

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CONSERVAÇÃO E  
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

ADRIANE FEDERICI BIDO

INDICADORES DE ESTRESSE NO CURIMBA (*Prochilodus lineatus*)  
(Valenciennes, 1836) EM ESCADA PARA PEIXES, NO ALTO RIO PARANÁ,  
BRASIL

CASCAVEL-PR

2016

ADRIANE FEDERICI BIDO

INDICADORES DE ESTRESSE NO CURIMBA (*Prochilodus lineatus*)  
(Valenciennes, 1836) EM ESCADA PARA PEIXES, NO ALTO RIO PARANÁ,  
BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Área de Concentração: Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Orientador: Dr. Sergio Makrakis

Co-orientadora: Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati

CASCADEL-PR

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

B484i

Bido, Adriane Federici

Indicadores de estresse no curimba (*Prochilodus lineatus*) (Valenciennes, 1836) em escada para peixes, no Alto Rio Paraná, Brasil./Adriane Federici Bido. Cascavel, 2016.

32 p.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Makrakis

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elisabeth Criscuolo Urbinati

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2016

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

1. Cortisol. 2. Fisiologia de peixes. 3. Biologia da conservação. 4. Migração reprodutiva. 5. Transposição de peixes. I. Makrakis, Sergio. II. Urbinati, Elisabeth Criscuolo. III. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. IV. Título.

CDD 21.ed. 597  
CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Beijo – CRB 9<sup>a</sup>/965

**ADRIANE FEDERECI BIDO**

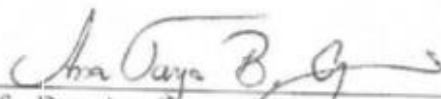
**“Indicadores de estresse em curimba (*Prochilodus lineatus*) (Valenciennes, 1836) em escada para peixes, no Alto Rio Paraná, Brasil”.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais-Nível de Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, pela comissão Examinadora composta pelos membros:



Prof. Dr. Sergio Makrakis

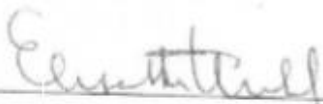
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente Orientador)



Prof. Dra. Ana Tereza Bittencourt Guimarães  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Prof. Dr. Joao Henrique Pinheiros  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Prof. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Co-Orientadora)

Aprovada em 19 de Fevereiro de 2016.

Local da defesa: Unioeste, Prédio de Salas de Aula, sala 56, Cascavel-PR.

*Dedicatória*

*Dedico este trabalho ao meu querido avô Carlos Federici, conhecido por avô Tô,  
por toda inspiração durante minha caminhada acadêmica científica.*

*“Tentar sempre com vontade de vencer”*

*Carlos Roberto Federici*

## AGRADECIMENTOS

*À Deus, em sua infinita bondade, pelo auxílio e amparo nas horas em que pensava em desistir. Pra quem tem fé, o céu não é o limite!*

*Ao Prof. Dr. Sérgio Makrakís, por aceitar a me orientar, pela paciência, confiança em mim depositada, pelos puxões de orelha, e por me deixar voar sempre que possível.*

*À co-orientadora Prof. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati, pelo auxílio em fisiologia, pelas dicas e sugestões, por sempre me socorrer, por todo apoio e ensinamento durante a pesquisa, e principalmente pela amizade.*

*Aos meus pais e irmão, Lúcia Federici Bido, Luiz Antonio Bido e Neto Bido que sempre acreditaram em meu potencial. Por todo amor e carinho depositado, pela paciência quando eu estava triste e aflita. A vocês, todo meu amor e gratidão.*

*Ao meu namorado Theylor Tomazini Sereniski, por me entender, estar sempre ao meu lado, por me fazer rir e por sempre deixar meus dias mais coloridos. Por não me deixar desistir, por me aguentar inúmeras vezes chorando de desespero e por sempre me acalmar. A você, todo meu amor e carinho.*

*Aos colegas do grupo de pesquisa GETECH, Patrícia, Lucileine, Fabiane, Evelim, Suelen Pini, pela ajuda concedida em análises estatísticas e por todo apoio em laboratório.*

*Ao Instituto Água Viva pelo apoio financeiro em viagens e compra de materiais para minhas análises.*

*Ao grupo GEMAg, Prof. Dr. Fábio, colega Micheli, Mari, por conceder o laboratório para algumas análises, por sugestões de pesquisa e por toda a ajuda oferecida.*

*Ao laboratório de Fisiologia e Morfologia Animal do CAUNESP, do qual tive o apoio nas análises fisiológicas e interpretação dos resultados. Por todo o conhecimento transmitido das colegas Mônica, Talísia, Mari e Natália.*

*À técnica Damares, do CAUNESP, o meu muito obrigada por sempre me socorrer em momentos difíceis, além de todo o apoio e amizade.*

*Ao doutorando Leandro Celestino pelo auxílio nas coletas em campo e por todas as sugestões durante a pesquisa, além de contribuições para a Dissertação.*

*À Jhony Ferry pela elaboração do mapa constituindo os locais de coleta e por sempre estar disposto a ajudar.*

*À Prof. Dra. Maristela Makrakís por sempre estar disposta a ajudar e pelas orientações.*

*À Prof. Dra. Ana Tereza pela ajuda e sugestões na estatística final do projeto de Dissertação, pelas risadas e amizade.*

*À Prof. Dra. e amiga Thaís Bignotto pela amizade, pelos conselhos, e por sempre me ajudar em momentos tão difíceis.*

*Aos professores do Mestrado de Conservação e Manejo de Recursos Naturais por todo o conhecimento e experiências compartilhadas.*

*À Márcia, secretária do programa, pela orientação, atenção, disposição e esclarecimentos.*

*Ao Prof. Dr. Luís, coordenador do programa, por sempre estar disposto a ajudar.*

*Aos meus amigos, Jordana Dorca, Jean Carlos, Gessica Wernke pela amizade, apoio, risadas, conselhos em hora de desespero, e por todo o carinho concedido.*

*À Luiz Fernando, Nati Munaretto, Jardel Nimet, Rennan Meira pela amizade que construí ao longo do mestrado, obrigada pela paciência, por me socorrer quando necessário, por me fazer sorrir, e pela força durante o Mestrado.*

*À colega Dani Beraldo por disponibilizar moradia em Jaboticabal para que eu pudesse realizar meus experimentos na cidade. Muito obrigada!*

*À Companhia Energética de São Paulo - CESP, de Porto Primavera pelo auxílio e abertura as coletas.*

*À Capes pela concessão da bolsa durante o Mestrado*

*Enfim, a todos que contribuíram de alguma forma para a minha formação e participaram da minha caminhada científica. Sou muito grata a cada um de vocês!*

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b> .....	10
<b>2. Materiais e métodos</b> .....	13
2.1 Área de estudo.....	13
2.2 Animais e procedimento experimental .....	15
2.3 Análises fisiológicas .....	16
2.4 Análise estatística.....	16
<b>3. Resultados</b> .....	16
3.1 Peso e comprimento corporal.....	16
3.2 Indicadores hormonal, metabólicos, iônico e hematológico.....	18
3.2.1 Cortisol plasmático .....	18
3.2.2 Glicose plasmática .....	18
3.2.3 Lactato plasmático .....	18
3.2.4 Cloreto plasmático .....	18
3.2.5 Hematócrito.....	18
<b>4. Discussão</b> .....	20
<b>5. Referências Bibliográficas</b> .....	23
<b>6. Anexo</b> .....	28
6.1 Normas da Revista para publicação .....	28



## **Indicadores de estresse em curimba (*Prochilodus lineatus*) (Valenciennes, 1836) em escada para peixes, no Alto Rio Paraná, Brasil**

Adriane Federici Bido, Sergio Makrakis, Elisabeth Crisculo Urbinati, Maristela Cavicchioli Makrakis, Leandro Fernandes Celestino

