

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG

**TRANSPORTE DE KILLIFISH (*Hypsolebias flagellatus*): EFEITO DO  
USO DE SAL E DA ALIMENTAÇÃO PRÉVIA ASSOCIADO AO  
TEMPO DE TRANSPORTE**

CAMILA OLIVEIRA PARANHOS

BELO HORIZONTE  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
2019

CAMILA OLIVEIRA PARANHOS

**TRANSPORTE DE KILLIFISH (*Hypsolebias flagellatus*): EFEITO DO  
USO DE SAL E DA ALIMENTAÇÃO PRÉVIA ASSOCIADO AO  
TEMPO DE TRANSPORTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para Obtenção do grau de Mestre em Zootecnia

Área de concentração: Produção Animal/Aquacultura

Prof. Orientador: Dr. Ronald Kennedy Luz

BELO HORIZONTE  
ESCOLA DE VETERINÁRIA – UFMG  
2019

P223t Paranhos, Camila Oliveira, 1990-  
Transporte de Killifish (*Hypsolebias Flagellatus*): efeito do uso de sal e da alimentação prévia associado de transporte / Camila Oliveira Paranhos. – 2019.  
41 f.:il

Orientador: Ronald Kennedy Luz  
Dissertação (Mestrado) Apresentado a Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

1. Killifish - Teses – 2. Peixe ovíparas - Teses – 3. *Hypsolebias* – Teses – I. Luz, Ronald Kennedy - II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – IV. Título.

CDD – 636. 089



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

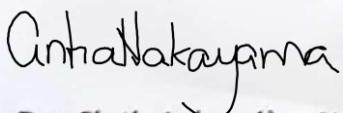
### FOLHA DE APROVAÇÃO

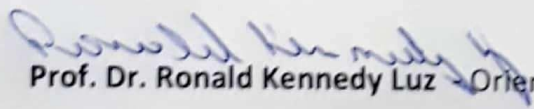
Transporte de killifish (*Hypsolebias flagellatus*): efeito do uso de sal e da alimentação prévia associado ao tempo de transporte

**CAMILA OLIVEIRA PARANHOS**

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **onze de fevereiro de dois mil e dezenove**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais, constituída pelos seguintes professores:

  
**Profa. Dra. Gisele Cristina Favero**  
Universidade Federal de Minas Gerais

  
**Profa. Dra. Cintia Labussière Nakayama**  
Universidade Federal de Minas Gerais

  
**Prof. Dr. Ronald Kennedy Luz** - Orientador  
Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte, 11 de fevereiro de 2019.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais Luiza e Paulo; pela confiança e amor em mim depositados.

À minha Irma Paula por todo incentivo e amizade.

## AGRADECIMENTOS

Á Deus pela força para superar todos os obstáculos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro de projetos.

Ao Professor Dr. Ronald Kennedy Luz, pela orientação, oportunidade, ensinamentos, confiança e apoio imprescindíveis.

Á Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte pela doação dos ovos de *H. flagellatus* utilizados na realização deste trabalho.

Ao Luciano Medeiros Araújo pela importante colaboração na realização do presente trabalho.

Aos amigos Walisson de Souza e Silva e Luanna do Carmo Neves pela amizade, apoio e ajuda na preparação e condução do experimento.

À equipe de larvicultura, do Laboratório de Aquicultura (LAQUA) por toda convivência e suporte.

Aos demais colegas de pós-graduação e amigos do LAQUA por toda troca de conhecimento e melhores momentos.

Às professoras, Gisele Cristina Fávero e Cintía Labussière Nakayama pela participação na banca de defesa.

Aos demais mestres do Departamento de Zootecnia (Escola de Veterinária) por toda sabedoria compartilhada.

À todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

O termo killifish é uma classificação genérica de todas as espécies de peixes ovíparas da ordem cyprinodontiformes. Os killifishes anuais tem seu desenvolvimento direto ou por diapausas. Apesar do interesse ornamental, trabalhos sobre o transporte do gênero *Hypsolebias* ainda são escassos. O objetivo deste estudo foi avaliar a sobrevivência e qualidade de água no transporte individual de *Hypsolebias flagellatus*, testando diferentes concentrações de sal na água (experimento I) e avaliando diferentes tempos de transporte associados a diferentes dietas prévias (experimento II). Para o experimento I, foram utilizados 40 killifishes machos (peso de  $1,38 \pm 0,83$ g), previamente alimentados com ração contendo 46% de PB. Foram testadas as seguintes concentrações de sal na água: 0 (controle), 2, 4 e 6 g de sal/L, durante 12 horas de transporte simulado. O experimento foi composto por 10 repetições por tratamento em um delineamento inteiramente casualizado. Para o experimento II, foram utilizados 30 machos previamente alimentados com ração (peso de  $0,68 \pm 0,27$ g) e 30 previamente alimentados com artêmia ( $1,48 \pm 1,00$ g). Os animais foram submetidos a três diferentes tempos simulados de transporte: 12, 24 e 48 horas. O delineamento do experimento II foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x3) representando seis tratamentos com 10 repetições. Os animais de ambos os experimentos passaram por um jejum de 24 horas antes de iniciar o transporte. Para o experimento I as diferentes salinidades não afetaram a sobrevivência dos animais durante as 12 horas de transporte e 96 horas pós transporte, sendo a sobrevivência de 100%. Não foram registradas diferenças ( $P > 0,05$ ) nos valores de amônia total, temperatura e pH. Os valores de oxigênio dissolvido foram superiores ( $P < 0,05$ ) no transporte contendo 4 g de sal/L e inferiores em água doce. Para o experimento II, a sobrevivência após a abertura dos sacos de transporte também foi de 100%. Após 96 horas de estocados nos tanques, a sobrevivência média foi de 78%, não sendo registrada diferenças entre os tratamentos e a interação entre eles ( $P > 0,05$ ). Para o pH não houve efeito do tempo de transporte e da interação entre os fatores ( $P > 0,05$ ), sendo maior ( $P < 0,05$ ) quando os animais foram previamente alimentados com ração. Os valores de amônia total foram superiores ( $P < 0,05$ ) no tratamento com 24 horas de transporte e alimentação prévia com artêmia e em ambos tratamentos submetidos a 48 horas de transporte. Já, os valores de oxigênio dissolvido foram diminuindo com o aumento no tempo do transporte independente da dieta prévia fornecida. Para *H. flagellatus* machos, qualquer salinidade pode ser utilizada

durante o transporte e diferentes dietas não se mostraram capazes de afetar a sobrevivência e a qualidade de água em transportes de até 48 horas.

**Palavras chave:** Cyprinodontiformes, Rivulidae, Ornamental, Salinidade, Dieta



## ABSTRACT

The term killifish is a generic classification of all species of oviparous fish of the order cyprinodontiformes. The annual killifishes have direct development or by diapauses. In despite, the ornamental interest and researches about transport of the genus *Hypsolebias* are still scarce. The objective of this study was to evaluate the survival and water quality in the individual transport of *Hypsolebias flagellatus*, by testing different concentrations of salt in water (experiment I) and evaluating different transport times associated with different diets (Experiment II). For experiment I, 40 male of killifishes (weight of  $1.38 \pm 0.83$  g), previously fed with ration containing 46% PB, were used. The following concentrations of salt in water were tested: 0 (control), 2, 4 and 6 g of salt / L, for 12 hours of simulated transport. The experiment was composed of 10 replicates per treatment in a completely randomized design. For experiment II, 30 males previously fed with ration (weight of  $0.68 \pm 0.27$  g) and 30 previously fed with artemia nauplii ( $1.48 \pm 1.00$  g) were used. The animals were submitted to three different simulated transport times: 12, 24 and 48 hours. The experimental design II was completely randomized in factorial scheme (2x3) representing six treatments with 10 replicates. Animals from both experiments underwent a 24-hour fasting before starting transport. For experiment I the different salinities did not affect the survival of the animals during the 12 hours of transport and 96 hours after transportation, with survival being 100%. No differences ( $P > 0.05$ ) were recorded in total ammonia, temperature and pH values. The values of dissolved oxygen were higher ( $P < 0.05$ ) in the transport containing 4 g of salt / L and lower in freshwater. For experiment II, the survival after the opening of the transport bags was also 100%. After 96 hours of storage in the tanks, mean survival was 78%, with no differences between treatments and their interactions ( $P > 0.05$ ). For the pH, there was no effect of the transport time and the interaction between the factors ( $P > 0.05$ ), being higher when the animals were previously fed with ration. The total ammonia values were higher ( $P < 0.05$ ) in the treatment with 24 hours of transport and previous feeding with artemia and in both treatments submitted to 48 hours of transport. Already, the values of dissolved oxygen were decreasing with the increase in transport time independent of the previous diet provided. For *H. flagellatus* males, any tested salinity may be used during transport and diets up to 48 hours.

