

## ESTRESSE EM PEIXES: FISILOGIA DA RESPOSTA AO ESTRESSE, CAUSAS E CONSEQUÊNCIAS (REVISÃO)

[Stress in fish: physiology of the stress response, causes and consequences (review)]

Leonardo José Gil BARCELLOS<sup>1,4</sup>; Silvia Maria Guimarães de SOUZA<sup>2</sup>; Viviane Mara WOHL<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Médico Veterinário, Mestre em Zootecnia, Doutorando em Fisiologia

<sup>2</sup> Médica Veterinária, Doutora em Fisiologia. Prof.<sup>ª</sup> Adjunta em Aqüicultura, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

<sup>3</sup> Bióloga, Mestre em Morfologia, Doutoranda em Fisiologia. Prof.<sup>ª</sup> Assistente do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>4</sup> Endereço/Address: Praça das Nações Unidas, 61, apto. 801 – CEP 90690-430 – Porto Alegre – RS – Fone: 0XX(51) 321.4420, e-mail: [leohelo@cpovo.net](mailto:leohelo@cpovo.net)

### RESUMO

Em criações intensivas de peixes, a ocorrência de situações estressantes é inevitável. Durante o período de cultivo, os animais são submetidos a inúmeros manejos e variações ambientais. As consequências são geralmente a redução do crescimento e ganho em peso, do desempenho reprodutivo e da resistência a patógenos. A resposta ao estresse compreende uma série de alterações fisiológicas. Os efeitos são divididos em primários, secundários e terciários. Entre os efeitos primários encontram-se os aumentos de catecolaminas, adrenalina e noradrenalina e corticosteróides no plasma. Entre os secundários existem efeitos metabólicos, como as alterações na glicemia, no ácido láctico e no glicogênio hepático e muscular, efeitos hematológicos, como alterações no hematócrito e no número de linfócitos, além de efeitos hidrominerais e na osmolaridade do plasma. Os principais efeitos terciários são a queda de desempenho produtivo e reprodutivo e a diminuição da resistência às doenças. Nos peixes teleósteos, a elevação plasmática do cortisol é reconhecida como a principal resposta hormonal ao estresse que pode ser utilizada como indicadora da presença desta resposta. Várias situações comuns na aqüicultura moderna são potenciais causadores de estresse para os peixes. À medida que a produção de peixes vai crescendo e se intensificando, os manejos estressantes aumentam. As respostas fisiológicas comentadas nesta revisão foram desenvolvidas durante a evolução dos peixes em condições naturais. Com os manejos impostos pelo homem na produção comercial de peixes, muitas vezes, a resposta ao estresse se torna extremamente deletéria à saúde dos peixes e à rentabilidade do empreendimento.

**Palavras-chave:** estresse, peixes, teleósteos, imunodeficiência, desempenho reprodutivo, crescimento

### ABSTRACT

In intensive fish production, the stress is inevitable. During the culture period, the fish are exposed to several potential stressors such as management and environmental conditions. The consequences are the reduction of growth and the reproductive performance and low resistance to disease. The stress response involves several physiological changes. Those changes are divided in primary, secondary and tertiary effects. The primary effects are the elevation of the plasma concentration of catecholamines and corticosteroids. Among the secondary effects can be related the metabolic changes such as glycaemia, lactic acid and hepatic glycogen, the hematological effects, such as in hematocrit and in the number of circulating lymphocytes, and the hydromineral effects, such as in plasma chloride, sodium, potash and protein levels, and in the osmolarity of the plasma. Among the tertiary effects can be related the reduction of growth, reproduction performance and resistance to disease. In the teleost fish the elevation of the plasmatic cortisol is recognized as a principal hormonal response to stress and it is widely utilized as a stress response indicator. Several situations of the modern commercial aquaculture are potentially stressful for fish. With the intensification of the fish production, the frequency of stressor managements increases. The physiological responses to stress are evolutionary developed in natural environment, and in artificial conditions imposed by commercial aquaculture, this response may be extremely deleterious for the fish health and for the economic viability of the fish production.

**Key words:** stress, fish, teleost, growth performance, reproductive performance, disease resistance

## Introdução

Em sistemas intensivos de criação de peixes, a ocorrência de situações estressantes é inevitável. Durante o período de criação, os animais são submetidos a inúmeros manejos e a variações ambientais. As conseqüências são geralmente a redução do crescimento e ganho de peso, do desempenho reprodutivo e da resistência a patógenos (IWAMA, 1993).

Segundo BRETT (1958) *apud* IWAMA (1993), “estresse é o estado produzido por fatores, ambientais ou não, que provocam resposta adaptativa no animal frente a uma alteração da função normal”.

Existem várias definições para a “resposta ao estresse”, mas há um consenso quanto ao fato de esta representar reação a um estímulo que pode alterar o estado de homeostase do peixe (BARTON e IWAMA, 1991). Estressor é o termo utilizado para definir qualquer fator capaz de alterar a homeostase do peixe, e a resposta fisiológica e comportamental a este estressor é a chamada resposta ao estresse (SMITH, 1982).

Uma forma de explicar como ocorre a resposta ao estresse foi descrita por SELYE (1950), como Síndrome de Adaptação Geral (SAG). Esta síndrome é o conjunto de alterações que ocorrem nos organismos em resposta ao estresse. A SAG envolve três passos: (1) reação alarme; (2) estágio de resistência, em que ocorre adaptação ao estresse ocorrido; e (3) estágio de exaustão, quando acontece a perda da adaptação face à continuidade ou intensificação do agente estressor.

O modelo SAG é uma abordagem geral sobre os efeitos da resposta ao estresse, mas não é livre de problemas, pois generaliza as respostas para todos os fatores estressantes, o que não ocorre na prática (BARTON e IWAMA, 1991).

BARTON e IWAMA (1991) comentam que o peixe tem a capacidade natural de responder fisiologicamente aos estressores, para controlar o distúrbio imposto. Entretanto, quando os mecanismos de resposta são forçados além de seus limites normais, a resposta pode ser deletéria à sua saúde do peixe.

A acumulação de efeitos de sucessivas situações de estresse pode manifestar-se em nível populacional, ocasionando severa mortalidade. O conceito de estresse cumulativo é importante para os aquaculturistas pois mostra que distúrbios sub-letais, a princípio não problemáticos, ao se acumularem podem levar a um efeito deletério no indivíduo, e mesmo na população (WENDELAAR BONGA, 1997).

IWAMA (1993) diferencia a resposta ao estresse em resposta aguda e resposta crônica. A primeira geralmente ocorre em manejos, como biometrias e transportes. Esta resposta é fortemente imunossupressora, levando a perdas por doenças. O segundo tipo de resposta, a crônica, que acontece em condições que mantenham os peixes por longo período em situações estressantes, como pH incorreto, baixo nível de oxigênio dissolvido na água e superpopulação, e que podem levar a baixo crescimento e ganho de peso.

A interação social entre peixes com comportamento territorialista e/ou hierárquico pode ser causadora de resposta crônica. O “estresse social” é definido como: “o estresse frente a estímulos sociais ou de agrupamento” (FERNANDES e VOLPATO, 1993). A hierarquia de dominância, que ocorre em espécies como a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), é definida como a relação entre dois ou mais indivíduos, na qual um ataca o outro em situações de luta, e o vencedor é o dominante, e o(s) perdedor(es), o(s) submisso(s) (KAUFMANN, 1983 *apud* GONÇALVES, 1993). Segundo GONÇALVES (1993), a hierarquia de dominância em tilápias-do-Nilo começa a se estabelecer poucos minutos após o agrupamento dos peixes, ou após a quebra da hierarquia pré-existente.

