



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA

**Influência do oxigênio dissolvido no desempenho de juvenis de piava
(*Leporinus obtusidens*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Dr. Evoy Zaniboni Filho.

Jhon Edison Jimenez Rojas

FLORIANÓPOLIS – SC
2011

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária
da
Universidade Federal de Santa Catarina

R741i Rojas, Jhon Edison jimenez
Influência do oxigênio dissolvido no desempenho de juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*) [dissertação] / Jhon Edison Jimenez Rojas; orientador, Evoy Zaniboni Filho. – Florianópolis, SC, 2011.
54 p.: graf., tabs.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. Crescimento. 3. Hematologia. 4. Anoxemia
5. Peixe – Aparelho respiratório. I. Zaniboni Filho, Evoy.
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

CDU 639.3

**Influência do oxigênio dissolvido no desempenho de juvenis de piava
(*Leporinus obtusidens*).**

Por

JHON EDISON JIMENEZ ROJAS

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aqüicultura.

Prof. Evoy Zaniboni Filho, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Dr. Evoy Zaniboni Filho – *Orientador*

Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñez

Dr. Jesús Nuñez Rodriguez

A meus pais e irmãos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade que me dá de viver e aprender a cada dia.

Agradeço à minha Família, pelo apoio brindado durante este tempo fora do meu país, tão longe deles que amo tanto.

Ao meu orientador, Dr. Evoy Zaniboni filho, pela amizade, pelo apoio e especialmente por me orientar no caminho da pesquisa.

Ao meu Bombomcito pela compreensão, pelo apoio, companheirismo e especialmente pelo amor brindado.

Às minhas queridas estagiárias Ana Carolina Zanandrea, Claudia Maia, Bia lima, Morena Villar, Claudia Humeres. Pelo grande apoio prestado e pela amizade construída.

Aos grandes amigos Marcos Weingartner, Maria do Carmo, Nelia Paul, Ana Paula, David Reynalte, Claudia Machado, Renata Guereschi, Samara Hermes. Pelo apoio incondicional e pelos grandes momentos vividos

Aos amigos da Pós-graduação Roberta, Fabíola, Karine, Norha, Bruna, Neiva B., Vitor, Fernando C., Rodrigo V., Ronaldo L., Roberto R., Wesley, Felipe, Leo, Carioca.

A todos e cada um dos membros da grande família chamada LAPAD pelos agradáveis momentos e inesquecíveis churrascos.

Enfim, a todas e cada uma das pessoas que de alguma forma fizeram parte da minha vida aqui no BRASIL.

Os deuses são como os
humanos, apenas irradiam
muita luz, quando querem. (...)
São bons e são maus, são
meigos e amedrontadores, são
justos e injustos, são bonitos e
são feios, são tolerantes e
vingativos. São deuses, Jasão.

- **Quirón.**

RESUMO

A dificuldade para manter elevadas concentrações de oxigênio dissolvido na água de cultivo de peixes tropicais, torna ainda mais necessário conhecer as adaptações e os limites de tolerância ao oxigênio de uma espécie potencial para o cultivo. Este estudo visa determinar a concentração letal de oxigênio dissolvido durante 96 horas de exposição (LC50-96h) e adicionalmente, o efeito de diferentes concentrações de oxigênio dissolvido ($1,74 \pm 0,04 \text{ mg L}^{-1}$, $3,54 \pm 0,06 \text{ mg L}^{-1}$, $5,34 \pm 0,05 \text{ mg L}^{-1}$ e $7,34 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$) no crescimento, hematologia e o comprimento dos filamentos brânquias de juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*). A LC50-96h média de oxigênio foi de $0,452 \text{ mg L}^{-1}$. Após 70 dias submetidos a diferentes concentrações de oxigênio, os peixes mantidos na concentração de $1,74 \text{ mg L}^{-1}$ apresentaram aumento do número de eritrócitos e redução do volume destes ($P < 0,05$). O crescimento, o consumo de alimento e a conversão alimentar aparente foram influenciados negativamente a partir de uma concentração inferior a $3,54 \text{ mg L}^{-1}$. Juvenis de *L. obtusidens* toleram condições de hipóxia e apresentam respostas hematológicas adaptativas em hipóxia severa.

Palavras-chaves: crescimento, hematologia, hipóxia, brânquias, CL50

ABSTRACT

The difficulty to keep high oxygen concentration in the water in ponds to cultivate tropical fish, it makes even more necessary to understand the effect of the hypoxia in those fish species. This study aims to determine the lethal concentration of dissolved oxygen during 96 hours of exposure (LC50-96h) and additionally, the effect of different concentrations of dissolved oxygen ($1.74 \pm 0.04 \text{ mg L}^{-1}$, $3.54 \pm 0.06 \text{ mg L}^{-1}$, $5.34 \pm 0.05 \text{ mg L}^{-1}$ and $7.34 \pm 0.02 \text{ mg L}^{-1}$) on growth, hematology, and length of gill filaments of piava juvenile (*Leporinus obtusidens*). The LC50-96h of oxygen was 0.452 mg L^{-1} . After 70 days under different oxygen concentration, the fish exposed at 1.74 mg L^{-1} showed increased erythrocyte number and volume reduction of the erythrocytes cells ($P < 0.05$). Growth, food consumption and apparent feed conversion were negative influenced by oxygen concentration below 3.54 mg L^{-1} . Juveniles of piava tolerate hypoxia and exhibit adaptive hematological responses at severe hypoxia.

Keywords: growth, hematology, hypoxia, gills, LC50

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS DO ESTUDO	18
3. JUSTIFICATIVA.....	19
4. PRIMEIRO ARTIGO “Sobrevivência e crescimento de juvenis de piava (<i>Leporinus obtusidens</i>) expostos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido”	20
Resumo	20
Abstract	21
1. Introdução	22
2. Materiais e métodos.....	23
3. Resultados	25
4. Discussão	29
5. Conclusão.....	30
Referências	32
5. SEGUNDO ARTIGO “Adaptações de Juvenis de Piava (<i>Leporinus obtusidens</i>) Expostos a Hipóxia”	37
Resumo	38
Abstract	39
Materias e Métodos	41
Resultados	42
Discussão	44
Conclusão	45
Referências	46
6. CONCLUSÃO GERAL	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO	51

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura mundial tem apresentado um crescimento geométrico nos últimos 50 anos, com um crescimento médio anual de 8,7% (sem contar a China), e este crescimento continua em um ritmo maior do que o observado em outros setores da zootecnia (FAO, 2008). Este fenômeno vem também ocorrendo no Brasil, cuja produção aquícola tem crescido acima da média mundial desde 1995. De acordo com Boscardin (2008), a aquicultura brasileira cresceu em média 21,1% entre 1991 e 2004.

Em 2009, a aquicultura continental no Brasil foi responsável por 81,2% (337.353 t) da produção aquícola nacional (415.649 t), sendo que a região Sul liderou a produção da aquicultura continental, representando 34,11% do total e estando baseada principalmente no cultivo de carpas (MPA, 2010). Estas estatísticas evidenciam o potencial e a possibilidade do Brasil passar a liderar a produção aquícola na América do Sul nos próximos anos, aproveitando a grande diversidade de peixes nativos da região, que se apresenta como uma nova opção para o crescimento da atividade.

Sabidamente, o melhor ambiente para o cultivo das espécies nativas é o seu local de origem, já estando aclimatadas às condições ambientais locais, algumas delas se alimentam mesmo que a temperatura ambiente se encontre baixa, evitando-se desta forma, perdas oriundas de extremos climáticos.

Algumas dessas espécies apresentam alto valor comercial pelo sabor da carne e pelo fato da população estar acostumada a consumi-las (ZANIBONI-FILHO, 2002). Dentre as espécies nativas com potencial para o crescimento e fortalecimento da piscicultura continental no Brasil encontra-se a piava (*Leporinus obtusidens*) (anteriormente conhecida como *L. elongatus*), que é uma espécie de peixe migrador de água doce de grande tamanho (fêmeas com pesos corporais acima dos 7,5 kg), membro da família Anostomidae (TAITSON; CHAMI; GODINHO, 2008). Considerada de hábito alimentar onívoro, com preferência por plantas aquáticas e terrestres (HAHN et al., 1998), a espécie revela capacidade de aproveitar alimentos de origem vegetal como fonte protéica da ração (RADÜNZ et al., 2006). A espécie está distribuída nas bacias dos rios Paraná, São Francisco e Uruguai (OLDANI; OLIVEROS, 1984; SATO et al., 2000; TABLADO et al., 1988; ZANIBONI-FILHO; SCHULZ, 2003). A piava na bacia do rio Uruguai apresenta uma elevada importância

recreativa e comercial, tanto para pesca como para cultivo (REYNALTE-TATAJE; ZANIBONI-FILHO, 2010).

Como a maioria dos peixes migradores neotropicais, *L. obtusidens* também desova uma vez por ano na natureza, durante a estação de chuva do verão da região sudeste do Brasil, quando as temperaturas da água são mais elevadas e os dias mais longos (TAITSON; CHAMI; GODINHO, 2008). Apresentando características de uma espécie de desova total (REYNALTE-TATAJE; ZANIBONI-FILHO, 2010). Fêmeas artificialmente induzidas para desova liberam uma grande quantidade de ovócitos, desovando em média $13,1 \pm 2,9\%$ do peso total do peixe, sendo que cada grama de ovócitos contém 2444 ± 740 ovócitos (SATO et al., 2000). Segundo Araya, Agostinho e Bechara (2005), a piava apresenta incremento da condição corporal durante o período reprodutivo que está associado ao incremento no peso das gônadas e da gordura visceral como preparação para a desova.

De acordo com Júnior e Mourgués-Schurter (2001), a espécie apresenta boa adaptação às condições de laboratório, revelando que o consumo de alimento é independente do horário de fornecimento da ração, sendo considerada uma espécie bastante promissora para a piscicultura intensiva.

1.1 Oxigênio dissolvido

Nos corpos de água, o oxigênio dissolvido (OD) na água tem duas fontes: o primeiro trata-se do oxigênio atmosférico que em contato com a superfície da água é um ilimitado recurso, porém dentro da água sua difusão e posterior diluição é um processo muito lento. A segunda fonte consiste na fotossíntese que é a maior fonte de oxigênio em viveiros, processo que depende da quantidade de luz disponível. Esta taxa fotossintética pode ser afetada também pela zona fótica. Outros fatores como a respiração, decomposição, oxidação de íons metálicos e difusão contribuem com as perdas de oxigênio no viveiro (BOYD, 1996; COCHE; MUIR; LAUGHLIN, 1996; SIPAÚBA-TAVARES, 1995).