Keywords: Cyprinodontiformes, Rivulidae, Ornamental, Salinity, Diet

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Qualidade da água (média±desvio padrão) após 12 horas de transporte de <i>Hypsolebias flagellatus</i> em sacos plásticos em diferentes salinidades da água (experimento 1).....	34
Tabela 2- Valores médios (Maior valor encontrado – Menor valor encontrado) de sobrevivência (%) após 96 horas de abertura dos sacos de transporte. Valores médios do pH e temperatura (±desvio padrão) da água no momento de abertura dos sacos após os respectivos tempos de transporte de <i>Hypsolebias flagellatus</i> (experimento 2).....	35
Tabela 3- Valores médios (± desvio padrão) de amônia total (mg/L) e oxigênio dissolvido (mg/L) no momento da abertura dos sacos de transporte no experimento 2.....	36

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fêmea de Killifish ( <i>Hypsolebias flagellatus</i> ) .....	16
Figura 2 – Machos de Killifish ( <i>Hypsolebia flagellatus</i> ). .....	16

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
Killifish.....	15
Transporte de peixes vivos.....	17
O uso do sal no transporte de peixes vivos.....	18
Qualidade da água no transporte .....	19
<i>Temperatura</i> .....	19
<i>Oxigênio dissolvido</i> .....	19
2.4.3 <i>pH</i> .....	20
2.4.4 <i>Amônia Total</i> .....	20
Dieta prévia na resistência ao estresse .....	21
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>22</b>
Objetivo geral.....	22
Objetivos específicos.....	22
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>23</b>
<b>5. Transporte de killifish (<i>Hypsolebias flagellatus</i>): efeito do uso de sal e da alimentação prévia associada ao tempo de transporte.....</b>	<b>28</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>43</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A aquicultura mundial vem crescendo significativamente nos últimos 50 anos, mantendo-se a frente do crescimento populacional ao apresentar taxa média anual de 3,2%, atingindo no ano de 2014 uma produção de 73,8 milhões de toneladas (FAO, 2016). Com a intensificação da aquicultura, são necessários cuidados e técnicas de manejo, que são essenciais para o sucesso da produção (FUJIMOTO; CARNEIRO, 2001).

Na cadeia produtiva da piscicultura, uma das etapas de maior importância é o transporte de peixes vivos. Para assegurar o sucesso é necessária devida atenção a diversos fatores relacionados ao procedimento (LUZ et al., 2013). O transporte representa um manejo estressante que pode causar uma série de respostas fisiológicas, podendo levar a mortalidade dos animais (ZAHN et al., 2012). Ele deve ser planejado e conduzido de maneira que os animais passem pela mínima condição de estresse. Neste sentido, o estabelecimento de protocolos de transporte apropriados com procedimentos menos estressantes é importante, uma vez que, podem garantir a rentabilidade do negócio reduzindo a mortalidade de peixes (GOMES et al., 2003).

Entre os produtos empregados no transporte de peixes vivos, o sal comum (NaCl) vem sendo amplamente utilizado (GOMES et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2009; OYOO-OKOTH et al., 2011) por ser um produto de baixo custo, permitido pela legislação e, quando utilizado de maneira correta, benéfico aos animais dentre os quais pode-se citar a redução da diferença osmótica entre a água (meio externo) e o plasma dos peixes (URBINATI; CARNEIRO, 2006) e do estresse e a agitação dos animais facilitando o transporte (OYOO-OKOTH et al., 2011, TACCHI et al., 2015). Contudo, é preciso aprofundar o conhecimento do uso adequado do sal, uma vez que a tolerância à salinidade da água varia para cada espécie, podendo desencadear situações de estresse que podem afetar a homeostase do animal (KÜLTZ, 2015).

O transporte de peixes vivos pode compreender tanto curtas quanto longas distâncias e as condições da água tendem a mudar durante o trajeto (SAMPAIO; FREIRE, 2016). De acordo com Adamante et al. (2008) o tempo de transporte associado a altas densidades podem resultar em aumento na concentração de metabólitos indesejáveis na água. Porém, outros fatores também podem influenciar na qualidade da água, como o manejo alimentar que os animais são submetidos antes de todo processo de transporte. Além disso, o tipo de alimento pode ser importante para determinar a resistência do animal a manejos estressantes (LUZ, 2007). Segundo Ferreira et al. (2017) a utilização do açafraão da terra (cúrcuma longa) na dieta

de juvenis de *Astyanax* aff. *bimaculatus* aumentou a tolerância dos animais ao estresse induzido pelo transporte.

O termo killifish é uma classificação genérica de todas as espécies de peixes ovíparas da ordem cyprinodontiformes. São representantes da família de peixes neotropicais de água doce Rivulidae podendo ser anuais ou não anuais (MYERS, 1952). Os killifishes estão presentes em todos os continentes com exceção da Antártida e Oceania. Entretanto, os killifishes anuais ocorrem somente nos continentes Africano e Sul Americano (COSTA, 2008). Esses habitam exclusivamente poças temporárias formadas em períodos de pouca chuva e são caracterizados pela diapausa no desenvolvimento dos ovos (WOURMS, 1972). São animais geralmente pequenos, coloridos e apesar de despertarem interesse no mercado de peixes ornamentais, atualmente pouco se sabe sobre o transporte seguro de peixes adultos.

O objetivo deste estudo foi avaliar a sobrevivência e qualidade de água no transporte individual de *Hypsolebias flagellatus* em diferentes concentrações de sal na água e em diferentes tempos de transporte associado a diferentes dietas prévias.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### Killifish

Killifish é o nome popular dado a todas as espécies de peixes ovíparas pertencentes à ordem cyprinodontiformes. São representantes da família de peixes neotropicais de água doce Rivulidae podendo ser atribuídos como anuais ou não anuais (WOURMS, 1972). Os primeiros habitam exclusivamente lagoas temporárias formadas em períodos de pouca chuva. Possuem como característica a diapausa no desenvolvimento dos ovos (MYERS, 1952), onde os embriões se tornam resistentes à dessecação e permanecem dentro do ovo, no substrato seco até o próximo período chuvoso, quando ocorre a eclosão (WOURMS, 1972). Entretanto, Costa (2002) considerou o termo "anual" errôneo uma vez que dependendo da distribuição da chuva podem ocorrer duas gerações ao longo do ano, propondo assim o termo sazonal.

As desovas dos killifishes sazonais são feitas no substrato do fundo das poças temporárias onde habitam e, podem ser tanto nas camadas superficiais, sem que ocorra a submersão do casal no substrato, como nas camadas mais profundas (BELOTE; COSTA, 2002). Sabe-se que tanto os killifishes sazonais como não sazonais possuem ovos pegajosos compostos por filamentos especializados ou extensões coriônicas que auxiliam na adesão ao substrato (THOMPSON et al., 2017).

Os peixes da família Rivulidae são sexualmente dimórficos (COSTA, 2008). Os machos tendem a ser maiores do que as fêmeas e apresentar uma coloração mais vistosa (GARCIA; LOUREIRO; TASSINO, 2008), possibilitando assim maior facilidade na diferenciação sexual. No caso da espécie de estudo *Hypsolebias flagellatus*, as fêmeas além de menores, apresentam pintas pretas na lateral do corpo (Fig. 1).

De acordo com Cellerino (2016), os killifishes sazonais são capazes de ocupar habitats considerados inóspitos para outros teleósteos. Seu ciclo de vida está fortemente relacionado às condições transitórias e desfavoráveis de determinados habitats (AREZZO et al., 2016). Tal adaptação também é eficaz contra predadores uma vez que estes são incapazes de estabelecer populações persistentes, porque lhes faltam adaptações para sobrevivência à dessecação (PINCEEL; VANSCHOENWINKEL; DECKERS, 2015).



Figura 1. Fêmea de Killifish (*Hypsolebias flagellatus*) identificada pela presença de machas pretas na lateral do corpo. Fonte: Arquivo pessoal (2017)

A espécie utilizada no presente estudo *Hypsolebias flagellatus* (Fig. 2) é sazonal, endêmica ao semi-árido do nordeste brasileiro, da bacia do rio São Francisco, que constitui uma área tropical que atualmente está sob processo intensivo de perda de habitat (COSTA; AMORIM; MATTOS, 2012). São animais geralmente pequenos, coloridos e apesar de despertarem interesse no mercado ornamental, atualmente poucos são os estudos que envolvem os killifishes. Até o presente momento não existem dados na literatura sobre a determinação de melhores protocolos para realizar o transporte desses animais. Pelo seu potencial como peixe ornamental, esses animais podem ser transportados para locais próximos ou distantes. Sendo assim, é de importância a realização de estudos visando estabelecer manejos adequados para o sucesso no transporte desses animais.



Figura 2. Machos de Killifish (*Hypsolebias flagellatus*). Disponível em: <https://www.flickr.com/photos/petermaguire/19133855331>. Acessado: 14/12/2018



## Transporte de peixes vivos

O transporte de peixes vivos é uma prática habitual na aquicultura e representa uma das causas mais comuns de estresse agudo e/ou crônico em peixes (MEINELT et al., 2008). Os peixes são expostos a diversas situações como manuseio e confinamento que poderão desencadear resposta ao estresse, podendo ocasionar modificações químicas e fisiológicas nesses animais (ZAHL; SAMUELSEN; KIESSLING, 2012). Dentre os estressores, incluem ferimentos, confinamento e superlotação, adaptação ao novo ambiente, descuidos no manejo durante o trajeto, além da piora na qualidade da água (SUPRAPTO et al., 2017).