**Resumo** O estresse é um componente adaptativo que permite ao peixe lidar com eventos estressores que ocorrem durante o ciclo de vida dos peixes, como, por exemplo, a migração reprodutiva que exige esforço fisiológico dos animais. O objetivo do trabalho foi avaliar, por meio de indicadores fisiológicos, se a transposição de escada para peixes em barragem de reservatório representa um evento estressor para o curimba (*Prochilodus lineatus*). Peixes adultos da espécie foram amostrados em março de 2015 em três locais na Usina Hidrelétrica de Porto Primavera, Alto Rio Paraná, Brasil: a jusante, na escada para peixes e a montante da barragem, totalizando 48 indivíduos. Variações do peso corporal, comprimento padrão e das concentrações plasmáticas de cortisol, glicose, lactato, cloreto e hematócrito foram analisadas em relação ao gênero e local amostrado. O peso corporal e o comprimento padrão apresentou valores similares em todos os locais de coleta, nos dois gêneros, porém as fêmeas foram significativamente maiores a montante. Aumento significativo nos níveis plasmáticos de glicose e lactato foram observados, mas sem alterações significativas das concentrações circulantes de cortisol, cloreto e do hematócrito. O exercício intenso dos peixes pela transposição da escada para peixes representou uma condição moderadamente estressante, sem causar prejuízo biológico, visto a recuperação observada a montante. Estes resultados são aprofundamentos sob a fisiologia utilizada como ferramenta para conservação fornecendo conhecimento e subsídios para a conservação e manejo de espécies migratórias.

**Palavras-chave** cortisol, fisiologia de peixes, biologia da conservação, migração reprodutiva, transposição de peixes

## **Stress indicators in curimba (*Prochilodus lineatus*) (Valenciennes, 1836) in fish ladder in the Upper Paraná River, Brazil**

**Abstract** Stress is an adaptive component that allows the fish to deal with various stressful events that occur during the life cycle of fish, such as the reproductive migration that demands physical efforts. The aim was to assess whether the steps for implementation to fish in the reservoir dam is promotes stress in curimba (*Prochilodus lineatus*). Adult fish species were sampled in March 2015 at three sites in the Hydroelectric Powerplant of Porto Primavera, Upper Paraná River, Brazil: downstream, the fish ladder and upstream of the dam, totaling 48 individual. Variations in body weight, standard length, and determination of plasma concentrations of cortisol, glucose, lactate, choloride and hematocrit they were analyzed in relation to gender and local sampled. The body weight and standard length presented comparable values for each location between genders, but the averages of females were significantly higher. Significant increase in plasma levels of glucose and lactate were observed but without significant changes in cortisol, chloride levels, as well as in hematocrit. The intense exercise of the fish by the transposition of fish ladder represented moderate stressor, without causing harmful effects to these animals, since the recovery of fish at the upstream from the dam. These results are deepening about the physiology used as a tool for conservation by providing knowledge and subsidies for the conservation and management of migratory species.

**Key words** cortisol, fish physiology, biology of conservation, reproductive migration, fish transposition

### **1. Introdução**

Na maior parte dos grandes rios da América do Sul, a construção de barragens tem se intensificado. Cerca de 60% das maiores bacias hidrográficas do planeta estão intensamente fracionadas por esses empreendimentos (WCD 2000; Agostinho et al. 2007).

Neste contexto, a bacia do rio Paraná apresenta 130 barragens superiores a 10 m de altura, sendo que 26 delas ocupam áreas superiores a 100 km<sup>2</sup> (Agostinho et al. 2002; Agostinho et al. 2007). Nessa bacia, muitos reservatórios foram construídos em cascata,

promovendo impacto negativo sobre a população de peixes migratórios (Agostinho et al. 2007). As barragens hidrelétricas produzem consequências sob a pesca, ocorrendo alterações do regime hidrológico, redução da oferta de alimentos, bloqueio de áreas de desova e a consequente redução da diversidade genética (Loures e Pompeu, 2012) e do fluxo gênico, levando a diferenciação genética entre as populações (Jager et al. 2001; Barroca et al. 2012). Por isso, é um fator relevante para depleção demográfica e mesmo extinções locais de grandes migradores na bacia do Alto Paraná (Agostinho e Julio 1999; Agostinho et al. 2007).

A construção de passagens para peixes é uma das ações de manejo adotadas em sistemas fluviais da América do Sul (Agostinho et al. 2008; Pompeu et al. 2012). Os sistemas de transposição dos peixes, dentre eles as escadas, foram implantados em projetos hidrelétricos, buscando mitigar o bloqueio de rotas migratórias pelas barragens, fornecendo transposições seguras e eficazes para as espécies de peixes (Castro-Santos e Haro, 2010).

Estudos que avaliaram escadas para peixes indicaram seletividade no movimento ascendente das espécies (Gustavo et al. 2012; Wagner et al. 2012). No entanto, para o implemento correto de sistemas de transposição, é necessário compreender os comportamentos das espécies e as estruturas populacionais (Makrakis et al. 2015). Além disso, a utilização de ferramentas para o campo “fisiologia da conservação” (Wikelski e Cooke 2006), a fim de quantificar biomoléculas como: íons, lipídeos, hormônios e metabólitos, em tecidos de peixes, tem sido raramente aplicada ao delineamento de sistemas de transposição para peixes em usinas hidrelétricas (Hasler et al. 2009). Dessa forma, a utilização de dados da fisiologia dos peixes pode contribuir para a biologia da conservação de espécies neotropicais.

Na bacia do Rio Paraná as diferentes espécies de peixes apresentam padrões migratórios diversificados (Makrakis et al. 2012). Apesar da importância das características biológicas das espécies migratórias neotropicais, incluindo comportamento e fisiologia, esses atributos têm sido ignorados na elaboração dos projetos de passagens para peixes no Brasil (Lopes e Silva 2012; Makrakis et al. 2015).

Um fator importante em escadas para peixes é o desempenho natatório das espécies reofílicas (Beach 1984; Santos et al. 2008) que utilizam deste sistema de transposição para facilitar seu percurso durante a piracema. O desempenho da natação desses indivíduos, por sua vez, pode ser influenciado pelo tamanho, forma do corpo, comportamento e fisiologia dos animais (Beamish 1978; Videler e Wardle 1991;

Hammer 1995; Assumpção et al. 2012). Dessa forma, o estresse decorrente do esforço de transposição pode somar-se aos demais problemas impostos pelas barragens às espécies migratórias. A resposta de estresse que visa a adaptação do peixe à condição adversa pode se tornar uma ameaça para a saúde e ao bem estar dos animais (Broom 1986), pois desestabiliza o equilíbrio de suas condições biológicas, desafiando a homeostase orgânica (Barton e Iwama 1991). Esse processo é iniciado pela percepção de um estressor pelo sistema nervoso central, que desencadeia uma série de respostas (Barton 2002; Schreck 2010).

Essas respostas são classificadas em primárias, secundárias e terciárias (Iwama et al. 2005). As primárias consistem na liberação de catecolaminas e cortisol para a circulação, pelo sistema nervoso autônomo, via células cromafins do rim cefálico, e pelo eixo hipotálamo-hipófise-tecido inter-renal, respectivamente (Wendelaar-Bonga 1997; Veras et al. 2013). As respostas secundárias são consequência da ação dos hormônios liberados, tais como alterações do metabolismo energético, com aumento dos níveis sanguíneos de glicose, lactato e ácidos graxos, alterações no equilíbrio osmorregulatório e em parâmetros hematológicos, das séries vermelha e branca (Wendelaar-Bonga 1997; Barton 2002; Urbinati e Carneiro 2004). As respostas terciárias ocorrem em processos prolongados de estresse e são caracterizadas pela exaustão do sistema adaptativo dos peixes, com prejuízo de várias funções como crescimento, reprodução, além de imunossupressão, tornando os animais susceptíveis a doenças (Wendelaar-Bonga 1997).