Segundo Arana (1997), perante o fato inevitável da queda do OD durante a noite, o aquicultor pode incorporar o oxigênio a seus tanques mediante dois métodos principais: renovação da água, que consiste em introduzir água com níveis altos de oxigênio para dentro dos tanques, e aeração mecânica do corpo de água, utilizando para isto aeradores elétricos ou acionados por motores movidos a combustível.

1.2. Adaptação dos peixes a baixas concentrações de oxigênio

Os animais de respiração aquática estão mais sujeitos a uma variação do oxigênio dissolvido, sendo que a redução da pressão parcial de oxigênio na água expõe o peixe a uma situação de hipóxia (baixa concentração de oxigênio). As condições de hipóxia, ou mesmo anoxia, muitas vezes prolongadas proporcionam um habitat com características bastante adversas para alguns organismos aquáticos. Esta situação torna-se ainda mais limitante com a formação de gases nocivos que são formados em condições anaeróbias no ambiente, tais como, o gás sulfídrico e o metano (BALDISSEROTTO, 2009; ESTEVES, 1988).

De acordo com Baldisserotto (2009), a diminuição da pressão parcial do oxigênio na água é detectada por receptores branquiais, uma vez que o peixe percebe esta diferença, ele tem como alternativa mudar de ambiente, procurando um local com maior disponibilidade de OD. Caso não seja possível, outros mecanismos como a bradicardia (redução da frequência do batimento cardíaco), aumento da força de contração do coração e elevação da ventilação branquial podem ser ativados com a finalidade de manter a quantidade de oxigênio disponível para as trocas gasosas nas brânquias e seu suprimento para órgãos vitais.

Níveis de oxigênio dissolvido abaixo de 3mg L^{-1} podem ser estressantes para muitas espécies de peixes, enquanto que abaixo de 1mg L^{-1} geralmente são letais (BALDISSEROTTO, 2009). Embora os peixes possam sobreviver a baixas concentrações de OD, particularmente quando a concentração de dióxido de carbono é baixa, isso não impede o surgimento de prejuízos para o peixe quando essa exposição permanece por um longo período (BOYD, 1996). A hipóxia pode afetar os processos fisiológicos dos peixes, interferindo na alimentação, limitando o crescimento (KARIM; SEKINE; UKITA, 2002; WILHELM FILHO et al., 2005) e a reprodução (DABROWSKI et al., 2003). No entanto, algumas espécies de peixes desenvolveram mecanismos e estratégias adaptativas para sobreviver em ambientes de hipóxia, incluindo entre elas modificações comportamentais (KRAMER; MCCLURE, 1982), morfológicas (SOLLID; NILSSON, 2006), fisiológicas (CHABOT; DUTIL, 1999; WILHELM FILHO et al., 2005) e bioquímicas (ALMEIDA-VAL et al., 1995; MORAES et al., 2002; VAN GINNEKEN; ADDINK; VAN DEN THILLART, 1996).

1.3. Concentração letal 50 (CL50)

Quando o organismo entra em contato com o oxigênio, principalmente na existência de modificações importantes na sua concentração, seja para níveis elevados ou para situações de hipóxia, há formação de agentes oxidativos teciduais. Sendo assim, podemos dizer que o oxigênio pode ser tóxico, através de seus metabólitos intermediários que afetam os tecidos, como os radicais livres. Estes radicais livres se caracterizam pela presença de moléculas que tem um elétron ímpar na sua órbita externa e formam subprodutos como o peróxido de hidrogênio, radicais hidroxila e radicais superóxidos (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995; OLSZEWER, 1995).

Através dos testes de toxicidade é possível determinar o tempo e os níveis em que o agente testado se torna potencialmente prejudicial. Independente da toxicidade do agente presente na água, o contato deste com o peixe pode não produzir um efeito negativo quando a concentração é muito baixa ou o tempo de contato é insuficiente. Desta forma, a concentração e o tempo de exposição estão diretamente relacionados ao efeito tóxico (CÉSAR; SILVA; SANTOS, 1997). O resultado da relação concentração/efeito, em geral, é expresso através da concentração letal (CL), isto é, a concentração da amostra na qual uma determinada letalidade é observada (CL_x; x= % de efeito). Por exemplo, a CL₅₀ representa a concentração na qual o efeito letal é esperado em 50% dos organismos-teste. No caso do OD o valor da concentração letal é inversamente proporcional à toxicidade da amostra, isto é, quanto menor o valor, maior é a toxicidade da amostra (KNIE; LOPES, 2004). O valor de CL₅₀ é obtido através dos testes de toxicidade de curta duração, normalmente de 24 a 96h, gerando uma faixa segura da concentração tóxica, sendo utilizada para nortear outros testes com exposição de médio e longo prazo (APHA, 1992).

2. OBJETIVOS DO ESTUDO

2. 1. Objetivo geral

Desenvolver as bases teóricas para o cultivo de piava (*Leporinus obtusidens*), notadamente no tocante às exigências da espécie quanto aos teores de oxigênio dissolvido na água.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar a concentração letal (CL50-96h) de oxigênio dissolvido para juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*).
- Avaliar o desempenho do cultivo dos juvenis de piava submetidos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido.
- Verificar a existência de variações hematológicas e de alterações morfológicas nas brânquias nos juvenis de piava submetidos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido.

3. JUSTIFICATIVA

A piscicultura mundial, que apresenta enorme potencial nas regiões tropicais, enfrenta o grande desafio de utilizar informações de caráter científico sobre as condições ideais para o cultivo de espécies nativas, uma vez que elas muitas vezes não estão disponíveis. Por esta razão, estudos que permitam esclarecer estas condições são de enorme importância para o fortalecimento da atividade.

“Os trabalhos produzidos serão apresentados nos formatos das revistas 1) Aquaculture - Sobrevivência e crescimento de juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*) expostos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido. 2) Journal of the World Aquaculture Society - Adaptações de Juvenis de Piava (*Leporinus obtusidens*) Expostos a Hipóxia.”

4. PRIMEIRO ARTIGO

Sobrevivência e crescimento de juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*) expostos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido

Jhon Edison Jimenez^a e Evoy Zaniboni-Filho^{a,*}

^aUniversidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Aquicultura, Rodovia SC 406, Nº 3532, Lagoa do Peri, Florianópolis, SC, Cep: 88066-000, Brasil.

*Autor para correspondência. Tel./fax: +55 48 3389 5216. E-mail: evoy@lapad.ufsc.br (E. Zaniboni-Filho). Endereço postal: Rodovia SC 406, Nº 3532, Lagoa do Peri, Florianópolis, SC, Cep: 88066-000, Brasil.

Resumo

A dificuldade para manter elevadas concentrações de oxigênio dissolvido na água de cultivo de peixes tropicais, torna ainda mais necessário conhecer os limites de tolerância ao oxigênio de uma espécie potencial para o cultivo. Este estudo visa determinar a concentração letal de oxigênio dissolvido durante 96h de exposição (CL50-96h) e verificar o efeito de diferentes concentrações de oxigênio dissolvido ($1,74 \pm 0,04$ mg L⁻¹, $3,54 \pm 0,06$ mg L⁻¹, $5,34 \pm 0,05$ mg L⁻¹ e $7,34 \pm 0,02$ mg L⁻¹) no crescimento de juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*). A concentração letal média de oxigênio foi de $0,452$ mg L⁻¹. Após 70 dias submetidos a diferentes concentrações de oxigênio, os peixes apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) no crescimento, sendo que os melhores resultados foram observados para valores iguais ou superiores a $5,34$ mg L⁻¹, o que equivale a valores superiores a 70% de saturação de oxigênio.

Palavras-chaves: Anostomidae, CL50, hipóxia

Abstract

The difficulty to keep high oxygen concentration in the water in ponds to cultivate tropical fish, it makes even more necessary to understand the effect of the hypoxia in those fish species. This study aims to determine the lethal concentration of dissolved oxygen during 96h of exposure (LC50-96h) and verify the effect of different oxygen concentrations ($1.74 \pm 0.04 \text{ mg L}^{-1}$, $3.54 \pm 0.06 \text{ mg L}^{-1}$, $5.34 \pm 0.05 \text{ mg L}^{-1}$ and $7.34 \pm 0.02 \text{ mg L}^{-1}$) on the growth of piava juvenile (*Leporinus obtusidens*). The mean lethal concentration of oxygen was 0.452 mg L^{-1} . After 70 days submitted at different oxygen concentration, the fish showed difference ($P < 0.05$) in growth, and the best results were observed for 5.34 mg L^{-1} (70% of DO saturation) or higher oxygen concentration.

Keywords: Anostomidae, LC50, hypoxia

1. Introdução

Leporinus obtusidens (Anostomidae) é uma espécie de peixe migrador de água doce considerado de grande porte, podendo atingir peso superior a 7,5 kg (Taitson et al. 2008), que está distribuída na América do Sul nas bacias dos rios Paraná, São Francisco e Uruguai (Oldani e Oliveros, 1984; Sato et al. 2000; Tablado et al. 1988; Zaniboni-filho e Schulz, 2003). É uma espécie de hábito alimentar onívoro (Hahn et al. 1998) e de grande importância comercial pela qualidade e sabor da sua carne.

A manutenção da concentração de oxigênio dissolvido (OD) em níveis adequados para a espécie cultivada é um dos fatores críticos para o sucesso da produção de peixes (Middleton e Reeder, 2003). Concentrações de oxigênio inferiores a 3 mg L⁻¹ podem ser estressantes para muitas espécies de peixes e, geralmente, são letais abaixo de 1 mg L⁻¹ (Baldisserotto, 2009). Uma exposição prolongada a baixas concentrações de OD pode afetar os processos fisiológicos dos peixes, interferindo na sua alimentação e limitando o seu crescimento (Karim et al. 2002; Wilhelm Filho et al. 2005) e reprodução (Dabrowski et al. 2003). No entanto, algumas espécies de peixes desenvolveram mecanismos e estratégias adaptativas para sobreviver em ambientes de hipóxia, incluindo entre elas modificações comportamentais (Kramer e Mcclure, 1982), morfológicas (Sollid e Nilsson, 2006), fisiológicas (Chabot e Dutil, 1999) e bioquímicas (Almeida-Val et al. 1995; Moraes et al. 2002; Van Ginneken et al. 1996). Não obstante, quando os mecanismos e recursos empregados pelos peixes para se adaptar às condições de hipóxia são insuficientes, a mortalidade é inevitável, já que as baixas concentrações de oxigênio conduzem a uma inibição da atividade enzimática, aumento incontrollado do Ca²⁺ intracelular, formação elevada de radicais livres, como a hidroxila (OH[•]), superóxido (O₂^{•-}) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), dando início a processos degenerativos que causam a morte do indivíduo (Abele e Puntarulo, 2004; Chandel et al. 2000; Farber, 1994; Nilsson, 2001).

