the most common operation type for tambaqui. Therefore, juvenile transportation has been part of our research project since the year 2000.

The work is being conducted in



Tambaqui, *Colossoma macropomum* (15 cm). (all photos by Levy de Carvalho Gomes)

Amazonas state, the largest federal state of the Brazilian Amazon. There, tambaqui juveniles are mainly produced by three hatcheries: the State government agency — Instituto de Desenvolvimento Agropecuário do Amazonas/IDAM, and two private enterprises. The average price is around US\$30.00 for a thousand fish. Market size is 3-5 centimeters. Juveniles are seined from the nursery ponds and brought in 20 l buckets to indoor concrete or fiberglass holding tanks for intestinal tract evacuation, which usually takes from 1-48 h. Then, the fish are transferred to plastic bags with holding capacity of 30 to 60 l, with 10 to 20 l of water and twice that volume in oxygen. The bags are closed with rubber bands and may be packed in styrofoam boxes. Fish density varies from 500-1,000 per plastic bag. Transportation is normally done on paved roads and lasts 2-24 hr.

In our project when we transported for 10 hours to floodplain lakes, we found that 300 juveniles in 10 l of water was nearly an ideal density, leading to zero mortality. This preliminary result is being refined in a more complex study to test several

densities for a maximum of 24 h transportation. This experiment is one of the goals of the first author's doctoral dissertation project.

Juvenile transportation conducted during 2001 resulted in unusually high mortality rates, even at fish densities considered safe. High mortality was probably caused by juvenile malnutrition and perhaps, to parasite infestation. Facing these "new" issues, we are now trying to establish a methodology to test juvenile quality. The experiments are based on fish weight-length relationship, since it is common to find excessively thin fish at the hatcheries. Another approach will be the development of a standard fish stress test protocol. In the latter, we have been experimenting with holding the fish out of the water for a certain length of time to create stress and measure mortalities for different size classes or other condition factors.

At the state hatchery, juvenile feeding is a big problem. Feed purchase and delivery is discontinuous due to a limited budget. Therefore, it is very common to find underweight fish that start to die in the holding tanks right after capture. To overcome this problem, the state hatchery has as a standard protocol a policy of selling the fish right before transport or less than an hour after they arrive at the holding tanks. Thus, subsequent losses are transferred to clients, the fish farmers, who occasionally observe high fish mortality and report them.

Parasite infestation is a problem in both fish hatcheries. Parasite abundance in fish reached an average of 600 parasites/fish, mostly monogenea in the branchial arches. Parasites leave fish weak and unable to cope with transportation stress. As soon as we were able to detect the problem, we warned the hatchery manager. At the state hatchery, the hatchery was not able to deal with the problem. As for the private tambaqui hatchery, there was an effort to control infestation, with every possible measure, including killing the entire batch to avoid spreading the disease. Therefore, that hatchery followed all the "good" standard practices for fish transportation, including a 24-48 hr holding period before transport, lower densities in the holding tanks and the advice to perform all the transportation operations



(Left) Tambaqui juveniles with 5 cm: (A) under nourished with a prominent head and a thin body; (B) well nourished with a normal and proportional body and head size.

(Below) Juveniles seining from the nursery tanks with 2 mm net. This is the most traumatic process, in which extreme care should be taken to avoid serious oxygen depletion at the site where the net is closed to collect the fish.

in the early morning, when the overall temperatures are lower.

Anesthetics in fish transportation

It is common practice in the Amazon hatcheries to use methylene blue with sodium chloride (NaCl), added to the water to transport juvenile fish, although there is no scientific evidence of the usefulness of salt to prevent or ameliorate fish mortality during transportation. We also experimented with the use of anesthetics in the water for tambaqui transportation at the previous established fish density of 30 fish/l. Included were the chemical anesthetic tricaine-methane-sulfonate (MS-222), physical anesthetics procedures that involved lower temperatures and gas procedures, such as carbon dioxide (CO₂) bubbled into the water. Ross and Ross (1999) mentioned that the use of anesthetics is responsible for improved water quality during fish transportation. However, we were not able to observe that effect with the addition of MS222 or CO₂. Water quality was similar or inferior to the controls (without anesthetics) in our experiments.

