

Velocidade crítica de natação (Ucrit) de matrinxã (*Brycon amazonicus*) após exposição à hipoxia

Marcio Soares FERREIRA¹, Alzira Miranda de OLIVEIRA², Adalberto Luis VAL³

RESUMO

A primeira resposta ao estresse é a fuga, que depende do desempenho natatório e de ajustes fisiológicos. Este estudo investigou a velocidade crítica de natação (Ucrit) de matrinxã após exposição à hipoxia. Para isso, os peixes foram expostos à hipoxia, sendo uma parte do grupo analisada antes e outra após natação forçada, por meio da Ucrit. A hipoxia resultou no aumento de lactato, glicose, cortisol e hematócrito. Mudanças nos níveis de sódio e potássio, bem como os valores de Ucrit não foram observadas. Sugere-se que o matrinxã seja sensível à hipoxia, mas os ajustes fisiológicos são suficientes para manter seu desempenho natatório.

PALAVRAS-CHAVES: *Brycon amazonicus*, Amazônia, desempenho natatório, hipoxia

Critical swimming speed of matrinxã (*Brycon amazonicus*) exposed to hypoxia

ABSTRACT

Escape is the first response of fish to stress, that depends on the swimming performance and the physiological adjustments. This study has investigated the critical swimming speed (Ucrit) of matrinxã after exposure to hypoxia. To achieve that, the fishes were exposed to hypoxia and analyzed before and after forced swimming, using Ucrit. The hypoxia caused an increase of lactate, glucose, cortisol and hematocrit. No changes of plasma sodium and potassium levels, as well as the Ucrit, were observed. We suggest that matrinxã is sensitive to hypoxia, but the physiological adjustments are sufficient to keep its swimming performance.

KEY-WORDS: *Brycon amazonicus*, Amazon, swimming performance, hypoxia

¹ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, E-mail: marciosferreira@yahoo.com.br

² Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, E-mail: alzira@inpa.gov.br

³ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, E-mail: dalval@inpa.gov.br

INTRODUÇÃO

A bacia Amazônica é caracterizada por pulsos periódicos de inundação nos quais extensas áreas de terra são alagadas. Nesses locais ocorrem profundas variações na quantidade de oxigênio dissolvido na água ao longo do mesmo dia, resultante das altas temperaturas e da respiração da abundante vegetação aquática (Goulding, 1980). A resposta adaptativa mais comum dos peixes para lidar com a falta de oxigênio é a fuga e a maioria das espécies que respiram na água é capaz de detectar ou mesmo antecipar quedas significativas na disponibilidade desse gás (Val *et al.*, 1998). No entanto, quando as chances de fuga são limitadas, muitas espécies são capazes de ajustar seu metabolismo ou sua morfologia para lidar melhor com a situação a espera de condições mais favoráveis. É o caso do tambaqui (*Colossoma macropomum*) e do matrinxã (*B. amazonicus*), que expandem o lábio inferior para respirar na superfície da água, ajustam parâmetros respiratórios e eritrocitários, entre outros (Val, 1995, 1996; Val *et al.*, 1998). Apesar dessas duas espécies apresentarem algumas características parecidas de ajustes a hipoxia, elas são visivelmente diferentes em relação ao seu comportamento. Ferreira (2006) verificou que o tambaqui é capaz de ajustar seu metabolismo a hipoxia sem apresentar qualquer indício hematológico de estresse, mas perde completamente sua capacidade natatória, como verificada pela queda da velocidade crítica de natação (Ucrit). Neste estudo analisamos o efeito da hipoxia sobre a hematologia do matrinxã, bem como seu efeito sobre o desempenho natatório (Ucrit) dessa espécie de peixe da Amazônia.

MATERIAL E MÉTODOS

Os matrinxãs juvenis foram adquiridos de piscicultores da região e receberam alimentação por 30 dias que consistiu de ração comercial granulada (Nutripeixe), composta de 36% de proteína bruta, 7% de fibra, 4% de extrato etéreo, 13% de umidade, 14% de matéria mineral, 2,5% de cálcio e 0,6% de fósforo. Os animais mediam 13,93±0,53cm (comprimento padrão) e pesavam 51,87±9,31g.