Os testes de toxicidade de curta duração, normalmente de 24h a 96h, permitem determinar o tempo e os níveis em que o agente tóxico é potencialmente prejudicial, estabelecendo um vínculo entre o efeito médio e a respectiva concentração usada (APHA, 1992; Knie e Lopes, 2004). O resultado da relação concentração/efeito, em geral, é expresso em concentração letal (CL). A CL50 representa a concentração na qual o efeito letal é esperado em 50% dos organismos-teste. Então, no caso de

oxigênio dissolvido o valor da CL é inversamente proporcional ao efeito letal do oxigênio (Knie e Lopes, 2004).

O objetivo do presente estudo foi determinar a concentração letal de OD durante um período 96h de exposição (LC50-96h) e avaliar o crescimento dos juvenis de piava submetidos a diferentes concentrações de OD.

2. Materiais e métodos

2.1. Peixes

O estudo foi realizado nas instalações do Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD), pertencente ao Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil. Os juvenis de piava foram obtidos a partir da indução hormonal do banco de reprodutores selvagens do LAPAD, capturados na bacia do alto rio Uruguai e mantidos em viveiros.

2.2. Teste da CL50-96h

Foram utilizados indivíduos com peso de $10,04 \pm 1,35$ g (média \pm desvio padrão) e comprimento total de $10,49 \pm 0,48$ cm. Os peixes foram estocados a uma densidade de 15 peixes por tanque de fibra de vidro com um volume útil de 70 L. Os tratamentos testados foram $0,24 \pm 0,02$ mg L⁻¹, $0,39 \pm 0,02$ mg L⁻¹, $0,54 \pm 0,01$ mg L⁻¹ e $0,80 \pm 0,01$ mg L⁻¹ de OD, realizados em triplicata (a determinação dos valores testados foram obtidos a partir de experimentos prévios).

Durante todo o experimento, os peixes permaneceram em jejum em tanques com temperatura controlada (≈ 27 °C) por meio de aquecedores e termostatos digitais, sem renovação de água. Os níveis experimentais de OD foram mantidos através de aeração e/ou injeção de nitrogênio gasoso. Os tanques foram cobertos com plástico disposto sobre a água para evitar as trocas gasosas com a atmosfera. A mortalidade foi registrada a cada quatro horas e os peixes mortos retirados dos tanques. O comportamento dos peixes foi acompanhado visualmente ao longo das 96h de experimentação. A concentração de oxigênio e temperatura da água foram avaliados a cada quatro horas utilizando o equipamento YSI 550A, enquanto o pH e a condutividade foram mensurados a cada oito horas utilizando o dispositivo multiparâmetro YSI 63. A amônia total, nitrito, alcalinidade e dureza foram mensuradas no início e ao final do experimento. A amônia foi

quantificada pelo método do indofenol (Koroleff, 1976), enquanto que os demais seguiram a metodologia descrita por Golterman et al. (1978).

2.3. Teste de Crescimento

O crescimento dos juvenis de piava ($9,22 \pm 1,76$ g e $10,19 \pm 0,64$ cm) foi avaliado em quatro diferentes concentrações de OD ($1,74 \pm 0,04$ mg L⁻¹; $3,54 \pm 0,06$ mg L⁻¹; $5,34 \pm 0,05$ mg L⁻¹ e $7,34 \pm 0,02$ mg L⁻¹), valores equivalentes a 21, 47, 70 e 92% de saturação de oxigênio (tratamentos estabelecidos a partir do valor da CL50, sendo equivalentes a 4, 8, 12, e 16 vezes, respectivamente), conduzidos em triplicata.

Foram estocados a uma densidade de 20 peixes por tanque de fibra de vidro com volume útil de 70 L. Durante 70 dias de experimento a uma temperatura média de 26,44°C, as piavas foram alimentadas duas vezes ao dia (8:00 e 16:00 horas) com ração comercial (42% PB e 3800 kcal/kg de energia digestível) até saciedade aparente. Decorridos 15 minutos após cada alimentação o excedente de ração foi retirado e quantificado, possibilitando estimar o consumo diário aparente. O cultivo foi conduzido com água levemente salinizada com NaCl (1 ppt), dentro de um sistema fechado de recirculação com taxa de renovação de água equivalente a 250% ao dia.

As concentrações de OD foram mantidas através de aeração e/ou incorporação de nitrogênio gasoso. Os parâmetros de qualidade da água, como oxigênio e temperatura, foram avaliados três vezes ao dia (8:00, 12:00 e 16:00 horas) utilizando o equipamento YSI 550A, enquanto que o pH e a condutividade foram avaliados duas vezes ao dia (8:00 e 16:00 horas) utilizando o dispositivo multiparâmetro YSI 63. A amônia total, nitrito, alcalinidade e dureza foram avaliados uma vez por semana utilizando o método colorimétrico (Alpha Tecnoquímica). A sobrevivência foi avaliada ao final de cada dia. O crescimento foi estimado a cada 15 dias através da biometria do peso e comprimento total de todos os exemplares de cada unidade experimental.

2.4. Análises estatística

O valor médio da CL50 foi calculado desde 24 até 96h usando o programa “Probit” desenvolvido pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos de América (EPA, 1984).

As variáveis de desempenho: taxa de crescimento específico (TCE), conversão alimentar aparente (CAA), fator de condição (FC), consumo total de ração (C), biomassa total (BT), crescimento em peso (CP) e em comprimento (CC), foram, submetidos a análises de regressão quadrática ($P < 0,05$), utilizando o pacote estatístico SAS versão 8.0.

3. Resultados

3.1. Teste da CL50-96h

O estudo da concentração letal de OD para juvenis de piava indicou que o valor médio (\pm intervalo de confiança) da CL50-96h foi de $0,45 \pm 0,03 \text{ mg L}^{-1}$. Sem apresentar diferenças significativas no valor da CL50 calculada entre as 24 e as 96h.

Os peixes submetidos a uma concentração de $0,24 \text{ mg L}^{-1}$ de OD não sobreviveram após oito horas de exposição. Aqueles submetidos às concentrações de $0,39$ e $0,54 \text{ mg L}^{-1}$ de OD apresentaram sobrevivência de $22 \pm 3,8$ e $82 \pm 10,2\%$ (média \pm desvio padrão), respectivamente, enquanto os mantidos na concentração de $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ de OD apresentaram 100% de sobrevivência.

Após 24h de exposição, não houve mudanças na sobrevivência para cada tratamento (Figura 1). Os valores de sobrevivência apresentaram uma alta correlação positiva ($r = 0,97$) com os valores da concentração de oxigênio, sugerindo um aumento da sobrevivência com o aumento da concentração de OD desde $0,24$ até $0,8 \text{ mg L}^{-1}$: $y = 224,4x^2 + 425,26x - 94,184$ onde y é o percentual da sobrevivência dos juvenis de piava e x é a concentração de oxigênio (mg L^{-1}).

Os peixes submetidos a concentrações inferiores a $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ permaneciam entorno da fonte de oxigênio sem uma distribuição uniforme na coluna da água, ao mesmo tempo alguns deles apresentavam natação transversal à superfície da água e um movimento opercular acelerado. Por outro lado os indivíduos mantidos em concentrações de $0,8 \text{ mg L}^{-1}$, mostravam natação horizontal e distribuição uniforme em toda a coluna da água.

Os parâmetros de qualidade de água foram semelhantes entre os tratamentos, com valores médios (\pm desvio padrão): temperatura $27,77 \pm 0,93^\circ\text{C}$; pH $6,44 \pm 0,21$; condutividade elétrica $456,36 \pm 12,05 \mu\text{S}$; amônia total $0,64 \pm 0,33 \text{ mg L}^{-1}$; nitrito $0,03 \pm 0,01 \text{ mg L}^{-1}$, dureza $26,35 \pm 5,87 \text{ mg L}^{-1}$ de CaCO_3 e alcalinidade $81,35 \pm 20,43 \text{ mg L}^{-1}$ de CaCO_3 .

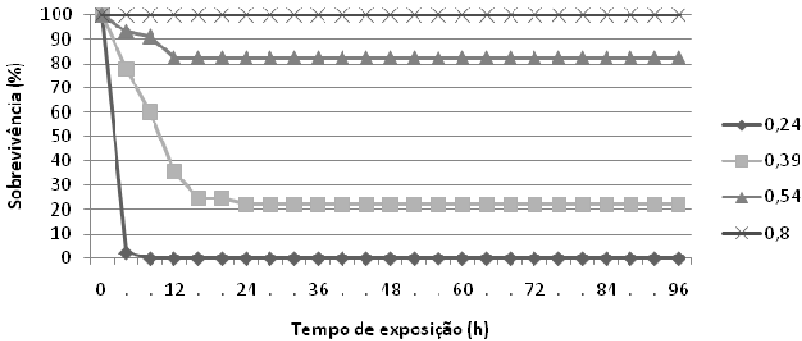


Figura 1. Sobrevivência média dos juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*) submetidos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) ao longo de 96h de exposição.

3.2. Teste de Crescimento

A sobrevivência ao final do experimento de crescimento foi de 100% para todos os tratamentos. Apesar disso, houve um maior desempenho (CP, CC, TCE e BT) nos juvenis de piava quando mantidos a concentrações de oxigênio a partir de $5,34 \text{ mg L}^{-1}$ (70% de saturação de oxigênio)(Figuras 2 e 3). O fator de condição dos peixes não foi influenciado pelas diferentes concentrações de oxigênio testadas, apresentando média de $1,01 \pm 0,04$ ($P > 0,05$), enquanto a CAA apresenta uma relação inversa com o oxigênio, sendo que o maior valor de conversão alimentar foi observado na concentração de $1,74 \text{ mg L}^{-1}$. Finalmente, o consumo de alimento foi maior nos indivíduos mantidos em concentrações a partir de $5,34 \text{ mg L}^{-1}$ de OD (Figura 4 e 5).