BARCELLOS; SOUZA; LUCERO (1997) verificaram que tilápias adultas em confinamento apresentavam concentrações plasmáticas de cortisol tão altas nos animais submetidos a estresse quanto nos controle e atribuíram essa igualdade ao estresse social que todos os animais vinham sofrendo. Em outro trabalho BARCELLOS *et al.* (1999b) relatam que juvenis de tilápia-do-Nilo mantidos em grupos de 10 peixes apresentavam resposta ao estresse mais intensa que os mantidos em grupos menores (1, 2 e 5 peixes).

Para trutas (*Oncorhynchus mykiss* e *Salmo trutta*), a captura para sucessivas amostragens pode levar a alteração da hierarquia existente na população dos tanques, intensificando o comportamento agonístico e provocando aumento dos níveis plasmáticos de cortisol nos animais remanescentes (POTTINGER e MOSUWE, 1994).

## 1. Fisiologia da resposta ao estresse

A resposta ao estresse compreende uma série de alterações fisiológicas. Os efeitos são divididos em primários, secundários e terciários. Entre os efeitos primários encontram-se os aumentos de catecolaminas, adrenalina e noradrenalina e

corticosteróides no plasma. Entre os secundários, existem os efeitos metabólicos, como as alterações na glicemia, no ácido láctico e no glicogênio hepático e muscular, os efeitos hematológicos, como alterações no hematócrito e no número de linfócitos, e ainda os efeitos hidrominerais, como alterações nas concentrações plasmáticas de cloro, sódio, potássio, proteínas e na osmolaridade do plasma. Os efeitos terciários principais são a queda de desempenho produtivo e reprodutivo e a diminuição da resistência a doenças (WENDELAAR BONGA, 1997).

Em peixes teleósteos, a elevação plasmática do cortisol, é reconhecida como a principal resposta hormonal ao estresse, sendo muitas vezes utilizada como indicadora da presença desta resposta (PATIÑO; REDDING; SCHRECK, 1987 e BALM; LAMBERT; WENDELAAR BONGA, 1989).

Porém, BARTON e IWAMA (1991) chamam atenção para o fato de que algumas substâncias tóxicas, prejudiciais à saúde dos peixes, não provocam elevação do nível de cortisol plasmático, o que pode levar à conclusão equivocada de que não são agressores. Relatam também que a sedação leve dos peixes por MS222 (tricafina), usada em manejos em aquicultura visando "reduzir a resposta ao estresse", causam elevação do cortisol plasmático semelhantemente à causada por estressores agudos, embora em altas dosagens para anestesia profunda não causem esta resposta. MAULE *et al.* (1989) citam que doses anestésicas (125-300 mg/l) do MS222 não provocam resposta.

## 1.1. Eixo Hipotálamo-Hipófise-Células Interrenais

### 1.1.1. Alterações primárias e controle da secreção de cortisol

As alterações primárias em resposta ao estresse iniciam-se através dos estímulos ocasionados pelos estressores - condições ambientais, sociais e comportamentais - ao hipotálamo. Tais estímulos provocam a liberação do fator liberador de corticotrofina, que por sua vez estimula a glândula hipófise a liberar o ACTH (hormônio adrenocorticotrófico), que via circulação chega ao tecido interrenal, estimulando a liberação de cortisol. Em respostas a estímulos prolongados há um aumento do diâmetro do núcleo das células interrenais, provavelmente devido ao aumento da atividade secretória (MCLEAY, 1973). As catecolaminas, adrenalina e noradrenalina, são liberadas pelas células cromafínicas incrustadas na porção anterior do rim, sob estímulo direto do sistema

nervoso simpático. O cortisol e as catecolaminas levam a alterações na fisiologia do animal, as chamadas alterações secundárias (SMITH, 1982).

O tecido interrenal constitui-se de um agrupamento de células foliculares também incrustadas na porção anterior do rim, também chamada de rim cefálico, e tem a mesma atividade do córtex da glândula adrenal dos mamíferos (SMITH, 1982). A secreção do cortisol é controlada por mecanismo de retroalimentação negativa no eixo hipotálamo-hipófise (FRYER, 1975; FRYER e PETER, 1977).

O cortisol é um hormônio glicocorticóide, denominado quimicamente de 4-pregnen-11 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,21-triol-3,20-diona, sendo derivado do colesterol. Parte do cortisol secretado pelas células interrenais é ligado a proteínas do plasma, principalmente a transcortina, tornando-se biologicamente inerte (VAN DER BOON; VAN DEN THILLART; ADDINK, 1991).

### 1.1.2. Liberação de cortisol após estresse

As curvas de liberação do cortisol em seu tempo e magnitude são variáveis (BARTON; PETER; PAULENCU, 1980, SUMPSTER; PICKERING; POTTINGER, 1985). Salmonídeos geralmente apresentam o pico de liberação uma hora após a ocorrência de um estressor e, geralmente, requerem cerca de 24 horas para que as concentrações plasmáticas retornem a valores próximos aos iniciais (BARTON; WEINER; SCHRECK, 1985, para *O. mykiss*; MESA, 1994 e SPECKER e SCHRECK 1980, para *O. kisutch* e PICKERING e POTTINGER, 1989). Para tilápia-do-Nilo (*O. niloticus*) também foi observado um pico da concentração plasmática de cortisol uma hora após a exposição ao estressor (perseguição e retirada da água por 60 s) (BARCELLOS *et al.*, 1999 a), o mesmo ocorrendo com o jundiá, *Rhamdia quelen* (BARCELLOS *et al.*, 2000, no prelo).

A faixa de concentração plasmática de cortisol, considerada normal para resposta aguda a diferentes estressores em salmonídeos, corresponde a 40 a 200 ng/ml (PICKERING e POTTINGER, 1989). Em condriósteos, como o peixe pá (*Polyodon spathula*), a concentração plasmática de cortisol atinge no máximo 11 ng/ml e retorna a valores pré-estresse em uma hora (BARTON; RAHN; BOLLING, 1996). Em esparídeos, como o *Pagrus pagrus*, o pico de concentração de cortisol, em resposta ao estresse, verifica-se duas horas após a ocorrência do estressor, atingindo valores em torno de 60 ng/ml, e retorna aos níveis pré-estresse em 24 horas (ROTLLANT e TORT, 1997). Peixes, como *Carassius auratus*, apresentam o pico de liberação de cortisol entre 30 minu-

tos e uma hora após o estressor, com valores próximos a 300 ng/ml e retorno aos níveis pré-estresse em mais ou menos três horas (FRYER, 1975). Em tilápia-do-Nilo, valores em torno de 200 ng/ml de cortisol foram detectados, uma hora após perseguição ou retirada da água (BARCELLOS *et al.*, 1999 a), já em jundiás (*R. quelen*), os valores máximos oscilaram entre 158,0 (machos) e 207,0 ng/ml (fêmeas), sempre uma hora após a captura e transferência de tanques (BARCELLOS *et al.*, 2000 no prelo).