O exercício físico durante a natação forçada causa estresse em peixes. De acordo com Kieffer (2000), exercício exaustivo provoca severas alterações metabólicas, ácido-básicas e iônicas, além da elevação dos níveis sanguíneos de catecolaminas e cortisol. O exercício sustentado provocou estresse natatório em matrinxã, *Brycon cephalus* (Hachbarth e Moraes 2006). Alterações nos níveis circulantes de glicose, cortisol, sódio e RBC (hemácias) sanguíneos foram descritos em matrinxãs (*Brycon amazonicus*) e tambaquis (*Colossoma macropomum*) submetidos a velocidades críticas de natação (Ferreira 2006; Ferreira et al. 2010).

O modelo biológico escolhido no presente estudo, o curimba, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiformes, Prochilodontidae), também conhecido como grumatã ou curimbatá (Pereira et al. 2009), distribui-se nas bacias dos rios Paraná-Paraguai e Paraíba do Sul (Freitas et al. 2002) e considerado um peixe migrador de longa distância (Makrakis et al. 2012). A espécie apresenta comportamento reofílico,

percorrendo de áreas de alimentação para sítios reprodutivos em trechos superiores do Rio Paraná (Agostinho et al 1993; Agostinho et al. 2003; Agostinho et al. 2004; Bailly et al 2008; Makrakis et al 2012; Silva et al 2014), e permanecendo nos trechos de montante dos rios em períodos de desova (Menezes et al. 2007). Esta espécie é abundante na região do Alto rio Paraná, desempenha importante papel ecológico (Botta et al. 2010; Costa Filho e Gaya 2012) e tem grande importância econômica, destacando-se como fonte de renda e proteína para população humana (Agostinho e Gomes 2005).

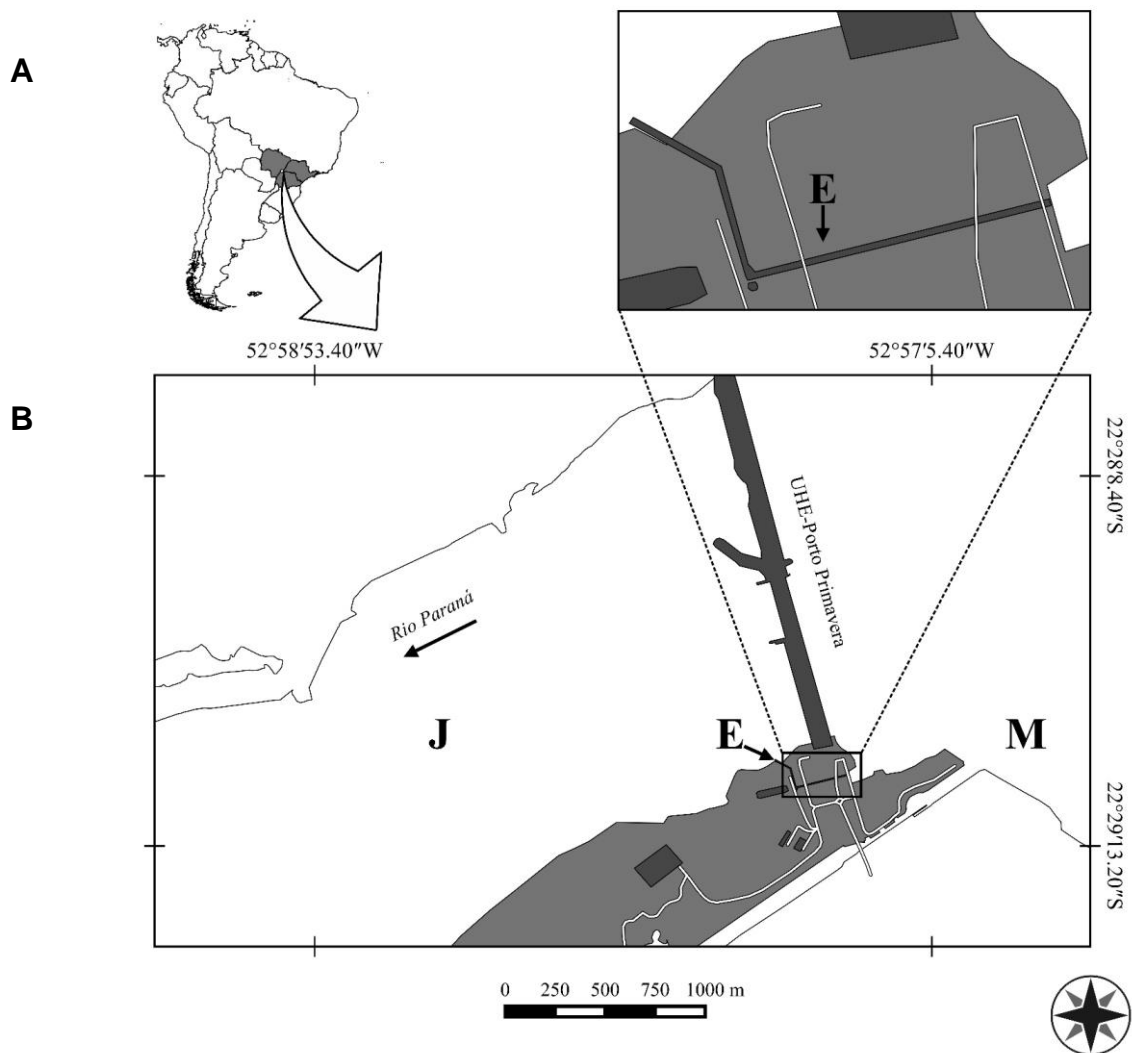
Este trabalho teve por objetivo avaliar se a transposição em escada para peixe promove efeitos estressores em *P. lineatus*, em função do esforço realizado ao utilizar a passagem para peixe, com reflexos na eficácia da transposição. Especificamente, testamos a hipótese de que existe diferença nas condições biológicas dos animais amostrados em pontos distintos (jusante, escada para peixe e montante da barragem), que podem ser traduzidas por respostas fisiológicas, como o aumento de cortisol, glicemia, lactato, íon cloreto e alteração de parâmetro hematológico, o hematócrito. Assim, as respostas dessas variáveis podem estar associadas ao gasto energético e/ou esforço físico excessivo ao qual o animal enfrenta durante a transposição da escada para peixes através da barragem da hidrelétrica.

## **2. Materiais e métodos**

### *2.1 Área de estudo*

Este estudo foi realizado na Usina Hidrelétrica Engenheiro Sergio Motta, também conhecida como Usina Hidrelétrica de Porto Primavera, pertencente à Companhia Energética de São Paulo (CESP), localizada no Alto Rio Paraná, município de Rosana, distrito de Porto Primavera, estado de São Paulo, Brasil (Figura 1 A).

As coletas foram realizadas em três locais distintos (Figura 1 B), denominados de jusante (J), a aproximadamente 4,5 km da escada para peixes; na escada para peixes (E) entre os tanques 25 e 30; e montante (M), a aproximadamente 4,5 km de distância da barragem.



**Fig. 1** Localização da Usina Hidrelétrica de Porto Primavera, SP, no Alto Rio Paraná, Brasil (A) e os locais de coletas (B): jusante (J), escada para peixes (E) e montante (M).

A escada para peixes foi construída na margem esquerda do rio, visando possibilitar aos peixes chegar ao reservatório (Makrakis et al. 2007a). A escada para peixes tem 520 m de comprimento e sua extremidade superior está ao lado do reservatório, a uma altitude de 255,5 m (entrada da água) e uma elevação na extremidade inferior de 235,5 m, entrando no Alto rio Paraná em um ângulo de 45° com relação a margem do rio. A escada é composta por 50 paredes transversais de concreto que formam os degraus-tanques com orifícios, na qual cada degrau-tanque possui dimensões de 5 m de largura x 8 m de comprimento x 2 m de altura. Cada parede transversal possui seis orifícios; três na posição superior e três na posição inferior. Além disso, cada orifício tem uma placa de metal corrediça que permite a abertura e controle

de vazão dos orifícios, alterando o fluxo de água (Makrakis et al. 2007a). A vazão da água na escada varia de 3 m<sup>3</sup>/s e 3,5 m<sup>3</sup>/s (Wagner et al. 2012).