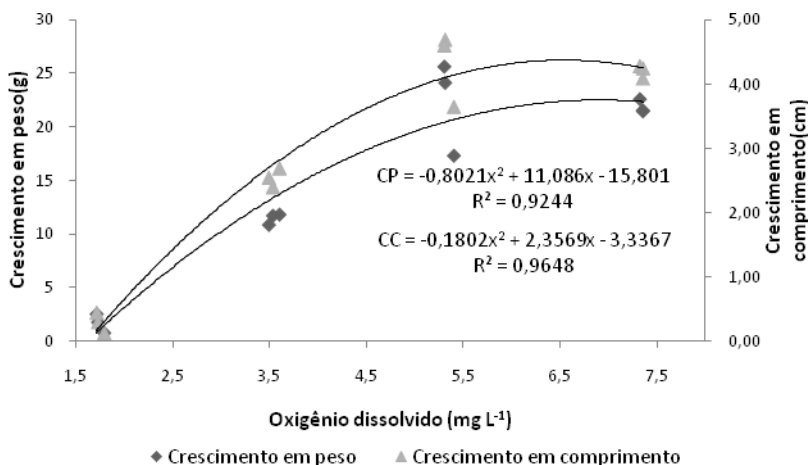


Figura 2. Crescimento em peso (CP) e crescimento em comprimento (CC) ao final do período experimental de 70 dias em juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*) submetidos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido ($P < 0,05$).

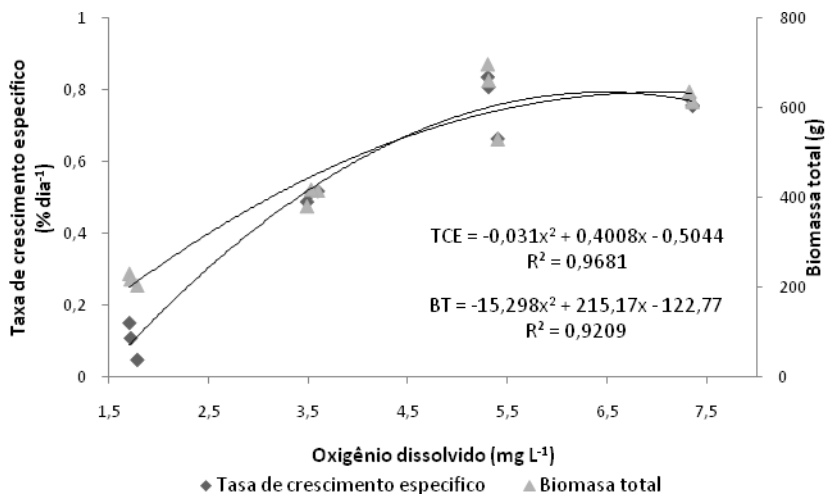


Figura 3. Taxa de crescimento específico (TCE) e biomassa total (BT) ao final do período experimental de 70 dias em juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*) submetidos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido ($P < 0,05$).

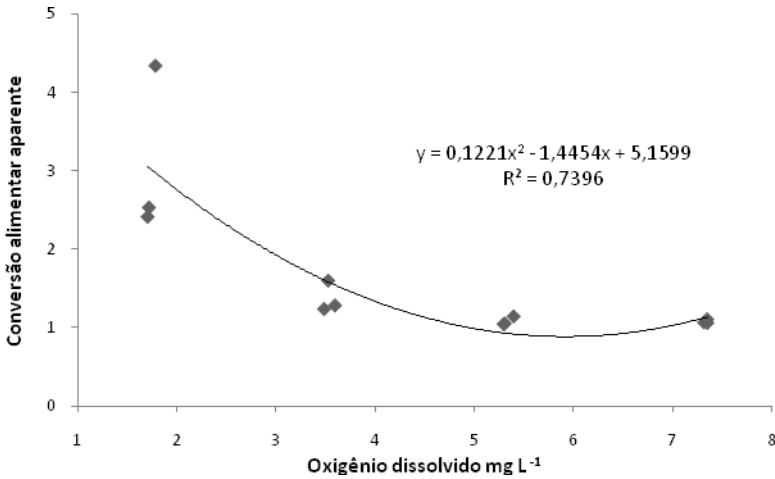


Figura 4. Conversão alimentar aparente (CAA) ao final do período experimental de 70 dias em juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*) submetidos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido ($P < 0,05$).

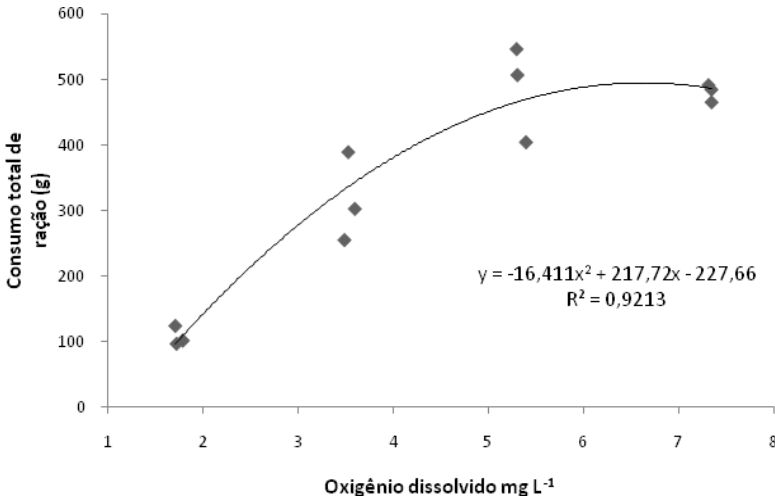


Figura 5. Consumo total de ração (C) ao final do período experimental de 70 dias em juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*) submetidos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido ($P < 0,05$).

Os parâmetros de qualidade de água foram semelhantes em todos os tratamentos ao longo dos 70 dias de cultivo, com os seguintes valores médios (\pm desvio padrão): temperatura - $26,44 \pm 0,30$ °C, pH - $6,47 \pm 0,19$, condutividade elétrica - $1821,17 \pm 89,79$ μ S, amônia total - $0,40 \pm 0,08$ mg L⁻¹, nitrito - $0,44 \pm 0,12$ mg L⁻¹, dureza - $102,67 \pm 2,51$ mg L⁻¹ de CaCO₃ e alcalinidade - $18,49 \pm 1,26$ mg L⁻¹ de CaCO₃.

4. Discussão

A sobrevivência de *Leporinus obtusidens* foi reduzida pela concentração de OD quando os peixes foram mantidos durante 96h em valores de até $0,54$ mg L⁻¹. Não obstante, a concentração de $0,80$ mg L⁻¹ de oxigênio já foi suficiente para proporcionar uma sobrevivência de 100% dos peixes. Essa condição tem sido observada em espécies tolerantes a condições de hipóxia, tais como *Astronotus ocellatus* submetido por 20h a valores de $0,9$ mg L⁻¹ (Muusze et al. 1998) e *Symphysodon aequifasciatus* mantido por 8h a $0,79$ mg L⁻¹ (Chippari-Gomes et al. 2005).

Apesar disso, outras espécies tropicais intolerantes a baixos valores de OD, tais como *Serrasalmus eigenmanni* e o *Metynnis hypsauchen*, apresentam alta taxa de mortalidade ao serem submetidos por 2h a valores entre $1,8$ e $2,7$ mg L⁻¹ de OD (Baldisserotto et al. 2008), ou ainda *Salminus brasiliensis*, que apresenta mortalidade total dos peixes quando submetido a $0,6$ mg L⁻¹ durante 12h de exposição (Gazzola, 2003). Deste modo verificou-se que o *Leporinus obtusidens* é uma espécie que apresenta tolerância a baixas concentrações de OD durante curtos períodos de tempo.

Os valores de LC50 para *L. obtusidens* foram semelhantes quando avaliados entre o período de 24 e 96h de exposição, indicando uma rápida adaptação desta espécie a condições de hipóxia, possivelmente explicada por uma reorganização dos processos metabólicos para maximizar a extração do oxigênio e limitar o consumo de ATP. Alguns destes mecanismos são amplamente documentados em peixes tolerantes a hipóxia, tais como o aumento do hematócrito (Muusze et al. 1998), da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio (Rutjes et al. 2007), da atividade glicolítica e da produção de lactato (Almeida-Val et al. 2000; Richards et al. 2007), e ainda, podem apresentar bradicardia (Baldisserotto, 2009; Wood et al. 2009), redução na atividade natatória (Kramer, 1987) e aumento da ventilação branquial (Xu et al. 2006). Vale ressaltar que o valor de CL50-96h de OD para peixes pode ser

influenciado pela interação com outros fatores, tais como a temperatura, a concentração de amônia, o peso corporal e até mesmo a ploidia dos indivíduos. Exemplos destas interações têm sido reportados para *Diplodus puntazzo* (Cerezo e García, 2004), *Salminus brasiliensis* (Serafini et al. 2009) e *Rhamdia quelen* (Weiss e Zaniboni-Filho, 2010).

O consumo de alimento e o crescimento de *L. obtusidens* foi diretamente proporcional ao aumento da concentração de oxigênio até 5,34 mg L⁻¹, enquanto que a CAA foi inversamente proporcional ao aumento dos níveis de oxigênio até o valor de 5,34 mg L⁻¹. Estas correlações entre a concentração de OD e o desempenho dos peixes mantidos a diferentes concentrações de oxigênio tem sido registrada para outros peixes, tais como *Ictalurus punctatus* (Buentello et al. 2000), *Rhamdia quelen* (Maffezzoli e Nuñez, 2006) e *Leporinus elongatus* (Wilhelm Filho et al. 2005).

A dependência da TCE e da BT em relação à concentração de OD observada para *L. obtusidens*, evidencia a limitação do crescimento causado pelo OD em condições de hipóxia, semelhante ao observado para *Rhamdia quelen* (Braun et al. 2006) e *Oreochromis aureus* (Papoutsoglou e Tziha, 1996). A relação entre a concentração de oxigênio e o crescimento de organismos aquáticos é amplamente discutida por Karna (2003) e Wu (2002).

Quando os juvenis de *L. obtusidens* foram submetidos a hipóxia (< 3,54 mg L⁻¹) apresentaram redução na ingestão de alimento e no crescimento. Além disso, foi observada uma elevação dos valores da CAA, indicando que parte da energia ingerida foi utilizada para outras finalidades distintas do crescimento corporal. Alguns autores têm observado e sugerido a existência de alterações metabólicas para garantir a homeostase do organismo em condições de hipóxia, tais como a síntese de antioxidantes (Whilhen Filho et al. 2005), aumento da glicose sanguínea (Gómez-Manrique et al. 2009), redução da taxa metabólica (Van Ginneken et al. 1996) e da excreção de amônia (Rosso et al. 2006).

5. Conclusão

A CL50-96h para juvenis de *L. obtusidens* foi em média (\pm IC) de 0,45 \pm 0,03 mg L⁻¹ de OD. Quando expostos a hipóxia prolongada, com valores de oxigênio inferior a 3,54 mg L⁻¹, os juvenis apresentam redução no crescimento e no consumo de alimento, além de aumento do valor de conversão alimentar. Adicionalmente, os juvenis de piaiva

apresentam um maior desempenho quando submetidos a concentrações de OD a partir de $5,34 \text{ mg L}^{-1}$.