As condições da água podem, e provavelmente irão, mudar adversamente durante transporte dos animais. Nesse sentido, vários fatores podem ser prejudiciais durante o transporte, incluindo a queda do oxigênio dissolvido, elevação dos níveis de dióxido de carbono e temperatura da água, queda no pH e aumento do nível de amônia (SERRA et al., 2011).

Desta forma, o transporte necessita devida atenção e requer mão de obra especializada para evitar prejuízos. Portanto, a observação de alguns fatores se torna relevante como: biologia da espécie transportada, estado sanitário dos peixes, jejum adequado, controle de temperatura durante o transporte, adequada oferta de oxigênio aos peixes transportados e adição de profiláticos (KUBITZA, 2009).

Os peixes podem ser transportados em sacos de plástico ou caixas de transporte (HARMON, 2009). Em sacos plásticos o transporte poder ser individual ou em grupo de animais (Fig.3).

De acordo com Stieglitz, Benetti e Serafy (2012) transportes com duração igual ou inferior a 8 horas são considerados curtos e aqueles com duração superior a 8 horas são considerados longos. Os peixes ornamentais costumam ter o transporte mais longo, pois são constantemente destinados à exportação (SAMPAIO; FREIRE, 2016).

O transporte de longa duração pode apresentar problemas relacionados à piora da qualidade da água uma vez que a mesma é considerada um fator crítico para o transporte bem sucedido de peixes ornamentais (CORREIA, 2001). Vários fatores impossibilitam o estabelecimento de um protocolo padrão para o transporte de peixes vivos como: a diversidade de espécies transportadas, diferentes estágios do ciclo de vida, origens variadas em termos de habitat e ambiente e os diferentes objetivos de seu transporte (SAMPAIO; FREIRE, 2016). Desta maneira, adequados protocolos de transporte com procedimentos que

diminuam o estresse dos animais são importantes para aumentar a lucratividade do produtor ao reduzir a mortalidade dos peixes (GOMES et al., 2003).

#### O uso do sal no transporte de peixes vivos

O cloreto de sódio (NaCl) é o profilático de uso mais comum na aquicultura. É um produto de baixo custo, fácil acesso no mercado e, se utilizado corretamente, pode auxiliar a manter o equilíbrio osmótico dos peixes. Além disso, estimula a produção de muco atuando no controle de doenças causadas por bactérias e fungos, podendo ser utilizado em várias práticas na piscicultura (KUBITZA, 2007).

A adição do sal na água do transporte de peixes para a mitigação do estresse é considerada uma prática de sucesso em algumas espécies de peixes estudadas (TACCHI et al., 2015). As brânquias são estruturas importantes responsáveis pela manutenção do equilíbrio eletrolítico e homeostático dos teleósteos e o estresse irá afetar negativamente o seu funcionamento (CARNEIRO; URBINATI, 2001). Logo, o uso de sal durante o transporte ajuda os peixes a manterem a homeostase reduzindo a diferença osmótica entre o plasma e o ambiente externo (URBINATI; CARNEIRO, 2006). Desta maneira, a utilização do sal ajuda a evitar a perda de íons para a água. Carneiro e Urbinati (2001) relataram que ao manter os animais em ambientes iso-osmóticos, no qual o gradiente osmótico entre o plasma do peixe e o ambiente é menor, os custos energéticos dos processos de regulação osmótica e iônica também serão reduzidos.

Oyoo-Okoth et al. (2011) ao transportar labeo *Labeo victorianus* pelo período de 6 horas, testando concentrações de 0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 e 10 g de sal/L, verificou 100% de sobrevivência nas concentrações 1, 2 e 4, 70% em 0,25 e 0,5 g de sal/L e 52,4% na concentração 0 g de sal/L. Urbinati e Carneiro (2006) estudando a ação do sal sobre o estresse durante o transporte de matrinxã *Brycon amazonicus* observaram que a quantidade de 6 g de sal/L foi o suficiente para atenuar o estresse dos animais. Porém, Gomes et al. (2006) relataram que o uso de sal como atenuante do estresse não funcionou em juvenis de pirarucu *Arapaima gigas*, uma vez que não houve alteração nos parâmetros metabólicos e hematológicos. Além disso, é indicado que seja evitado, uma vez que não há sinais de melhora tanto nos parâmetros metabólicos ou hematológicos analisados, sendo que o aumento da concentração de sais ainda provocou um distúrbio osmorregulatório nos animais. Desta maneira, a concentração de sal a ser utilizada na água é variável, já que a resposta dos animais pode depender da espécie.

Sendo assim, é preciso aprofundar o conhecimento do uso adequado do sal durante o transporte, uma vez que a tolerância à salinidade vai variar de acordo com a espécie e a sua má utilização pode desencadear um desequilíbrio homeostático nos animais (KULTZ, 2015).

### Qualidade da água no transporte

A sobrevivência dos peixes durante o transporte é dependente de mudanças e interações dos parâmetros de qualidade da água (DAS et al., 2015). As condições da água podem, e naturalmente irão, mudar durante o transporte de peixes vivos (SAMPAIO; FREIRE, 2016). Como os peixes estão em constante interação com o ambiente através das brânquias e pele, alguns parâmetros de qualidade da água durante o transporte são cruciais tanto para o sucesso dessa etapa quanto para o bem estar dos animais.

#### *Temperatura*

A temperatura da água está entre os fatores envolvidos na eficiência do transporte. Como os peixes são animais pecilotérmicos, a temperatura da água é crucial para suas taxas de reação fisiológicas (HARMON, 2009). Práticas de transporte de maior duração geralmente tendem a apresentar variações de temperatura (ABREU et al., 2008; HARMON, 2009). Altas temperaturas aceleram o metabolismo dos peixes resultando assim em maior liberação de solutos e compostos nitrogenados na água (BITTENCOURT et al., 2018) e ainda maior gasto energético para manutenção do seu organismo (BALDISSEROTTO, 2002). Por outro lado, à medida que a temperatura do corpo diminui, os processos metabólicos diminuem. Desta maneira, a redução da temperatura da água de transporte pode ser vantajoso (NAVARRO et al., 2017; ZHANG et al., 2019).

#### *Oxigênio dissolvido*

O oxigênio dissolvido (OD) é frequentemente o fator mais limitante em qualquer sistema de produção de peixes (HARMON, 2009). O fornecimento de oxigênio durante o transporte está entre os principais entraves da utilização de sacos plásticos (SAMPAIO; FREIRE, 2016). É natural que os valores de oxigênio dissolvido diminuam durante o trajeto como resultado direto da respiração dos animais (CORREIA, 2001; CORREIA; GRAÇA; HIROFUMI, 2011). Uma das consequências do aumento do oxigênio dissolvido pelo

metabolismo aeróbico do peixe é o aumento na liberação de CO<sub>2</sub> na água (SAMPAIO; FREIRE, 2016).

Além do transporte de longa duração, altas densidades de estocagem também podem comprometer o sucesso do transporte uma vez que, o oxigênio será consumido com maior rapidez podendo ocasionar uma mortalidade em massa (BITTENCOURT, 2018).

### *pH*

Variações repentinas no pH do transporte, podem ser prejudiciais aos peixes. Durante o trajeto, o pH tende a diminuir gradualmente como resultado do acúmulo de CO<sub>2</sub> (CORREIA; GRAÇA; HIROFUMI, 2011). Este aumento na concentração de CO<sub>2</sub> ocorre devido à respiração dos animais e pode acarretar a uma subsequente dissociação de íons de hidrogênio causando acidez da água do transporte (WURTS, 2003).

De acordo com Baldisserotto (2002), concentrações elevadas de CO<sub>2</sub> promovem a liberação de íons H<sup>+</sup> na corrente sanguínea. Com a diminuição do pH sanguíneo, o metabolismo dos animais irá retardar e por sua vez diminuirá o consumo de oxigênio. O pH plasmático baixo e a alta concentração de CO<sub>2</sub> no sangue acarretará na redução da capacidade de transporte de oxigênio do sangue (efeito Root) e na redução da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio (efeito Bohr), mesmo com altos níveis de oxigênio dissolvido na água (LIM; DHERT; SORGELOOS, 2003)

### *Amônia Total*

A toxicidade da amônia é também uma preocupação no transporte de peixes, principalmente em longas distâncias. A amônia total é o principal metabólito resultante da excreção nitrogenada dos organismos aquáticos e da decomposição de resíduos orgânicos (ARANA, 1997).

A mesma pode sofrer influência da temperatura e pH. Em baixos valores de pH e temperatura, a amônia se encontra, principalmente, na forma ionizada (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), menos permeável e menos tóxica. Em pH neutro ou mais alcalino, há uma maior incidência da forma não ionizada (NH<sub>3</sub>), mais permeável e tóxica (GOMES et al., 2003). O acúmulo de CO<sub>2</sub> reduz o pH da água, diminuindo a proporção de NH<sub>3</sub> em relação ao NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (GROTTUM; STAURNES; SIGHOLT, 1997).

Contudo, a excreção de amônia pode ser minimizada através da prática do jejum dos animais antes do transporte (HARMON, 2009).