Foram utilizadas 24 câmaras com capacidade individual de dois litros, aleatoriamente distribuídas, as quais acomodaram apenas um peixe cada. Doze delas pertenciam ao grupo controle e as outras doze, ao grupo experimental. As características físico-químicas da água usadas como controle eram as seguintes: 34±1 µmol de sódio; 28±1 µmol de cloreto; 11,5±0,9 µmol de cálcio; 0,8±0,1 µmol de magnésio; 15,5±0,4 µmol de potássio; 130±19 mmHg de pressão parcial de oxigênio; pH = 6,32±0,04 e temperatura de 28±1°C. A aeração das doze câmaras do grupo experimental foi desligada para que os níveis de oxigênio caíssem para aproximadamente 18 mmHg, nível mínimo conseguido com esse protocolo. Depois disso, os peixes foram mantidos nas condições controle

e experimental por 12 horas, quando seis indivíduos de cada grupo tiveram o sangue retirado para análise. Os outros seis indivíduos de cada grupo foram submetidos ao teste de Ucrit antes de terem o sangue analisado. O mesmo protocolo foi usado para avaliar novos peixes, nos mesmos aquários, nos períodos de 24, 48 e 96 horas. Por fim, a recuperação dos peixes também foi avaliada expondo novos animais a hipoxia por 96 horas e permitindo que se recuperassem em água controle por mais 96 horas. Para isso, a aeração foi novamente ligada, e a quantidade de oxigênio mantida em aproximadamente 130 mmHg. Houve troca parcial de 60% da água das câmaras a cada 12 horas, usando-se água previamente desoxigenada por meio de injeção de nitrogênio gasoso, no caso do grupo experimental, com vistas a manter a mesma tensão de oxigênio (18 mmHg).

Para a realização das análises sanguíneas, os peixes foram anestesiados com 3-Aminobenzoic Ethyl Ester (5mg/L) e o sangue coletado da veia caudal usando seringas heparinizadas. Foram analisados os seguintes parâmetros regularmente influenciados por agentes estressores: cortisol, por meio de enzima-imuno ensaio com kit DRG (Alemanha) e leitura em equipamento ELISA (Biotrak); glicose e lactato, com kits de ensaio enzimático colorimétrico (Glucox 500 - Doles e Lactate kit - Sigma); sódio e potássio plasmáticos, por meio de espectrofotometria de absorção atômica (Analyst 800 - Perkin Elmer, Massachusetts, USA); hematócrito (Ht), por meio da técnica de micro-hematócrito e leitura em cartão padronizado; concentração de hemoglobina [Hb], usando o método da cianometahemoglobina e leitura em espectrofotômetro (Kampen e Zijlstra, 1964); contagem de células vermelhas do sangue em câmara de Neubauer; e constantes corpusculares (VCM - volume corpuscular médio; HCM - hemoglobina corpuscular média; CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média), determinadas de acordo com Brown (1993).

Para determinar a Ucrit foi usado um túnel de natação aberto contendo água pura, referida como controle, e saturada de oxigênio. Seis peixes do grupo controle e seis dos grupos experimentais, marcados na nadadeira caudal com linha colorida, foram transferidos para o túnel, onde permaneceram por duas horas nadando a uma velocidade de 10 cm por segundo para se aclimatarem. Neste ponto, o teste foi iniciado e a velocidade da água aumentada em 10 cm/segundo a cada 30 minutos, até que todos os indivíduos estivessem fadigados. Os animais foram considerados fadigados quando permaneciam encostados na grade posterior do túnel, mesmo após três estímulos elétricos de 24 Volts AC. A Ucrit, primeiramente descrita por Brett em 1964, é calculada como:

$$Ucrit = U_i + (T_i / T_{ii} \times U_{ii}), \text{ onde}$$

U_{ii} é o incremento de velocidade (cm/sec), U_i é a penúltima velocidade na qual o peixe nadou antes de fadigar,

Ti é o tempo decorrido entre o último aumento de velocidade e a fadiga (minutos), e Tii é o tempo entre os incrementos de velocidade (minutos). A Ucrit foi padronizada dividindo seu valor pelo comprimento padrão do peixe.

Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (SEM). A significância estatística das diferenças entre as médias de cada tempo foi estimada por meio da análise de variância (ANOVA) de um fator, assumindo um nível de significância de 5%. O teste de Tukey foi usado para contraste entre as médias. Nos casos de violação das premissas para aplicação da ANOVA de um fator, foram aplicadas ANOVA em ranks e o teste de Student-Newman-Keuls para contraste entre as médias. Para a Ucrit, utilizou-se o teste t.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 e a figura 1 mostram os dados dos parâmetros analisados para os exemplares de matrinxã e os valores probabilísticos de P e F, assim como os contrastes entre as médias. Nos casos em que foi necessário o uso da ANOVA em ranks, apenas o valor de P foi determinado. Os dados revelaram que os níveis de hipoxia aplicados não causaram alterações nos parâmetros Hb, RBC, VCM, HCM, CHCM, sódio e potássio plasmáticos, em todos os períodos avaliados, exceto para os níveis de potássio, os quais aumentaram significativamente em 96h de hipoxia (Tabela 1). No entanto, houve aumento do Ht e lactato em 24 (p=0,001 e f=7,72; p=0,002 e f=7,05, respectivamente) e 48 horas de hipoxia (p=0,001; p<0,001 e f=30,91) e da glicose e cortisol em 12 (p<0,001; p<0,001 e f=57,2), 24 (p=0,008 e f=5,29; p<0,001) e 48 horas (p=0,047; p=0,002; Tabela 1 e Figura 1, respectivamente).

O cortisol e a glicose são comumente relatados como indicadores de estresse (Barton *et al.*, 2002). O cortisol tem funções relacionadas aos processos de troca iônica (McDonald e Milligan, 1997), além de estar ligado à mobilização de glicogênio do fígado, aminoácido, glicerol ou até mesmo lactato para a produção de glicose, permitindo uma fonte contínua de substrato para a oxidação em nível muscular durante o estresse (Vijayan *et al.*, 1997; De Boeck *et al.*, 2001).

Neste estudo não foram observadas alterações nas concentrações plasmáticas dos íons sódio e potássio causadas pela hipoxia (Tabela 1), o que pode sugerir que a liberação de cortisol pode estar relacionada apenas com a produção de glicose a partir do lactato acumulado no plasma (Figura 1). Entretanto, chama atenção o fato de que os níveis de lactato (Figura 1) e as demais alterações hematológicas observadas nos animais estudados (Tabela 1) não foram suficientes para causar qualquer distúrbio no teste subsequente de Ucrit (Figura 1).

A velocidade crítica de natação é uma medida da capacidade aeróbica do animal, mas com participação do metabolismo anaeróbico, principalmente nos momentos próximos à fadiga (Hammer, 1995; Richards *et al.*, 2002; Peak e Farrel, 2004). Burgetz *et al.* (1998), estudando a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), verificaram que a produção máxima e o consequente acúmulo de lactato no músculo se dava sempre próximo à fadiga dos peixes. Ferreira (2006), estudando a Ucrit de tambaqui após hipoxia, verificou que o acúmulo de lactato está relacionado à diminuição subsequente da Ucrit, visto que nenhum outro parâmetro sanguíneo havia sido alterado, nem mesmo o cortisol e a glicose. Os exemplares de tambaqui daquele trabalho poderiam ter recorrido a ajuste da proporção das isoenzimas da lactato desidrogenase ou supressão metabólica, conforme verificado em outros estudos com tambaqui sob hipoxia (Val, 1995, 1996; Val *et al.*, 1998). Estes ajustes poderiam comprometer a capacidade natatória dos animais em detrimento de uma maior resistência a hipoxia. Em contraste, os matrinxãs do presente estudo não tiveram a Ucrit afetada pelos níveis altos de lactato já no início do teste (Figura 1), o que indicaria que eles são mais resistentes aos efeitos desse metabólito, talvez pelo fato de serem peixes de hábitos migratórios (Santos *et al.*, 2006).

