

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL ENGENHARIA DE AQUICULTURA

AMÉRICA A. NASCIMENTO

Avaliação do consumo de oxigênio e excreção de amônia de Astyanax altiparanae (Garutti & Britiski, 2000) submetidos a diferentes concentrações de amônia não ionizada.

LARANJEIRAS DO SUL

AMÉRICA A. NASCIMENTO

Avaliação do consumo de oxigênio e excreção de amônia de
Astyanax altiparanae (Garutti & Britiski, 2000) submetidos a diferentes
concentrações de amônia não ionizada.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Aquicultura.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Weingartner

LARANJEIRAS DO SUL

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Nascimento, America Andrade do
Avaliação do consumo de oxigênio e excreção de amônia
de Astyanax altiparanae (Garutti & Britiski, 2000)
submetidos a diferentes concentrações de amônia não
ionizada. / America Andrade do Nascimento. -- 2018.

36 f.:11.

Orientador: Doutor Marcos Weingartner. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Engenharia de Aquicultura, Laranjeiras do Sul, PR, 2018.

1. Aquicultura. 2. Fisiologia de peixes. 3. Metabolismo de organismos aquáticos. I. Weingartner, Marcos, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AMÉRICA A. NASCIMENTO

Avaliação do consumo de oxigênio e excreção de amônia de Astyanax altiparanae (Garutti & Britiski, 2000) submetidos a diferentes concentrações de amônia não ionizada.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Aquicultura.

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi defendido e aprovado pelo Programa de Graduação do Curso de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal da Fronteira Sul, para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Aquicultura.

Laranjeiras do Sul, 12 de dezembro de 2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcos Weingartner

Orientador

Prof. M.Sc Alexandre Monkolski – UFFS

Alexand Monhist ..

Frof. Dr. Jorge Erick Garcia Parra - UFFS

Dedico este trabalho a minha família, que sempre me apoiou nos momentos difíceis e ao meu filho Mathias, que está a caminho e que de certa forma me acompanhou em todo desenvolver deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Orientador Professor Dr. Marcos Weingartner que foi fundamental na construção deste trabalho, pelo apoio e dedicação.

As professoras Dra. Adriana Saccol Pereira e Dra. Silvia Romão, que contribuíram para execução deste trabalho e todos que contribuíram diretamente ou indiretamente.

A meu esposo Rodrigo Vandres Guizzo, por toda compreensão e apoio durante todo o decorrer deste trabalho.

Aos meus pais, Rosilda H. de A. Nascimento e Aníbal B. do Nascimento por acreditar e apoiar meus sonhos, auxiliando-me a torna-los em objetivos alcançados.

A meus amigos, pelo companheirismo e apoio de sempre e a todos que de alguma forma e carinhosamente me apoiaram nesse trabalho.

E acima de tudo à Deus, que me deu a dom da Vida, força para a realização deste trabalho e está sempre presente nas horas difíceis, me ajudando e colocando pessoas ao meu redor que podem me auxiliar e tornar minha caminhada mais leve e satisfatória.

RESUMO

Na aquicultura a disponibilidade e qualidade de água são fatores fundamentais, pois é no ambiente aquático que toda a atividade é desenvolvida e onde os peixes vivem e se desenvolvem, sendo assim a quantidade de oxigênio dissolvido na água tem importância vital para os peixes, pois eles fazem captura desse gás da água através das brânquias para realizarem a respiração celular e a quantidade de amônia disponível no ambiente, pois além de ser principal produto de exceção dos organismos aquáticos a amônia não ionizada é tóxica aos peixes. Neste sentido, o objetivo deste trabalho é avaliar o metabolismo de peixes da espécie Astyanax altiparanae pelo consumo de oxigênio após submetidos a diferentes concentrações de amônia não ionizada. Para o experimento foram utilizados 75 exemplares de lambari-do-raboamarelo (A. altiparanae) com média de tamanho de 6,2 cm de comprimento total e peso na média de 3,22 g. Os tratamentos consistiram na exposição dos peixes por 24h em amônia não ionizada nas concentrações de 1,0; 0,75; 0,5; 0,25 mg/L além do controle (0.0 mg/L) e posterior avaliação do consumo de oxigênio dissolvido e excreção de amônia por uma hora. Os dados de consumo de oxigênio dos peixes, foram obtidos através de medições utilizando oxímetro digital. Para os dados de excreção de amônia dos peixes, tanto para o período de exposição como para o período mantido no respirômetro, foram analisadas as amostras de águas coletadas através do método de espectrofotometria, seguindo protocolo de Amônia – Adaptado do Kit INDOTEST Alfakit. Para os dados de Oxigênio e amônia foram realizadas análises estatística de regressão. Os resultados apresentaram que o consumo de oxigênio para a espécie decresceu e a excreção de amônia cresceu à medida em que as concentrações de amônia (NH3) aumentavam nos tratamentos.