## Dieta prévia na resistência ao estresse

Enquanto vários setores no mercado ornamental investem em estratégias para melhorar a sobrevivência dos animais durante o transporte, pouca atenção é voltada para práticas que melhoram a resistência ao estresse, o que proporcionaria aos peixes melhor adaptação às condições estressantes submetidas (LIM; DHERT; SORGELOOS, 2003). É conhecido que a alimentação tem importante papel na resistência ao estresse. De acordo com Koven et al. (2001), a alimentação pode aumentar a taxa de sobrevivência dos animais após um manejo de transferência de tanques. Segundo Sampaio e Freire (2016) os valores dos parâmetros qualidade de água, em cada situação de transporte, provavelmente está relacionado às diferenças no metabolismo entre as espécies e seu estado nutricional antes do transporte.

Luz (2007) relatou que a alimentação atua na resistência das larvas ao estresse e pode afetar a indústria da aquicultura. O autor afirma que o uso de alimento vivo proporciona melhores taxas de resistência ao estresse e crescimento quando comparado ao uso do alimento artificial para as larvas de oscar *Astronotus ocellatus*, pacu *Piaractus mesopotamicus* e pintado *Pseudoplatystoma coruscans*. Segundo Ferreira et al. (2017) a utilização do açafão da terra (curcuma longa) na dieta de juvenis de *Astyanax* aff. *bimaculatus* aumentou a tolerância dos animais ao estresse induzido pelo transporte.

A quantidade de proteína bruta na dieta também desempenha um papel importante na sobrevivência, desempenho e resistência ao estresse de larvas e alevinos de tilápias do Nilo *Oreochromis niloticus* (LUZ et al., 2012). Kanazawa (1997) também verificou que a presença do DHA e de fosfolípidios na alimentação de larvas de *Pagrus major* aumentaram a tolerância a várias condições estressantes.

Assim, como o transporte representa uma das causas mais comuns de estresse aos animais, a utilização de dietas prévias apropriadas pode ser uma alternativa interessante no propósito de aumentar a tolerância destes às condições estressantes sofridas durante o trajeto.

### 3. OBJETIVOS

#### Objetivo geral

- Estabelecer o protocolo mais adequado para o transporte de Killifish (*Hypsolebias flagellatus*) a fim de garantir maior taxa de sobrevivência dos animais antes, durante e depois o período em que serão transportados.

#### Objetivos específicos

- Avaliar a taxa de sobrevivência e os parâmetros de qualidade da água após o transporte de machos de *Hypsolebias flagellatus* em diferentes concentrações de sal na água;

- Avaliar a taxa de sobrevivência e os parâmetros de qualidade da água após o transporte de machos de *Hypsolebias flagellatus* em diferentes tempos de transporte e submetidos a diferentes dietas.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, J. S. D. et al. Stress responses of juvenile matrinxã (*Brycon amazonicus*) after transport in a closed system under different loading densities. *Cienc Rural*, n. 38, p.1413–1417, 2008.

ADAMANTE, W. B. et al. Stress in *Salminus brasiliensis* fingerlings due to different densities and times of transportation. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, v.60, n.3, p. 755-761, 2008.

ARANA, L. V. Princípios químicos da qualidade de água em aquicultura. Florianópolis. UFSC, p. 166, 1997.

AREZZO, N. J. et al. Annual killifish adaptations to ephemeral environments: Diapause in two austrolebias species. *Development Dynam*, v. 246, n. 11, p. 848-857, 2017.

BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. Santa Maria, Editora da UFSM, p. 212, 2002

BELOTE , D. F. A.; COSTA, W. J. E. M. “Reproductive behavior patterns in the Neotropical annual fish genus *Simpsonichthys* Carvalho, 1959 (Cyprinodontiformes, Rivulidae): description and phylogenetic implications,” *Boletim do Museu Nacional*, v. 489, p. 1–10, 2002.

BITTENCOURT, F. et al. Water quality and survival rate of *Rhamdia quelen* fry subjected to simulated transportation at different stock densities and temperatures. *Acta Sci*, v. 40, p. 2-8, 2018.

CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. Salt as a stress response mitigator of matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther), during transport. *Aquaculture*, v. 32, n.4 , p. 297-304, 2001.

CELLERINO, A. Life cycle, reproduction, and development in annual fishes: Cellular and molecular aspects. In: Berois N, García G, de Sá RO, editors. *Annual Fishes: life history strategy, diversity, and evolution*. CRC Press, p.93-96, 2016.

- CORREIA, J. P. S. Long-term transportation of ratfish, *Hydrolagus colliei*, and tiger rockfish, *Sebastes nigrocinctus*. *Zoo Biol*, v.20, n.5, p. 435-441, 2001.
- CORREIA, J. P. S.; GRAÇA, J. T. C.; HIROFUMI, M. Long-term transportation, by road and air, of chub mackerel (*Scomber japonicus*) and atlantic bonito (*Sarda sarda*). *Zoo Biol*, v.30, n. 4, p. 459-472, 2011.
- COSTA, W. J. E. M. The neotropical seasonal fish genus *Nematolebias* (Cyprinodontiformes: Rivulidae: Cynolebiatinae): taxonomic revision with description of a new species. *Ichthyol. Explor. Freshw*, v. 13, p. 41–52, 2002
- COSTA, W. J. E. M. Catalog of aplocheiloid killifishes of the world. Laboratório de Ictiologia Geral e Aplicada, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.
- COSTA, W. J. E. M.; AMORIM, P. F.; MATTOS, J. L. O. Species delimitation in annual killifishes from the brazilian caatinga, the *Hypsolebias flavicaudatus* complex (Cyprinodontiformes: rivulidae): implications for taxonomy and conservation. *Syst biodivers*, v. 10, p. 71-91, 2012
- DAS, P. C. et al. Critical water quality parameters affecting survival of *Labeo rohita* (Hamilton) fry during closed system transportation. *Indian J.Fish.*, v.62,n.2,p.39-42,2015.
- FAO SOFIA. The state of world fisheries and aquaculture Report, United Nations Food and Agriculture Organization, Rome 2016.
- FERREIRA, P. M. F. et al. Curcuma longa supplementation in the diet of *Astyanax* aff. *bimaculatus* in preparation for transport. *Aquaculture*, v.48,n.8,p. 4524-4532, 2017.
- FUJIMOTO, R. Y.; CARNEIRO, D. J. Adição de ascorbil polifosfato como fonte de vitamina C em dietas para alevinos de pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829). *Acta Sci*, v.23, n.4, p.855-861, 2001.



GARCÍA, D.; LOUREIRO, M.; TASSINO, B. Reproductive behavior in the annual fish *Austrolebias reicherti* Loureiro & García 2004 (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Neotrop ichthyol*, v.6, n.2, p. 243-248, 2008.

GOMES, L. C. et al. Effect of Fish Density During Transportation on Stress and Mortality of Juvenile Tambaqui *Colossoma macropomum*. *J World Aquacult Soc*, v.34, n.1, p.76-84, 2003.

GOMES, L. C. et al. Use of salt during transportation of air breathing pirarucu juveniles (*Arapaima gigas*) in plastic bags. *Aquaculture*, v.256, n.1-4, p. 521-528, 2006

GROTTUM, J. A.; STAURNES, M.; SIGHOLT, T. Effect of oxygenation, aeration and pH control on water quality and survival of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), kept at high densities during transport. *Aquaculture*, v. 28, n. 2, p. 159-164, 2008.

HARMON, T. S. Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. *Aquaculture*, n.1, p.58–66, 2009

KANAZAWA, A. Effects of docosahexaenoic acid and phospholipids on stress tolerance of fish. *Aquaculture*, v. 155, n. 1-4, p. 129-134, 1997.

KOVEN, W. et al. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n–6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, v. 193, n. 1-2, p. 201- 122, 2001.

KUBITZA, F. A versatilidade do sal na piscicultura. *Panorama da Aquicultura*, v. 17, n. 103 p. 14-23, 2007.

KUBITZA, F. Manejo na produção de peixes: boas práticas no transporte de peixes vivos. *Panorama da Aquicultura*, v. 19, n. 114, 2009.

KÜLTZ, D. Physiological mechanisms used by fish to cope with salinity stress. *The J of Exp Biol*, v.218, p.1907-1914, 2015.