Agradecimentos

A Tractebel Energia e a FAPESC pelo apoio financeiro ao projeto e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa aos autores. À equipe técnica do LAPAD pelo apoio durante a realização do trabalho.

Referências

- Abele, D., Puntarulo, S., 2004. Formation of reactive species and induction of antioxidant defence systems in polar and temperate marine invertebrates and fish. *Comp. Biol. Physiol.*, A. 138, 405-415.
- Almeida-Val, V.M.F., Farias, I.P., Silva, M.N.P., Duncan, W.P., Val, A.L., 1995. Biochemical adjustments to hypoxia by Amazon cichlids. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 28, 1257-1263.
- Almeida-Val, V.M.F., Val, A.L., Duncan, W.P., Souza, F.C.A., Paula-Silva, M.N., Land, S., 2000. Scaling effects on hypoxia tolerance in the Amazon fish *Astronotus ocellatus* (Perciformes: Cichlidae): contribution of tissue enzyme levels. *Comp. Bioch. Physiol.*, B. 125, 219-226.
- APHA., 1992. Standard Methods for the examination of water and wastewater, 18 ed. American public health association, Washington.
- Baldisserotto, B., 2009. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura, second ed. Editora da UFSM, Santa Maria.
- Baldisserotto, B., Chippari-Gomes, A.R., Lopes, N.P., Bicudo, J.E.P.W., Paula-Silva, M.N., Almeida-Val, V.M.F., Val, A.L., 2008. Ion fluxes and hematological parameters of two teleosts from the Rio Negro, Amazon, exposed to hypoxia. *Braz. J. Biol.* 68(3), 571-575.
- Braun, N., Lima, R.L., Moraes, B., Vieira, V.L.P., Baldisserotto, B., 2006. Survival, growth and biochemical parameters of silver catfish, *Rhamdia quelen*, juveniles exposed to different dissolved oxygen levels. *Aquacul. Res.* 37, 1524-1531.
- Buentello, J.A., Gatlin III, D.M., Neill, W.H., 2000. Effects of water temperature and dissolved oxygen on daily feed consumption, feed utilization and growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture.* 182, 339-352.
- Cerezo, J., García, B.G., 2004. The effects of oxygen levels on oxygen consumption, survival and ventilatory frequency of sharpnose sea bream (*Diplodus puntazzo* Gmelin, 1789) at different conditions of temperature and fish weight. *J. Appl. Ichthyol.* 20, 488-492.

Chabot, D., Dutil, J.D., 1999. Reduced growth of atlantic cod in non-lethal hypoxic conditions. *J. Fish Biol.* 55, 472-491.

Chandel, N.S., McClintock, D.S., Feliciano, C.E., Wood, T.M., Melendez, J.A., Rodriguez, A.M., Schumacker, P.T., 2000. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1 α during hypoxia: a mechanism of O₂ sensing. *J. Biol. Chem.* 275, 25130-25138.

Chippari-Gomes, A.R., Gomes, L.C., Lopes, N.P., Val, A.L., Almeida-Val, V.M.F., 2005. Metabolic adjustments in two Amazonian cichlids exposed to hypoxia and anoxia. *Com. Bioch. Physiol., B.* 141, 347-355.

Dabrowski, K., Rinchar, J., Ottobre, J.S., Alcantara, F., Padilla, P., Ciereszko, A., Jesus, M.J., Kohler, C.C., 2003. Effect of oxygen saturation in water on reproductive performances of pacu *Piaractus brachypomus*. *J. World Aquacult. Soc.* 34(4), 441-449.

Environmental Protection Agency (EPA), 1984. Ambient water quality criteria for ammonia—1984. National Technical Information Service, Springfield.

Farber, J.L., 1994. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Environ. Health Perspect.* 102, 17-24.

Gazzola, A.C., 2003. Efeito da amônia e do oxigênio dissolvido na sobrevivência de alevinos de dourado, *Salminus brasiliensis*. MSc thesis. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Golterman, H., Clymo, R.S., Ohnstad, M.A.M., 1978. Methods for physical and chemical analysis of fresh water. Blackwell Scientific Publications Ltd, Oxford.

Gómez-Manrique, W., Massago, H., Abreu-Santos, D.J., Criscuolo-Urbinati, E., 2009. Respuestas del *Piaractus mesopotamicus* a estímulo de persecución e hipoxia. *Rev. Orinoquia* 13(2), 93-100.

Hahn, N.S., Agostinho, A.A., Gomes, L.C., Bini, L.M., 1998. Estrutura trófica da ictiofauna do reservatório de Itaipu (Paraná-Brasil) nos primeiros anos de sua formação. *Interciência.* 23(5), 299-305.

Karim, Md.R., Sekine, M., Ukita, M., 2002. Simulation of eutrophication and associated occurrence of hypoxic and anoxic condition in coastal bay in Japan. *Mar. Pollut. Bull.* 45, 280-285.

Karna, D.W., 2003. A review of some of the effects of reduced dissolved oxygen on fish and invertebrate resources of ward cove, Alaska. Seattle, WA: Water Restoration Unit, Office of Water, US EPA, region 10.

Knie, J.L., Lopes, E.W., 2004. Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. FATMA/GTZ, Florianópolis.

Koroleff, F., 1976. Determination of ammonia, in: Grasshoff, K. (ed.), *Methods of seawater analysis*. Verlag Chemie, Weinheim, pp. 117-181.

Kramer, D. L., 1987. Dissolved oxygen and fish behavior. *Environ. Biol. Fishes.* 18(2), 81-92.

Kramer, D.L., McClure, M., 1982. Aquatic surface respiration, a widespread adaptation to hypoxia in tropical freshwater fishes. *Environ. Biol. Fishes.* 7(1), 47-55.

Maffezzolli, G., Nuñez, A.P.O., 2006. Crescimento de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae), em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido. *Acta Sci. Biol. Sci. Maringá.* 28(1), 41-45.

Middleton, R.J., Reeder, B.C., 2003 Dissolved oxygen fluctuations in organically and inorganically fertilized walleye (*Stizostedion vitreum*) hatchery ponds. *Aquaculture.* 219, 337-345.

Moraes, G., Avilez, I.M., Altran, A.E., Barbosa, C.C., 2002. Biochemical and hematological responses of the banded knife fish *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) exposed to environmental hypoxia. *Braz. J. Biol.* 62(4A), 633-640.

Muusse, B., Marcon, J., Van den Thillart, G., Almeida-Val, V., 1998. Hypoxia tolerance of Amazon fish respirometry and energy metabolism of the cichlid *Astronotus ocellatus*. *Comp. Bioch. Physiol., A.* 120, 151-156.

Nilsson, G.E., 2001. Surviving Anoxia with the brain turned on. *News Physiol. Sci.* 16, 217-221.

Oldani, N.O., Oliveros, O.B., 1984. Estudios limnológicos en una sección transversal del tramo medio del río Paraná. XII. Dinámica temporal de peces de importancia económica. *Rev. Asoc. Cienc. Nat.* 15(2), 175-183.

Papoutsoglou, S.E., Tziha, G., 1996. Blue tilapia (*Oreochromis aureus*) growth rate in relation to dissolved oxygen concentration under recirculated water conditions. *Aquacult. Eng.* 15(3), 181-192.

Richards, J. G., Wang, Y. S., Brauner, C.J., Gonzalez, R.J., Patrick, M.L., Schulte, P.M., Choppari-Gomes, A.R., Almeida-Val, V.M., Val, A.L., 2007. Metabolic and ionoregulatory responses of the Amazonian cichlid, *Astronotus ocellatus*, to severe hypoxia. *J. Comp. Physiol., B.* 177, 361-374.

Rosso, F.L., Bolner, K.C.S., Baldisserotto, B., 2006. Ion fluxes in silver catfish (*Rhamdia quelen*) juveniles exposed to different dissolved oxygen levels. *Neotrop. Ichthyol.* 4(4), 435-440.

Rutjes, H.A., Weber, N. R.E., Witte, F., Van den Thillart, G.E.E.J.M., 2007. Multiple strategies of Lake Victoria cichlids to cope with lifelong hypoxia include hemoglobin switching. *Am. J. Physiol. Regul. Integra.Comp. Physiol.* 293, R1376-R1383.

Sato, Y., Fenerich-Verani, N., Verani, J.R., Vieira, L.J.S., Godinho, H.P., 2000. Induced reproductive responses of the neotropical anostomid fish *Leporinus elongatus* Val. under captive breeding. *Aquacul. Res.* 31, 189-193.

Serafini, R.L., Zaniboni-Filho, E., Baldisserotto, B., 2009. Effect of combined non-ionized ammonia and dissolved oxygen levels on the survival of juvenile dourado, *Salminus brasiliensis* (Cuvier). *J. World Aquacult. Soc.* 40(5), 695-701.

Sollid, J., Nilsson, G.E., 2006. Plasticity of respiratory structures—Adaptive remodeling of fish gills induced by ambient oxygen and temperature. *Resp. Phys. Neurobiol.* 154, 241-251.

Tablado, A., Oldani, N.O., Ulibarrie, L., Hassan, C.H.P., 1988. Cambios estacionales de la densidad de peces en una laguna del valle aluvial del río Paraná (Argentina). *Rev. Hydrobiol. Trop.* 21(4), 335-348.

Taitson, P.F., Chami, E., Godinho, H.P., 2008. Gene banking of the neotropical fish *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1836): A protocol to freeze its sperm in the field. *Anim. Reprod. Sci.* 105, 283-291.

Van Ginneken, V.J.T., Addink, A.D.F., Van den Thillar, G.E.E.J.M., 1996. Direct calorimetry of aquatic animals: effects of the combination of acidification and hypoxia on the metabolic rate of fish. *Thermochim. Acta.* 276, 7-15.

Weiss, L.A., Zaniboni-Filho, E., 2010. Survival of diploid and triploid *Rhamdia quelen* juveniles under different oxygen concentrations. *J. Appl. Aquacult.* 22, 30-38.

Wilhelm Filho, D., Torres, M.A., Zaniboni-Filho, E., Pedrosa, R.C., 2005. Effect of different oxygen tensions on weight gain, feed conversion, and antioxidant status in piapara, *Leporinus elongatus* (Valenciennes, 1847). *Aquaculture.* 244, 349-357.

