

# EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR COM CROMO TRIVALENTE EM PACU, *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887), MANTIDO EM DIFERENTES DENSIDADES DE ESTOCAGEM. PARÂMETROS FISIOLÓGICOS \*

Rodrigo Yudi FUJIMOTO<sup>1,5</sup>; Marcello Pardi de CASTRO<sup>2</sup>; Flávio Ruas de MOARES<sup>3,5</sup>; Flávio Daolio GONÇALVES<sup>4</sup>

## RESUMO

O objetivo do ensaio foi avaliar os possíveis efeitos da suplementação alimentar com cromo trivalente e do confinamento em duas densidades de estocagem, durante 30 dias, sobre o cortisol plasmático, a glicemia e o glicogênio hepático de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). Exemplares jovens de pacu foram alimentados com dieta suplementada ou não suplementada com cromo trivalente (0, 6, 12, 18 mg de cromo/kg de ração), e mantidos em duas densidades de estocagem (4 e 20 kg/m<sup>3</sup>). Os resultados demonstram que a concentração de cortisol plasmático foi maior nos peixes alimentados com dieta isenta de cromo e menor naqueles alimentados com dieta suplementada, sugerindo possível efeito antiestressante nos primeiros sete dias de ensaio. Todavia não houve diferença significativa ( $P > 0,01$ ) entre os valores de glicemia observados quando se consideram os diferentes níveis de suplementação testados e as diferentes densidades de estocagem. Porém registrou-se aumento da glicemia nos sete primeiros dias do experimento e sua posterior redução, mantendo-se constante até o final do experimento. Quinze dias após o início do ensaio observou-se diminuição do estoque de glicogênio hepático nos peixes que receberam suplementação alimentar de 6,0 mg de cromo/kg de ração, sendo o mesmo recuperado após 30 dias. Portanto, nas condições deste ensaio, a suplementação da dieta com 18 mg de cromo/kg mostrou-se interessante durante os sete primeiros dias de confinamento.

**Palavras-chave:** cortisol; glicogênio; estresse; cromo; *Piaractus mesopotamicus*

## EFFECT OF DIET SUPPLEMENTATION WITH TRIVALENT CHROMIUM ON *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887) AT DIFFERENT STOCKING DENSITIES. PHYSIOLOGICAL PARAMETERS

## ABSTRACT

The objective of the work was to evaluate the plasmatic cortisol, glicemic and hepatic glycogen levels in juvenile pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), fed diet supplemented and not supplemented with trivalent chromium (0, 6, 12, 18 mg of chromium/kg diet) and maintained at two stocking densities (4 and 20 kg/m<sup>3</sup>). It can be observed that the fish fed diet without supplementation presented higher plasmatic cortisol concentration than that fed supplemented

---

**Artigo Científico:** Recebido em 15/06/2005 - Aprovado em 28/09/2005

<sup>1</sup> Bolsista de Doutorado (Fapesp proc.: 01/01265-0) - Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos Centro de Aqüicultura da Unesp-Caunesp - e-mail: ryfujim@hotmail.com

<sup>2</sup> Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos - Centro de Aqüicultura da Unesp-Caunesp e-mail: ryfujim@hotmail.com

<sup>3</sup> Bolsista de Produtividade em pesquisa CNPq Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos - Centro de Aqüicultura da Unesp-Caunesp / Departamento de Patologia Veterinária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp e-mail: fruas@fcav.unesp.br

<sup>4</sup> Departamento de Morfologia e Fisiologia animal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp

<sup>5</sup> Endereço/Address: Rod. de acesso Paulo Donato Castelani s/n - Jaboticabal - SP- Brasil - CEP: 14870-000

diet, demonstrating an effect anti-stressing. However, there was not observed any effect ( $P > 0.01$ ) of the chromium and stocking density on the glicemic values. Fifteen days after the beginning of the experiment, a decrease of the hepatic glycogen in the level of 6 mg chromium/kg, and its recovering at the 30th day could be observed. Therefore, in the conditions of the present experiment, the diet supplementation with 18 mg chromium/kg is interesting during the first seven days.