Em peixes tropicais, como o pacu (*Piaractus mesopotamicus*), foi medida a concentração plasmática em tempo 0, 1 e 6 horas após o estressor agudo encontrando-se níveis crescentes de cortisol (KRIEGER-AZZOLINI *et al.*, 1989). Para ciclídeos, como a tilápia mossambica (*Oreochromis mossambicus*), foram encontradas quedas a níveis pré-estresse, em até menos de uma hora após a ocorrência do estressor de manejo (FOO e LAM, 1993), e de até quatro dias, após a aclimação a água salgada (MORGAN *et al.*, 1997), com picos de liberação entre 30 e 60 minutos, com valores atingindo 140 a 200 ng/ml.

Provavelmente, a duração e a magnitude da resposta ao estresse são dependentes da severidade e da duração do estressor a que os peixes foram submetidos (BARTON; PETER; PAULENCU, 1980, SUMPTER; PICKERING; POTTINGER, 1985).

A resposta crônica tem como principal consequência a manutenção de altas concentrações plasmáticas de cortisol por longo período, o que pode ocasionar uma série de efeitos terciários, como queda de desempenho produtivo e reprodutivo (PICKERING *et al.* 1987, CARRAGHER *et al.* 1989, PICKERING e POTTINGER, 1989).

Na resposta crônica pode haver adaptação ao estresse. Este mecanismo está relacionado ao controle da secreção do cortisol, que é um processo complexo. O papel do ACTH é bem aceito atualmente, mas evidências demonstram que o ACTH não age sozinho. Muitos fatores estimulatórios (por exemplo, neuropeptídeo Y, Fator Liberador de Corticotrofina e hormônio melanócito estimulante ( $\alpha$ MSH) e inibitórios (por exemplo, a dopamina) têm sido descritos. O  $\alpha$ MSH tem recebido muita atenção nos últimos anos, e muitos estudos sugerem que esse hormônio tenha um importante papel na adaptação dos peixes ao estresse (revisado em WENDELAAR BONGA, 1997).

Outro neurotransmissor que possui um importante papel na adaptação dos peixes ao estresse é a serotonina (5HT). Em um estudo recente, WINBERG e LEPAGE (1998) mostraram que as respostas fisiológicas

e comportamentais ao estresse são, em grande parte, controladas por mecanismos integrados de controle cerebral, possuindo a 5HT uma participação chave nesse processo. A forte correlação entre a 5HT cerebral e o cortisol plasmático indica que a 5HT age como regulador do eixo hipotálamo-hipófise-interrenal.

Os mesmos autores também mostraram que há uma elevação prolongada da expressão do RNA mensageiro da Pró-opiomelanocortina (POMC) hipofisária e postularam que o aumento da POMC (o precursor comum do ACTH e de outros peptídeos biologicamente ativos, como o  $\alpha$ MSH e a endorfina, em peixes estressados cronicamente pode ser um mecanismo para manutenção da excitabilidade do eixo hipotálamo-hipófise-interrenal, promovendo a aclimação dos peixes a esse estresse.

Outro mecanismo que pode agir na adaptação ao estresse é a produção das chamadas proteínas do estresse, que são responsáveis pela restauração celular e aumento da tolerância ao estresse (WENDELAAR BONGA, 1997).

### 1.1.3. Efeitos do cortisol

Muitos estudos mostram que a administração de cortisol exógeno produz, entre outras, alterações no metabolismo hepático (CHAN e WOO, 1978, DAVIS *et al.*, 1985), e no metabolismo intermediário (LEACH e TAYLOR, 1980). Assim, o principal órgão alvo do cortisol parece ser o fígado (VAN DER BOON; VAN DEN THILLART; ADDINK, 1991).

Acredita-se que os altos níveis de glicemia, após o início da resposta ao estresse, são mantidos pelo cortisol, que começa a agir em seqüência à adrenalina. O cortisol estimula a gliconeogênese, que está representada pela produção de glicose a partir de outras fontes que não carboidratos, e regula a demanda de açúcar na circulação periférica, por antagonizar os efeitos da insulina (VIJAYAN *et al.*, 1994). Esses autores demonstraram que o cortisol diminui significativamente a resposta dos hepatócitos à insulina, impedindo a entrada de glicose nestas células. No mesmo trabalho, os autores sugerem que existe complexa interação do cortisol com diversos outros hormônios, na ação sobre o metabolismo do hepatócito, e que essa interação pode ser alterada pelo estado nutricional dos peixes e pela resposta ao estresse.

LEACH e TAYLOR (1980) demonstraram que quando o aumento da concentração plasmática de cortisol é bloqueado, através de compostos como o

metirapone (inibidor de uma etapa da síntese desse hormônio), a elevação da glicemia é transitória após um estressor agudo, em comparação a peixes não tratados com este composto. Este resultado os levou a concluir que, provavelmente, o cortisol tem a função de sustentar os altos níveis de glicose após a resposta inicial provocada pelas catecolaminas, tanto por estimular a gliconeogênese quanto por regular o aporte periférico de glicose. VIJAYAN *et al.* (1994) trabalhando com um esteróide análogo (RU486), que age por ocupar os receptores que seriam para o cortisol, encontraram resposta semelhante.

VIJAYAN; BALLANTYNE; LEATHERLAND (1991) observaram um aumento das enzimas chave da gliconeogênese, principalmente glicose 1-6 difosfatase, estimulado por cortisol após a ocorrência de situações de estresse e que esse processo utiliza uma série de fontes alternativas como glicerol, proveniente da lipólise, e aminoácidos. Segundo VIJAYAN *et al.* (1994), o cortisol favorece a utilização de carboidratos no metabolismo do hepatócito, e o bloqueio deste efeito pelo análogo (RU486) indicou que a mobilização do glicogênio, para o uso endógeno do fígado, é um dos efeitos do cortisol. O mesmo estudo demonstrou que o cortisol aumenta a gliconeogênese nos hepatócitos dos peixes. Em mamíferos, o principal substrato para a gliconeogênese são as proteínas (DICKSON, 1984), e até a década de 90 pensava-se que assim também ocorria nos peixes (BUTLER, 1968, FREEMAN e IDLER, 1973 e CHAN e WOO, 1978). Ao contrário, LEACH e TAYLOR (1982) não encontraram dados que permitissem conclusão consistente sobre a utilização de proteínas como substrato para a gliconeogênese.

VIJAYAN; BALLANTYNE; LEATHERLAND (1991) demonstraram que as primeiras enzimas que aumentaram após o implante de cortisol, foram aquelas responsáveis pela mobilização e oxidação do glicerol, o que sugere que as fontes não protéicas são as preferidas. VAN DER BOON; VAN DEN THILLART; ADDINK (1991) também sugerem que o cortisol provoca um aumento da lipólise, resultando num maior aporte de ácidos graxos livres e de glicerol, para a circulação e, conseqüentemente, para a gliconeogênese. Todos estes dados, quando combinados, levaram os autores a postular que o cortisol desempenha papel importante na adaptação metabólica do peixe a alta demanda energética que ocorre em situações de resposta crônica ao estresse.

A nova glicose produzida pela gliconeogênese tem duas funções básicas: promover aporte energético

para enfrentar a maior demanda ocasionada pela resposta ao estresse e promover o depósito de glicogênio no fígado, para eventuais situações em que ele volte a ser necessário. A segunda ação parece ser mais pronunciada em casos de resposta aguda (VAN DER BOON ; VAN DEN THILLART; ADDINK, 1991). Esta afirmação condiz com os dados de CHAN e WOO (1978), que encontraram um aumento da enzima glicogênio-sintetase, mediado por cortisol. LEACH e TAYLOR (1982) também concluíram que o cortisol promove a deposição de glicogênio no fígado.