- LIM, L. C.; DHERT, P.; SORGELOOS, P. Recent developments and improvements in ornamental fish packaging systems for air transport. *Aquaculture*. v. 34, 923–935, 2003.
- LUZ, R. K. Resistência ao estresse e crescimento de larvas de peixes neotropicais alimentadas com diferentes dietas. *Pesq Agropec Bras*, v.42, n.1, p.65-72, 2007
- LUZ, R. K. et al. Performance and stress resistance of Nile tilapias fed different crude protein levels. *R Bras Zootec*, v.41, n.2, p. 457-461, 2012.
- LUZ, R. K. et al. Larvicultura de tilápia em água doce e salinizada. *Pesq Agropec Bras*, v.48, p.1150-1153, 2013.
- MEINELT, T. et al. Humic substances – Part 1: dissolved humic substances (HS) in aquaculture and ornamental fish breeding. *Environ Sci Pollut Res*, v. 15, p. 17–22 , 2008.
- MYERS, G. S. Annual fishes. *Aquarium J*, v. 23, p. 125–141, 1952.
- NAVARRO, R. D. et al. Long-term transportation of juvenile pacamãs *Lophiosilurus alexandri* at different densities. *Acta Sci*, v. 39, n. 2, p. 211-214, 2017.
- OLIVEIRA, J. R. et al. Cloreto de sódio, benzocaína e óleo de cravo-da-índia na água de transporte de tilápia-do-Nilo. *R. Bras. Zootec*, v.38, p.1163-1169, 2009.
- OYOO-OKOTH, E. et al. Survival and physiological response of *Labeo victorianus* (Pisces: Cyprinidae, Boulenger 1901) juveniles to transport stress under a salinity gradient. *Aquaculture*, v.319, n. 1-2, p.226-231, 2011
- PINCEEL, T.; VANSCHOENWINKEL, B.; DECKERS, P. Early and late developmental arrest as complementary embryonic bet-hedging strategies in African killifish. *Biol J Linnean Soc*, v. 114, n. 4, p. 941–948, 2015.
- SAMPAIO, F. D. F.; FREIRE, C. A. An overview of stress physiology of fish transport: changes in water quality as a function of transport duration. *Fish Fish*, v.17, n.4, p. 1055-1072, 2016.

SERRA, M. et al. Physiological responses of piau (*Leporinus friderici*, Bloch 1794) to transportation. R Bras Zootec, v.40, n.12, p.2641-2645, 2011

SUPRAPTO, H. et al. The effect of clove oil as sedative to hematophysiology of hybrid grouper (*Epinephelus* sp.) in close transportation in tropical country. Inter. J. Fish. Aqua. Studies, v. 5, n.5, p. 443-446, 2017.

STIEGLITZ, J. D.; BENETTI, D. D.; SERAFY, J. E. Optimizing transport of live juvenile cobia (*Rachycentron canadum*): Effects of salinity and shipping biomass. Aquaculture, v. 364-365. p. 293- 29, 2012.

TACCHI, L. et al. Effects of transportation stress and addition of salt to transport water on the skin mucosal homeostasis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, v.435, p.120-127, 2015.

THOMPSON, A. W. et al. Microanatomical diversification of the zona pellucida in aplocheloid killifishes. J fish Biol. v. 91, n.1, p. 126-143. 2017.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Sodium chloride added to transport water and physiological responses of matrinxã *Brycon amazonicus* (Teleost: Characidae). Act. Amazon, v. 36, n.4, p. 569-572, 2006.

WOURMS, J. P. The developmental biology of annual fishes. III. Pre-embryonic and embryonic diapause of variable duration in the eggs of annual fishes. J Exp Zool, v.182, p. 389-414, 1972

WURTS, W. A. Daily pH cycle and ammonia toxicity. World Aquacult, v. 34, p. 20–21, 2003.

ZAHL, H. I.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. Fish Physiol Biochem. v.38, p.2011-2018, 2012.

ZHANG, Y. et al. Development and evaluation of an intelligent traceability system for waterless live fish transportation. Food Control. v. 95, p. 283-297, 2019.

## **5. ARTIGO**

**Transporte de killifish (*Hypsolebias flagellatus*): efeito do uso de sal e da alimentação prévia associada ao tempo de transporte**

## Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a sobrevivência e qualidade de água no transporte individual de *Hypsolebias flagellatus*, testando diferentes concentrações de sal na água (experimento I) e avaliando diferentes tempos de transporte associados a diferentes dietas prévias (experimento II). Para o experimento I, 40 killifishes machos (peso médio de  $1,38 \pm 0,83$ g) foram submetidos ao transporte simulado de 12 horas e às seguintes concentrações de sal na água: 0 (controle), 2, 4 e 6 g de sal/L. Para o experimento II, foram utilizados 30 machos previamente alimentados com ração ( $0,68 \pm 0,27$ g) e 30 alimentados com artêmia ( $1,48 \pm 1,00$ g). Os animais foram submetidos a três diferentes tempos simulados de transporte: 12, 24 e 48 horas. Para o experimento I as diferentes salinidades não afetaram a sobrevivência dos animais durante as 12 horas de transporte e 96 horas pós transporte, sendo a sobrevivência de 100%. Não foram registradas diferenças ( $P > 0,05$ ) nos valores de amônia total, temperatura e pH. Os valores de oxigênio dissolvido foram superiores ( $P < 0,05$ ) no transporte contendo 4 g de sal/L e inferiores em água doce. Para o experimento II, a sobrevivência após a abertura dos sacos de transporte também foi de 100%. Após 96 horas de estocados nos tanques, a sobrevivência média foi de 78%, não sendo registrada diferenças entre os tratamentos e a interação entre eles ( $P > 0,05$ ). Para o pH não houve efeito do tempo de transporte e da interação entre os fatores ( $P > 0,05$ ); porém, foi maior quando os animais foram previamente alimentados com ração ( $P < 0,05$ ). Os valores de amônia total foram superiores ( $P < 0,05$ ) no tratamento com 24 horas de transporte e alimentação prévia com artêmia e em ambos tratamentos submetidos a 48 hs de transporte. Já, os valores de oxigênio dissolvido foram diminuindo com o aumento no tempo do transporte independente da dieta prévia fornecida. Para *H. flagellatus* machos, qualquer salinidade pode ser utilizada durante o transporte e diferentes dietas não se mostraram capazes de afetar a sobrevivência e a qualidade de água em transportes de até 48 horas.

**Palavras-chave:** cyprinodontiformes, rivulidae, ornamental, salinidade, dieta.

## Introdução

Na cadeia produtiva da piscicultura, uma das etapas de maior importância é o transporte de peixes vivos e para assegurar o sucesso é necessária devida atenção a diversos fatores relacionados ao procedimento (Luz et al., 2013). O transporte representa um manejo estressante que pode causar uma série de respostas fisiológicas, podendo levar a mortalidade dos animais (Zahl et al., 2012). Neste sentido, o estabelecimento de protocolos de transporte apropriados com procedimentos menos estressantes é importante, uma vez que, pode garantir a rentabilidade do negócio reduzindo a mortalidade de peixes (Gomes et al., 2003).

Entre os produtos empregados no transporte de peixes vivos, o sal comum (NaCl) vem sendo amplamente utilizado (Gomes et al., 2006, Oliveira et al., 2009, Oyoo-okoth et al., 2011) por ser um produto de baixo custo, permitido pela legislação e, quando utilizado de maneira correta benéfico aos animais dentre os quais pode-se citar a redução da diferença osmótica entre a água (meio externo) e o plasma dos peixes (Urbinati e Carneiro, 2006) e do estresse e a agitação dos animais facilitando o transporte (Oyoo-Okoth et al., 2011, Tacchi et al., 2015). Contudo, a tolerância à salinidade da água varia entre as espécies (Kültz, 2015), sendo necessários estudos para as diferentes espécies de peixes.

O transporte de peixes vivos pode compreender tanto curtas distâncias quanto longas distâncias. De acordo com Adamante et al. (2008) o tempo de transporte associado com altas densidades podem resultar em aumento na concentração de metabólitos indesejáveis na água. Porém, outros fatores também podem ser de grande relevância para a qualidade da água, como o regime alimentar que os animais são submetidos antes de todo processo de transporte. Além disso, a alimentação pode ser importante para determinar a resistência do animal a manejos estressantes (Luz, 2007). Segundo Ferreira et al. (2017) a utilização do açafraão da terra (curcuma longa) na dieta de juvenis de *Astyanax aff. bimaculatus* aumentou a tolerância dos animais ao estresse induzido pelo transporte.

O termo killifish é uma classificação genérica de todas as espécies de peixes ovíparas da ordem cyprinodontiformes. São representantes da família de peixes neotropicais de água doce Rivulidae podendo ser anuais ou não anuais (Myers 1952). Os primeiros habitam exclusivamente poças temporárias formadas em períodos de pouca chuva e são caracterizados pela diapausa no desenvolvimento dos ovos (Wourms, 1972) São animais geralmente pequenos, coloridos e apesar de despertarem grande interesse no mercado de peixes ornamentais, atualmente pouco se sabe sobre o transporte de peixes adultos.

O objetivo deste estudo foi avaliar a sobrevivência e qualidade de água no transporte individual de *Hypsolebias flagellatus* em diferentes concentrações de sal na água e em diferentes tempos de transporte associado a diferentes dietas prévias.

### **Material e métodos**

Machos de *H. flagellatus* foram cultivados no Laboratório de Aquacultura da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Foram realizados dois experimentos de transporte aprovados de acordo com as normas éticas da comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG (protocolos CEUA 173/2018 e 327/2018). Os animais de ambos os experimentos eram provenientes da mesma desova.