**Key words:** cortisol; glycogen; stress; chromium; *Piaractus mesopotamicus*

## INTRODUÇÃO

A piscicultura é uma atividade rural emergente e relevante no Brasil, particularmente nos Estados do sul e sudeste. Segundo dados do Departamento de Pesca e Aqüicultura - DPA, do Ministério da Agricultura, as taxas anuais de crescimento são da ordem de 15% e deverá alcançar 300 mil t/ano, em pouco tempo. Para tanto, é necessário aumentar a produtividade, preservando a sanidade, a qualidade e o desempenho zootécnico. Assim, a condição ambiental na qual os peixes estão inseridos é relevante para seu desenvolvimento e qualidade do produto final (BORGHETTI *et al.*, 2003).

Alterações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas resultantes do estresse constituem o que SELYE (1950) denominou Síndrome Geral de Adaptação (SGA). Os eventos que compõem a SGA constituem três fases: a) a fase de alarme, na qual o organismo percebe o estímulo estressante; b) a fase de resistência, na qual o organismo responde, na tentativa de se adaptar à condição estressante, atingindo novo patamar de equilíbrio; e c) a fase de exaustão, na qual o organismo perde a capacidade de adaptação, com quebra da homeostase. Quando exposto ao agente estressor, o organismo desencadeia a SGA, que representa o conjunto de respostas neuroendócrinas, as quais culminam com a hipersecreção de adrenalina e noradrenalina pelas células cromafins e de cortisol pelo tecido interrenal (MAZEAU e MAZEAU, 1981). Estas são consideradas as respostas primárias ao estresse, interferindo na mobilização e utilização de reservas energéticas e no equilíbrio hidromineral (EDDY, 1981).

Uma vez na circulação, essas substâncias provocarão efeitos secundários, como distúrbios osmóticos com retenção dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , difusão de  $\text{K}^+$ , hiperglicemia, devido ao aumento do metabolismo nitrogenado e produção de tirosina; depressão dos mecanismos de defesa, devido à alta concentração de cortisol plasmático; e alterações do leucograma, com linfocitopenia e neutrofilia.

Como consequência da atividade simpática, há contração esplênica e aumento do ritmo respiratório e da pressão sanguínea (BARTON e IWAMA, 1991). Estímulos estressantes severos e de longa duração podem resultar no desfalque das reservas de corticosteróides e acelerar a passagem do organismo à terceira fase da SGA, a exaustão (MAZEAU *et al.*, 1977).

Em peixes, diversos indicadores são utilizados para avaliar a intensidade do estresse produzido por variada gama de estímulos, tais como a concentração de cortisol plasmático, de catecolaminas, de glicose, de lactatos, de lipídios, de eletrólitos, de proteínas, a taxa de hemoglobina, a porcentagem de hematócrito, o leucograma e a taxa de glicogênio hepático (PICKFORD *et al.*, 1971a, b, c; MAZEAU *et al.*, 1977; TOMASSO *et al.*, 1980; DAVIS e PARKER, 1986; ROBERTSON *et al.*, 1987).

O estresse crônico provocado por alta densidade populacional é comum em pisciculturas, graças à busca por maior produtividade, tendo sido descrito em peixes, como o "red porgy" (*Pagrus pagrus*) (ROTLLAND *et al.*, 1997) e o "gilthead sea bream" (*Sparus aurata*) (TORT *et al.*, 1996; MONTERO *et al.*, 1999).

O cromo é mineral essencial ao organismo, atuando no metabolismo de glicose e lipídios, e sua deficiência provoca retardo de crescimento e intolerância à glicose (HERTZ *et al.*, 1989; SANO *et al.*, 1999). A potencialização da ação da insulina é um dos efeitos relevantes da suplementação alimentar com cromo trivalente. Este constitui um dos componentes do fator de tolerância à glicose (GTF), que facilita a união da insulina com seu receptor presente na superfície celular, aumentando a sensibilidade da célula à glicose (MERTZ e ROGINSKI, 1969).