Palavras-chaves: Aquicultura. Fisiologia de Peixes. Metabolismo de organismos aquáticos.

ABSTRACT

In aquaculture the availability and quality of water are fundamental factors because it is in the aquatic environment that all activity is developed and where fish live and develop, so the amount of oxygen dissolved in water is of vital importance to fish, make capture of this gas from the water through the gills to carry out the cellular respiration and the amount of ammonia available in the environment, because besides being the main product of exception of the aquatic organisms the no ionized ammonia is toxic to the fish. In this sense, the objective of this work is to evaluate the metabolism of fish of the species Astyanax altiparanae by the oxygen consumption after submitted to different concentrations of non-ionized ammonia. For the experiment 75 specimens of lambari-do-tails (A. altiparanae) were used, with a mean size of 6.2 cm of total length and average weight of 3.22 g. The treatments consisted in exposing fish for 24 h in non - ionized ammonia at concentrations of 1.0; 0.75; 0.5; 0.25 mg / L beyond the control (0.0 mg/L) and subsequent evaluation of the consumption of dissolved oxygen and ammonia excretion for one hour. The oxygen consumption data of the fish were obtained through measurements using a digital oximeter. For the ammonia excretion data of the fish, both for the exposure period and for the period maintained in the respirometer, water samples were analyzed by the spectrophotometric method, following the Ammonia protocol - Adapted from the INDOTEST Alfakit Kit. For the oxygen and ammonia data, statistical regression analyzes were performed. The results showed that the oxygen consumption for the species decreased and the ammonia excretion increased as the ammonia (NH3) concentrations increased in the treatments.