## 2.2 Animais e procedimento experimental

Foram coletados 48 exemplares adultos de *P. lineatus*, sendo 16 indivíduos por local, entre os dias 03 a 05 de março de 2015 (período de migração reprodutiva). As coletas foram realizadas de 08:00 h às 09:00 h, 12:00 h às 14:00 h e 17:00 h às 19:00 h. Os horários foram estabelecidos para evitar a coincidência do tempo de coleta com intervalos de picos de secreção do cortisol. É conhecido na literatura que processos fisiológicos e comportamentais em organismos vivos são rítmicos, sendo o ciclo circadiano o fator ambiental sincronizador dos ritmos biológicos (Vera et al. 2007), associados aos ciclos diários de claro e escuro (Roenneberg e Merrow 2002; Veras et al. 2013). Em várias espécies de peixes, são observadas alterações nos ritmos endócrinos causados pelo fotoperíodo, horário de alimentação e atividade do animal (Pavlidis et al. 1999). A secreção de cortisol no matrinxã *Brycon amazonicus*, outra espécie neotropical, é rítmica e apresenta o pico principal pela manhã, após 09:00h (Serra et al. 2015).

O esforço amostral durante o processo de captura dos indivíduos foi aplicado igualmente entre os locais de coleta. A captura dos peixes foi realizada com tarrafas com malha de 10 cm entre nós, com diâmetro de 4 m, e malha 12 cm entre nós, com diâmetro de 4,8 m. Cada animal capturado foi colocado em uma caixa de 40 L contendo benzocaína, 1g L<sup>-1</sup>, exposto a dois minutos, para posterior coleta de sangue conforme procedimento autorizado pelo Comitê de Ética da Unioeste, estabelecido pelo protocolo número 63/09.

O sangue foi retirado por punção da veia caudal segundo Ishikawa et al. (2010) e separado em duas alíquotas, colocadas em micro tubos de 1,5 ml contendo 20 µl de anticoagulante (glistab). Uma alíquota foi mantida em gelo até posterior separação de plasma para determinação dos indicadores de estresse e a outra, de sangue total, foi utilizada para determinação do hematócrito. Após a retirada de sangue, os peixes foram eutanasiados em uma concentração maior de anestésico (3g L<sup>-1</sup>). Foram realizadas medidas de peso (Wt), com uma balança digital GEHAKA, modelo BK 6000 e comprimento padrão (CP) com um ictiômetro. Observação macroscópica das gônadas foi realizada para determinação do gênero (macho/fêmea).

### 2.3 Análises fisiológicas

O plasma separado foi mantido a  $-20\text{C}^{\circ}$  até a realização das análises fisiológicas, no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV, UNESP, Jaboticabal – SP.

Os níveis de cortisol foram determinados por ensaio imunoenzimático, com kit comercial (DRG International, Inc., USA; Cortisol ELISA - EIA – 1887), os níveis de glicose e lactato por método enzimático (YSI 2300 Stat Plus) e os de cloreto por teste colorimétrico (kit Labtest, Ref. 49).

Para a análise de hematócrito, tubos capilares contendo sangue total foram centrifugados na Microcentrífuga Microhematócrito Edutec, modelo EEQ – 9021, a 3.000 rpm por 10 minutos. A leitura do hematócrito foi realizada pela quantificação dos eritrócitos, expressa em porcentagem, com o auxílio de uma tabela padrão modelo Q-222H, marca QUIMIS<sup>®</sup>.

### 2.4 Análise estatística

Os dados biométricos (peso corporal e comprimento padrão) e respostas fisiológicas (cortisol, glicemia, lactato, cloreto e hematócrito) foram testados para normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Levene), e, uma vez satisfeitos esses pressupostos, foram testados por Análise de Variância em Duas Vias (*Two Way Anova*), sendo os fatores o local de captura (três níveis: jusante, escada para peixes e montante) e o gênero (dois níveis: macho e fêmea). Quando houve diferença significativa foi aplicado o teste de Fisher–LSD (Least Significance Difference) adotando o nível de significância de 5%. Para a variável hematócrito foi transformada em  $\log(x)$  uma vez que os dados não foram satisfeitos em normalidade e homocedasticidade. O programa estatístico utilizado foi o Statistica 7.1<sup>®</sup> (Stat Soft 2005).

## 3. Resultados

### 3.1 Peso e comprimento corporal

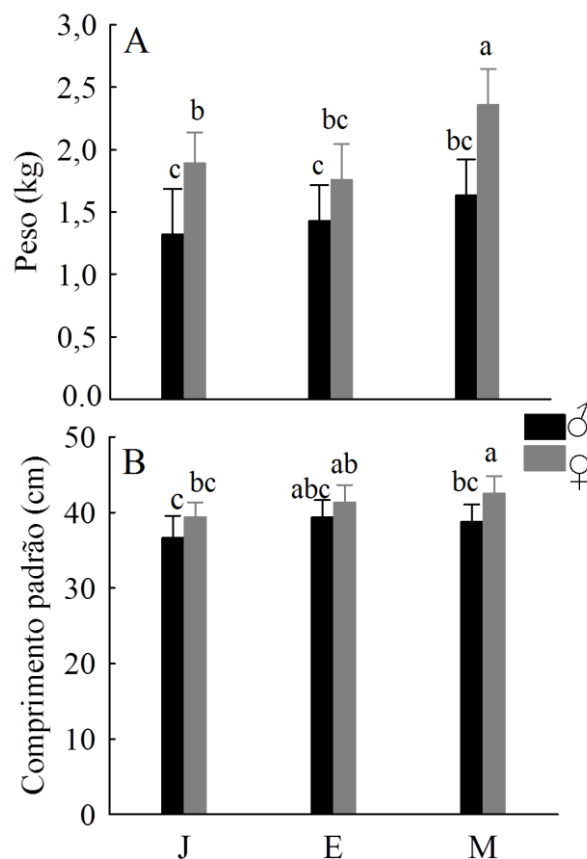
Os peixes apresentaram os respectivos pesos médio e desvio padrão de  $1713,1 \pm 391,1$  g a jusante,  $1593,1 \pm 507,7$  g na escada, e  $1996,8 \pm 537,9$  g a montante (Figura 2 A). Em relação ao comprimento padrão médio e o desvio padrão, respectivamente, os peixes apresentaram  $38,5 \pm 2,29$  cm a jusante,  $40,3 \pm 4,11$  cm na escada para peixes, e  $40,6 \pm 3,68$  cm a montante (Figura 2 B).



Ao comparar as médias, observamos que machos e fêmeas apresentaram valores similares de peso corporal em todos os locais de coleta ( $F(2,42)=0,983$ ;  $p=0,382$ ), exceto para as fêmeas amostradas no local montante, que se mostraram significativamente maiores ( $F(2,42)=20,476$ ;  $p<0,011$ ) comparado aos machos capturados a jusante e na escada para peixes ( $F(2,42)=5,054$ ;  $p=0,010$ ) (Figura 2A).

Ao comparar as médias de tamanho, observamos que machos e fêmeas apresentaram valores similares em todos os locais de coleta para comprimento padrão ( $F(2,42)=0,300$ ;  $p=0,742$ ), exceto a montante as médias das fêmeas foram significativamente maiores ( $F(2,42)=8,773$ ;  $p=0,005$ ) (Figura 2B) que dos machos.

Os resultados não apresentaram interação entre locais e gênero para as variáveis analisadas neste estudo. Entretanto, ao determinar os efeitos principais observamos efeito significativo em relação a locais e gênero, bem como perfil de redução para algumas variáveis.