A suplementação da dieta com esse microelemento, o cromo trivalente, tende a reduzir os efeitos nocivos do estresse em espécies domésticas (MOWAT, 1997). O estresse por alta densidade de estocagem reduz o crescimento dos peixes e provoca

diminuição da atividade do sistema complemento (MONTERO *et al.*, 1999). Em razão da redução da eficiência dos mecanismos de defesa, estudos sobre técnicas para minimizar os efeitos do estresse são relevantes, e nessa abordagem destacam-se substâncias consideradas como estimuladoras desse sistema.

Em peixes, a literatura sobre a utilização de cromo como suplemento alimentar é escassa e controversa. Assim, o presente ensaio avaliou os teores de cortisol plasmático, a glicemia e os teores de glicogênio hepático em pacu, *Piaractus mesopotamicus*, submetido a duas densidades de estocagem e alimentado com dieta suplementada com carboquelato de cromo trivalente, em três diferentes níveis.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Local e acondicionamento dos peixes

Previamente ao ensaio, exemplares juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887), com peso médio de 100 gramas, foram acondicionados em tanques, em iguais densidades de estocagem, 11 kg/m<sup>3</sup>, para um período de aclimação de dez dias. Findo este período, os peixes foram distribuídos ao acaso, nas densidades iniciais de estocagem de 4 kg peixe/m<sup>3</sup> e 20 kg peixe/m<sup>3</sup>, segundo recomendações de ROTLLAND *et al.* (1997), BELO (2002) e BRUM (2003). O período em que se desenvolveu o experimento foi de 30 dias, sendo utilizadas 24 caixas de polietileno de 300 L, abastecidas continuamente com água proveniente de poço artesiano.

### Tratamentos, delineamento experimental e análise estatística

Para o ensaio foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com 24 tratamentos seguindo o esquema fatorial 4x2x3, sendo: quatro níveis de carboquelato de cromo trivalente (0, 6, 12 e 18 mg/kg), duas densidades de estocagem (4 kg/m<sup>3</sup> e 20 kg/m<sup>3</sup>) e três períodos (7, 15 e 30 dias), com três repetições.

Os resultados foram submetidos a análise de variância. Para os valores de F com diferença significativa ( $P < 0,01$ ) foi utilizado o teste de Tukey para comparação de médias em nível de 5% de probabilidade. Os dados que não apresentaram distribuição normal foram transformados em  $\log x + 0,5$  ou  $\arcsen \sqrt{x/100}$ .

### Alimentação e manejo

A dieta basal foi constituída de 26% de PB e 4.100 de EB (Tabela 1), sendo à mesma adicionado carboquelato de cromo trivalente, de acordo com o delineamento proposto. Devido à quantidade relativamente pequena de mineral a ser adicionada, foi feita, previamente, uma mistura com 10 kg da ração basal, a qual, a seguir, foi adicionada e homogeneamente misturada ao restante de cada partida. Após a homogeneização, as dietas foram pelletizadas e estocadas em sacos plásticos escuros. O suplemento vitamínico e mineral utilizado era isento de cromo.

Durante o período experimental, os peixes foram alimentados sempre às 9h, à vontade, até que não houvesse mais procura pelo alimento.

**Tabela 1.** Composição porcentual e químico-bromatológica das dietas utilizadas no experimento com pacu, *Piaractus mesopotamicus*

INGREDIENTE	(%)
Farinha de peixe	13,00
Farelo de soja	23,00
Farelo de trigo	21,00
Milho moído	25,00
Farelo de arroz	16,00
Óleo de soja	1,00
Suplemento vitamínico e mineral *	1,00
<b>Composição calculada **</b>	
Proteína Bruta (%)	26,00
Extrato Etéreo (%)	6,23
Fibra Bruta (%)	6,25
Energia Bruta (kcal/kg de ração)	4.100
Relação Ca : P	1,45 : 1