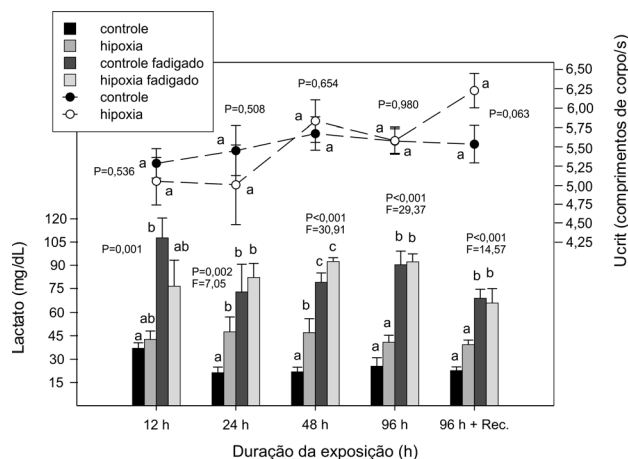


Figura 1 - Velocidade crítica de natação (Ucrit) e lactato plasmático de exemplares de matrinxã após exposição à hipoxia (±18 mmHg) e após teste de Ucrit. Resultados expressos como média ± erro padrão da média (n=6). O contraste entre as médias foi feito apenas dentro de um mesmo período de tempo, sendo que pontos com letras diferentes denotam diferença significativa (P<0,05).

É importante observar também que o estresse natatório, por si só, é conhecido por causar vários distúrbios fisiológicos em peixes. A elevação do cortisol, por exemplo, parece ocorrer para ajudar na re-síntese de glicogênio após o exercício (Kieffer, 2000). Os exemplares de matrinxã do presente estudo também apresentaram elevação da glicose

e do cortisol após o teste de Ucrit, além do aumento do hematócrito, em todos os períodos de tempo, da concentração de hemoglobina em 12 e 96 horas, do VCM em 24 horas, e do potássio plasmático em 24 e 96 horas e na recuperação, em comparação ao grupo controle, não fadigado (Tabela 1). No estudo realizado com tambaqui, o estresse natatório também causou aumento de Ht, cortisol, glicose e potássio, mas em contraste com o matrinxã, também houve aumento de RBC e sódio plasmático.

O incremento do RBC durante o teste de esforço é uma tentativa do animal de melhorar sua capacidade de transferir oxigênio aos tecidos e ocorre por meio da contração esplênica, com consequente liberação de eritrócitos jovens na circulação (Moura *et al.*, 1997). O incremento desse parâmetro, juntamente com o aumento da concentração de sódio no plasma, indicam distúrbios osmoregulatórios e estresse (Barton *et al.*, 2002) e sugerem que o tambaqui daquele estudo foi mais sensível ao estresse natatório do que o matrinxã.

Tabela 1- Parâmetros sanguíneos de matrinxã. (C) grupo controle, (AH) após hipoxia (\pm 18 mmHg), (CF) controle fadigado e (AHF) após hipoxia fadigado, referindo-se a 12, 24, 48 e 96h de exposição e 96h de exposição + 96h de recuperação.