Fish anesthetized with CO₂ had lower mortality rates (0 percent for up to 24-hrs transportation), compared with 3.5 percent for fish transported without anesthetics. Lowering the temperature, using ice cubes in the water during fish transporta-

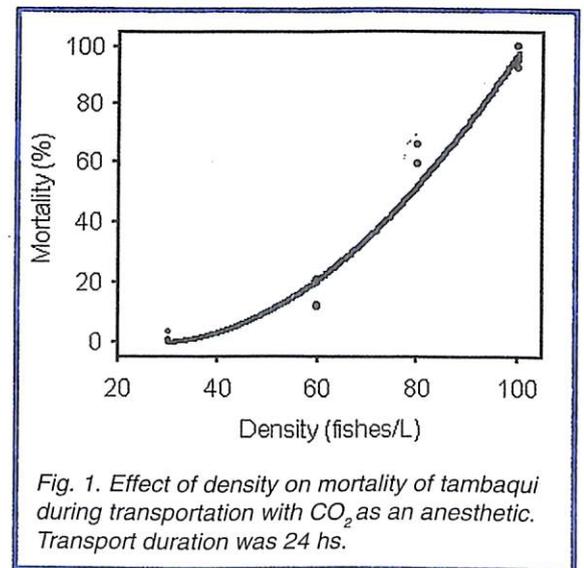
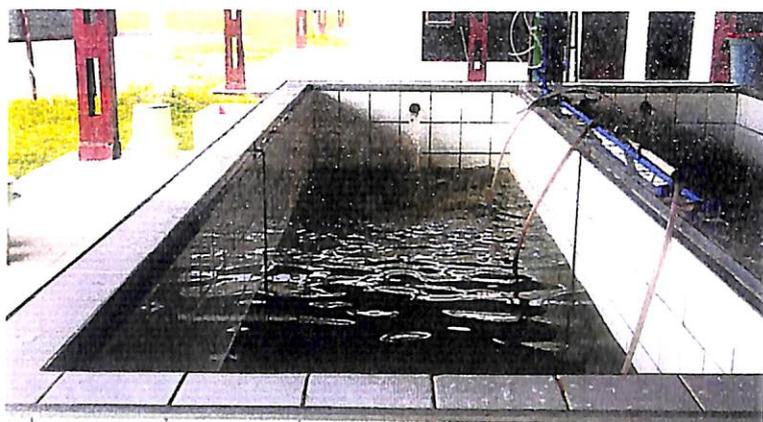


Fig. 1. Effect of density on mortality of tambaqui during transportation with CO₂ as an anesthetic. Transport duration was 24 hs.

tion, produced disastrous results for tambaqui juveniles, with high mortality (> 43 percent) after three hours and up to 78 percent after a 24 hr period. Further studies testing different fish densities anesthetized with CO₂ were made and we concluded that the procedure was only feasible for fish transportation at low densities of no more than 30 juveniles/L.

Future Perspectives

From these studies we were able to



(Above) Holding (depuration) tank with continuous water flux. (Top right) Transport bags. Figure shows a 30 L capacity with 10 L of water and two times the oxygen volume. The styrofoam acts as a thermal isolation keeping a constant water temperature. (Bottom right) Car loaded with the fish transportation boxes and ready to go. This is the standard transport operation done within the tambaqui stock enhancement project.

accomplish important results. We could identify the main problems of the activity and we are now trying develop recommendations for better transport protocols to improve fish survival. Upon the completion of this project we will be able to set specific transport guidelines according to the duration of the trip, with an allowed or maximum fish (tambaqui) density to be transported safely with nearly zero percent mortality.

We believe that, for the moment, private hatcheries are able to do a better job, at least until the government hatchery budget is stabilized and improvements to its internal administrative structure are made.

If we succeed in establishing practical field methodologies to assay fish quality, it will be possible to develop quality standards and calculate fish mortality before transportation with a high degree of confidence. Our goal is to develop easy procedures and practical methodologies for field use, making it possible for the laymen to use th techniques.

Conclusions

- The major problem is tambaqui quality;
- Fish mortality during the transportation is related to fish density;
- n There is no beneficial effect from the use of the tested anesthetics during the

transport of tambaqui juveniles, therefore, juvenile transportation is best accomplished in water containing no added chemicals.

Author's Note

¹Levy de Carvalho Gomes is a doctoral student (CNPq fellowship) at the National Institute of Amazonian Research (INPA) - C.P. 478, Manaus, AM, 69011-970, Brazil. E-mail: levy@inpa.gov.br.

²Rodrigo Roubach is a researcher from the Aquaculture Department at the National Institute of Amazonian Research (INPA) - C.P. 478, Manaus, AM, 69011-970, Brazil.. E-mail: roubach@inpa.gov.br.

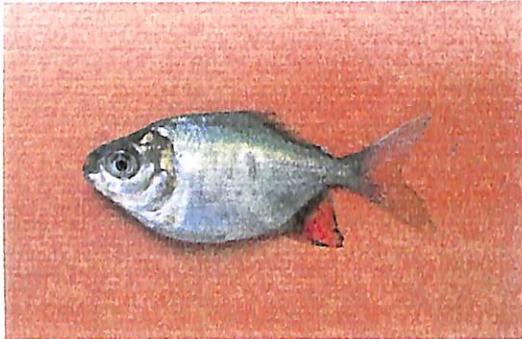
³Carlos A.R.M. Araujo-Lima is a researcher from the Department of the Aquatic Biology at National Institute of Amazonian Research (INPA) and Coordinator of the Tambaqui project (PPD 1139/99) - C.P. 478, Manaus, AM, 69011-970, Brazil. E-mail: calima@inpa.gov.br.