Como efeitos secundários, também são observadas alterações no quadro hormonal reprodutivo dos peixes. Vários autores, como CARRAGHER *et al.* (1989), PICKERING *et al.* (1987) e CARRAGHER e SUMPTER (1990), encontraram evidências de que o cortisol afeta negativamente a secreção e a ação de hormônios esteróides sexuais. Por outro lado, PANKHURST; VAN DER KRAAK; PETER (1995) discordam, dizendo que os indícios do envolvimento do cortisol nesse quadro não são muito claros.

Dentre as alterações secundárias encontram-se, também, as alterações no quadro hematológico, principalmente aquelas relacionadas às células do sistema imunológico. A imunodeficiência decorrente da resposta ao estresse é confirmada por diversos autores, entre eles KEBUS *et al.* (1992) e IWAMA (1993), e está comprovadamente correlacionada negativamente à elevação do cortisol plasmático, que leva a uma diminuição do número de linfócitos circulantes. MAULE *et al.* (1989) demonstraram que a aplicação de um estressor, tão breve quanto 30 segundos de emersão dos peixes, foi suficiente para suprimir em 25% a função dos linfócitos de salmão (*O. tshawytscha*), quatro horas após a ocorrência do estressor. Nesse estudo, a supressão e a recuperação foram inversamente correlacionadas com a elevação e diminuição das concentrações plasmáticas de cortisol. MCLEAY (1973) demonstrou que peixes (*O. kisutch*) tratados com ACTH, hormônio que promove a secreção do cortisol, apresentaram diminuição no número de linfócitos circulantes. Acrescentando, SALONIUS e IWAMA (1993) sugerem que a diminuição da resistência a doenças pode ocorrer por modulação da atividade dos macrófagos que está relacionada a um estresse.

Vários trabalhos sugerem que realmente são os corticosteróides que inibem o sistema imunológico. Por exemplo, trutas arco-íris (*O. mykiss*) alimentadas, em apenas uma refeição, com dieta contendo cortisol, apresentaram redução de 65% no número

de linfócitos circulantes, retornando ao nível pré-tratamento em 24 horas (PICKERING, 1984). Em outro estudo, a alimentação, diária e contínua com cortisol provocou 84% de depressão no número de linfócitos, que retonou ao normal somente duas semanas após o término do tratamento (BARTON; SCHRECK; BARTON, 1987). Estes dados sugerem que o número de linfócitos permanece baixo tanto tempo quanto permanecer alto o cortisol. Também, SCHRECK; MAULE; SLATER (1991) afirmaram que a supressão no sistema imunológico, provocada pelo cortisol, pode continuar por até várias semanas após a ocorrência do estressor.

Ainda, para explicar como ocorre a imunossupressão, BARTON e IWAMA (1991) citam os trabalhos de TRIPP *et al.* (1987) e de KAATARI e TRIPP (1987), nos quais estes autores encontraram evidências de que o cortisol inibe a diferenciação dos linfócitos a partir de seus precursores, por inibir as interleuquinas, responsáveis por tal diferenciação.

## 1.2. Eixo Hipotálamo-simpático-células cromafínicas

### 1.2.1. Liberação de catecolaminas após estresse

As catecolaminas, adrenalina e noradrenalina, são liberadas e metabolizadas imediatamente após a ocorrência do fator estressante. Essa rápida liberação ocorre do fato que as células cromafínicas serem enervadas por fibras ganglionares simpáticas (DICKSON, 1984). Devido a essas particularidades da curva de liberação das catecolaminas, o parâmetro mais utilizado para avaliar a resposta ao estresse é o cortisol. O manuseio durante a coleta de sangue causa liberação de catecolaminas, o que leva a resultados não interpretáveis como resposta ao estresse (IWAMA, 1993).

### 1.2.2. Efeitos das catecolaminas

A adrenalina e a noradrenalina têm nos peixes diversos efeitos, podendo-se destacar os observados na circulação sanguínea, na respiração e no balanço energético, assim como em outros vertebrados (DANULAT e MÖMSEN, 1990). Nos peixes, as catecolaminas, em especial a adrenalina, causam dilatação da vasculatura branquial promovendo aumento da taxa de perfusão nas lamelas branquiais, estimulando a captação de oxigênio (MAYER-GOSTAN; WENDELAAR BONGA; BALM, 1987). O suprimento de oxigênio para os tecidos corporais é também promovido por efeitos estimulantes dos movimentos ventilatórios das brânquias e por efeito direto no vo-

lume dos eritrócitos e no pH intracelular (MAYER-GOSTAN; WENDELAAR BONGA; BALM 1987). A afinidade da hemoglobina pelo oxigênio é também aumentada pelas catecolaminas (AOTA *et al.*, 1990).

As catecolaminas também atuam na osmorregulação, promovendo aumento das trocas iônicas através das brânquias, provavelmente um efeito indireto da sua ação estimulatória de perfusão branquial, o que aumenta a área de contato das lamelas branquiais com a água (MAYER-GOSTAN; WENDELAAR BONGA; BALM, 1987).

Nas décadas de 60 e 70 acreditava-se que hiperglicemia pós-estresse era efeito exclusivo dos corticosteróides (BUTLER, 1968, CHAN e WOO, 1978). Atualmente sabe-se que a elevação primária da glicemia nos peixes, como resposta ao estresse, se deve à ação das catecolaminas, que estimulam a glicogenólise (VIJAYAN; BALLANTYNE; LEATHERLAND (1991) e VIJAYAN *et al.*, 1994). OTTOLENGHI *et al.* (1985), em estudos *in vitro*, sugeriram que a adição de adrenalina ao meio de cultura de fatias de fígado de bagre-de-canal (*Ictalurus punctatus*) causa aumento da liberação de glicose por aumentar a glicogenólise, possivelmente por ativação da enzima responsável, a glicogênio-fosforilase. Em pesquisa *in vivo*, feita em 1984 pelos mesmos autores, os bagres-de-canal responderam a injeções de adrenalina com marcada hiperglicemia.

Outro efeito das catecolaminas foi proposto por INCE e THORPE (1977), que encontraram, além do efeito hiperglicemiante descrito acima, uma diminuição da secreção de insulina pelo pâncreas. Os autores sugerem que esta redução seja um mecanismo para prover o organismo de energia em períodos de elevada demanda energética.

Além das conclusões referidas acima, SHERIDAN (1987) sugeriu que as catecolaminas, principalmente a noradrenalina, estimulam a lipólise no fígado, por hidrólise dos triglicerídios estocados, resultando na liberação de ácidos graxos e glicerol.

Um resumo esquemático dos efeitos das catecolaminas e do cortisol está representado na Figura 1.