**Fig. 2** Peso corporal (A) e comprimento padrão (B) para ♂ (macho) e ♀ (fêmea) de *Prochilodus lineatus* amostrados em três locais de coleta: J (jusante), E (escada para peixes) e M (montante) da barragem de Porto Primavera. a. Letras diferentes indicam

diferença entre os locais de coleta. Dados apresentados como médias e intervalo de confiança.

### 3.2 *Indicadores hormonal, metabólicos, iônico e hematológico*

#### 3.2.1 *Cortisol plasmático*

Não houve diferenças entre as concentrações plasmáticas de cortisol relativas aos locais de coleta ( $F(2,42)=1,83$ ;  $p=0,17$ ) e ao gênero ( $F(2,42)=0,75$ ,  $p=0,39$ ) dos peixes (Figura 3A).

#### 3.2.2 *Glicose plasmática*

Ao determinar os efeitos principais observamos efeito significativo nas concentrações plasmáticas de glicose nos locais ( $F(2,42)=16,91$ ;  $p<0,001$ ), sendo que os valores de glicose encontrados para peixes amostrados na escada foram superiores aos coletados a jusante e montante. Da mesma forma, observamos que machos e fêmeas apresentam valores diferentes ( $F(2,42)=5,30$ ;  $p=0,026$ ) (Figura 3B).

#### 3.2.3 *Lactato plasmático*

Ao avaliar os efeitos principais, registramos efeito significativo nas concentrações plasmáticas de lactato nos locais ( $F(2,42)=3,81$ ;  $p=0,03$ ), sendo os valores de lactato encontrados para peixes amostrados na escada foram maiores aos amostrados a jusante. À montante, os peixes exibiram valores intermediários, sem diferença do observado na escada e à jusante ( $p>0,05$ ) (Figura 3C).

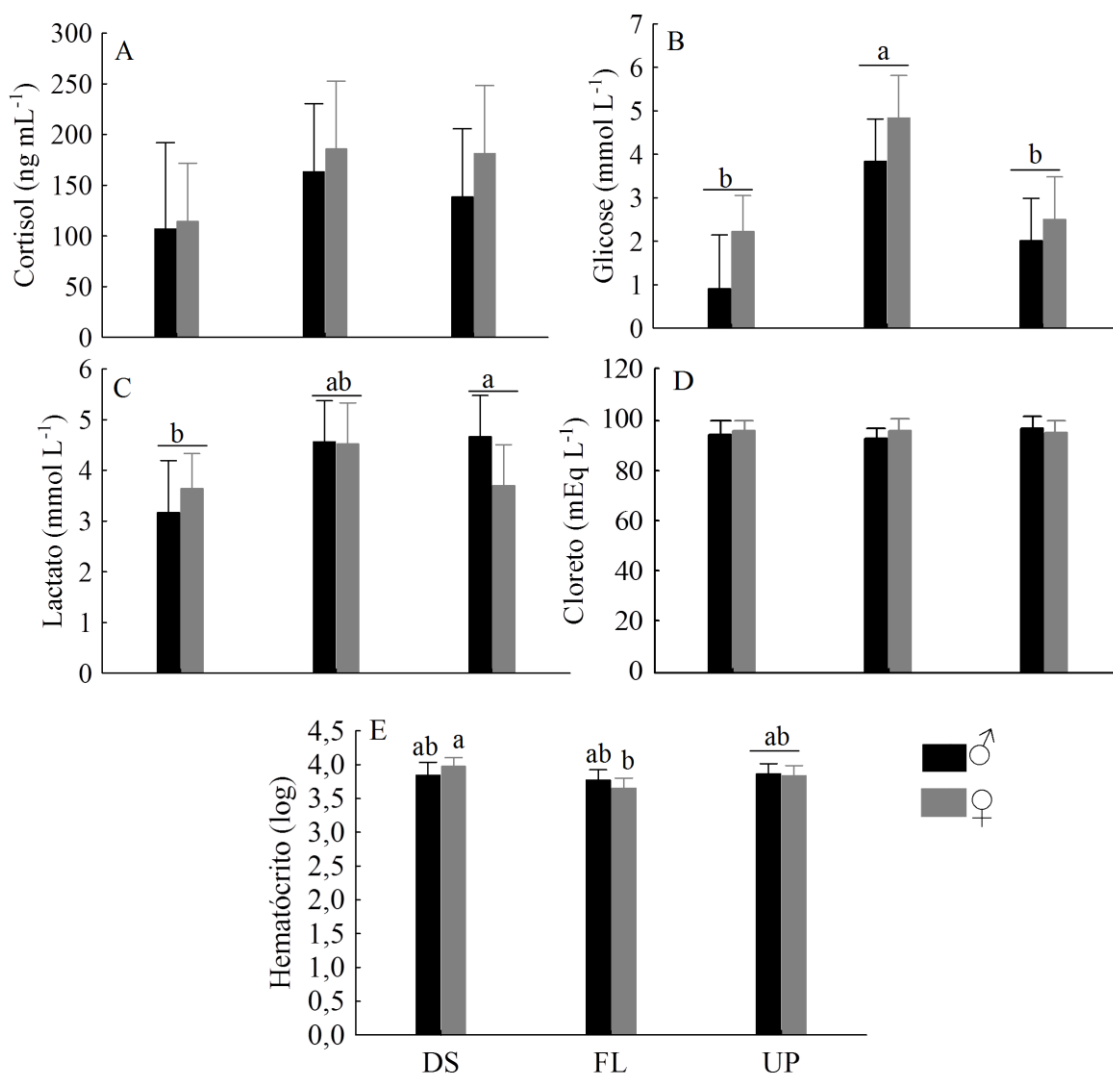
#### 3.2.4 *Cloreto plasmático*

Não observamos efeito dos locais de coleta ( $F(2,42)=0,33$ ;  $p=0,71$ ) e do gênero ( $F(2,42)=0,33$ ;  $p=0,56$ ) nas concentrações plasmáticas de cloreto dos peixes. Entretanto, os níveis de cloreto dos peixes amostrados na escada foram apenas numericamente menores quando comparados aos dos peixes amostrados à jusante e à montante (Figura 3D).

#### 3.2.5 *Hematócrito*

Para os valores de hematócrito observamos efeito significativo nos locais de coleta ( $F(3,47)=1,15$ ;  $p=0,040$ ), sendo os valores de hematócrito encontrados para

fêmea de jusante e escada foram maiores aos amostrados aos outros locais. Os níveis de hematócrito dos peixes amostrados na escada apresentaram perfil de redução em relação aos valores encontrados para aqueles coletados à jusante e à montante (Figura 3E).



**Fig. 3** Níveis plasmáticos de cortisol (A), glicose (B), lactato (C), cloreto (D) e hematócrito (E) para ♂ (macho) e ♀ (fêmea) de *Prochilodus lineatus* amostrados em três locais de coleta: J (jusante), E (escada para peixes) e M (montante) da barragem de Porto Primavera. Dados apresentados como médias e intervalo de confiança. Letras diferentes indicam diferença significativa.

#### 4. Discussão

O comportamento fisiológico investigado neste estudo em adultos de *P. lineatus* mostrou que a transposição da escada para peixes de Porto Primavera pela espécie representou uma condição moderadamente estressante para os peixes. Estes são capazes de recuperar-se parcialmente do esforço físico quando atingiram a montante, como sugerido pelas respostas fisiológicas analisadas (níveis plasmáticos de cortisol, glicose, lactato, cloreto e da taxa de hematócrito), levando em consideração a condição inicial dos peixes a jusante.

Maior gasto energético e esforço físico dos peixes possivelmente ocorreram neste estudo durante a natação forçada para transpor a escada para peixes, condição parcialmente revertida a montante da barragem. Wagner et al. (2012) avaliaram a passagem de peixes na escada em Porto Primavera e quantificaram a entrada e as proporções de passagens de várias espécies migratórias de longa incluindo *Prochilodus lineatus*. Elevada taxa de entrada e de passagem foram constatadas por Wagner et al. (2012) para *P. lineatus*, que obteve 100% de passagem pela escada com tempo médio ascendente de 1,48 h. À vista disso, os dados obtidos nesta pesquisa sugerem que a espécie possui um desempenho natatório satisfatório que facilita o uso da escada para peixes de Porto Primavera.