Keywords: Aquaculture. Physiology of Pisces. Metabolism of aquatic organisms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema do processo metabólico de degradação de proteínas
resultando na formação de amônia15
Figura 2 – Rotas para excreção de amônia nas brânquias de peixes16
Figura 3 – Detalhe das brânquias de um peixe-gato, Ictalurus punctatus
(Rafinesque, 1818), mostrando filamentos e arcos branquiais18
Figura 4 - Esquema do sistema respiratório dos peixes19
Figura 5 – Morfologia corporal do lambari do rabo amarelo, Astyanax
altiparanae Garutti & Britiski, 2000)21
Figura 6 – Sistema de circulação da água empregados durante a exposição
em diferentes concentrações de amônia - Laboratório de Piscicultura -
Universidade Federal da Fronteira Sul23
Figura 7 – Dispositivo de respirômetro montado a partir de recipiente de vidro
e conexões de canos plásticos - Laboratório de Piscicultura - Universidade
Federal da Fronteira Sul24
Figura 8 – Unidades experimentais usadas para as exposições de amônia por
24h - Laboratório de Piscicultura - Universidade Federal da Fronteira Sul25
Figura 9 – Biometria individual dos peixes plásticos - Laboratório de
Piscicultura - Universidade Federal da Fronteira Sul26
Figura 10 – Análise das concentrações de amônia da água pelo método de
espectrofotometria - Laboratório de Bioquímica - Universidade Federal da
Fronteira Sul
Figura 11 – Consumo de oxigênio de <i>A. altiparanae</i> (peso médio de 15, 25 g)
em 60 minutos após submetidos a níveis diferentes de concentrações de
amônia por 24 horas29
Figura 12 – Excreção de amônia de <i>A. altiparanae</i> , por gramas de peixes
durante 60 minutos após exposição por 24h a diferentes concentrações de
amônia30
Figura 13 – Excreção de amônia de <i>A. altiparanae</i> , por cinco indivíduos
durante 60 minutos após exposição por 24h a diferentes concentrações de
amônia30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Problema da Pesquisa	11
1.2 Hipótese	11
1.3 Objetivos	12
1.3.1 Objetivo geral	12
1.3.2 Objetivos específicos	12
2 JUSTIFICATIVA	12
3 REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1 Variáveis de Qualidade da Água	13
3.1.1 Oxigênio (O ₂) dissolvido na água	13
3.1.2 Amônia	14
3.2 Sistemas respiratório e excreção dos peixes	17
3.2.1 Respiração dos peixes	17
3.2.2 Excreção dos peixes	20
3.3 Características diagnosticantes da espécie Astyanax altiparanae	21
4 METODOLOGIA	22
4.1 Preparação do experimento	22
4.2 Execução do experimento	24
4.3 Obtenção dos dados	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
6 CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma atividade baseada no cultivo de organismos aquáticos normalmente em um espaço confinado e controlado, possibilitando assim produtos mais homogêneos, rastreabilidade durante toda cadeia e outras vantagens que contribuem para a segurança alimentar, gerando alimento de qualidade com planejamento e regularidade (EMBRAPA, 2018) e devido à ampliação e desenvolvimento da mesma torna-se uma questão de caráter fundamental gerir de forma responsável a aquicultura, assim como incentivar a troca de informações confiáveis sobre todos os assuntos relacionados à mesma (FAO, 2018).

O planeta conta com 97,5% de água salgada, encontradas nos oceanos e apenas 2,5% de água doce. Dentro desses 2,5%, cerca de 68,9% estão em forma sólida, congeladas nas calotas polares, 29,9% estão armazenadas em águas subterrâneas e apenas 1,2% estão disponíveis em lagos e rios, e que são destinadas as diversas finalidades para obtenção da sobrevivência do homem na terra (EMBRAPA, 2013).

A água é matéria essencial para manutenção da vida no planeta, dominando completamente a composição química de todos os organismos existentes. A Vida na Terra seria impossível sem a presença da água. Para a maioria das células, sua maior composição é de água em estado líquido. As substâncias do meio ambiente só podem ser absorvidas pelas células quando estão diluídas em meio aquoso. Para a excreção de metabolitos tóxicos, só é possível de acontecer com a presença da água (ARANA, 2010).

Os ecossistemas aquáticos de águas continentais, geralmente tem-se mostrado com algumas características peculiares, quando as comparando principalmente com as dos ecossistemas terrestre. Pois em meio aquático aumenta a taxa de transferência de nutrientes e metabólitos através da membrana celular dos organismos, e isso potencializa a sua absorção e transformação de matéria (Esteves et al., 2011).

Nesse sentido, a água desempenha papel importante para o cultivo de organismos aquáticos, principalmente àqueles relacionados aos processos de absorção de nutrientes, regulação da temperatura corporal, transpiração, excreção e todos os processos que garantam a manutenção dos organismos (ARANA, 2004). Assim, o meio aquático é composto por substâncias dissolvidas (sais e compostos

orgânicos) seja ele de águas salgadas, salobras ou doces. Na água doce o conteúdo de sais e compostos orgânicos encontrados na aquicultura é bastante variado, dependendo muito do solo dos lagos onde a água permanece ou dos rios por onde passa (BALDISSEROTTO, 2009).

1.1 Problema da Pesquisa

A disponibilidade e qualidade de água para aquicultura são fatores fundamentais, pois é no ambiente aquático que toda a atividade é desenvolvida e onde os peixes vivem e se desenvolvem, logo os peixes precisam de uma boa qualidade de água para se manterem vivos, crescerem e se desenvolverem (EMBRAPA, 2013).