## 2. Efeitos terciários da resposta ao estresse - consequências

### 2.1. Imunodeficiência

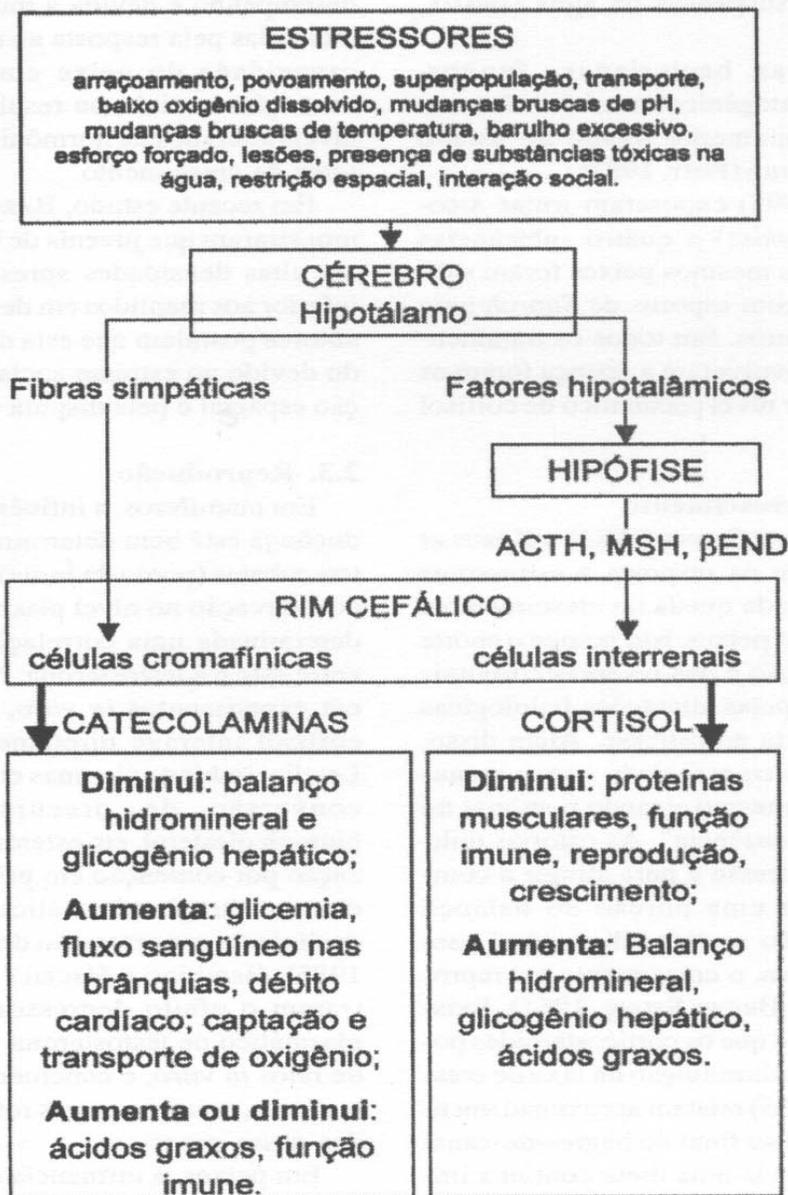
Um efeito terciário da resposta ao estresse, importante para a aqüicultura, é a imunodeficiência.

Bactérias reconhecidamente patogênicas como

as dos gêneros *Aeromonas*, *Vibrio*, *Cytophaga*, *Renibacterium* e *Mycobacterium*, têm seu desenvolvimento acelerado em condições que provoquem resposta ao estresse. Bactérias que em condições ambientais ótimas não causam doença, como a

*Yersinia ruckeri* e a *Flexibacter columnaris*, provocam enfermidades em peixes estressados (Post, 1987).

Algumas doenças são claramente associadas a fatores estressantes entre elas a doença bacteriana



**Figura 1.** Diagrama generalizado dos elementos neuroendócrinos da resposta ao estresse em peixes teleosteos. ACTH – Hormônio Adreno Corticotrófico, MSH – Hormônio melanócito estimulante; βEND – endorfina. Adaptado de WENDELAAR BONGA (1997)

das brânquias que é favorecida por superpopulação, por condições ambientais desfavoráveis, como baixo nível de oxigênio dissolvido na água e alta concentração de amônia ( $\text{NH}_3$ ), e pela presença de partículas em suspensão em excesso. Outra patologia observada é o apodrecimento de nadadeiras, também favorecida por superpopulação, temperaturas inadequadas, desbalanceamento nutricional e quantidades excessivas de sólidos suspensos na água (IWAMA, 1993).

Além das doenças bacterianas, fungos, protozoários e vírus patogênicos também têm seu desenvolvimento intimamente ligado ao estado imunológico do organismo (POST, 1987).

CARBALLO *et al.* (1995) expuseram trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) a quatro substâncias tóxicas, e a seguir, estes mesmos peixes foram submetidos a um desafio com esporos de *Saprolegnia parasitica* por dez minutos. Em todos os tratamentos, os peixes que desenvolveram a doença foram os que apresentaram maior nível plasmático de cortisol (até 370 ng/ml).

## 2.2. Metabolismo e crescimento

FAGERLUND; MC BRIDE; STONE (1981) e KEBUS *et al.* (1992) sugerem que na resposta a estressores crônicos ocorre acentuada queda no crescimento e menor ganho de peso dos peixes, isto porque o aporte energético da alimentação e das reservas corporais está sendo mobilizado pelas alterações fisiológicas provocadas pela resposta ao estresse. Além disso, existe um custo energético associado com a manutenção da homeostase, mesmo estando o animal no chamado "estágio de resistência". As calorias utilizadas na resposta ao estresse e para atingir a compensação representam uma porção do balanço energético total, que não se torna disponível para outras funções, entre elas, o crescimento e a reprodução (FAGERLUND; MC BRIDE; STONE, 1981). Existem alguns indicativos de que os corticosteróides podem estar envolvidos na diminuição da taxa de crescimento. DAVIS *et al.* (1985) relatam aproximadamente 66% de redução no peso final de bagres-de-canal (*Ictalurus punctatus*), após uma dieta contínua impregnada com cortisol. BARTON; SCHERECK; BARTON (1987) também provocaram diminuição no ganho de peso (45%) em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) após dez semanas utilizando ração idêntica à utilizada por DAVIS *et al.* (1985).

BARCELLOS *et al.* (1999a) verificaram que tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a

estresse crônico por 60 dias apresentaram crescimento cerca de 30% inferior aos dos peixes mantidos nas mesmas condições, mas sem receberem o estressor crônico.

A densidade de estocagem pode causar profundos efeitos no crescimento dos peixes (BARTON e IWAMA, 1991). Por outro lado, os mesmos autores postulam que é difícil determinar se esta queda de desempenho é devida a mudanças no metabolismo induzidas pela resposta ao estresse, ou a redução da capacidade do peixe em obter alimento, ou a interações sociais, ou resultante do efeito direto de níveis alterados de hormônios, enzimas ou outros fatores de crescimento.

Em recente estudo, BARCELLOS *et al.* (1999b) demonstraram que juvenis de tilápia-do-Nilo mantidos em altas densidades apresentaram ganho de peso inferior aos mantidos em densidades mais baixas. Os autores postulam que esta diferença pode ter ocorrido devido ao estresse social aumentado pela restrição espacial e pela disputa do alimento.