#### **Experimento 1. Diferentes salinidades no transporte de *H. flagellatus***

Para este experimento, os animais foram mantidos individualmente em tanques de 30L em sistema de recirculação de água, contendo filtro mecânico e biológico. Durante o cultivo a temperatura da água foi mantida a  $25,20 \pm 0,78^\circ\text{C}$ , o oxigênio dissolvido a  $6,20 \pm 0,70\text{mg/L}$ , o pH em  $7,60 \pm 0,03$  e a salinidade em  $0,12 \pm 0,02$  g de sal/L. Tais parâmetros foram registrados por meio do uso de uma sonda multiparâmetro AKSO AK88. A amônia total permaneceu em 0 mg/L e foi mensurada através do kit comercial Labcon Test (Alcon, Camboriú, SC, Brasil). Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (08:00 e 16:00 horas) com dieta comercial extrusada de 4 mm de diâmetro que foi triturada para ser oferecida aos peixes. A ração foi composta por 46% de proteína bruta, 8% de extrato etéreo e 14% de matéria mineral (empresa Fri- Ribe). Para o experimento, 40 machos de *H. flagellatus* com comprimento de  $50,84 \pm 8,88$  mm e peso de  $1,38 \pm 0,83$ g foram utilizados. Previamente ao transporte, foi realizado jejum de 24 horas. Durante o período de jejum a temperatura foi reduzida para  $24^\circ\text{C}$  de maneira gradual.

Para o transporte, os peixes foram capturados com puçá e acondicionados, individualmente, em sacos plásticos de 25 x 12 cm contendo 200 ml de água e cerca de 600 ml de oxigênio. A água utilizada para o transporte apresentava temperatura de  $24,80 \pm 0,15^\circ\text{C}$ , concentração de oxigênio dissolvido de  $6,00 \pm 1,04$  mg/L, amônia total 0 mg/L e pH de  $7,66 \pm 0,07$ . Para os diferentes tratamentos foram adicionadas as seguintes concentrações de sal: 0 (controle), 2, 4 e 6 g de sal/L. Cada tratamento teve 10 repetições em delineamento inteiramente casualizado, sendo cada unidade experimental constituída de um saco plástico contendo um animal. Os peixes foram estocados direto da água doce para as águas nas

diferentes concentrações de sal. A água salina foi produzida pela adição de sal não iodado (Marisal LTDA - ingredientes: cloreto de sódio).

#### Experimento 2. Efeito do manejo alimentar e tempo de transporte para *H. flagellatus*

Para este experimento, os animais foram mantidos individualmente no mesmo sistema descrito no experimento 1. A amônia total permaneceu em 0 mg/L e foi mensurada através do kit comercial Labcon Test (Alcon, Camboriú, SC, Brasil). Foram utilizados 30 peixes previamente criados e alimentados com náuplios de artêmia recém eclodidos e 30 com a mesma dieta descrita no experimento 1. Ambos os grupos de animais foram alimentados duas vezes ao dia (08:00 e 16:00 horas) durante 15 dias antes de ser realizado o transporte. Para o transporte, os machos de *H. flagellatus* previamente alimentados com ração apresentavam comprimento de  $41,57 \pm 5,70$  mm e peso de  $0,68 \pm 0,27$ g e os alimentados com artêmia apresentavam  $50,45 \pm 9,03$  mm e  $1,48 \pm 1,00$ g, respectivamente. A diferença de peso dos animais ocorreu exclusivamente pelas diferentes dietas fornecidas. Antes do transporte foi realizado jejum por um período de 24 horas. Durante o período de jejum a temperatura foi reduzida para 24°C de maneira gradual.

Para o transporte, os peixes foram capturados com puçá e acondicionados, individualmente, em sacos plásticos de 25 x 12 cm contendo 200 ml de água e cerca de 600 ml de oxigênio. No momento do transporte a água utilizada apresentava temperatura  $24,34 \pm 0,08$ °C, o oxigênio dissolvido a  $7,67 \pm 0,57$ mg/L, o pH em  $7,64 \pm 0,06$  e a salinidade em  $0,12 \pm 0,02$  mg/L. Os animais foram submetidos a três diferentes tempos de transporte: 12, 24 e 48 horas. Cada unidade experimental foi constituída de um saco plástico contendo um animal, sendo 10 animais por tratamento e o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3 sendo duas dietas e três tempos de transporte. Os tratamentos foram: TA12- Animais alimentados com artêmia submetidos a 12 horas de transporte; TR12- Animais alimentados com ração submetidos a 12 horas de transporte; TA24- Animais alimentados com artêmia submetidos a 24 horas de transporte; TR24- Animais alimentados com ração submetidos a 24 horas de transporte; TA48- Animais alimentados com artêmia submetidos a 48 horas de transporte e TR48- Animais alimentados com ração submetidos a 48 horas de transporte.

#### Simulação do transporte

Nos dois experimentos, para simular o transporte, os sacos foram acondicionados aleatoriamente em caixas de isopor. As caixas foram mantidas tampadas durante todo o



processo. As caixas foram agitadas manualmente por 30 minutos a cada 1 hora, simulando perturbação ocasionada durante o transporte. Essa perturbação ocorreu no período de 08:00 às 16:00 horas.

Após 12 horas (experimento 1) e a cada período de simulação do transporte (experimento 2), foi realizada a abertura dos sacos, determinada a sobrevivência e avaliados o pH, temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade por meio do uso de uma sonda multiparâmetro AKSO AK88 e amônia total através o kit comercial Labcon Test (Alcon, Camboriú, SC, Brasil).

#### **5.3.4. Sobrevivência Pós Transporte**

Nos dois experimentos, para posterior observação dos animais no pós transporte, estes foram reestocados individualmente no sistema de recirculação de água descrito anteriormente e acompanhados por 96 horas, quando foi avaliada a sobrevivência. Os juvenis foram aclimatados adicionando lentamente a água do tanque aos sacos de transporte. Durante o período de observação, os valores dos parâmetros de qualidade de água foram os mesmos do período em que os animais foram mantidos durante o cultivo no experimento 1 e 2.

Vinte e quatro horas após estocar os animais nos tanques, deu-se início a alimentação duas vezes ao dia (08:00 e 16:00 horas) com a dieta comercial ou náuplios de artêmia, conforme tratamento inicial.

#### **Estatística**

Nos dois experimentos, os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. As variáveis pH, temperatura e sobrevivência foram submetidas a ANOVA e teste de Tukey com nível de significância a 5%. As demais variáveis foram analisadas pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com nível de significância de 5%. Todos os dados foram testados utilizando o software Action Stat (Equipe Estatcamp, 2014).

#### **Resultados**

##### *Experimento 1*

A taxa de sobrevivência imediatamente após 12 horas de transporte foi de 100% para todos os tratamentos. Após 96 horas estocados nos tanques, a sobrevivência se manteve em 100%, independentemente da salinidade utilizada no transporte.

Os parâmetros de qualidade de água após 12 horas de transporte estão representados na Tabela 1. Os valores de amônia total, pH e temperatura da água foram semelhantes para

todos os tratamentos ( $P>0,05$ ). Já, os valores de oxigênio dissolvido foram superiores no tratamento com 4g de sal/L de sal e inferiores na água doce ( $P<0,05$ ).

Tabela 1. Qualidade da água (média  $\pm$  desvio padrão) após 12 horas de transporte de *Hypsolebias flagellatus* em sacos plásticos em diferentes salinidades da água (experimento 1).

Salinidade (g de sal/L)	Amônia Total (mg/L)*	pH**	Oxigênio dissolvido (mg/L)*	Temperatura (°C)**
0	0,89 $\pm$ 0,46 <sup>a</sup>	7,60 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	7,53 $\pm$ 0,46 <sup>b</sup>	24,90 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>
2	1,10 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>	7,53 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	8,03 $\pm$ 0,35 <sup>ab</sup>	24,95 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>
4	1,22 $\pm$ 0,41 <sup>a</sup>	7,46 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	8,24 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>	25,06 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>
6	1,15 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	7,53 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	8,08 $\pm$ 0,70 <sup>ab</sup>	25,11 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>
CV(%)	37,00%	1,46%	23,46%	0,20%

CV- Coeficiente de Variação. Letras diferentes indicam diferenças significativas na coluna. \*Médias submetidas ao teste de Kruskal-Wallis ( $P<0,05$ ). \*\*Médias submetidas ao teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

### Experimento 2

A taxa de sobrevivência imediatamente após a abertura dos sacos de transporte foi de 100% independente da dieta fornecida e do tempo de transporte. Os dados de sobrevivência após 96 horas de abertura dos sacos de transporte são apresentados na tabela 2, não sendo registradas diferenças entre os tratamentos e a interação entre eles ( $P>0,05$ ). Para o pH não houve efeito do tempo de transporte e da interação entre os fatores ( $P>0,05$ ). No entanto, o pH foi maior quando os animais foram previamente alimentados com ração ( $P<0,05$ ) (tabela 2). Para a temperatura não foi registrado efeito da dieta prévia fornecida e nem interação entre os fatores ( $P>0,05$ ). Entretanto, quanto maior o tempo de transporte, maior foi a temperatura registrada dos sacos (tabela 2).