		12h	24h	48h	96h	96h + 96 rec.
Ht (%)	C	34,50 \pm 1,09 ^a	30,83 \pm 1,30 ^a	28,17 \pm 1,54 ^a	33,83 \pm 1,20 ^a	23,40 \pm 1,97 ^a
	AH	34,00 \pm 0,82 ^a	38,33 \pm 1,12 ^b	37,50 \pm 1,98 ^b	36,00 \pm 0,86 ^{ab}	24,40 \pm 2,25 ^a
	CF	41,83 \pm 0,91 ^b	36,80 \pm 1,59 ^b	37,17 \pm 2,82 ^b	40,20 \pm 1,77 ^b	33,60 \pm 1,78 ^b
	AHF	40,00 \pm 1,83 ^b	36,83 \pm 0,87 ^b	36,50 \pm 2,09 ^b	40,90 \pm 1,30 ^b	32,20 \pm 0,86 ^b
			P<0,001; F=10,3	P=0,001; F=7,72	P=0,001	P=0,018; F=4,26
Hb (g/dL)	C	8,07 \pm 0,87 ^a	8,18 \pm 0,32 ^a	7,38 \pm 0,70 ^a	7,60 \pm 0,34 ^a	6,40 \pm 0,95 ^a
	AH	10,06 \pm 0,40 ^{ab}	9,10 \pm 0,76 ^a	9,65 \pm 0,80 ^a	7,82 \pm 0,54 ^a	6,22 \pm 0,65 ^a
	CF	11,55 \pm 0,65 ^b	8,96 \pm 0,44 ^a	10,33 \pm 1,30 ^a	10,55 \pm 1,05 ^b	7,46 \pm 0,46 ^a
	AHF	10,37 \pm 0,36 ^{ab}	10,05 \pm 0,54 ^a	9,58 \pm 1,50 ^a	8,50 \pm 0,60 ^{ab}	8,84 \pm 0,88 ^a
			P=0,06; F=5,64	P=0,14; F=2,05	P=0,30; F=1,29	P=0,02; F=3,89
RBC (milhões/mm ³)	C	3,33 \pm 0,25 ^a	3,45 \pm 0,21 ^a	3,56 \pm 0,17 ^a	3,53 \pm 0,68 ^a	2,12 \pm 0,19 ^a
	AH	3,27 \pm 0,24 ^a	3,38 \pm 0,28 ^a	4,68 \pm 0,30 ^a	3,30 \pm 0,48 ^a	2,42 \pm 0,22 ^a
	CF	3,27 \pm 0,27 ^a	3,24 \pm 0,20 ^a	4,02 \pm 0,33 ^a	3,33 \pm 0,28 ^a	2,82 \pm 0,17 ^a
	AHF	3,40 \pm 0,21 ^a	3,28 \pm 0,23 ^a	4,07 \pm 0,59 ^a	2,98 \pm 0,25 ^a	2,60 \pm 0,31 ^a
			P=0,97; F=0,07	P=0,71	P=0,19	P=0,88; F=0,22
VCM (μ m ³)	C	106,48 \pm 6,32 ^a	91,30 \pm 6,78 ^a	79,84 \pm 6,05 ^a	131,77 \pm 10,25 ^a	117,46 \pm 8,57 ^a
	AH	107,42 \pm 10,04 ^a	115,97 \pm 6,98 ^{ab}	82,00 \pm 7,43 ^a	122,87 \pm 20,37 ^a	106,98 \pm 8,26 ^a
	CF	132,82 \pm 12,34 ^a	114,18 \pm 3,13 ^b	96,77 \pm 11,98 ^a	129,40 \pm 8,80 ^a	122,10 \pm 3,29 ^a
	AHF	119,67 \pm 10,44 ^a	114,10 \pm 4,77 ^b	97,92 \pm 12,87 ^a	124,12 \pm 13,87 ^a	117,34 \pm 7,62 ^a
			P=0,02; F=1,52	P=0,02; F=4,19	P=0,48; F=0,84	P=0,33; F=1,21
HCM (μ g)	C	24,75 \pm 2,65 ^a	24,12 \pm 1,36 ^a	21,82 \pm 1,81 ^a	29,55 \pm 5,23 ^a	31,14 \pm 2,71 ^a
	AH	27,15 \pm 5,92 ^a	27,15 \pm 1,89 ^a	21,08 \pm 2,13 ^a	26,60 \pm 4,12 ^a	27,32 \pm 2,52 ^a
	CF	36,15 \pm 3,00 ^a	27,98 \pm 1,77 ^a	26,90 \pm 4,23 ^a	33,15 \pm 4,37 ^a	27,52 \pm 2,71 ^a
	AHF	30,82 \pm 1,82 ^a	31,00 \pm 1,52 ^a	23,37 \pm 1,36 ^a	27,58 \pm 2,42 ^a	32,20 \pm 4,02 ^a
			P=0,17; F=1,81	P=0,05; F=3,11	P=0,43; F=0,94	P=0,87; F=0,23
CHCM (%)	C	23,33 \pm 2,36 ^a	26,72 \pm 1,02 ^a	26,72 \pm 3,16 ^a	22,40 \pm 0,51 ^a	26,86 \pm 2,48 ^a
	AH	24,92 \pm 5,18 ^a	23,78 \pm 1,91 ^a	26,00 \pm 2,24 ^a	21,75 \pm 1,53 ^a	25,52 \pm 1,34 ^a
	CF	27,67 \pm 1,82 ^a	24,50 \pm 1,45 ^a	29,72 \pm 5,32 ^a	28,90 \pm 1,80 ^a	22,50 \pm 1,99 ^a
	AHF	26,30 \pm 1,82 ^a	27,23 \pm 1,10 ^a	26,27 \pm 3,85 ^a	24,55 \pm 2,41 ^a	27,64 \pm 3,18 ^a
			P<0,01; F=57,2	P<0,001	P=0,002	P<0,001; F=35,55
Cortisol (ng/mL)	C	29,33 \pm 5,26 ^a	17,55 \pm 3,24 ^a	20,62 \pm 6,50 ^a	27,50 \pm 4,87 ^a	72,56 \pm 15,69 ^a
	AH	131,78 \pm 10,81 ^b	33,54 \pm 6,01 ^b	41,53 \pm 10,27 ^b	67,60 \pm 22,58 ^a	91,78 \pm 25,79 ^a
	CF	278,85 \pm 24,65 ^c	175,32 \pm 2,56 ^{bc}	314,3 \pm 14,79 ^c	363,1 \pm 8,94 ^b	207,9 \pm 22,62 ^b
	AHF	273,6 \pm 15,61 ^c	270,3 \pm 22,81 ^c	214,7 \pm 44,71 ^{bc}	251,7 \pm 30,16 ^b	212,7 \pm 34,54 ^b
			P<0,001; F=57,2	P<0,001	P=0,002	P<0,001; F=35,55
Glicose (mg/dL)	C	54,33 \pm 2,04 ^a	43,17 \pm 3,50 ^a	57,50 \pm 2,84 ^a	49,17 \pm 2,14 ^a	31,80 \pm 3,71 ^a
	AH	80,33 \pm 3,95 ^b	79,50 \pm 4,35 ^b	83,67 \pm 3,97 ^b	77,50 \pm 8,82 ^{ab}	44,20 \pm 9,47 ^{ab}
	CF	110,0 \pm 9,19 ^{bc}	103,2 \pm 16,73 ^b	78,83 \pm 6,05 ^b	137,6 \pm 15,97 ^c	68,4 \pm 5,50 ^b
	AHF	77,50 \pm 6,47 ^b	91,33 \pm 14,39 ^b	93,17 \pm 9,46 ^b	105,33 \pm 9,89 ^{bc}	79,20 \pm 12,66 ^b
			P<0,001	P=0,008; F=5,29	P=0,04	P<0,001; F=13,2