Características específicas relacionadas ao desempenho natatório já foram descritas para *P. lineatus*. Assumpção et al. (2012) avaliaram características morfológicas relacionadas ao desempenho natatório de *P. lineatus* na escada para peixes de Porto Primavera, e constataram que a razão muscular elevada em *P. lineatus* indicou maior resistência a altas velocidades da água (Assumpção et al. 2012) e que a capacidade de natação, dentre outros fatores, está relacionada ao tamanho dos animais (Haro et al. 2004; Santos et al. 2012; Sanz-Ronda et al. 2015). Em nosso estudo as fêmeas, de modo geral, eram maiores, em peso e comprimento, que os machos. Assim, quando o tamanho do corpo aumenta, há aumento da massa muscular (Froese 2006), permitindo que o peixe atinja velocidades mais elevadas durante a natação prolongada (Beamish 1978).

A tênue elevação nos níveis de cortisol observada para *P. lineatus* não caracterizou uma condição intensa de estresse, indicando que a escada para peixes não causa danos aos peixes, e que eles possuem capacidade desenvolvida para a natação forçada observada neste evento. Deve-se ressaltar que a coleta do sangue foi feita

imediatamente após a captura. De acordo com Kieffer (2000), alterações nos níveis de catecolaminas são detectadas logo após o exercício exaustivo, mas alterações do cortisol podem demorar 2 horas para ser detectadas. As respostas de estresse se caracterizam por alterações na homeostase biológica dos peixes, modificando o padrão de secreção do cortisol, com consequentes alterações metabólicas, iônicas e hematológicas (Wendelaar-Bonga 1997; Urbinati e Carneiro 2004). O cortisol é um indicador de estresse (Urbinati e Carneiro 2001; Bolasina 2011), que afeta o metabolismo energético intermediário (De Boeck et al. 2001) e está associado à manutenção das reservas energéticas por prazos prolongados de estresse por meio de gliconeogênese, diferente da mobilização de energia pela glicólise que ocorre em evento agudo de estresse (Wendelaar-Bonga 1997). Do mesmo modo que na pesquisa realizada, Liew et al. (2013) não encontraram relação dos níveis de cortisol com o desempenho da natação crítica ( $U_{crit}$ ) de carpa comum, *Cyprinus carpio*, bem como Hoshiba et al. (2009) não encontraram alteração de cortisol e glicose em matrinxã, *Brycon amazonicus*, após 10 minutos de perseguição com puçás.

A elevação da concentração de glicose durante a passagem de *P. lineatus* pela escada para peixes sugere a ocorrência de maior demanda da espécie para sustentar a natação forçada nessa etapa da transposição, pois os peixes coletados a montante apresentaram recuperação parcial dos níveis de glicemia, especialmente as fêmeas. Em estudo prévio, Volpato et al. (2009) relataram para a mesma espécie aumento da glicose sanguínea tanto em trechos superiores como inferiores da escada para peixes de Porto Primavera, analisando peixes que não haviam concluído a transposição rio acima. Estes autores sugerem que *P. lineatus* exibe alta demanda energética durante a natação, ao transpor a escada para peixes, e que alterações dos níveis de glicose sanguínea foram relacionadas a exercício físico exaustivo (White et al. 2008) ou estresse natatório (Hachbarth e Moraes 2006) em função do esforço realizado em movimentos ascendentes, ao utilizar a escada para peixes.

Em relação ao lactato circulante, indicador de esforço físico, os valores mais elevados foram observados dentro da escada para peixes, enquanto que, a montante, observamos moderada redução nas fêmeas. É conhecido que o exercício exaustivo leva ao uso intenso de fontes energéticas pelo metabolismo aeróbico, induzindo a ativação de vias anaeróbicas, que resulta em produção de lactato. Ao avaliar a natação exaustiva em carpa (*Cyprinus carpio*), Liew et al. (2013) observaram indução de metabolismo anaeróbico por meio de acúmulo de lactato.

Do mesmo modo que o cortisol, os níveis plasmáticos de cloreto não indicaram resposta intensa de estresse em função da transposição da escada pelos peixes. Quando ocorre um evento estressor, o aumento inicial das concentrações sanguíneas de catecolaminas aumenta os batimentos cardíacos e a perfusão nas brânquias, ocasionando perda iônica, inclusive do cloreto, para o meio hipotônico, e alteração osmótica (Eddy 1981), resposta que também foi observada por Hoshiba et al. (2009), em matrinxã (*Brycon amazonicus*) após natação forçada. Alterações iônicas foram descritas como alterações típicas de exercício exaustivo e estressante (Kieffer 2000). Contudo, tal fato não foi observado em nosso estudo indicando que a natação realizada não promoveu alteração iônica.

Outro indicador metabólico utilizado neste estudo foi o hematócrito, que indica maior disponibilidade de oxigênio circulante durante metabolismo acelerado. Porém, esse indicador, que poderia representar excesso de demanda energética, como observado pela glicemia, e impossibilidade temporária de reposição das hemácias responsáveis pelo transporte de oxigênio, não mostrou alterações significativas. Em estudo anterior com *P. lineatus*, durante a transposição da escada para peixes, Volpato et al. (2009) encontraram níveis mais baixos de hematócrito, alterações hematológicas anteriormente associadas à condição de estresse (Wojtaszek et al. 2002).

Informações sobre a fisiologia dos peixes, em situações impostas por modificações antrópicas, como a construção de passagens para peixes, resultam em respostas biológicas que possam auxiliar na melhoria desses projetos. A expansão e aperfeiçoamento desses estudos, frente as passagens para peixes, poderão contribuir para a conservação da ictiofauna, principalmente as migradoras de longa distância (Hasler et al. 2009).

Este estudo demonstrou que a passagem para peixes, tipo escada para peixes como a de Porto Primavera resultou em respostas fisiológicas moderadamente estressoras para os exemplares de *P. lineatus* avaliados. As alterações nos níveis hormonais e metabólicos não mostraram restritivas aos movimentos de ascensão desses exemplares. Dessa forma, estudos que relacionem a capacidade natatória e os processos fisiológicos em espécies migratórias neotropicais, como *P. lineatus*, são necessárias para auxiliar na avaliação da eficiência e melhorias das passagens para peixes, como ferramenta para a biologia da conservação.