Tabela 2. Valores médios (Maior valor encontrado – Menor valor encontrado) de sobrevivência (%) após 96 horas de abertura dos sacos de transporte. Valores médios do pH e temperatura (média  $\pm$  desvio padrão) da água no momento de abertura dos sacos após os respectivos tempos de transporte de *Hypsolebias flagellatus* (experimento 2).

	p- value		
	Sobrevivência (%)	pH	Temperatura
Dieta	1,241 <sup>ns</sup>	0,0046 <sup>*</sup>	0,0537 <sup>ns</sup>
Tempo	0,666 <sup>ns</sup>	0,1807 <sup>ns</sup>	<0,001 <sup>*</sup>
Dieta x Tempo (interação)	0,645 <sup>ns</sup>	0,9746 <sup>ns</sup>	0,4422 <sup>ns</sup>
	Médias para tempo		
12 h	85,00 (100,00-70,00) <sup>a</sup>	7,45 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	25,63 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>
24 h	80,00 (90,00-70,00) <sup>a</sup>	7,57 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	25,83 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>
48 h	70,00 (70,00 –70,00) <sup>a</sup>	7,51 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	26,18 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>
	Médias para dieta		
Artêmia	70,00 (70,00-70,00) <sup>a</sup>	7,44 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>	25,92 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>
Ração	86,67 (100,0070,00) <sup>a</sup>	7,59 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	25,82 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
CV(%)	52,00	2,79	0,21

CV- Coeficiente de Variação. Letras diferentes na coluna indicam diferenças significativas. Médias submetidas ao teste de Tukey (P<0,05). ns – Diferença não significativa

Os valores de amônia total foram superiores (P<0,05) nos tratamentos, TR48 e TA48, intermediários em TA24 e inferiores em TR12 e TA12 (Tabela 3). Com relação ao oxigênio dissolvido, os valores decrescem, de maneira geral, com o aumento no tempo de transporte independente do tipo de alimentação que os animais foram previamente submetidos.

Tabela 3. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de amônia total (mg/L) e oxigênio dissolvido (mg/L) no momento da abertura dos sacos após cada tempo de transporte no experimento 2.

Tratamentos	Amônia Total (mg/L)	Oxigênio dissolvido (mg/L)
TR12	2,00 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	7,75 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>
TA12	2,00 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	7,48 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>
TR24	3,05 $\pm$ 1,35 <sup>b</sup>	7,32 $\pm$ 0,17 <sup>ab</sup>
TA24	3,65 $\pm$ 1,05 <sup>ab</sup>	7,15 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>
TR48	4,70 $\pm$ 1,47 <sup>a</sup>	6,15 $\pm$ 0,17 <sup>c</sup>
TA48	4,80 $\pm$ 1,40 <sup>a</sup>	6,95 $\pm$ 0,60 <sup>c</sup>
CV(%)	47%	8,4%

TR12- Animais alimentados com ração submetidos a 12 horas de transporte; TA12- Animais alimentados com artêmia submetidos a 12 horas de transporte; TR24- Animais alimentados com ração submetidos a 24 horas de transporte; TA24- Animais alimentados com artêmia submetidos a 24 horas de transporte; TR48- Animais alimentados com ração submetidos a 48 horas de transporte; TA48- Animais alimentados com artêmia submetidos a 12 horas de transporte; CV- Coeficiente de Variação. Letras diferentes indicam diferenças significativas. Médias submetidas ao teste de Kruskal-Wallis (P<0,05).

### Discussão

O transporte individual de *H. flagellatus* foi realizado com sucesso para os diferentes manejos empregados e durante longos períodos de transporte. Nos experimentos 1 e 2, a taxa de sobrevivência imediatamente após a abertura dos sacos de transporte foi de 100%. O transporte no presente trabalho foi simulado a longas distâncias em vista da prática habitual no mercado ornamental. De acordo com Sampaio e Freire (2016), tal prática no transporte de peixes ornamentais se dá como consequência do comércio entre países e dentro de grandes países, portanto a sua duração tende a ser maior.

No experimento 1, as diferentes salinidades foram eficientes no transporte de *H. flagellatus* com 100% de sobrevivência e após 96 horas de realizado o transporte. O sal também vem sendo aplicado como uma alternativa para mitigar o estresse durante o transporte de peixes de água doce (Urbinati e Carneiro, 2006; Oyoo-Okoth et al., 2011). O uso da salinidade no transporte de peixes reduz a diferença osmótica entre a água e o plasma dos

animais, diminuindo a demanda de energia metabólica para a osmorregulação (Sampaio e Freire, 2016). Desta maneira, além de reduzir o estresse, diminui a agitação dos animais facilitando o transporte (Oyoo-Okoth et al., 2011; Tacchi et al., 2015).

Resultados semelhantes ao do presente estudo foram registrados por Gomes et al. (2006) ao transportarem juvenis de pirarucu *Arapaima gigas*, por 3 horas, submetidos às salinidades de 0, 1, 3, 5 g de sal/L, com ausência de mortalidade no transporte e no período de recuperação. Contudo, a tolerância à salinidade durante o transporte varia com a espécie, fase de desenvolvimento e o tempo de exposição dos animais (Fashina-bombata e Busari, 2003). Oyoo-Okoth et al. (2011) ao trabalharem com labeo *Labeo victorianus*, em transporte com duração de 6 horas, testando concentrações de 0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 e 10 g de sal/L, verificaram 100% de sobrevivência nas concentrações 1, 2 e 4, 70% em 0,25 e 0,5 g de sal/L e 52,4% na concentração 0 g de sal/L. A menor sobrevivência ocorreu em 10 g de sal/L. A utilização do sal fora do tolerado pode desencadear uma condição de estresse, resultando em desequilíbrio osmorregulatório, afetando a homeostase dos peixes (Kültz 2015). Assim, fica evidente a importância de se conhecer a tolerância à salinidade de cada espécie e as concentrações e tempos adequados para transportar os animais.

As diferentes concentrações de sais na água de transporte não afetaram a amônia, pH e temperatura no transporte por 12 horas. Portanto, as estratégias de manejo empregadas como a diminuição da temperatura, jejum e a utilização do sal na água do transporte de killifishes em concentrações de até 6 g de sal/L, foram eficazes no controle da excreção de resíduos metabólicos e na manutenção da temperatura durante o transporte. Resultados semelhantes foram encontrados por Salaro et al. (2015) onde a temperatura e o nível de amônia também não diferiram entre as concentrações de 0 a 15 g de sal/L, no transporte de *Astyanax altiparanae* com duração de 8 horas..

Na salinidade de 4 g de sal/L foi verificado um menor consumo de oxigênio dissolvido em relação à água doce (0 g de sal/L). Possivelmente, os animais submetidos a essa concentração de sal, tiveram um menor gasto energético para manutenção da osmorregulação devido à redução do gradiente de pressão osmótica entre o plasma dos animais e o meio externo (Urbinati e Carneiro, 2006). Como consequência, os peixes consumiram menos oxigênio durante o transporte. Além disso, o uso de água doce levou os animais a um maior consumo de oxigênio indicando uma situação mais estressante em relação a utilização da concentração 4 g de sal/L na água do transporte.

O transporte de longa duração pode apresentar um desafio instantâneo à piora da qualidade da água uma vez que a mesma é considerada um fator crítico para o sucesso dessa

etapa (Correia, 2001). De acordo com Oliveira et al. (2008) as más condições de qualidade da água têm sido apontadas como uma das principais causas para a alta mortalidade de peixes ornamentais exportados do estado do Amazonas. Apesar do maior consumo de oxigênio encontrado nos animais transportados em água doce, não houve implicação na sobrevivência, uma vez que o oxigênio ainda se manteve em valores ideais para os peixes.

No experimento 2 não foram registradas diferenças nas taxas de sobrevivência entre os tratamentos após 96 horas de abertura dos sacos de transporte para os diferentes tempos e dietas empregadas. Apesar do maior tamanho dos animais alimentados com artêmia, a dieta fornecida não afetou na sobrevivência dos peixes, nem mesmo nos transportes com maior duração. É conhecido que a alimentação tem importante papel na resistência ao estresse. De acordo com Koven et al. (2001) ela pode aumentar a taxa de sobrevivência dos animais após um manejo de transferência de tanques. Luz (2007) afirma que o uso de alimento vivo proporciona melhores taxas de resistência ao estresse e crescimento quando comparado ao uso do alimento artificial para as larvas de três espécies de peixes neotropicais. Contudo, no presente estudo já foram utilizados animais adultos, diferenciados morfológicamente em machos. Durante o experimento também foi observado que os animais previamente alimentados por artêmia tendiam a apresentar colorações mais intensas. Logo a alimentação prévia com artêmia pode ser mais interessante com o propósito de garantir uma coloração mais atraente aos animais.

O aumento da concentração de amônia total em maiores tempos de transporte não influenciou na sobrevivência dos animais. O pH da água do transporte foi maior para animais alimentados previamente com ração. Durante o transporte, o pH diminui gradualmente, enquanto a amônia aumentou, fato que pode ser devido, ao acúmulo de dióxido de carbono e a liberação de resíduos nitrogenados (Hamon, 2009; Correia, 2011; Correia, 2018). O acúmulo de resíduos nitrogenados na água do transporte é uma consequência inevitável e é capaz de afetar a saúde e desempenho dos animais (Dhanasiri et al., 2011). Em pH baixo, a amônia está principalmente na forma ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ), menos permeável e menos tóxica. Em pH neutro ou mais alcalino, há uma maior incidência da forma não ionizada ( $\text{NH}_3$ ), mais permeável e tóxica (Gomes et al., 2003). Apesar do pH maior nos animais alimentados com ração, a toxicidade da amônia não foi influenciada pela dieta fornecida no pré transporte. A menor média de sobrevivência total após 96 horas do transporte, encontrada nos animais transportados por 12 horas no experimento I em relação ao experimento II, pode ser explicada pela maior excreção de amônia total observada nos animais do experimento II.