Wood, C.M., Iftikar, F.I., Scott, G.R., Boeck, G., Sloman, K.A., Matey, V., Domingos, F.X.V., Duarte, R.M., Almeida-Val, V.M.F., Val, A.L., 2009. Regulation of gill transcellular permeability and renal function during acute hypoxia in the Amazonian oscar (*Astronotus ocellatus*): new angles to the osmorepiratory compromise. *J. Exp. Biol.* 212, 1949-1964.

Wu, R.S.S., 2002. Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses. *Mar. Pollut. Bull.* 45, 35-45.

Xu, J., Liu, Y., Cui, S., Miao, X., 2006. Behavioral responses of tilapia (*Oreochromis niloticus*) to acute fluctuations in dissolved oxygen levels as monitored by computer vision. *Aquacult. Eng.* 35, 207-217.

Zaniboni-Filho, E., Schulz, U.H., 2003. Migratory fishes of the Uruguay river, in: Caraolsfeld, J. Harvey, B., Baer, A., Ross, C. (eds.), *Migratory fishes of south America: biology, social importance and conservation status.* Washington, pp. 157-194.

5. SEGUNDO ARTIGO

Adaptações de Juvenis de Piava (Leporinus obtusidens) Expostos a Hipóxia

Jhon Edison Jimenez e Evoy Zaniboni-Filho *

Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Aquicultura, Rodovia SC 406, Nº 3532, Lagoa do Peri, Florianópolis, SC, Cep: 88066-000, Brasil.

*Autor para correspondência. Tel./fax: +55 48 3389 5216. E-mail: evoy@lapad.ufsc.br (E. Zaniboni-Filho). Endereço postal: Rodovia SC 406, Nº 3532, Lagoa do Peri, Florianópolis, SC, Cep: 88066-000, Brasil.

Resumo

A piava (Leporinus obtusidens) é um peixe migrador sulamericano de água doce considerado de grande porte. São relativamente escassas as informações sobre adaptações hematológicas e/ou morfológicas apresentadas por espécies de peixes tropicais de água doce, quando submetidos a condições sub-letais de oxigênio dissolvido. O objetivo deste trabalho foi verificar a existência de adaptações branquiais e sanguíneas em juvenis de piava submetidas a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido. Para tal, juvenis ($9,22 \pm 1,76$ g e $10,19 \pm 0,64$ cm) foram cultivados durante 70 dias em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido ($1,74 \pm 0,04$ mg/L, $3,54 \pm 0,06$ mg/L, $5,34 \pm 0,05$ mg/L e $7,34 \pm 0,02$ mg/L). Indivíduos submetidos a condições de hipóxia severa ($1,74$ mg/L de O_2) apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) nos parâmetros hematológicos, tais como o aumento do número de eritrócitos e redução no volume corpuscular dessas células. Não foram observadas modificações morfológicas nas brânquias. É possível concluir que juvenis de L. obtusidens apresentam adaptações hematológicas quando submetidos à condição de hipóxia severa.

Abstract

The piava (Leporinus obtusidens) is a South American migratory freshwater fish considered large. There are relatively few information on hematologic and/or morphological adaptations presented by species of tropical freshwater fish, when subjected to conditions of sublethal dissolved oxygen. The aim of this study was to verify the existence of adaptations in the gill and blood in piava juveniles exposed to different concentrations of dissolved oxygen. For that, juveniles (9.22 ± 1.76 g and 10.19 ± 0.64 cm) were cultured for 70 days at different concentrations of dissolved oxygen (1.74 ± 0.04 mg/L, 3.54 ± 0.06 mg/L, 5.34 ± 0.05 mg/L and 7.34 ± 0.02 mg/L). Individuals subjected to conditions of severe hypoxia (1.74 mg/L O_2) showed different ($P < 0.05$) hematological condition, such as increasing the number of erythrocytes and decrease in corpuscular volume of these cells. There were no morphological changes in gill morphology. We conclude that L. obtusidens juvenile have hematological changes when exposed to severe hypoxia condition.

Os parâmetros hematológicos tem sido uma ferramenta útil para compreender algumas das estratégias utilizadas pelos peixes quando enfrentam situações de hipóxia.

Um incremento em variáveis como o hematócrito e o número de eritrócitos (red blood cells - RBC), são algumas das modificações clássicas observadas em peixes submetidos à hipóxia (Valenzuela et al. 2002; Baldisserotto et al. 2008; Baldisserotto 2009). O aumento no número de eritrócitos deve-se ao fato de que a maior parte do oxigênio que é transportado no sangue está ligado a hemoglobina encapsulada no interior destas células (Brauner e Val 2006). Além disso, o baço pode contribuir com o aumento neste número de células promovendo uma rápida resposta a esta condição (Valenzuela et al. 2002). Por outro lado, algumas espécies de peixes tropicais conseguem se adaptar aos locais com baixo teor de oxigênio dissolvido (OD) modificando morfológicamente as brânquias, e assim, com o aumento da área da superfície respiratória pode ocorrer uma maior captação de oxigênio (Chapman e Hulen 2001; Chapman et al. 2002; Crampton et al. 2007; Ong et al. 2007; Chapman et al. 2008).

Leporinus obtusidens (Anostomidae) é um peixe migrador de água doce considerado de grande porte, podendo atingir peso superior a 7,5 kg (Taitson et al. 2008) que está distribuído na América do Sul nas bacias dos rios Paraná, São Francisco e Uruguai (Oldani e Oliveros 1984; Tablado et al. 1988; Sato et al. 2000; Zaniboni-Filho e Schulz 2003). É uma espécie de hábito alimentar onívoro (Hahn et al. 1998) e de grande importância comercial pela qualidade e sabor da sua carne.

A relativa falta de informação sobre a resposta de espécies de água doce sulamericanas a diferentes teores de OD, dificulta o estabelecimento de critérios que permitam indicar níveis adequados para o seu cultivo. Sabidamente, exposições prolongadas a níveis estressantes de OD podem afetar os processos fisiológicos dos peixes, interferindo na alimentação, limitando o crescimento (Karim et al. 2002; Wilhelm Filho et al. 2005) e a reprodução (Dabrowski et al. 2003).

Este trabalho tem o objetivo de avaliar a existência adaptações hematológicas e/ou morfológicas como resposta a diferentes concentrações de OD em juvenis de L. obtusidens.

Materias e Métodos

Manutenção dos peixes

O estudo foi realizado nas instalações do Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD), pertencente ao Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina.

Os juvenis de piava foram obtidos a partir da indução hormonal do banco de reprodutores selvagens do LAPAD/UFSC, capturados na bacia do alto rio Uruguai e mantidos em viveiros. Os juvenis de piava ($9,22 \pm 1,76$ g e $10,19 \pm 0,64$ cm) foram submetidos a quatro diferentes concentrações de OD em triplicata ($1,74 \pm 0,04$ mg/L; $3,54 \pm 0,06$ mg/L; $5,34 \pm 0,05$ mg/L e $7,34 \pm 0,02$ mg/L), valores equivalentes a 21, 47, 70 e 92% de saturação de oxigênio.

Foram estocados a uma densidade de 20 peixes por tanque de fibra de vidro com volume útil de 70 L. Durante 70 dias de experimento a uma temperatura média de $26,44^\circ\text{C}$, as piavas foram alimentadas duas vezes ao dia (8:00 e 16:00 horas) com ração comercial (42% PB e 3800 kcal/kg de energia digestível) até saciedade aparente. A sobrevivência foi avaliada ao final de cada dia. O cultivo foi conduzido com água levemente salinizada com NaCl (1 ppt), dentro de um sistema fechado de recirculação com taxa de renovação de água equivalente a 250% ao dia. Sendo que as concentrações de OD foram mantidos através de aeração e/ou incorporação de nitrogênio gasoso.

Os parâmetros de qualidade da água, OD e temperatura, foram avaliados três vezes ao dia (08:00, 12:00 e 16:00 horas) sendo que para a medição do oxigênio e da temperatura foi utilizado o equipamento YSI modelo 550A (Yellow Springs Instrument Company, OH, USA), enquanto que o pH e a condutividade foram avaliados duas vezes ao dia (08:00 e 16:00 horas) utilizando a sonda multiparâmetro YSI modelo 63 (Yellow Springs Instrument Company, OH, USA). A concentração de amônia total, nitrato, alcalinidade e dureza foram avaliados uma vez por semana utilizando o método colorimétrico (Alpha Tecnoquímica, SC, Brasil).

Análise de sangue, baço e brânquias

Ao final dos 70 dias de cultivo cinco peixes de cada tanque foram aleatoriamente selecionados e anestesiados com eugenol para serem pesados individualmente e posteriormente submetidos a punção caudal

para a coleta de 1 ml de sangue com auxílio de seringas e agulhas com EDTA.

O material coletado foi utilizado para determinar o hematócrito (Ht) através da técnica do microhematócrito, centrifugando o sangue a 2800 rpm durante 5 minutos. Dessa mesma amostra foi realizada a contagem do número de eritrócitos (RBC) em câmara de Neubauer com prévia diluição do sangue em soro fisiológico na proporção 1:100. E posteriormente foi calculado o volume corpuscular médio ($VCM = Ht \times 10/RBC$). Os peixes foram sacrificados para determinação do índice baço-somático ($IBS = \text{peso do baço} \times 100/\text{peso do peixe}$) e coletar o segundo arco branquial esquerdo para medir o comprimento total das lamelas (CL) e a largura das lamelas (LL), sob microscópio de luz, utilizando a metodologia descrita por Ong et al. (2007).

Análise estatística

As variáveis Ht, RBC, VCM e IBS foram submetidas à análise de variância (ANOVA), seguidos do teste de Tukey ($P < 0,05$). As variáveis CL e LL foram submetidas a análises de regressão quadrática ($P < 0,05$). Todas as análises foram feitas com o uso do pacote estatístico SAS versão 8.0 (SAS Institute Inc., NC, USA).

Resultados

A sobrevivência ao final do experimento foi de 100% para todos os tratamentos. Os valores médios do Ht, CL e LL foram semelhantes ($P > 0,05$) entre os peixes mantidos nas diferentes concentrações de OD. Por outro lado, o maior valor de RBC e o menor VCM foi observado nos peixes expostos a hipóxia severa (1,74 mg/L) ($P < 0,05$). Os valores de IBS foram menores nos peixes mantidos em hipóxia severa (1,74 mg/L) quando comparados com aqueles mantidos a 3,54 mg/L de OD, embora semelhante aos valores observados nos peixes mantidos em normóxia (Tabela 1; Fig. 1).

Os parâmetros de qualidade de água foram semelhantes em todos os tratamentos, com valores médios (\pm desvio padrão): temperatura - $26,44 \pm 0,30$ C; pH - $6,47 \pm 0,19$; condutividade elétrica - $1821,17 \pm 89,79$ μ S; amônia total - $0,40 \pm 0,08$ mg/L; nitrito $0,44 \pm 0,12$ mg/L; dureza - $102,67 \pm 2,51$ mg/L de $CaCO_3$ e alcalinidade - $18,49 \pm 1,26$ mg/L de $CaCO_3$.