Em condições inadequadas de água para a atividade aquícola, o produtor enfrenta insucesso em seu empreendimento, pois os organismos cultivados apresentam baixos níveis de crescimento, saúde, reprodução, sobrevivência e qualidade. São inúmeras as variáveis e processos que interfere na qualidade de água (KUBITZA, 1998).

A garantia do sucesso da produção depende na manutenção de um conjunto de fatores dentro de determinados parâmetros que criam as condições ideais de cultivo no ambiente aquático (ARANA, 2010). O conjunto se refere ao equilíbrio dinâmico de todos os parâmetros físicos, químicos, biológicos e tecnológicos que fazem com que o cultivo de organismos aquáticos seja possível e de forma sustentável, ou seja, capaz de se manter ao longo do tempo atendendo aos objetivos sociais, ambientais e econômicos da realidade conjuntural do local onde o empreendimento está inserido.

1.2 Hipótese

Os parâmetros físicos e químicos da água devem ser considerados, para estabelecer condições adequadas de cultivo. Dentre todas as variáveis de qualidade da água, o oxigênio dissolvido e a amônia não ionizada são os mais importantes. O oxigênio corresponde a um fator importante na produção de moléculas carregadas de energia nas vias metabólicas que são utilizadas incialmente na energia de ativação das reações químicas. A amônia, por sua vez, constitui um produto residual do metabolismo de proteínas sendo um elemento tóxico que deve ser excretado. A

relação de balanceamento entre a amônia e oxigênio tem profundo impacto nos sistemas de respiração e osmorregulação, influenciando a absorção de sódio, potássio e cloreto. Por essa razão, é importante estabelecer como se dão essas relações dentro do ambiente aquático e como interferem na sobrevivência, crescimento e desenvolvimento dos peixes em ambientes de cultivo.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho é avaliar o metabolismo de peixes da espécie Astyanax altiparanae pelo consumo de oxigênio após exposição a diferentes concentrações de amônia não ionizada.

1.3.2 Objetivos específicos

- Medir o consumo de oxigênio dos animais na primeira hora após a exposição de 24 horas em diferentes concentrações de amônia.
- Avaliar a excreção de amônia pelos animais submetidos a diferentes concentrações de amônia.
- Introduzir no laboratório de piscicultura de água doce, atividades relacionadas a avaliação metabólica de organismos aquáticos.

2 JUSTIFICATIVA

O lambari-do-rabo-amarelo é um peixe que apresenta papel fundamental na cadeia alimentar dos ecossistemas de águas interiores, pois é um importante predador das larvas de insetos, controlador biológico natural e são principais integrantes nas dietas de peixes carnívoros e piscívoros (GARUTTI, 2003).

O cultivo de lambari está se destacando como uma atividade promissora dentro da aquicultura, sendo pelo ponto de vista ecológico e ou econômico. O peixe por apresentar características como boa aceitação para alimento, no consumo *in natura*, como tira-gosto principalmente, fazendo os piscicultores se interessar por ele a cada

dia mais. Na pesca é destacado como isca viva, pois é um peixe que atrai inúmeros carnívoros, assim possibilitando ao usuário sucesso na pescaria tanto profissional como de lazer. Na aquariofilia, o lambari também é utilizado como peixe ornamental, e como alimento para espécies carnívoras.

Algumas espécies de caracídeos como o lambari-do-rabo-amarelo (*A. altiparanae*) a qualidade de água é fator importante pois são exigentes a concentrações de oxigênio e amônia na água. Em casos de problemas com a qualidade de água nos cultivos os lambaris, geralmente, são os primeiros peixes a morrerem no viveiro, dando alerta de algum possível problema ambiental (PORTO-FORESTI, 2010).