\* Composição do suplemento mineral e vitamínico (nutriente/kg): Ferro=15.000 mg; Cobre=5.000 mg; Iodo=50 mg; Manganês=17.000 mg; Zinco=12.000 mg; Selênio=70 mg; veículo=1.000 g; Vitamina A=12.000 UI; Vitamina D3=1.500 UI; Vitamina E=50 mg; Vitamina K=4 mg; Vitamina B12=7 mg; Vitamina B2=7 mg; ácido pantotênico=60 mg; ácido nicotínico=120 mg; cloreto de colina=600 mg; metionina=700 mg; antioxidante=500 mg; veículo=1.000 gramas

Premix isento de cromo

\*\* Composição calculada com base nas análises dos ingredientes segundo A.O.A.C. (1984)

### *Avaliações fisiológicas*

Para as avaliações fisiológicas, amostras de sangue de oito peixes de cada tratamento foram coletadas nos tempos: 7, 15 e 30 dias após o início do ensaio. Para isso, os peixes foram anestesiados em banho em benzocaína (1 g/20 L de água). Um volume de aproximadamente 1,5 a 2,0 ml de sangue foi retirado por meio de punção nos vasos caudais, utilizando agulhas e seringas limpas, esterilizadas e heparinizadas. Uma alíquota do sangue coletado foi destinada à determinação da glicemia pelo método descrito por KING e GARNER (1947), e o restante, centrifugado em centrífuga refrigerada, a 300 rpm, para determinação da concentração de cortisol, utilizando-se o "kit" DPC (Diagnostic Products Corporation), pelo método de radio-imunoensaio, segundo GAZOLA *et al.* (1996). Posteriormente à retirada do sangue foram coletados fragmentos de fígado de dez peixes de cada tratamento, para determinação de glicogênio hepático, segundo recomendações de CARROL *et al.* (1956).

## RESULTADOS

### *Cortisol plasmático*

Pela análise da tabela 2 pode-se verificar que os valores da concentração de cortisol circulante, registrados nos peixes submetidos às diferentes densidades de estocagem utilizadas, não apresentaram diferenças significativas entre si. Embora as diferenças não sejam estatisticamente significativas, os níveis de cortisol em peixes mantidos na maior densidade foram superiores (6,08 µg/dL) aos registrados nos peixes mantidos na menor densidade (4,99 µg/dL). Todavia, ao se analisar a tabela 3, verifica-se que, independente da densidade utilizada, os peixes alimentados com dieta suplementada com 18 mg de cromo/kg de ração apresentaram concentração de cortisol plasmático significativamente ( $P < 0,05$ ) menor (2,36 µg/dL) nos primeiros sete dias de experimento.

Após 30 dias de observações não foram constatadas diferenças significativas entre os valores dos níveis de cortisol dos peixes que receberam dieta suplementada com cromo ou daqueles do grupo sem suplementação alimentar. Mas, no decorrer do experimento houve redução significativa do cortisol nos peixes alimentados com dieta com

6 mg de cromo/kg de ração e naqueles cuja dieta não continha cromo. No grupo alimentado com dieta suplementada com 18 mg de cromo/kg ocorreu aumento da concentração de cortisol (Tabela 3).

### *Glicemia*

Os níveis glicêmicos apresentaram diferenças significativas com o decorrer do tempo, sendo que nos primeiros sete dias os valores foram mais elevados, reduzindo-se no transcorrer do experimento. Os peixes alimentados com dieta suplementada com cromo não expressaram efeitos sobre este parâmetro (Tabela 2).

### *Concentração de glicogênio hepático*

Pela tabela 2 verifica-se, ao contrário do que se ocorreu com a glicemia, que houve interações entre os níveis de cromo e as densidades de estocagem, assim como entre os níveis de cromo e os períodos de coleta, sobre a concentração de glicogênio hepático. Os desdobramentos dos efeitos dessas interações estão expressos nas tabelas 4 e 5.

A análise da tabela 4 permite constatar, em relação às densidades de estocagem, que nos peixes alimentados com dieta não suplementada com cromo, a maior densidade de estocagem (20 kg/m<sup>3</sup>) possibilitou maiores concentrações de glicogênio hepático.