Tabela 1. Valores médios (\pm desvio padrão) do hematócrito (Ht), número de eritrócitos (RBC), volume corpuscular médio (VCM) e índice baço somático (IBS) em Leporinus obtusidens submetidos por 70 dias a diferentes concentrações de oxigênio.

Oxigênio dissolvido (ng/L) [%]	H (%)	RBC ($10^5/\mu\text{L}$)	VCM (μ^3)	IBS (%)
(1,74 \pm 0,04) [21,50 \pm 1,34]	31,54 \pm 7,33a	6,78 \pm 0,95a	46,11 \pm 4,50b	0,019 \pm 0,001b
(3,54 \pm 0,06) [47,43 \pm 0,67]	31,79 \pm 6,57a	4,87 \pm 0,07b	65,35 \pm 13,75ab	0,027 \pm 0,002a
(5,34 \pm 0,05) [70,35 \pm 0,33]	33,47 \pm 1,88a	4,48 \pm 0,09b	74,68 \pm 4,34a	0,024 \pm 0,002ab
(7,34 \pm 0,02) [91,77 \pm 1,19]	34,99 \pm 3,22a	5,05 \pm 0,17b	69,41 \pm 8,63a	0,023 \pm 0,004ab

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

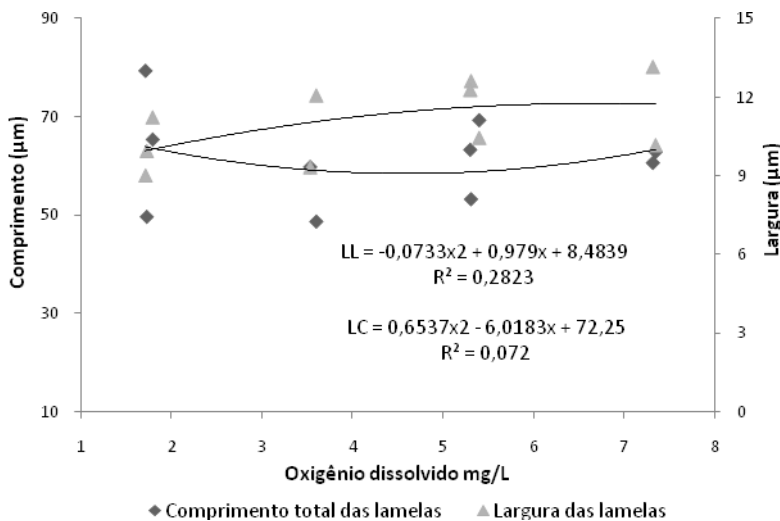


Figura 1. Valores médios do comprimento total (CL) e largura das lamelas branquiais (LL) de juvenis de piava (Leporinus obtusidens) submetidos a diferentes concentrações de OD durante 70 dias ($P > 0,05$).

Discussão

Os juvenis de Leporinus obtusidens apresentam adaptação hematológica a hipóxia ao incrementar o número de eritrócitos (RBC) quando submetidos a baixas concentrações de OD (1,74 mg/L). Essa mesma alteração tem sido observada como resposta a hipóxia de outras espécies de peixes, tais como Astronotus ocellatus (Muusze et al. 1998), Piaractus mesopotamicus (Gómez-Manrique et al. 2009), Astatoreochromis alluaudi e Haplochromis ishmaeli (Rutjes et al. 2007). Valenzuela et al. (2002) evidenciaram ainda uma redução do tamanho do baço associada ao aumento do valor de RBC em Oncorhynchus mykiss. Neste trabalho foi observada uma discreta redução do índice baço-somático dos peixes mantidos em hipóxia severa.

Como resultado do aumento do número de eritrócitos é esperado um aumento do hematócrito ou ainda, uma redução do VCM. Alguns autores sugerem que a redução do volume dos eritrócitos favorece a rápida oxigenação da hemoglobina como resultado do aumento da relação entre a área e o volume do eritrócito, melhorando assim a capacidade de transporte do oxigênio (Wells et al. 2005; Tavares-Dias et al. 2008). Neste trabalho, os juvenis de L. obtusidens mantiveram valores semelhantes de hematócrito quando expostos a distintas concentrações de oxigênio. No entanto, mostraram redução do VCM como consequência da variação da concentração de OD.

Algumas espécies de peixes apresentam uma remodelação morfológica das brânquias como resposta a hipóxia, tais como Gymnocypris przewalskii que mostra um alongamento gradual das lamelas quando submetido a valores de 0,3 mg/L de OD durante 24h (Matey et al. 2008) e Pseudocrenilabrus multicolor victoriae que apresentou um maior comprimento médio do filamento branquial quando mantido pelo período mínimo de um ano em concentração de 1,3 mg/L de OD (Chapman et al. 2008).

Os juvenis de L. obtusidens não apresentaram alterações morfológicas em decorrência da redução dos valores de oxigênio a que foram submetidos. Nesse caso, é possível que o tempo de exposição à hipóxia e mesmo a sua intensidade utilizada neste trabalho não tenham sido suficientes para que a espécie manifestasse essa resposta adaptativa.

Por outro lado, de acordo com Nilsson (2007), os mecanismos de apoptose e mitoses envolvidos na remodelação morfológica das brânquias representam um alto custo energético.

Portanto esta opção tenderia a ser pouco utilizada por espécies que enfrentam condições de hipóxia por curtos períodos de tempo. Da mesma forma, o aumento da área da superfície respiratória, que permite uma maior captação do oxigênio, também incrementaria o fluxo de íons e de água através das brânquias, com um custo adicional para a osmorregulação dos animais, tornando os peixes mais vulneráveis a patógenos e a substâncias tóxicas (Sollid e Nilsson 2006).

Conclusão

Juvenis de *L. obtusidens* apresentaram adaptação hematológica a hipóxia, com aumento do número e redução do volume dos eritrócitos quando mantidos em concentração de oxigênio de 1,74 mg/L. Quando estocados em água com concentrações de oxigênio iguais ou superiores a 3,54 mg/L não manifestaram alterações, sugerindo uma condição de conforto.

Agradecimentos

A Tractebel Energia e a FAPESC pelo apoio financeiro ao projeto e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa aos autores. À equipe técnica do LAPAD pelo apoio durante a realização do trabalho.

Referências

- Baldisserotto, B., 2009. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura, second ed. Editora da UFSM, Santa Maria.
- Baldisserotto, B., A.R. Chippari-Gomes, N.P. Lopes, J.E.P.W. Bicudo, M.N. Paula-Silva, V.M.F. Almeida-Val, and A.L. Val. 2008. Ion fluxes and hematological parameters of two teleosts from the Rio Negro, Amazon, exposed to hypoxia. *Brazilian Journal of Biology* 68(3):571-575.
- Brauner, C.L. and A.L. Val. 2006. Oxygen transfer. Pages 277-306 in A.L. Val, V.M.F. Almeida-Val, and D.J. Randall, Editors. *The physiology of tropical fishes*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands.
- Chapman, L.J. and K.G. Hulen. 2001. Implications of hypoxia for the brain size and gill morphometry of mormyrid fishes. *Journal of Zoology, London* 254:461-72.
- Chapman, L., J. Albert, and F. Galis. 2008. Developmental plasticity, genetic differentiation, and hypoxia-induced trade-offs in an African cichlid fish. *The Open Evolution Journal* 2:75-88.
- Chapman, L.J., C.A. Chapman, F.G. Nordlie, and A.E. Rosenberger. 2002. Physiological refugia: swamps, hypoxia tolerance and maintenance of fish diversity in the Lake Victoria region. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 133:421-437.
- Crampton, W.G.R., L.J. Chapman, and J. Bell. 2007. Interspecific variation in gill size is correlated to ambient dissolved oxygen in the Amazonian electric fish Brachyhypopomus (Gymnotiformes: Hypopomidae). *Environmental Biology of Fish* 83:223-235.
- Dabrowski, K., J. Rinchar, J.S. Ottobre, F. Alcantara, P. Padilla, A. Ciereszko, M.J. Jesus, and C.C. Kohler. 2003. Effect of oxygen saturation in water on reproductive performances of pacu Piaractus brachypomus. *Journal of the World Aquaculture Society* 34(4):441-449.

- Gómez-Manrique, W., H. Massago, D.J. Abreu santos, and E. Criscuolo-Urbinati. 2009. Respuestas del Piaractus mesopotamicus a estímulo de persecución e hipoxia. *Revista Orinoquia* 13(2):93-100.
- Hahn, N.S., A.A. Agostinho, L.C. Gomes, and L.M. Bini. 1998. Estrutura trófica da ictiofauna do reservatório de Itaipu (Paraná-Brasil) nos primeiros anos de sua formação. *Interciência* 23(5):299-305.
- Karim, Md.R., M. Sekine, and M. Ukita. 2002. Simulation of eutrophication and associated occurrence of hypoxic and anoxic condition in coastal bay in Japan. *Marine Pollution Bulletin*. 45:280-285.
- Matey, V., J.G. Richards, Y. Wang, C.M. Wood, J. Rogers, R.Davies, B.W. Murray, X.-Q. Chen, J. Du, and C.J. Brauner. 2008. The effect of hypoxia on gill morphology and ionoregulatory status in the Lake Qinghai scaleless carp, Gymnocypris przewalskii. *The Journal of Experimental Biology* 211:1063-1074.
- Muusze, B., J. Marcon, G. Van den Thillart, and V. Almeida-Val. 1998. Hypoxia tolerance of Amazon fish respirometry and energy metabolism of the cichlid Astronotus Ocellatus. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 120:151-156.
- Nilsson, G.E. 2007. Gill remodeling in fish – a new fashion or an ancient secret?. *The Journal of Experimental Biology* 210:2403-2409.
- Oldani, N.O. and O.B. Oliveros. 1984. Estudios limnológicos en una sección transversal del tramo medio del río Paraná. *Revista de la Asociación de Ciencias Naturales* 15(2):175-183.
- Ong, K.J., E.D. Stevens, and P.A. Wright. 2007. Gill morphology of the mangrove killifish (Kryptolebias marmoratus) is plastic and changes in response to terrestrial air exposure. *The Journal of Experimental Biology* 210:1109-1115.

Rutjes, H.A., N. R.E. Weber, F. Witte, and G.E.E.J.M. Van den Thillart. 2007. Multiple strategies of Lake Victoria cichlids to cope with lifelong hypoxia include hemoglobin switching. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 293:R1376-R1383.