A produção de lambari (lambaricultura) apresenta atualmente uma grande atividade econômica dentro da piscicultura, que gera renda aos produtores. Considerando que a piscicultura com cultivo de lambaris é uma atividade que vem sendo desempenhada por vários produtores, principalmente os pequenos e médios produtores em sistemas de agricultura familiar, o conhecimento referente a espécie de modo a estabelecer uma maneira de cultivo rentável e bem-sucedida sem que traga danos ao bem-estar animal, seria de grande interesse. Por esta razão, associada à importância comercial da espécie *A. altiparanae*, assim como a contribuição científica para o desenvolvimento da piscicultura continental brasileira, este trabalho foi realizado.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Variáveis de Qualidade da Água

3.1.1 Oxigênio (O₂) dissolvido na água

O oxigênio é um dos gases dissolvidos na água que tem mais importância na dinâmica e na caracterização dos ecossistemas aquáticos, sua principal fonte em meio natural vem da atmosfera e fotossíntese. Em contrapartida, a oxidação da matéria orgânica, perdas para a atmosfera, respiração dos organismos aquáticos, oxidação de íons metálicos como o ferro e manganês, são fatores que cooperam para a diminuição da concentração de oxigênio na água (ESTEVES E COLABORADORES, 2011).

Na atividade de piscicultura a quantidade de oxigênio dissolvido na água tem importância vital para os peixes, pois eles fazem captura desse gás da água através das brânquias para realizarem a respiração celular (EMBRAPA, 2013).

O oxigênio é imprescindível à vida dos organismos aquáticos e em baixas concentrações na água podem causar retardo no desenvolvimento do crescimento dos peixes, redução na eficiência alimentar, aumento na incidência de doenças e na mortalidade, o que conduz ao resultado de uma redução visível na produtividade dos sistemas de cultivos na aquicultura. O consumo de O₂ é variado conforme a espécie, o tamanho, e o estado nutricional e o grau de atividade dos peixes, a concentração de oxigênio e a temperatura da água, entre outros fatores. Muitas espécies de peixes podem tolerar concentrações de O₂ dissolvido em torno de 2 a 3 mg/l por períodos prolongados. Contudo, alguns peixes se alimentam melhor, apresentando melhor condição de saúde e crescimento acelerado quando os níveis de O₂ dissolvidos são próximo à saturação. Ou seja, a supersaturação da água com o oxigênio não indica maior produção de peixes, nem ao menos uma melhora na eficiência alimentar dos indivíduos (KUBITZA, 1998).

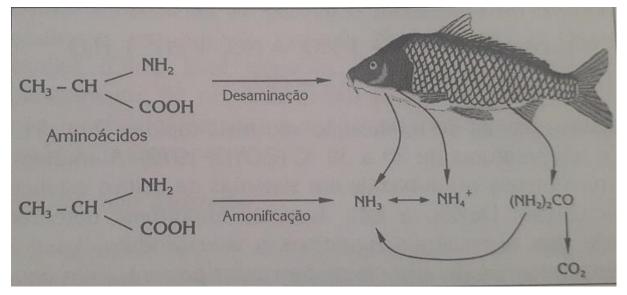
No entanto, Arana (2010) indica os distúrbios de O₂ nos cultivos como um sério problema na produção de organismos aquáticos. A supersaturação de gases dissolvidos comumente resultará no surgimento de uma patologia característica denominada "enfermidade das borbulhas". Essa enfermidade pode causar mortalidade total dos organismos cultivados, porém na maioria dos casos o nível de supersaturação de O₂ não chega a ser tão elevado para a tal mortalidade maciça, mas acabam provocando efeitos subletais que interferem diretamente sobre o crescimento dos animais. À contrapartida outro distúrbio é a hipoxia, que é o baixo nível de O₂. A hipoxia é o fator mais limitante para a aquicultura intensiva. Em concentrações críticas de O₂, os organismos têm uma diminuição de crescimento e ficam mais susceptíveis às enfermidades.

Para o cultivo de lambari as concentrações ideais de oxigênio dissolvido são sempre superiores a 4 mg/L e no mínimo de 60 % de saturação (PORTO-FORESTI, 2010).