A tabela 5 demonstra que, após 15 dias de experimento, os valores das concentrações de glicogênio hepático foram baixos nos peixes alimentados com dieta suplementada com 6 mg de cromo/kg (média=11,64 g/100 g) e intermediários nos peixes alimentados com dieta não suplementada ou suplementada com 12 mg de cromo/quilo. Similarmente ao que se verificou em relação à concentração de cortisol, o teor de glicogênio hepático retornou aos valores iniciais no final dos 30 dias de ensaio.

Durante 30 dias de experimento, os peixes alimentados com dieta suplementada com 12 mg de cromo/kg apresentaram aumento da concentração de glicogênio. No final do experimento (30º dia) não se constatou diferença significativa entre os valores de glicogênio apresentados tanto pelos peixes dos grupos alimentados com dieta suplementada com os diferentes níveis de cromo quanto por aqueles do grupo que recebeu dieta não suplementada (0 mg/kg) (Tabela 5).

**Tabela 2.** Valores de F, coeficiente de variação e médias obtidos na análise da concentração de cortisol plasmático ( $\mu\text{g/dL}$ ), da glicemia ( $\mu\text{g/dL}$ ) e da concentração de glicogênio hepático ( $\text{g}/100\text{ g}$ ) em exemplares jovens de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, alimentados com dieta isenta de cromo ou contendo níveis crescentes de cromo e mantidos em duas densidades de estocagem

Estatística	Variável		
	Cortisol	Glicemia	Glicogênio
F para níveis de cromo (Cr)	0,72 ns	1,93 ns	0,70 ns
F para densidade de estocagem (Ds)	2,65 ns	0,35 ns	0,51 ns
F para períodos (7, 15 e 30 dias) (Pr)	3,53 *	11,56 **	5,63 **
F para interação entre Cr X Ds	1,99 ns	0,70 ns	3,00 *
F para interação entre Cr X Pr	2,82 *	1,46 ns	3,38 **
F para interação entre Ds X Pr	1,86 ns	1,32 ns	0,17 ns
Coeficiente de variação (%)	51,08	16,36	24,23
Médias Cromo: 0 mg/kg	6,29	60,34	15,54
6 mg/kg	5,42	54,41	15,34
12 mg/kg	5,50	54,39	15,67
18 mg/kg	4,92	54,23	16,55
Médias Densidade: 4 kg/m <sup>3</sup>	4,99	55,20	15,55
20 kg/m <sup>3</sup>	6,08	56,48	16,00
Médias Período: 07 dias	5,21	63,16 a <sup>1</sup>	15,94
15 dias	6,74	52,00 b	14,39
30 dias	4,65	52,37 b	17,00

<sup>1</sup>Médias nas colunas, seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

**Tabela 3.** Efeito da interação entre nível de cromo trivalente e período de coleta sobre a concentração de cortisol plasmático ( $\mu\text{g/dL}$ ) em exemplares jovens de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, mantidos em duas densidades de estocagem e com dieta suplementada com cromo

Nível de cromo	Período		
	7 dias	15 dias	30 dias
0 mg/kg	8,18 Aa <sup>1</sup>	6,63 Aba	4,16 Ba
6 mg/kg	4,82 ABab	8,01 Aa	3,44 Ba
12 mg/kg	5,48 Aab	5,08 Aa	5,94 Aa
18 mg/kg	2,36 Bb	7,25 Aa	5,14 Aba

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste de Tukey (nas colunas, letras minúsculas, e nas linhas, letras maiúsculas). Médias originais

**Tabela 4.** Efeito da interação entre nível de cromo e densidade de estocagem sobre a concentração de glicogênio hepático ( $\text{g}/100\text{ g}$ ) em exemplares jovens de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, mantidos em duas densidades de estocagem e com dieta suplementada com cromo

Nível de cromo	Densidade de estocagem	
	4 kg/m <sup>3</sup>	20 kg/m <sup>3</sup>
0 mg/kg	22,22 (14,01) Ba <sup>1</sup>	24,72 (17,08) Aa
6 mg/kg	22,40 (14,59) Aa	23,90 (16,09) Aa
12 mg/kg	23,98 (16,28) Aa	22,60 (15,06) Aa
18 mg/kg	24,90 (17,31) Aa	23,63 (15,79) Aa

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste de Tukey (nas colunas, letras minúsculas, e nas linhas, letras maiúsculas). Médias originais estão apresentadas entre parênteses, em g/100 gramas.