## 5. Referências Bibliográficas

- Agostinho AA, Vazzoler AEM, Gomes LC, Okada EK (1993) Estratificación espacial y comportamiento de *Prochilodus scrofa* en distintas fases del ciclo de vida en la planicie de inundación del alto río Paraná y embalse de Itaipu, ciclo de vida en la planicie de inundación del alto río Paraná y embalse de Itaipu, Paraná, Brasil. *Revista Hydrobiologia Tropical* 26: 79–90
- Agostinho AA, Gomes LC, Fernandez DR, Suzuki HI (2002) Efficiency of fish ladders for neotropical ichthyofauna. *River Research Applications* 18:299–306
- Agostinho AA, Gomes LC, Pelicice FM (2007) *Ecologia e Manejo de Recursos Pesqueiros em Reservatórios do Brasil*, Maringá: Eduem, 501 p.: il., p 455–501
- Agostinho AA, Gomes LC, Suzuki HI e Júlio Jr HF (2003) Migratory fishes of the Upper Paraná River Basin Brazil. Pp. 19-89. In: Carolsfeld, J., B. Harvey, C. Ross & A. Baer (Eds.) *Migratory Fishes of South America: Biology, Fisheries and Conservation Status*. Vitoria, World Bank, 372p.
- Agostinho AA, Gomes LC (2005) O manejo da pesca em reservatórios da bacia do alto rio Paraná: avaliação e perspectivas. In: Nogueira MG, Henry R, Jorcin A (org.) *Ecologia de reservatórios: impactos potenciais, ações de manejo e sistemas em cascata*, São Carlos: RiMa, pp 23–55
- Agostinho AA, Gomes LC, Veríssimo S, Okada EK (2004) Flood regime, dam regulation and fish in the Upper Paraná River: effects on assemblage attributes, reproduction and recruitment. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 14:11–19
- Agostinho AA, Julio Jr, HF (1999) Peixes da bacia do alto rio Paraná. In *Estudos ecológicas de peixes tropicais* (translation). Lowe- McConnell RH (ed) Edusp: São Paulo, pp 374–400
- Agostinho AA, Pelicice FM, Gomes LC (2008) Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impacts and management related to diversity and fisheries. *Brazilian Journal of Biology* 68:1119–1132
- Assumpção L, Makrakis MC, Makrakis S, Wagner RL, Silva PS, Lima AF, Kashiwaqui EAL (2012) The use of morphometric analysis to predict the swimming efficiency of two Neotropical long-distance migratory species in fish passage. *Neotropical Ichthyology* 10:797–804
- Bailly D, Agostinho AA, Suzuki HI (2008) Influence of the flood regime on the reproduction of fish species with different reproductive strategies in the Cuiabá River, Upper Pantanal, Brazil. *River Research and Applications* 24:1218–1229
- Barton BA, Iwama GK (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Review of Fish Diseases* 1:3–26
- Barton BA (2002) Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology* 42:517–525

Barroca TM, Santos GB, Duarte NVR e Kalapothakis E (2012). Evaluation of genetic diversity and population structure in a commercially important freshwater fish *Prochilodus costatus* (Characiformes, Prochilodontidae) using complex hypervariable repeats. *Genetics and Molecular Research* 11:4456–4467. <http://doi.org/10.4238/2012.September.27.4>

Beach MH (1984) Fish pass design - criteria for the design and approval of fish passes and other structures to facilitate the passage of migratory fishes in rivers. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Lowestoft, Fisheries Technical Report 78:1–46

Beamish FWH (1978) Swimming capacity. In: Hoar WS e Randall DJ (ed). *Fish Physiology*, Academic Press, New York, pp 101–187

Bolasina SN (2011) Stress response of juvenile flounder (*Paralichthys orbignyanus*, Valenciennes 1839), to acute and chronic stressors. *Aquaculture* 313:140–143

Botta P, Sciara A, Arranz S, Murgas LDS, Pereira GJM, Oberlender G (2010) Estudio del desarrollo embrionario del sábalo (*Prochilodus lineatus*). *Archivos de Medicina Veterinaria, Valdivia* 42:109–114

Broom DM (1986) Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal*, Londres 142:524–526. doi: 10.1016/0007-1935(86)90109-0

Castro-Santos T, Haro A (2010) Fish guidance and passage at barriers. In: *Fish locomotion: an eco-ethological perspective*. Domenici, O e Kapoor BG (ed). Science Publisher, Enfield, New Hampshire, pp 62–89

Costa Filho J, Gaya LG (2012) Abordagens recentes do melhoramento genético de peixes. *Ambiência, Guarapuava* 8:195–210

De Boeck G, Alsop D, Wood CM (2001) Cortisol effects on aerobic and anaerobic metabolism, nitrogen excretion, and whole-body composition in juvenile rainbow trout. *Physiology Biochemical Zoology* 76:858–868

Eddy FB (1981) Effects of stress on osmotic and ionic regulation in fish. In: Pickering AD (ed). *Stress and fish* London, AD. Academic Press pp 77–102

Ferreira M (2006) Certificado de vigor físico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818). Dissertação de mestrado: INPA/UFAM p 55

Ferreira MS, Oliveira AM, Val AL (2010) Velocidade crítica de natação (Ucrit) de matrinxã (*Brycon amazonicus*) após exposição à hipóxia. *Acta Amazonica* 40:699–704

Freitas RTF, Freato TA, Santos VB (2002) Espécies cultivadas. In: Murgas LDS et al (ed) *Reprodução/espécies para piscicultura*. Lavras: UFLA/FAEPE 17–28

Froese R (2006) Cube law, condition factor and weight–length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *Journal of Applied Ichthyology* 22: 241–253



Gustavo, L, Nogueira LB, Maia BP, Resende LB (2012) Fish passage post- onstruction issues: analysis of distribution, attraction and passage efficiency metrics at the Baguari Dam fish ladder to approach the problem. *Neotropical Ichthyology* 10: 751–762

Hackbarth A, Moraes G (2006) Biochemical responses of matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1869) after sustained swimming. *Aquaculture Research* 37:1070–1078

Hammer C (1995) Fatigue and exercise tests with fish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 112:1–20

Haro A, Castro-santos T, Noreika J, Odeh M (2004) Swimming performance of upstream migrant fishes in open-channel flow : a new approach to predicting passage through velocity barriers. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 1590–1601. doi: 10.1139/F04-093

Hasler CT, Pon LB, Roscoe DW, Patterson BMDA, Hinch SG, Cooke SJ (2009) Expanding the “toolbox” for studying the biological responses of individual fish to hydropower infrastructure and operating strategies. *Environ. Rev.* 17 :179–197

Hoshiaba MA, Gonçalves FD, Urbinati EC (2009) Respostas fisiológicas de estresse no matrinxã (*Brycon amazonicus*) após exercício físico intenso durante a captura. *Acta Amazonica* 39:445–452

Iwama GK, Afonso LOB, Vijayan MM (2005) Stress in fishes. In: Evans DH, Claiborne JB (ed) *The physiology of fish*. London: Taylor and Francis 319–342

Jager, HI, Chandler JA, Lepla KB e Van Winkle W (2001). A theoretical study of river fragmentation by dams and its effects on white sturgeon populations. *Environmental Biology of Fishes*, 60: 347–361. <http://doi.org/10.1023/A:1011036127663>

Kieffer JD (2000) Limits to Exhaustive Exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 126:161–179

Liew HJ, Chiarella D, Pelle A, Faggio C, Blust R, De Boeck G (2013) Cortisol emphasizes the metabolic strategies employed by common carp, *Cyprinus carpio* at different feeding and swimming regimes. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 166:449–464

Loures RC, Pompeu PS (2012) Temporal variation in fish community in the tailrace at Três Marias hydroelectric dam, São Francisco river, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 4:731–740

Lopes JM, Silva FO (2012). Metodologia para o monitoramento de sistemas de transposição de peixes pela CEMIGIn: Lopes, J. M., & F. O. Silva. Peixe Vivo: Transposição de Peixes. Companhia Energética de Minas Gerais - Cemig, Belo Horizonte, p 172

Makrakis S, Dias JHP, Lopes JM, Junior HMFJ, Godinho AL, Martinez CB, Makrakis MC (2015). Premissas e Critérios Mínimos para Implantação, Avaliação e Monitoramento de Sistemas de Transposição para Peixes. *Boletim, Sociedade Brasileira de Ictiologia* 114:16–23

Makrakis S, Makrakis MC, Wagner RL, Dias JHP, Gomes LC (2007a) Utilization of the fish ladder at the Engenheiro Sergio Motta Dam, Brazil, by long distance migrating potamodromous species. *Neotropical Ichthyology* 5:197–204

Makrakis MC, Miranda, LE, Makrakis S, Junior HMF, Morlis WG, Dias JHP, Garcia OJ (2012) Diversity in migratory patterns among Neotropical fishes in a highly regulated river basin. *Journal of Fish Biology* 81:866–881

Menezes NA, Weitzman SH, Oyakawa OT, Lima FCT, Castro RMC, Weitzman MJ (2007) Peixes de água doce da Mata Atlântica: lista preliminar das espécies e comentários sobre conservação de peixes de água doce neotropicais. *Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo* p 408