3.1.2 Amônia

O principal produto de exceção dos organismos aquáticos é a amônia, um composto formado do processo metabólico de degradação das proteínas (Figura 1). A amônia é um gás extremamente solúvel em água e quando se encontra em solução, apresenta esta reação de equilíbrio: NH₃ + H₂O = NH₄⁺ + OH⁻. Porem para manter o equilíbrio, depende da temperatura, do pH e da salinidade da água (EMBRAPA, 2013). Para alguns autores, há uma nomenclatura fixada para (NH3) amônia não ionizada, (NH4) amônia ionizada e a soma de NH3 +NH4+ como amônia total ou apenas amônia (ARANA, 2010).

Figura 1 – Esquema do processo metabólico de degradação de proteínas resultando na formação de amônia.



Fonte: ARANA, 2010.

Na água a amônia está presente nas duas formas ionizada (NH₄+) e não ionizada (NH₃ ou amônia) e sua quantidade no meio depende principalmente do pH, seguido de temperatura e concentrações de íons na água. Sendo assim, o cálculo de NH₃ na água é importante não somente por ser a forma mais tóxicas aos organismos, mas também devido ao aumento da sua proporção na água ocasionar uma redução de excreção pelo peixe, com consequente acúmulo desse metabólito nos tecidos (BALDISSEROTTO, 2013). Por ser de natureza lipofílica, a amônia não ionizada é permeável na membrana celular do peixe e a amônia ionizada (amônio) como apresenta natureza lipofóbica não difunde com facilidade, por esta razão a amônia não ionizada é tóxica aos peixes (EMBRAPA, 2013).

No ambiente aquático, principalmente quando o pH está entre ácido e neutro, a amônia formada é instável e convertida por hidratação a íon amônio (NH₃ + H₂O à NH₄⁺ + OH⁻) (ESTEVES E COLABORADORES, 2011). Com isto, o pH contribui para o cálculo da amônia tóxica absorvida pelos peixes, pois quando o pH do meio aumenta, o equilíbrio da reação é deslocado para o sentido da formação de amônia (EMBRAPA, 2013). Em condições elevadas de concentrações de amônia e pH na água, os peixes encontram uma dificuldade na difusão direta da amônia. Neste sentido, os podem interromper o processo ativo de excreção do íon amônio (NH₄) envolvendo a troca de íons de sódio (Na⁺) presente na água (Figura 2) (KUBITZA, 2003).

Membrana da célula branquial pH do sangue pH da água (7,2 a 7,4)NH3 NH3 Normal $(6,5 \ a \ 8,0)$ LNH3 NH3 NH3 NH3 Auto-intoxicação Alto (> 8,5)NH4

Figura 2 – Rotas para excreção de amônia nas brânquias de peixes.

Fonte: KUBITZA, 2003.

Contudo, a toxidez da amônia pode ocorrer em todos os tipos de cultivos. Quando sua concentração aumenta no ambiente aquático, na maioria dos animais a excreção desse composto diminui, o que causa um incremento no nível de amônia do sangue e dos tecidos, o que pode afetar seriamente a fisiologia do animal em nível celular, órgãos e sistema (ARANA, 2010).

As concentrações de nível letal de amônia para os peixes estão entre 9,4 a 64,7 µmol/L, variando de acordo com cada espécie. Em níveis letais de amônia há um maior fluxo de água pelas brânquias por maior atividade dos opérculos, convulsões, coma e morte do animal. Já os animais que estão em ambientes com altos níveis de concentrações de amônia por muito tempo, apresentam falta de crescimento, aumento nos níveis de cortisol sanguíneo, diminuição do apetite, comportamento respiratório e natação erradicas (EMBRAPA, 2013).

A espécie *A. altipanarae*, em testes de exposição aguda à amônia (24 h) em peixes neotropicais, apresentou sensibilidade maior comparado à indivíduos jovens de pacu e curimba, apresentado o menor valor de CL50 (0,66 mg/L) (MARTINEZ *et al.*, 2006).