**Tabela 5.** Efeito da interação entre nível de cromo e período de coleta sobre a concentração de glicogênio hepático (g/100 g) em exemplares jovens de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, mantidos em duas densidades de estocagem e com dieta suplementada com cromo

Nível de cromo	Período		
	7 dias	15 dias	30 dias
0 mg/kg	24,04 (16,19) Aa <sup>1</sup>	23,37 (14,91) Aab	23,00 (15,52) Aa
6 mg/kg	23,93 (16,01) Aa	19,79 (11,64) Bb	25,73 (18,37) Aa
12 mg/kg	22,27 (14,20) Ba	21,78 (14,23) Bab	25,82 (18,57) Aa
18 mg/kg	24,73 (17,34) Aa	24,53 (16,79) Aa	23,54 (15,53) Aa

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste de Tukey (nas colunas, letras minúsculas, e nas linhas, letras maiúsculas). Médias originais estão apresentadas entre parênteses.

## DISCUSSÃO

A busca por nutrientes e técnicas de manejo que possam diminuir os efeitos nocivos do estresse é relevante e necessária. Nos últimos anos, novas evidências estão trazendo mais clareza sobre as propriedades do cromo, que, antes tratado como substância tóxica, tem-se mostrado nutriente essencial tanto para o homem como para outros animais (NON BURG e LIU, 1993).

No presente estudo, os resultados das avaliações das respostas fisiológicas de exemplares de pacu mantidos em diferentes densidades de estocagem sugerem que após sete dias de exposição houve adaptação às condições a que foram submetidos. Verificou-se menor concentração de cortisol plasmático nesse tempo, com 18 mg de cromo/kg, e após 30 dias os resultados não diferiram estatisticamente entre si. Esses resultados estão de acordo com os de TORT *et al.* (1996), que mantiveram “sea bream” (*Sparus aurata*) em alta densidade de estocagem (22 kg/m<sup>3</sup>) e verificaram que a partir do quinto dia não houve diferença significativa entre as concentrações sanguíneas de cortisol e de glicose em relação aos peixes mantidos em densidade mais baixa (7 kg/m<sup>3</sup>). A diminuição da concentração de cortisol plasmático deve-se à retroalimentação negativa do eixo hipotálamo-pituitária-interrenal, a qual impede a liberação contínua deste hormônio (FRYER e PETER, 1977).

A resposta ao estresse depende de vários fatores, como a espécie considerada, o tipo, a duração e a intensidade do estímulo estressante. Segundo ROTLLAND e TORT (1997), os níveis de cortisol em peixes não adaptados ao cativeiro são mais elevados que aqueles apresentados por peixes de cativeiro, quando submetidos a alta densidade de estocagem. Durante os primeiros 23 dias de estocagem, exemplares selvagens de “red porgy” (*Pagrus pagrus*)

apresentaram altas concentrações de cortisol plasmático. Diante dessas observações, deve-se considerar que pacu criado em cativeiro por várias gerações, vivendo em constante interação social de cardume, possa alcançar a fase de adaptação mais precocemente, minimizando os efeitos benéficos do cromo trivalente em tal situação. Em apoio a esses resultados, BELO (2002) e BRUM (2003), utilizando o mesmo modelo experimental e a mesma espécie de peixe, em ambiente similar, verificaram aumento dos teores de cortisol plasmático nos primeiros sete dias, mas não em períodos posteriores. Ainda, BELO (2002) e BRUM (2003) observaram que os níveis glicêmicos não diferiram e mantiveram-se relativamente baixos. ROTLLAND *et al.* (1997) constataram aumento dos níveis de cortisol plasmático em “red porgy” (*P. pagrus*) submetido a alta densidade de estocagem (20 kg/m<sup>3</sup>) por 23 dias, porém não observaram diferenças nos valores de glicemia.