Sato, Y., N. Fenerich-Verani, J.R. Verani, L.J.S. Vieira, and H.P. Godinho. 2000. Induced reproductive responses of the neotropical anostomid fish Leporinus elongatus Val. under captive breeding. *Aquaculture Research* 31:189-193.

Sollid, J. and G.E. Nilsson. 2006. Plasticity of respiratory structures—Adaptive remodeling of fish gills induced by ambient oxygen and temperature. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 154:241-251.

Tablado, A., N.O. Oldani, L. Ulibarrie, and C.H.P. Hassan. 1988. Cambios estacionales de la densidad de peces en una laguna del valle aluvial del río Paraná (Argentina). *Reviu de Hydrobiologie Tropicale* 21(4):335-348.

Taitson, P.F., E. Chami, and H.P. Godinho. 2008. Gene banking of the neotropical fish Leporinus obtusidens (Valenciennes, 1836): A protocol to freeze its sperm in the field. *Animal Reproduction Science* 105:283-291.

Tavares-Dias, M., F.R. Moraes, and M.E. Imoto. 2008. Hematological parameters in two neotropical freshwater teleost, Leporinus macrocephalus (Anostomidae) and Prochilodus lineatus (Prochilodontidae). *Bioscience Journal, Uberlândia* 24(3):96-101.

Valenzuela, A., K. Alveal, and E. Tarifeño. 2002. Respuestas hematológicas de truchas (Oncorhynchus mykiss walbaum 1792) a estres hipoxico agudo: serie roja. *Gayana (Concepción)* 66(2):255-261.

Wells, R.M.G., J. Baldwin, R.S. Seymour, K. Christian, and T. Brittain. 2005. Red blood cell function and haematology in two tropical freshwater fishes from Australia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 141:87-93.

Wilhelm Filho, D., M.A. Torres, E. Zaniboni-Filho, and R.C. Pedrosa. 2005. Effect of different oxygen tensions on weight gain, feed conversion, and antioxidant status in piapara, Leporinus elongatus (Valenciennes, 1847). *Aquaculture* 244:349-357.

Zaniboni-Filho, E. and U.H. Schulz. 2003. Migratory fishes of the Uruguay river. Pages 157-194 in J. Caraolsfeld, B. Harvey, A. Baer, and C. Ross, editors. *Migratory fishes of south America: biology, social importance and conservation status*. Washington, USA.

6. CONCLUSÃO GERAL

A CL50-96h para juvenis de *L. obtusidens* foi em média (\pm IC) de $0,45 \pm 0,03$ mg L⁻¹ de OD. Quando expostos a hipóxia prolongada, com valores de oxigênio inferiores a 3,54 mg L⁻¹, os juvenis de piava apresentam redução no crescimento e no consumo de alimento e aumento no valor da conversão alimentar. Além disso, os juvenis de piava apresentam um maior desempenho quando submetidos a concentrações de OD a partir de 5,34 mg L⁻¹.

Juvenis de *L. obtusidens* apresentaram adaptações hematológicas a hipóxia, com aumento do número e redução do volume de eritrócitos quando mantidos em concentração de 1,74 mg L⁻¹ de oxigênio. Estocados em água com valores iguais ou superiores a 3,54 mg L⁻¹ de oxigênio não manifestaram alterações, sugerindo uma condição de conforto.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

ALMEIDA-VAL, V. M. F.; FARIAS, I. P.; SILVA, M. N. P.; DUNCAN, W. P.; VAL, A. L. Biochemical adjustments to hypoxia by Amazon cichlids. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 28, p. 1257-1263, 1995.

APHA. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. 18 ed. Washington: American public health association, 1992.

ARANA, L. V. **Princípios químicos de qualidade de água em aquicultura: Uma revisão para peixes e camarões**. Florianópolis: UFSC, 1997. 166 p.

ARAYA, P. R.; AGOSTINHO, A. A.; BECHARA, J. A. The influence of dam construction on a population of *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1847) (Pisces, Anostomidae) in the Yacyretá Reservoir (Argentina). **Fisheries Research**, v. 74, p. 198-209, 2005.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 2.ed. Santa Maria:UFSM, 2009. 352 p.

BOSCARDIN, N. R. **A produção aquícola brasileira**. In: Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer. Brasília: Ostrensky, A; Borghetti, J.S.; Soto, D., 2008. 276 p.

BOYD, C. E. **Water quality in ponds for aquaculture**. Thailand. Shrimp Mart co.Ltd, 1996. 482 p.

CÉSAR, A.; SILVA, S. L. R.; SANTOS, A. R. **Testes de toxicidade aquática no controle da poluição**. São Paulo: Universidade Santa Cecília, 1997.

COCHE, A. G.; MUIR, J. F.; LAUGHLIN, T. **Simple methods for aquaculture: management for freshwater fish culture ponds and water practices**. Roma: FAO Training Series, 1996. 235 p.

CHABOT, D.; DUTIL, J. D. Reduced growth of atlantic cod in non-lethal hypoxic conditions. **Journal of Fish Biology**, v. 55, p. 472-491, 1999.

DABROWSKI, K.; RINCHARD, J.; OTTOBRE, J. S.; ALCANTARA, F.; PADILLA, P.; CIERESZKO, A.; JESUS, M. J.; KOHLER, C.C. Effect of oxygen saturation in water on reproductive performances of pacu *Piaractus brachyomus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 34, n. 4, p. 441-449, 2003.

ESTEVEES, F. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro, Brasil: Interciência-FINEP, 1988. 575 p.

FAO. Fisheries Topics: Research. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura (SOFIA)**. Roma. 2008. Disponível em.<
<http://www.fao.org/fishery/sofia/es>>. Acesso em: 9 outubro 2010.

HAHN, N. S.; AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; BINI, L. M. Estrutura trófica da ictiofauna do reservatório de Itaipu (Paraná-Brasil) nos primeiros anos de sua formação. **Interciência**, v. 23, p. 299-305, 1998.

JÚNIOR, W. D.; MOURGUÉS-SCHURTER, L. R. Comportamento alimentar, determinação do horário de fornecimento e do tempo de disponibilidade da ração para *leporinus obtusidens* valenciennes, 1847 (osteichthyes, characiformes, anostomidae) (piauí). **Ciência e Agrotecnologia Lavras**, v. 25, n. 5, p. 1043-1050, 2001.

KARIM, M. D. R.; SEKINE, M.; UKITA, M. Simulation of eutrophication and associated occurrence of hypoxic and anoxic condition in coastal bay in Japan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 45, p. 280-285, 2002.

KNIE, J. L.; LOPES, E. W. **Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis: Fatma/GTZ, 2004. 289 p.

KRAMER, D. L.; MCCLURE, M. Aquatic surface respiration, a widespread adaptation to hypoxia in tropical freshwater fishes. **Environmental Biology of Fish**, v. 7, n. 1, p. 47-55, 1982.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1995. 839 p.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA (Brasil). Boletim estatístico da pesca e aquicultura Brasil 2008-2009. Disponível em: MPA, <<http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/dados/2010/Docs/Caderno%20Consolidação%20dos%20dados%20estatísticos%20final%20curvas%20-%20completo.pdf>>. Acesso em: 16 Jan. 2011.

MORAES, G., AVILEZ, I. M.; ALTRAN, A. E; BARBOSA, C. C. Biochemical and hematological responses of the banded knife fish *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) exposed to environmental hypoxia. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4A, p.633-640, 2002.

OLDANI, N.O.; OLIVEROS, O. B. Estudios limnológicos en una sección transversal del tramo medio del río Parana. **Revista de la Asociación de Ciencias Naturales**, v. 2, n. 15, p. 175-183, 1984.

OLSZEWER, E. **Radicais livres em medicina**. São Paulo: Byk, 1995. 204 p.

RADÜNZ, N. J.; LAZZARI R.; PARAUIP, P. F.; ALINE, V. C.; TAFFAREL, B. G.; CORRÊIA, V.; EUGÊNIO, S. F. Alimentação da piava (*Leporinus obtusidens*) com diferentes fontes protéicas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1611-1616, 2006.

REYNALTE-TATAJE, D.; ZANIBONI-FILHO, E. Cultivo de piapara, piauçu, piava e piau- gênero *Leporinus*. In: Baldisserotto, B.; Carvalho-Gomes, L. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2.ed. Santa Maria:UFSM, 2010. p.73-92.

SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J. R.; VIEIRA, L. J. S.; GODINHO H. P. Induced reproductive responses of the neotropical anostomid fish *Leporinus elongatus* Val. Under captive breeding. **Aquaculture Research**, v. 31, p. 189-193, 2000.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aquicultura**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, Boletim técnico N°1, 1995. 72 p.

SOLLID, J.; NILSSON, G. E. Plasticity of respiratory structures— Adaptive remodeling of fish gills induced by ambient oxygen and temperature. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 154, p. 241-251, 2006.

TABLADO, A.; OLDANI, N. O.; ULIBARRIE, L.; PIGNALBERI DE HASSAN, C. Cambios estacionales de la densidad de peces en una laguna del valle aluvial del río Paraná (Argentina). **Revista Hydrobiología Tropical**, v. 21, n. 4, p. 335-348, 1988.

TAITSON, P. F.; CHAMI, E.; GODINHO, H. P. Gene banking of the neotropical fish *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1836): A protocol to freeze its sperm in the field. **Animal Reproduction Science**, v. 105, p. 283-291, 2008.

VAN GINNEKEN, V. J. T.; ADDINK, A. D. F.; VAN DEN THILLAR, G. E. E. J. M. Direct calorimetry of aquatic animals: effects of the combination of acidification and hypoxia on the metabolic rate of fish. **Thermochimica Acta**, v. 276, p. 7-15, 1996.

WILHELM FILHO, D.; TORRES, M. A.; ZANIBONI-FILHO, E.; PEDROSA, R. C. Effect of different oxygen tensions on weight gain, feed conversion, and antioxidant status in piapara, *Leporinus elongatus* (Valenciennes, 1847). **Aquaculture**, v. 244, p. 349-357, 2005.

ZANIBONI-FILHO, E. Valorização das espécies nativas. Esforços para o desenvolvimento de pacote tecnológico. In: XII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA. 2002. Goiania. **Anais...** Associação brasileira de Aquicultura; ed. Elisabeth Urbinati & Jose Eurico Possebon Cyrino. 2002.

ZANIBONI-FILHO, E.; SCHULZ, U. H. Migratory fishes of the uruguay river. In: caraolsfeld, J.; Harvey, B.; Baer, A.; Ross, C. **Migratory fishes of south America: biology, social importance and conservation status**. Washington, 2003. p.157-194.