## 2.3. Reprodução

Em mamíferos, a influência do cortisol na reprodução já está bem determinada. FENSKE (1997), tratou cobaias (porco da Índia) com ACTH, que provocou elevação no nível plasmático de cortisol, sendo determinada uma correlação negativa ( $r = -0,99$ ) entre este e a testosterona. No mesmo trabalho, mas em experimentos *in vitro*, foi demonstrado que o cortisol interage diretamente com as células de Leydig, inibindo algumas enzimas responsáveis pela conversão de precursores, como o 25-hidroxicoesterol, em esteróides gonadais. A imobilização por contenção em primatas provoca aumento da concentração plasmática de cortisol, seguido por declínio da concentração de testosterona (SAPOLSKY, 1985). Bambino e HSUEH (1981) também demonstraram o efeito depressor do cortisol, no nível plasmático de testosterona produzida em testículos de ratos *in vitro*, e concluem que a ação é direta no testículo, mas que outras rotas podem estar envolvidas nesse processo.

Em peixes, a influência do cortisol na depressão da atividade reprodutiva ainda permanece incerta. Segundo CARRAGHER *et al.* (1989), o cortisol liberado em situações de estresse tem efeito deletério na reprodução, evidenciado pela redução de vários parâmetros reprodutivos de truta arco-íris (*O. mykiss*) e truta marrom (*S. trutta*) tratadas com cortisol exógeno. Os autores não descartam a possi-

bilidade de que muitos desses efeitos sejam decorrentes da queda da condição geral do peixe, quando exposto a elevação crônica de corticosteróides. Entretanto afirmam que o cortisol tem efeito direto na liberação de hormônios reprodutivos para os tecidos alvo.

PICKERING *et al.* (1987) demonstraram que tanto o estresse agudo, quanto o crônico causam supressão da concentração dos andrógenos, testosterona e 11-cetotestosterona circulantes em machos sexualmente maduros de truta marrom (*S. trutta*). Tais autores ainda comentam que as conseqüências biológicas do estresse na reprodução podem se expressar por alterações tanto no comportamento reprodutivo quanto na quantidade e qualidade dos gametas.

PICKERING (1989) sugeriu que a elevação crônica de cortisol suprime diversos processos endócrinos que controlam a maturação sexual em machos e fêmeas, resultando numa redução significativa do tamanho das gônadas e conseqüentemente, do índice gônado-somático (IGS).

CARRAGHER e SUMPTER (1990) observaram, *in vitro*, efeito supressivo do cortisol na secreção de 17 $\beta$ - estradiol e testosterona em folículos ovarianos de truta arco-íris (*O. mykiss*). No mesmo trabalho, algumas preparações de folículos responderam a doses de cortisol de cerca de 100 ng/ml e outros somente o fizeram quando a dose foi aumentada para próximo de 1000 ng/ml. Tomando esses dados conjuntamente, os autores sugeriram que a variabilidade nas respostas pode ocorrer por outros fatores inerentes aos peixes doadores dos folículos, como, por exemplo, experiência anterior em situações estressantes, e levantaram a hipótese de que a ação ocorre em algum ponto mais inicial da via esteroidogênica ou devido a depressão geral do sistema secretório dos peixes e que o efeito pode se verificar diretamente nos folículos ou por rota indireta.

POTTINGER e PICKERING (1990) demonstraram em truta arco-íris (*O. mykiss*) que o cortisol reduz o número de sítios de ligação para o estradiol no fígado, diminuindo assim a vitelogênese.

Por outro lado, PANKHURST; VAN DER KRAAK; PETER (1995) levantam uma dúvida sobre o efeito do cortisol na reprodução. Numa série de experimentos *in vitro*, em que folículos ovarianos de três espécies, *Cyprinus carpio*, *Carassius auratus* e *Pagrus auratus*, foram incubados com ou sem cortisol, com GtH, testosterona ou 25-hidroxicolessterol (25OHC),

não houve evidência de que o cortisol inibe diretamente a esteroidogênese ovariana. Os autores, porém, não descartaram o envolvimento do cortisol na inibição da reprodução e especularam que outros hormônios, secretados em resposta ao estresse, devam estar envolvidos nessa depressão da reprodução.

### 3. Aspectos práticos

Várias situações comuns na aqüicultura moderna são potenciais causadoras de estresse nos peixes. À medida que a produção de peixes vai crescendo e se intensificando, o potencial estressante dos manejos usuais e rotineiros aumenta. As respostas fisiológicas comentadas nesta revisão foram desenvolvidas durante a evolução dos peixes em condições naturais. Com os manejos impostos pelo homem na produção comercial de pescado, muitas vezes a resposta ao estresse torna-se extremamente deletéria à saúde dos peixes e à rentabilidade do empreendimento.

Existem várias situações que podem provocar uma resposta ao estresse, mas entre as causas mais comuns, associadas à aqüicultura, estão:

1. Arraçoamento - quando feito em frequência e quantidades incorretas ou em um só ponto do tanque. A disputa pelo alimento e pelo local de alimentação gera estresse.
2. Povoamento - a não observação do período de adaptação a temperatura, o manuseio dos alevinos com brutalidade e a introdução dos peixes em épocas em que o ambiente é hostil, ou quando o viveiro não está estabilizado são fatores estressantes.
3. Superpopulação - povoamento dos tanques com mais peixes do que podem suportar: a superpopulação "per se", a restrição espacial, e a deterioração da qualidade de água, que pode ocorrer em altas densidades, são fatores causadores de estresse.
4. Transporte - mesmo em boas condições é causador de estresse, mas se feito de maneira incorreta, se destaca como o estressor agudo mais nocivo da aqüicultura: transportes por longos períodos, em dias muito frios ou muito quentes, em densidades exageradas, com água de má qualidade, com introdução de quantidade insuficiente de oxigênio, com manuseio brutal e estando os peixes sem período de jejum.
5. Baixo nível de oxigênio dissolvido na água causa estresse crônico, afetando a taxa de crescimento dos animais em cultivo.

6. Mudanças de pH e pH incorreto - mudanças bruscas são fatores estressantes agudos e pH incorreto durante o cultivo é fator estressante crônico.
7. Mudanças bruscas de temperatura - importante na estocagem dos aleviões e na transferência de qualquer peixe de tanque (manejo de reprodutores por exemplo).
8. Situações que mantenham os peixes em alerta ou provoquem susto repentino - barulho excessivo na margem do tanque, movimentação excessiva de pessoas e veículos.
9. Esforço forçado - manutenção dos peixes por longos períodos nas embalagens de transporte, mesmo em condições ideais e manuseio de reprodutores fora da água por muito tempo ou de maneira bruta, caracterizam-se como esforço forçado
10. Lesões - a presença de lesões, além de ser causadora de estresse, constitui-se em porta de entrada para patógenos.
11. Presença de agentes tóxicos na água - captação de água contaminada com pesticidas e herbicidas, depósitos de embalagens vazias próximo ao açude ou que contaminem o lençol freático. Quando a substância tóxica não está em quantidade suficiente para causar mortalidade de peixes, causa estresse e a conseqüente imunossupressão.

### Conclusões

Apenas um pequeno percentual das mais de 20.000 espécies de peixes teleósteos existentes no planeta foi pesquisado. As espécies de interesse comercial vêm recebendo grande atenção, devido ao potencial prejuízo que o estresse causa nas criações.

Dentre as espécies pesquisadas há uma enorme variabilidade de respostas, tanto em relação à magnitude e à duração da resposta quanto aos efeitos desta no organismo dos peixes.

Nota-se, na literatura, um consenso quanto às principais conseqüências do estresse (imunossupressão, queda de taxa de crescimento e ganho de peso e piora do desempenho reprodutivo) e uma tendência para as pesquisas futuras em procurar descobrir como estas conseqüências ocorrem e de que maneira podem ser bloqueadas ou diminuídas.