Tabela 1- Continuação

		12h	24h	48h	96h	96h + 96 rec.
Sódio (meq/L)	C	133,20±7,32 ^a	122,72±9,43 ^a	143,45±13,71 ^a	149,72±4,97 ^a	130,20±5,40 ^a
	AH	120,05±6,95 ^a	127,61±3,96 ^a	126,65±8,28 ^a	149,07±5,12 ^a	117,50±7,20 ^a
	CF	117,96±6,89 ^a	140,21±4,36 ^a	143,66±3,34 ^a	151,20±8,89 ^a	122,30±4,60 ^a
	AHF	127,19±2,95 ^a	131,14±6,44 ^a	142,14±3,66 ^a	139,02±6,88 ^a	120,00±6,90 ^a
		P=0,32; F=1,23	P=0,31; F=1,28	P=0,23	P=0,56; F=0,69	P=0,49; F=1,29
Potássio (meq/L)	C	2,61±0,54 ^a	3,80±0,27 ^a	6,68±0,71 ^a	5,53±0,21 ^a	4,27±0,45 ^a
	AH	5,32±1,28 ^a	5,10±0,61 ^{ab}	8,41±0,78 ^a	8,52±0,67 ^b	5,20±0,56 ^{ab}
	CF	4,20±0,67 ^a	6,17±0,11 ^b	8,44±0,67 ^a	7,95±0,53 ^b	7,20±0,89 ^b
	AHF	5,69±0,77 ^a	5,99±0,67 ^b	9,08±1,01 ^a	7,69±0,52 ^b	6,98±0,78 ^{ab}
		P=0,11; F=2,35	P=0,006; F=5,73	P=0,20; F=1,65	P=0,003; F=6,76	P=0,03; F=3,65

Valores com letras diferentes diferem entre si dentro de um mesmo período de tempo

CONCLUSÃO

Os resultados apresentados sugerem que o matrinxã é sensível a hipoxia, porém consegue manter o desempenho natatório, mesmo em face aos distúrbios causados por ela.