Os valores de temperatura aumentaram no decorrer do transporte. Práticas de transporte de maior duração tendem a apresentar variações de temperatura (Abreu et al., 2008; Harmon, 2009). Mendes et al. (2015) no transporte de tambaqui (*Colossoma macropomum*), também observaram uma elevação na temperatura da água do tanque de transporte em relação a água do viveiro de origem.

Os valores de oxigênio dissolvido na água do transporte tiveram um decréscimo à medida que o tempo de transporte aumentou. É natural que os valores de oxigênio dissolvido diminuam durante o transporte como resultado direto da respiração dos animais. Bittencourt et al. (2018) observaram queda nos níveis de oxigênio dissolvido após 4 horas de transporte de alevinos de *Rhamdia quelen* e que esse consumo foi intensificado em temperaturas acima de 20 °C. Porém, apesar das diferenças, os valores estão dentro dos ideais para os peixes, não sendo limitantes para o sucesso do transporte dos killifishes nos tempos testados no presente estudo.

### Conclusão

Para o transporte de machos de killifish *Hypsolebias flagellatus*, pode ser utilizada até 6 g de sal/L durante 12 horas e a alimentação prévia com artêmia ou ração não interfere na sobrevivência dos animais após 96 horas de transporte.

### 5.8 Referências Bibliográficas

- Abreu, J.S.D., Sanabria-Ochoa, A.I., Gonçalves, F.D, Urbanati, E.C. Stress responses of juvenilematrinxã (*Brycon amazonicus*) after transport in aclosed system under different loading densities (2008). Cienc. Rural. 1413–1417. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000500034>
- Adamante, W.B., Nuñer, A.P.O., Barcellos, L.J.G., Soso, A,B., Finco, J.A. Stress in *Salminus brasiliensis* fingerlings due to different densities and times of transportation (2008). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 60, 755-761. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352008000300034>
- Bittencourt, F., Damasceno, D.Z., Lui, T.A., Signor, A., Sanches, E.A., Neu, D.H. et al. Water quality and survival rate of *Rhamdia quelen* fry subjected to simulated transportation at different stock densities and temperatures (2018). Acta Sci, 40, 2-8. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v40i1.37285>

- Correia, J.P.S. Long-term transportation of ratfish, *Hydrolagus colliei*, and tiger rockfish, *Sebastes nigrocinctus* (2001). *Zoo Biol.* 20, 435-441. <https://doi.org/10.1002/zoo.1041>
- Correia, J. P. S.; Graça, J. T. C.; Hirofumi, M., Kube.N. Long-term transportation, by road and air, of chub mackerel (*Scomber japonicus*) and atlantic bonito (*Sarda sarda*) (2011). *Zoo Biol.* 30, 459-472. <http://dx.doi.org/10.1002/zoo.20342>.
- Correia, J.P.S., Maurício, F.V.F., Rosa., R.M.G., Marçal, T., Campino, N.S., Silva, L., Morato, T. Capture, husbandry and long-term transport of pilotfish, *Naucrates ductor* (Linnaeus, 1758), by sea, land and air (2018). *Environ. Biol. Fish.* 101, 1039-1052. <https://doi.org/10.1007/s10641-018-0757-8>
- Dhanasiri, A.K.S., Kiron, V., Fernandes, J.M., Bergh, O., Powel, M.D. Novel application of nitrifying bacterial consortia to ease ammonia toxicity in ornamental fish transport units: trials with zebrafish (2011). *J. Appl. Microbiol.* 111, 278-292. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05050.x>.
- Fashina-Bombata, H.A., Busari, A.N. Influence of salinity on the developmental stages of African catfish *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840) (2003). *Aquaculture.* 22, 213-222. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00273-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00273-4)
- Gomes, L.C., Roubach, R., Araujo-Lima, C.A.R.M., Chippari- Gomes, A.R., Lopes, N.P., Urbanati, E.C. Effect of fish density during transportation on Stress and Mortality of Juvenile Tambaqui *Colossoma macropomum* (2003). *J. World Aquacult. Soc.* 34, 76-84. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2003.tb00041.x>
- Gomes, L.C., Chagas, E.C., Brinn, R.P., Roubach, R., Copatti, C.E., Baldisserotto, B. Use of salt during transportation of air breathing pirarucu juveniles (*Arapaima gigas*) in plastic bags (2006). *Aquaculture.* 256, 521-528. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.02.004>



Harmon, T.S. Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics (2009). *Aquaculture*. 1, 58–66. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2008.01003.x>

Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Weiss, R., Harel, M., Behrens, P., Tandler, A. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n–6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae (2001). *Aquaculture*.193,201-122. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00479-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00479-8)

Kültz, D. Physiological mechanisms used by fish to cope with salinity stress (2015). *The J. Exp. Biol.*218,1907-1914. <https://doi.org/10.1242/jeb.118695>.

Luz, R.K., 2007. Resistência ao estresse e crescimento de larvas de peixes neotropicais alimentados com diferentes dietas. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 42, 65–72. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2007000100009>.

Luz, R. K., Santos, A.E.H.S., Filho. R.M., Turra, E.M., Teixeira, E.A. Larvicultura de tilápia em água doce e salinizada (2013). *Pesq. Agropec. Bras.* 48, 1150-1153. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800051>

Mendes, J.M., Inoue, L.A.K.A., Jesus, R.S. Influência do estresse causado pelo transporte e método de abate sobre o rigor mortis do tambaqui (*Colossoma macropomum*) (2015). *Braz. J. Food Technol.* 18, 162-169. <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.1115>.

Myers, G.S. Annual fishes (1952). *Aquarium J.* 23,125–141.

Oliveira, S.R., Souza, R.T.Y.B, Nunes, E.S.S, Carvalho, C.S.M., Menezes, G.C., Marcón, J.L,Roubach, R., Ono, E.A., Affonso, E.G. Tolerance to temperature, pH, ammonia and nitrite in cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi*, an amazonian ornamental fish (2008). *Acta Amaz.* 38, 772-780. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672008000400023>.

Oliveira, J.R., Carmo, J.L., Oliveira, K.K.C., Soares, M.C.F. Cloreto de sódio, benzocaína e óleo de cravo-da-índia na água de transporte de tilápia-do-Nilo (2009) R. Bras. Zootec, 38, 1163-1169. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009000700001>.

Oyoo-Okoth, E., Cherop, L., Ngugi, C.C., Chepkirui-Boit, V., Manguya-Lusega, D., Ani Sabwa, J., Charo-Karisa, H. Survival and physiological response of *Labeo victorianus* (Pisces: *Cyprinidae*, Boulenger 1901) juveniles to transport stress under a salinity gradient (2011). *Aquaculture*. 319,226-231, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.06.052>

Salaro, A.L., Campelo, D.A.V., Tavares, M.M., Braga, L.G.T., Montes, M.D., Zuanon, J.A.S. Transport of *Astyanax altiparanae* Garutti and Britski, 2000 in saline water (2015). *Acta Sci.* 37, 137-142. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsoci.v37i2.26884>

Sampaio, F.D.F.; Freire, C.A. An overview of stress physiology of fish transport: changes in water quality as a function of transport duration (2016). *Fish. Fish.* 17, 1055-1072. <https://doi.org/10.1111/faf.12158>

Tacchi, L., Lowrey, L., Musharrafieh, R., Crossey, K., Larragoite, E.T., Salinas, I. Effects of transportation stress and addition of salt to transport water on the skin mucosal homeostasis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (2015). *Aquaculture*. 435,120-127. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.027>

Urbinati, E.C., Carneiro, P.C.F. Sodium chloride added to transport water and physiological responses of matrinxã *Brycon amazonicus* (Teleost: Characidae) (2006). *Act. Amazon.* 36, 569-572. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672006000400020>

Wourms, J.P. The developmental biology of annual fishes. III. Pre-embryonic and embryonic diapause of variable duration in the eggs of annual fishes (1972). *J. Exp. Zool.* 182, 389-414. <http://dx.doi.org/10.1002/jez.1401820310>.

Zahl, H. I., Samuelsen, O.; Kiessling, A. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. (2012). *Fish Physiol Biochem.* 38, 2011-2018. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9565-1>.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para o transporte de machos de killifish *Hypsolebias flagellatus*, pode ser utilizada até 6 g de sal/L durante 12 horas. A alimentação prévia com artêmia ou ração não interfere na sobrevivência dos animais após 96 horas de transporte.

É importante considerar que pesquisas relacionadas ao transporte de peixes ornamentais são relativamente recentes e escassas em comparação a diversidade de espécies transportadas e comercializadas atualmente. Assim, é necessário um maior investimento no desenvolvimento de protocolos que facilitem e reduzam os problemas provocados durante o manejo de transporte a fim de assegurar a maior sobrevivência dos animais.