FIGUEIREDO-GARUTTI (1996) observou aumento do peso do fígado de pacu alimentado com dieta suplementada com cromo, atribuindo isso ao fato de que o cromo, por potencializar a ação da insulina, poderia permitir acúmulo de glicogênio hepático. Neste ensaio, entretanto, tal fenômeno não foi observado. SHIAU e LIN (1993) registraram valores mais elevados dos teores de glicogênio hepático em tilápias *O. niloticus* alimentadas com dieta suplementada com cromo. A diminuição do peso do fígado pode estar relacionada à utilização do glicogênio em resposta à condição de alta densidade. Contudo, é possível que a diminuição do teor de glicogênio ocorra durante as primeiras horas, e que os níveis sejam repostos e voltem à normalidade rapidamente. Embora a diferença não seja significativa, a concentração de cortisol circulante foi maior nos peixes mantidos na densidade de 20 kg/m<sup>3</sup>, sugerindo resposta a esta alta densidade.

Segundo BARTON e IWAMA (1991), o aumento do tamanho do fígado, que ocorre frente a alguns estímulos estressantes, parece resultar da ação dos níveis aumentados de cortisol, que estimulam a deposição de glicogênio.

Assim, os resultados deste ensaio tomados em conjunto sugerem que o cromo possa exercer ações benéficas no organismo de peixes mantidos em alta densidade de estocagem. A utilização de cromo como suplemento alimentar (18 mg de cromo/kg) nos primeiros sete dias desta pesquisa mostrou-se benéfica, pois os peixes apresentaram menor concentração de cortisol plasmático e reposição do glicogênio hepático no 15º dia de experimento. Diante disso, a suplementação alimentar com cromo trivalente pode ser útil, quando aplicada nos períodos que antecedem manejos estressantes.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. 1984 *Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*. Washington: Association of Official Agricultural Chemists. 975p.
- BARTON, B. e IWAMA, G. 1991 Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Review of Fish Disease*. p.3-61.
- BELO, M.A.A. 2002 *Efeito do estresse e da suplementação alimentar com vitamina E sobre a formação de gigantócitos em lamínulas de vidro implantadas no tecido subcutâneo de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887*. Jaboticabal. 65p. (Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista).
- BORGHETTI, N.R.B.; OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R. 2003 *Aqüicultura. Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo*. Curitiba.
- BRUM, C. 2003 *A vitamina C favorece a formação de macrófagos policariontes em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 mantido em diferentes densidades*. Jaboticabal. 58p. (Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista).
- CARROL, N.V.; LONGLEY, W.; ROE, J.H. 1956 The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent. *J. Biol. Chem.*, 220: 583-593.
- DAVIS, K.B. e PARKER, N.C. 1986 Plasma corticosteroid stress response of fourteen species of warmwater fish to transportation. *Transactions of the American Fisheries Society*, 115: 495-499.
- EDDY, F.B. 1981 Effects of stress on osmotic and ionic regulation in fish. In: PICKERING, A.D. (Ed.). *Stress and Fish*. London/New York: Academic Press. p.77-102.
- FIGUEIREDO-GARUTTI, M.L. 1996 *Carboidrato como fonte de energia e a ação do cromo trivalente e da insulina em pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Pisces, Characidae)*. Jaboticabal. (Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista).
- FRYER, J.N. e PETER, R.E. 1977 Hypothalamic control of ACTH secretion in goldfish. III. Hypothalamic cortisol implant studies. *General and comparative endocrinology*, 33: 215-225
- GAZOLA, R.; BORELA, M.I.; DONALDSON, E.M., VAL-SELLA, M.V.; SUKUMASAVIN, N.; FAVA-de-MORAES, F.; BERNARDINO, G. 1996 Plasma steroid and corticosteroid levels in female pacu *Piaractus mesopotamicus*, Teleostei-Characidae. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29(5): 659-664.
- HERTZ, Y.; MADAR, Z.; HEPHER, B.; GERTLER, A. 1989 Glucose metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio*): the effects of cobalt and chromium. *Aquaculture*, 76: 255-267.
- KING, E.J. e GARNER, R.J. 1947 Colorimetric determination of glucose. *J. Chem. Pathol.*, 1: 30-33.
- MAZEAU, M.M. e MAZEAU, F. 1981 Adrenergic response to stress in fish. In: PICKERING, A.D. (Ed.). *Stress and Fish*. London/New York: Academic Press. p.49-75.
- MAZEAUD, M.M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E.M. 1977 Primary and secondary effects of stress in fish: Some new data with a general review. *Transactions of the American Fisheries Society*, 106(3): 201-212.
- MERTZ, W. e ROGINSKI, E.E. 1969 Effect of chromium III supplementation on growth and survival under stress in rats feed low-protein diets. *Journal of Nutrition*, 97: 531-536.