AGRADECIMENTOS

Essa pesquisa foi financiada pelo CNPq e pela FAPEAM por meio do PRONEX e do INCT ADAPTA e contou com o apoio institucional do INPA. MSF foi bolsista do Programa de Capacitação Institucional, AMO foi bolsista de mestrado da FAPEAM e ALV é bolsista de produtividade do CNPq.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- Barton, B. A.; Morgan, J. D.; Vijayan, M. M. 2002. Physiological and Condition-Related Indicators of Environmental Stress in Fish, p. 111-148. In: Adams, S. M. (Ed.). *Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Health*. American Fisheries Society, Bethesda.
- Brett, J.R. 1964. The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 21(5):1183-1226.
- Brown, B. A. 1993. *Hematology: Principles and Procedures*. 6 sub edition. Lea & Febiger, Press, Philadelphia, USA. 453 pp.
- Burgetz, I. J.; Rojas-Vargas, A.; Hinch, S. G. and Randall, D. J. 1998. Initial recruitment of anaerobic metabolism during sub-maximal swimming in Rainbow Trout. *The Journal of Experimental Biology*, 201(19): 2711-2721.
- De Boeck, G.; Alsop, D. and Wood, C. 2001. Cortisol Effects on Aerobic and Anaerobic Metabolism, Nitrogen Excretion, and Whole-Body Composition in Juvenile Rainbow Trout. *Physiological and Biochemical Zoology*, 74(6): 858-868.
- Ferreira, M. 2006. Certificado de vigor físico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818). Dissertação Mestrado: INPA/UFAM. 55p.
- Goulding, M. 1980. *The fishes and the forest. Explorations in Amazonian natural history*. University of California Press, Berkeley, CA, USA. 280pp.
- Hammer, C. 1995. Fatigue and exercise tests with fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 112(A):1-20.
- Kampen, E. J.; Zijlstra, W.G. 1964. Standardization of haemoglobinometry. In: Boroviczeny, C. G. *Erythrocytometric Methods and their standardization. Bibliotheca Haematologica*, 18:68-72.
- Kieffer, J. D. 2000. Limits to Exhaustive Exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 126(A): 161-179.
- McDonald, G.; Milligan, L. 1997. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress, p. 119-144. In: Iwama, I. G.; Pickering, A. D., Sumpter J. P.; Schreck C. B. (Eds.). *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Society for Experimental Biology. Seminars series, 62. Cambridge University Press. United Kingdom.
- Moura, M. A. F., Oliveira, M. I. S., Val, A. L., 1997. Effects of hypoxia on leucocytes of two Amazon fish *Colossoma macropomum* and *Hoplosternum littorale*. *Revista Universidade do Amazonas. Série Ciências Biológicas*, 1(2):13-22.
- Peak, S. J.; Farrel, A. P. 2004. Locomotory behaviour and post-exercise physiology in relation to swimming speed, gait transition and metabolism in free-swimming smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*). *The journal of experimental biology*, 207: 1563-1575.
- Richards, J. G., Mercado, S. J., Clayton, C. A., Heigenhauser, G. J. F. e Wood, C. M. 2002. Substrate utilization during graded exercise in rainbow trout. *The Journal of Experimental Biology*. 205: 2067-2077.
- Santos, G., Ferreira, E., Zuanon, J. 2006. *Peixes comerciais de Manaus*. IBAMA/AM. Provárzea. p. 144.
- Val, A. L. 1995. Oxygen transfer in fish: morphological and molecular adjustments. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 28: 1119-1127.
- Val, A. L. 1996. Surviving Low Oxygen Levels: Lessons From Fishes of the Amazon, p. 59-70. In: Val, A. L.; Almeida-Val, V. M. F.; Randall, D. J. *Physiology and Biochemistry of the fishes of the Amazon*. INPA. Manaus. Brazil.
- Val, A. L.; Silva, M. N. P.; Almeida-Val, V. M. F. 1998. Hypoxia adaptation in Fish of the Amazon: a never-ending task. *South African Journal of Zoology*, 33(2):107-117.

Vijayan, M. M.; Pereira, C.; Grau, E. G.; Iwama, G. K. 1997.
Metabolic Responses Associated with Confinement Stress in
Tilapia: The Role of Cortisol. *Comparative Biochemistry and
Physiology*, 116(C): 89-95.

Recebido em 28/01/2010
Aceito em 25/04/2010