Pavlidis M, Paspatis M, Koistinen M, Paavola T, Divanach P, Kentouri M (1999) Diel rhythms of serum metabolites and thyroid hormones in red porgy held in different photoperiod regimes. *Aquaculture International* 7:29–44

Pereira GJM, Murgas LDS, Silva JMA, Miliorini AB, Logato PVR, Lima D (2009) Indução da desova de curimba (*Prochilodus lineatus*) utilizando eCG e EBHC1. *Revista Ceres* 56:156–160

Pompeu PS, Agostinho AA, Pelicice FM (2012) Existing and future challenges: the concept of successful fish passage in South America. *River Research and Applications* 28:504–512

Roenneberg T, Merrow M (2002) Life before the clock: modeling circadian evolution. *Journal of Biological Rhythms* 17:495–505

Santos HA, Pompeu PS, Vicentini GS, Martinez, CB (2008) Swimming performance of the freshwater neotropical fish: *Pimelodus maculatus* Lacepède, 1803. *Brazilian Journal of Biology* 68:433–439

Santos HA, Pompeu PS, Viana EMF, Pompeu PS (2012) Optimal swim speeds by respirometer: an analysis of three neotropical species. *Neotropical Ichthyology* 10:805–811

Sanz-Ronda FJ, Ruiz-Legazpi J, Bravo-Córdoba F J, Makrakis S, Castro-Santos T (2015) Sprinting performance of two Iberian fish: *Luciobarbus bocagei* and *Pseudochondrostoma duriense* in an open channel flume. *Ecological Engineering*, 83, 61–70. doi:10.1016/j.ecoleng.2015.05.033

Serra M, Wolkers CP, Urbinati EC (2015) Novelty of the arena impairs cortisol-related increase in aggression of matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Physiology and Behavior* 141:51–57

Silva P S, Makrakis MC, Miranda LE, Makrakis S, L. Assumpção L, Paula S, Dias JHP, H. Marques H (2014) Importane of reservoir tributaries to spawning of migratory fish in the upper Paraná River. *River Research and Applications* 3: 313–322

Schreck CB (2010) Stress and fish reproduction: The roles of allostasis and hormesis. *General and Comparative Endocrinology* 165:549–556

Statsoft, Inc. (2005) STATISTICA (data analysis software system), version 7.1 [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)

Urbinati EC, Carneiro PCF (2001) Metabolic and hormonal responses of the matrinxã *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) to the stress of transport under the influence of benzocaine. *Journal of the Aquaculture in the Tropics* 16:75–85

Urbinati EC, Carneiro PCF (2004) Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: Cyrino JEP, Urbinati EC, Fracalossi DM, Castagnolli N (2004) Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt 1:171–193

Vera LM., De Pedro N, Gómez-Milán E, Delgado MJ, Sánchez-Muros MJ, Madrid JA and Sánchez-Vázquez FJ (2007) Feeding entrainment of locomotor activity rhythms, digestive enzymes and neuroendocrine factors in goldfish. *Physiology & Behavior* 90: 518–524

Veras GC, Murgas LDS, Zangeronimo MG, Oliveira MM, Rosa PV, Felizardo VO (2013) Ritmos Biológicos e fotoperíodo em peixes. *Archivos de Zootecnia* 62: 25–43

Videler JJ, Wardle CS (1991) Fish swimming stride by stride: speed limits and endurance. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 1:23–40

Volpato GL, Barreto RE, Marcondes AL, Moreira PSA, Ferreira MFB (2009) Fish ladders select fish traits on migration – still a growing problem for natural fish populations. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 1–7 iFirst. doi: 10.1080/10236240903299177

Wagner RL, Makrakis S, Castro-Santos T, Makrakis MC, Dias JHP, Belmont RF (2012) Passage performance of long-distance upstream migrants at a large dam on the Paraná River and the compounding effects of entry and ascent. *Neotropical Ichthyology*, 10:785–795

Wendelaar-Bonga SE (1997) The Stress Response in Fish. *Physiological Reviews* 77:591–625

Wikelski M, and Cooke SJ (2006) Conservation physiology. *Trends Ecol. Evol.* 21: 38–46. doi:10.1016/j.tree.2005.10.018. PMID:16701468

Wojtaszek J, Dziewulska-Szwajkowska D, Lozinska-Gabska M, Adamowicz A, Dzugaj A (2002) Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio*): cortisol effect on the carp blood. *General and Comparative Endocrinology* 125:176–183

World Commission on Dams - WCD (2000) Dams and development: a new framework for decision making. The report of the World Commission on Dams. London; Sterling: Earthscan Publishing 404

White AJ, Schreer JF, Cooke SJ (2008) Behavioral and physiological responses of the congeneric largemouth (*Micropterus salmoides*) and smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*) to various exercise and air exposure durations. *Fisheries Research* 89:9–16

## **6. Anexo**

### **6.1 Normas da Revista para publicação**

#### **Fish Physiology and Biochemistry**

Editor in Chief: Patrick Kestemont

ISSN: 09201742 (print version)

ISSN: 15735168 (electronic version)

Journal no. 10695

**Impact Factor 1.622**

#### **Instructions for Authors**

##### Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all coauthors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

##### Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

##### Online Submission

Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

#### **Title Page**

The title page should include:

The name(s) of the author(s)

A concise and informative title

The affiliation(s) and address(es) of the author(s)

The email address, telephone and fax numbers of the corresponding author

#### **Abstract**

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

#### **Keywords**

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

## **Text Formatting**

Manuscripts should be submitted in Word.

Use a normal, plain font (e.g., 10point Times Roman) for text.

Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages.

Do not use field functions.

Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.

Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

Use the equation editor or MathType for equations.

Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

## **Headings**

Please use no more than three levels of displayed headings.

## **Abbreviations**

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

## **Footnotes**

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lowercase letters (or asterisks for significance values and other statistical data).

Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

## **Acknowledgments**

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

## **REFERENCES**

### **Citation**

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:  
Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).

This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).

This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999).

### **Reference list**

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work.

### **Journal article**

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731738. doi: 10.1007/s0042100809558

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted: Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

### **Article by DOI**

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. doi:10.1007/s001090000086

### **Book**

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

### **Book chapter**

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230257

### **Online document**

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

### **Dissertation**

Trent JW (1975) *Experimental acute renal failure*. Dissertation, University of California  
Always use the standard abbreviation of a journal’s name according to the ISSN List of Title

Word Abbreviations, see ISSN LTWA

If you are unsure, please use the full journal title.

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of intext citations and reference list.

### **TABLES**

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lowercase letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

### **Electronic Figure Submission**

Supply all figures electronically.

Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

### **Line Art**

Definition: Black and white graphic with no shading.

Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

### **Halftone Art**

Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

### **Combination Art**

Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

### **Color Art**

Color art is free of charge for online publication.

If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent. If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions. Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

### **Figure Lettering**

To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

Keep lettering consistently sized throughout your final sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8pt type on an axis and 20pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

### **Figure Numbering**

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

### **Figure Captions**

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

### **Figure Placement and Size**

Figures should be submitted separately from the text, if possible.

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

For books and booksized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

### **Permissions**

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

### **Accessibility**

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text to speech software or a text to Braille hardware)

Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)

Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

### **ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL**

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

### **Submission**

Supply all supplementary material in standard file formats.

Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and email address of the corresponding author.

To accommodate user downloads, please keep in mind that larger sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

### **Audio, Video, and Animations**

Resolution: 16:9 or 4:3

Maximum file size: 25 GB



Minimum video duration: 1 sec

Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

Text and Presentations

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability. A collection of figures may also be combined in a PDF file.

### **Spreadsheets**

Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.

If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

### **Specialized Formats**

Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

### **Collecting Multiple Files**

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

### **Numbering**

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.

Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., “... as shown in the animation (Online Resource 3)”, “... additional data are given in Online Resource 4”.

Name the files consecutively, e.g. “ESM\_3.mpg”, “ESM\_4.pdf”.

### **Captions**

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

### **Processing of supplementary files**

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.