Os piscicultores precisam ter em mente que (1) os estoques de peixes usados em aquicultura precisam estar no melhor estado de saúde possível; (2) entre os manejos seja dado tempo suficiente para a recuperação dos peixes, a fim de evitar os efeitos do chamado "estresse cumulativo"; (3) certas condições

ambientais, como a temperatura, podem exacerbar a resposta ao estresse; (4) certas espécies ou fases da vida de peixes são mais sensíveis ao estresse que outras; (5) e, por isso, é necessário conhecer a fundo a espécie de peixe que se cultiva; (6) a solução e a prevenção do estresse na piscicultura é de extrema importância para que se atinja o resultado esperado.

### Referências Bibliográficas

- AOTA, S.; HOLMGREN, K.D.; GALLAGHER, P. 1990 A possible role for catecholamines in the ventilatory responses associated with internal acidosis or external hypoxia in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Experimental Biology*, Cambridge, 151:51-57.
- BALM, P.H.M.; LAMBERT, J.D.G.; WENDELAAR BONGA, S.E. 1989 Corticosteroid biosynthesis in the interrenal cells of the teleost fish, *Oreochromis mossambicus*. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 76:53-62.
- BAMBINO, T.H. E HSUEH, A.J.W. 1981 Direct inhibitory effect of glucocorticoids upon testicular luteinizing hormone receptor and steroidogenesis *in vivo* and *in vitro*. *Endocrinology*, Baltimore, 108:2142-2148.
- BARCELLOS, L.J.G.; SOUZA, S.M.G.; LUCERO, L.F. 1997 Estudos preliminares sobre o cortisol sérico em resposta ao estresse em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 24: 239-245.
- \_\_\_\_\_; NICOLAIEWSKY, S.; SOUZA, S.M.G. DE; LULHIER, F. 1999a Plasmatic levels of cortisol in the response to acute stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) previously exposed to chronic stress. *Aquaculture Research*, Stirling, 30 (6):437-445.
- \_\_\_\_\_; NICOLAIEWSKY, S.; SOUZA, S.M.G. DE; LULHIER, F. 1999b The effects of stocking density and social interaction on acute stress response and body weight in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Aquaculture Research*, Stirling, 30(11/12): 887-892.
- \_\_\_\_\_; WOEHLE, V.M.; WASSERMANN, G.F.; QUEVEDO, R.M.; ITTIZÉS, I.; KRIEGER, M.H. 2000 Plasmatic levels of cortisol and glucose in the response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard, Pisces, Teleostei), a South American catfish. *Aquaculture Research*, Stirling (no prelo).
- BARTON, B.A. E IWAMA, G.K. 1991 Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Reviews of Fish Diseases*, Vancouver, 10:3-26.

- BARTON, A.B.; PETER, R.E.; PAULENCU, C.R. 1980 Plasma cortisol levels of fingerlings rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at rest, and subjected to handling, confinement, transport and stocking. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Ottawa, 37: 805-811.
- \_\_\_\_\_; BOLLING, H. 1996 Paddlefish, *Polydon spathula*, exhibit low physiological responses to various handling stressors. In: WORLD AQUACULTURE SOCIETY, 1996, San Francisco. *Resumos...*, San Francisco.
- \_\_\_\_\_; SCHRECK, C.B.; BARTON, L.D. 1987 Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress response in juvenile rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2:173-185.
- \_\_\_\_\_; WEINER, G.S.; SCHRECK, C.B. 1985 Effect of prior acid exposure on physiological responses of juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to acute handling stress. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Ottawa, 42: 710-719.
- BUTLER, D.G. 1968 Hormonal control of gluconeogenesis in the North American eel (*Anguilla rostrata*). *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 10: 85-91.
- CARBALLO, M.; MUNOZ, M.J.; CUELLAR, M.; TARAZONA, J.V. 1995 Effects of waterborne copper, cyanide, ammonia, and nitrite on stress parameters and changes in susceptibility to saprolegniosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Applied Environmental Microbiology*, Washington, 61(2): 2108-2112.
- CARRAGHER, J.F. e SUMPSTER, J.P. 1990 The effect of cortisol on the secretion of sex steroids from cultured ovarian follicles of rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 77:403-407.
- CARRAGHER, J.F.; SUMPSTER, J.P.; POTTINGER, T.G.; PICKERING, A.D. 1989 The deleterious effects of cortisol implantation on reproductive function in two species of trout, *Salmo trutta* and *Salmo gairdneri* Richardson. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 76:310-320.
- CHAN, D.K.O. e WOO, N.Y.S. 1978 Effect of cortisol on the metabolism of the eel, *Anguilla japonica*. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 35: 205-215.
- DANULAT, E. e MOMMSEM, T. 1990 Norepinephrine: a potent activator of glycogenolysis and gluconeogenesis in rockfish hepatocytes. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 78: 12-22.
- DAVIS, K.B.; TORRANCE, P.; PARKER, N.C.; SHUTTLE, M.A. 1985 Growth, body composition, and hepatic tyrosine aminotransferase activity in cortisol feed channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. *Journal of Fish Biology*, Londres, 27: 177-184, 1985.
- DICKSON, W.M. 1984 Endocrinologia, Reprodução e Lactação. In: SWENSON, M.J. (Ed.) *Fisiologia dos Animais Domésticos*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1984. p.659-745.
- FAGERLUND, U.H.M.; MC BRIDE, J.R.; STONE, E.T. 1981 Stress-related effects of hatchery rearing density on coho salmon. *Transactions of American Fisheries Society*, Bathesda, 110: 644-649.
- FENSKE, M. 1997 Role of cortisol in the ACTH-induced suppression of testicular steroidogenesis in guinea pigs. *Journal of Endocrinology*, Cambridge, 154: 407-414.
- FERNANDES, M.O. e VOLPATO, G.L. 1993 Estresse social e crescimento em peixes. *Anais de Etologia*, Bauru, 11:129-141.
- FOO, J.T.W. e LAM, T.J. 1993 Serum cortisol response to handling stress and the effect of cortisol implantation on testosterone level in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture*, Amsterdã, 115: 145-158.
- FREEMAN, H.C. e IDLER, D.R. 1973 Effects of corticosteroids on liver transaminases in two salmonid, the rainbow trout (*Salmo gairdnerii*) and the brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 20: 69-75.
- FRYER, J.N. 1975 Stress and adrenocorticosteroids dynamics in the goldfish, *Carassius auratus*. *Canadian Journal of Zoology*, Ottawa, 53: 1012-1020.
- FRYER, J.N. e PETER, R.E. 1977 Hypothalamic control of ACTH secretion in goldfish. III. Hypothalamic cortisol implant studies. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 33: 215-225.
- GONÇALVES, E. 1993 *Estratégias territoriais e reprodutivas da tilápia-do-Nilo (Oreochromis niloticus)*. Botucatu, SP. 90p. (Dissertação de Mestrado em Zoologia) Instituto de Biociências, Universidade Estadual. Paulista, Botucatu.
- INCE, B.W. e THORPE, A. 1977 Plasma insulin and glucose responses to glucagon and catecholamines in the