- MONTERO, D.; MARRERO, M.; IZQUIERDO, M.S.; ROBAINA, L.; VERGARA, J.M.; TORT, L. 1999 Effects of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*S. aurata*) juveniles subject to crowding stress. *Aquaculture*, 171: 269-278.
- MOWAT, D.N. 1997 *Organic chromium in animal nutrition. Chromium books.* Ontario: Guelph.
- NON BURG, R. e LIU, D. 1993 Toxicology update: Chromium and hexavalent chromium. *Journal of Applied Toxicology*, 13(3): 225-230.
- PICKFORD, G.E.; SRIVASTAVA, A.K.; SLICHER, A.M.; PANG, P.K.T. 1971a The stress response in the abundance of circulating leucocytes in the killifish, *Fundulus heteroclitus*. I. The cold-shock sequence and the effects of hypophysectomy. *Journal of Experimental Zoology*, 177: 89-96.
- PICKFORD, G.E.; SRIVASTAVA, A.K.; SLICHER, A.M.; PANG, P.K.T. 1971b The stress response in the abundance of circulating leucocytes in the Killifish, *Fundulus heteroclitus*. II. The role of catecholamine. *Journal of Experimental Zoology*, 177: 97-108.
- PICKFORD, G.E.; SRIVASTAVA, A.K.; SLICHER, A.M.; PANG, P.K.T. 1971c The stress response in the abundance of circulating leucocytes in the Killifish, *Fundulus heteroclitus*. III. The role of the adrenal cortex and a concluding discussion of the leucocyte-stress syndrome. *Journal of Experimental Zoology*, 177: 109-118.
- ROBERTSON, L.; THOMAS, P.; ARNOLD, C.R.; TRANT, J.M. 1987 Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling transport, rearing density, and a disease outbreak. *Progress of Fish Culture*, 49: 1-12.
- ROTLLAND, J.; PAVLIDIS, M.; KENTOURI, M.; ABAD, M.E.; TORT, L. 1997 Non-specific immune responses in the red porgy *Pagrus pagrus* after crowding stress. *Aquaculture*, 156: 279-290.
- ROTLLAND, J. e TORT, L. 1997 Cortisol and glucose response after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously to subject crowding stress. *J. Fish Biol.*, 51: 21-28.
- SANO, H.; KATO, Y.; TAKEBAYASHI, A.; SHIGA, A. 1999 Effects of supplemental chromium and isolation stress on the tissue responsiveness and sensitivity to insulin in sheep. *Small ruminant research*, 33: 239-246.
- SELYE, H. 1950 Stress and general adaptation syndrome. *British Medical Journal*, 1(4667): 1383-1392.
- SHIAU, S. e LIN, S. 1993 Effect of supplemental dietary chromium and vanadium on the utilization of different carbohydrates in tilapia, *O. niloticus* X *O. aureus*. *Aquaculture*, 110: 321-330.
- TOMASSO, J.R.; DAVIS, K.B.; PARKER, N.C. 1980 Plasma corticosteroid and electrolyte dynamic of hybrid striped bass (white bass x striped bass) during netting and hauling. *Journal of World Mariculture Society*, 11: 303-310.
- TORT, L.; SUNYER, J.O.; GOMEZ, E.; MOLINERO, A. 1996 Crowding stress induces changes in serum hemolytic and agglutinating activity in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 51: 179-188.