References

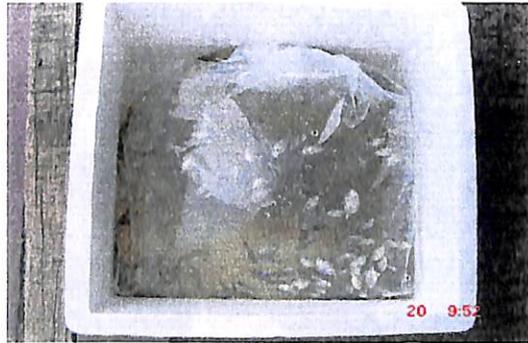
Andrade, S.M.S., and E.F. Randall. 1999. Avaliação das condições de manejo e doenças no cultivos de peixe no estado do Amazona. pp. 17-20, In: T. Cabrera

- (Ed.). *Acuicultura Venezuela '99*. Puerto La Cruz, Venezuela.
- Araujo-Lima, C.R.M., and M. Goulding. 1997. So fruitful a fish. Ecology, conservation, and aquaculture of the Amazon's tambaqui, Columbia University Press, New York, New York, USA. 192 p.
- Chellappa, S., N.T. Chellappa, W.B. Barbosa, F.A. Huntingford, and M.C.M. Beveridge. 1995. Growth and production of the Amazonian tambaqui in fixed cages under different feeding regimes. *Aquaculture International*, 3:11-21.
- Kubitza, F. 2000. A safra aquícula 1999/2000. *Panorama da Aqüicultura*, 10:31-35
- Ross, L.G., and B. Ross. 1999. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. Blackwell Science, Oxford, United Kingdom.
- Saint-Paul, U. 1986. Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: A review. *Aquaculture*, 54:205-240.
- Saint-Paul, U. 1990. *Aquaculture in Latin America - Bibliography*, European Aquaculture Society Special Publication, Oostede, Belgium.
- Souza, R.A.L., J. S.C. Melo, J.A. Pereira, and A.C. Peret. 1998. Determinação da densidade de estocagem de alevinos de tambaqui *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 (Pisces, Characidae) no estado do Pará - Brasil. *Boletim Técnico do CEPTA*, 11:39-48

CAPÍTULO IV



Juvenil de tambaqui de 4 cm (CT)



Saco de transporte lacrado com peixes mortos



Contagem dos mortos após o transporte



Análise da água

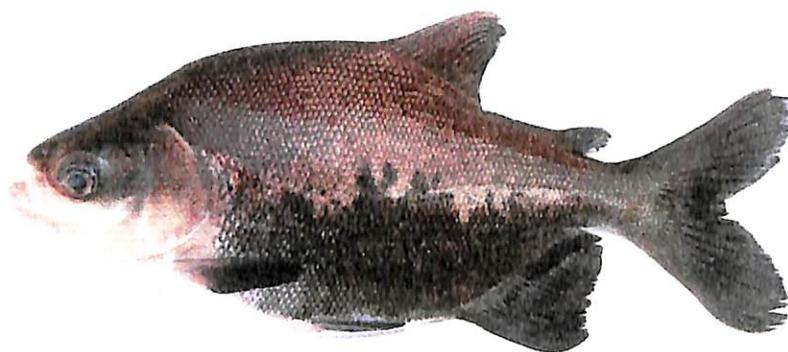


Colocação dos juvenis no tanque-rede



Vista geral dos tanques-rede

CAPÍTULO V



Tambaqui juvenil com 15 cm (CP)



Saco embalado para o transporte



Tanque de depuração

CAPÍTULO VI



Tanque de criação



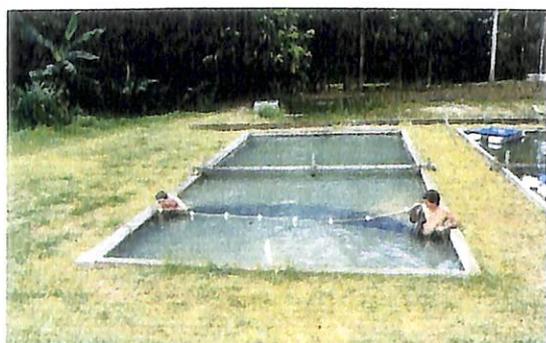
Captura dos peixes



Carro esperando o carregamento



Carro pronto para o transporte



Tanque de recuperação



Coleta de sangue