- European silver eel (*Anguilla anguilla* L.). *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 33: 453-459.
- IWAMA, G.K. 1993 *Intensive fish production: Course Manual* UBC Access Guided Independent Study. Vancouver: The University of British Columbia, p.130.
- KEBUS, M.J.; COLLINS, M.T.; BROWNFIELD, M.S.; AMUNDSON, C.H.; KAYES, T.B.; MALISON, J.A. 1992 Effects of rearing density on stress response and growth of rainbow trout. *Journal of Aquatic Animal Health*, Bathesda, 4:1-6.
- KRIEGER-AZZOLINI, M.H.; DELATTRE, E.; CAROLSFELD, J.; CECCARELLI, P.; MENEZES, F.V. 1989 A time-course study of physiological indicators of handling stress in tropical fish *Piaractus mesopotamicus* (Pacu). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, São Paulo, 22:1019-1022.
- LEACH G.J. e TAYLOR, M.H. 1980 The role of cortisol in stress induced metabolic changes in *Fundulus heteroclitus*. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 42: 219-227.
- LEACH, G.J. e TAYLOR, M.H. 1982 The effects of cortisol treatment on carbohydrate and protein metabolism in *Fundulus heteroclitus*. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 48: 76-83.
- MAULE, A.G.; TRIPP, R.A.; KAATTARI, S.L.; SCHRECK, C.B. 1989 Stress alters immune function and disease resistance in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Journal of Endocrinology*, Cambridge, 120: 135-142.
- MAYER-GOSTAN, N.; WENDELAAR BONGA, S.E.; BALM, P.H.M. 1987 Mechanisms of hormone actions on gill transport. In PANG, P.K.T. and SCHEREIBMAN, M.P. *Vertebrate Endocrinology: Fundamentals and Medical Implications*. Orlando: Academic Press, 1987. p.211-213.
- MCLEAY, D.J. 1973 Effects of ACTH on the pituitary-interrenal axis and abundance of white blood cell types in juvenile coho salmon, (*Oncorhynchus kisutch*). *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 21:431-440.
- MESA, M.G. 1994 Effects of multiple acute stressors on the predator avoidance ability and physiology of juvenile chinook salmon. *Transactions of American Fisheries Society*, Bathesda, 123 (5): 786-793.
- MORGAN, J.D.; SAKAMOTO, T.; GORDON GRAU, E.; IWAMA, G.K. 1997 Physiological and respiratory responses of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to salinity acclimation. *Comparative Biochemistry Physiology*, Vancouver, 117A (3): 391-398.
- OTTOLINGHI, J.C.; PUVIANI, A.C; GAVIOLI, M.E.; BRIGHENTI, L. 1985 Epinephrine effect on carbohydrate metabolism in isolated and perfused catfish liver. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 59: .219-229.
- PANKHURST, N.W.; VAN DER KRAAK, G.; PETER, R.E. 1995 Evidence that the inhibitory effects of stress on reproduction in teleost fish are not mediated by the action of cortisol on ovarian steroidogenesis. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 99: 249-257.
- PATIÑO, R.; REDDING, J.M.; SCHRECK, C.B. 1987 Interrenal secretion of corticosteroids and plasma cortisol and cortisone concentrations after acute stress and during seawater acclimation in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 68: 431-439.
- PICKERING, A.D. 1984 Cortisol induced lymphocytopenia in brown trout, *Salmo trutta*. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 21:441-450.
- PICKERING, A.D. 1989 Environmental stress and the survival of brown trout, *Salmo trutta*. *Freshwater Biology*, Oxford, 21 (1): 47-56.
- PICKERING, A.D. e POTTINGER, T.G. 1989 Stress response and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiology and Biochemistry*, Amsterdam, 7 (6): 253-258.
- PICKERING, A.D.; POTTINGER, T.G.; CARRAGHER, J.F.; SUMPTER, J.P. 1987 The effects of acute and chronic stress on the levels of reproductive hormones in the plasma of mature male brown trout, *Salmo trutta*. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 68: 249-259.
- POST, G. 1987 *Textbook of fish health*. 2.ed., Los Angeles: T.H.F. 480p.
- POTTINGER, T.G. e PICKERING, A.D. 1990 The effect of cortisol administration on hepatic e plasma estradiol binding capacity in immature female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 80: 264-273.
- POTTINGER, T.G. e MOSUWE, E. 1994 The corticosteroidogenesis response of brown trout alevins and fry to environmental stress during a "Critical Period". *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 95:350-362.

- ROTLANT, J. e TORT, L. 1997 Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. *Journal of Fish Biology*, Londres, 51:21-28.
- SALONIUS, K. e IWAMA, G.K. 1993 Effects of early rearing environment on stress response, immune function, and disease resistance in juvenile Coho (*Oncorhynchus kisutch*) and Chinook Salmon (*O. tshawytscha*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Ottawa, 50: 759-766.
- SAPOLSKY, R.M. 1985 Cortisol-induced suppression of testicular function in the wild baboon: Role of glucocorticoids. *Endocrinology*, Baltimore, 116: 2273-2278.
- SCHRECK, C.B.; MAULE, A.G.; SLATER, C.H. 1991 Stress affects the immune response and health of fish in aquicultural systems. In: INTERNATIONAL MARINE BIOTECHNOLOGY CONFERENCE, 2., 1991, Baltimore. *Program and Abstracts...* 13-16 Oct. Baltimore, USA. 1991. Resumo na base de dados Life Science, CD-ROM 1991.
- SELYE, H. 1950 Stress and the general adaptation syndrome. *British Medical Journal*, London, 1 (4667): 1383-1392.
- SHERIDAN, M.A. 1987 Effects of epinephrine and norepinephrine on lipid mobilization from coho salmon liver incubated *in vitro*. *Endocrinology*, Baltimore, 120: 2234-2239.
- SMITH, L.S. 1982 *Introduction of Fish Physiology*. Los Angeles: T.H.F., 1982. 353p.
- SPECKER, J.L. e SCHRECK, C.B. 1980 Stress responses to transportation and fitness for marine survival in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) smolts. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Ottawa, 37: 765-769.
- SUMPTER, J.P.; PICKERING, A.D.; POTTINGER, T.G. 1985 Stress-induced elevation of plasma  $\alpha$ -MSH and endorphin in brown trout, *Salmo trutta* L. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 59: 257-265.
- VAN DER BOON, J.; VAN DEN THILLART, G.E.E.J.M.; ADDINK, A.D.F. 1991 The effect of cortisol administration on intermediary metabolism in teleost fish. *Comparative Biochemistry Physiology*, Vancouver, 100<sup>A</sup> (1): 47-53.
- VIJAYAN, M.M.; BALLANTYNE, J.S.; LEATHERLAND, J.F. 1991 Cortisol-induced changes in some aspects of the intermediary metabolism of *Salvelinus fontinalis*. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 82: 476-486.
- VIJAYAN, M.M.; REDDY, P.K.; LEATHERLAND, J.F.; MOON, T.W. 1994 The effects of cortisol on hepatocyte metabolism in rainbow trout: a study using the steroid analogue RU486. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, 96: 75-84.
- WENDELAAR BONGA, (?) 1997 The stress response in Fish. *Physiological Reviews*, 77: 591-625.
- WINBERG, S. e LEPAGE, O. 1998 Elevation of brain 5HT activity, POMC expression, and plasma cortisol in socially subordinate rainbow trout. *American Journal of Physiology* n. 274 (Regulatory Integrative Comparative Physiology 43), R645-R654.