No cultivo de lambari as concentrações ideais de amônia não-ionizada devem ser menores que 1 mg/L, sendo que quando superior a essa quantidade ocorre casos de mortalidade no cultivo. Para se ter bom desempenho e ótimas taxas de sobrevivência dos peixes a temperatura ideal está na faixa de 25 e 28°C (PORTO-FORESTI, 2010).

3.2 Sistemas respiratório e excreção dos peixes

3.2.1 Respiração dos peixes

Na maioria das espécies de peixes, a respiração é feita através das brânquias, porem quando estão em forma larval essa troca de gases acontece pela pele do animal (BALDISSEROTTO, 2009). Na respiração dos peixes com auxílios das brânquias, eles fazem as trocas gasosas por difusão direta entre o sangue e a água. Para os organismos, quanto maior a concentração de oxigênio dissolvido na água e menor a de gás carbônico, mas fácil é o processo de respiração, pois o gás carbônico interfere com a absorção de oxigênio pelos peixes. Já em relação a temperatura da água e respiração dos peixes, quanto maior é a temperatura no meio, maior é o consumo de oxigênio dos animais. Os peixes alimentados também consomem mais oxigênio em relação aos que se encontram em jejum, devido a atividade metabólica (KUBITZA, 1998).

As brânquias são compostas por quatro arcos branquiais que possuem duas fileiras de filamentos branquiais (Figura 3). Cada um filamento é composto por

inúmeras lamelas branquiais, onde ocorre a troca gasosa (Figura 4). Nas lamelas o fluxo sanguíneo ocorre de forma contrária ao da água, permitindo na troca gasosa uma eficiência de 90%, sendo que, se ocorresse no mesmo sentido esse valor cairia para 50%. No interior das lamelas branquiais seus canais extremamente pequenos, permitem a passagem das células sanguíneas tão separadamente umas das outras que a troca gasosa se torna mais eficiente (EMBRAPA, 2013).

Figura 3 – Detalhe das brânquias de um peixe-gato, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque, 1818), mostrando filamentos e arcos branquiais.



Fonte: PETRESCU, 2018.

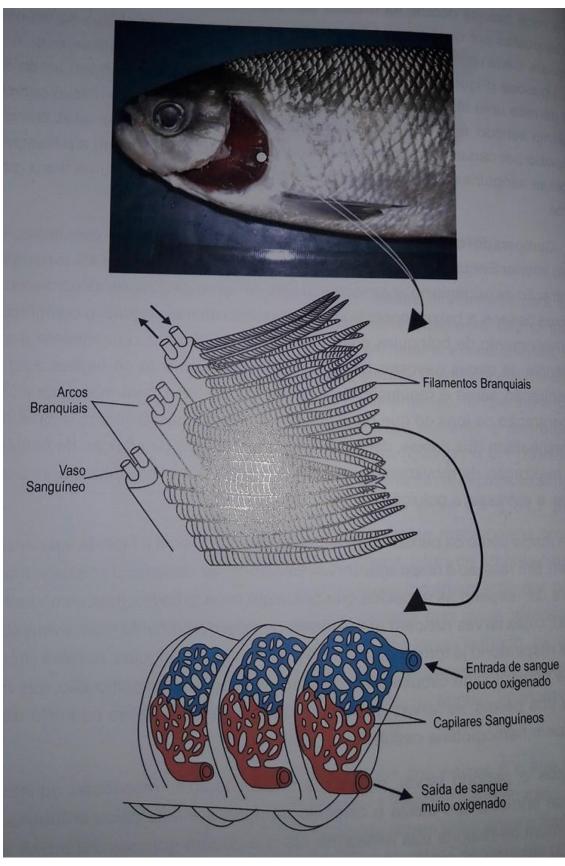


Figura 4 – Esquema do sistema respiratório dos peixes.

Fonte: EMBRAPA, 2013.

3.2.2 Excreção dos peixes

Na excreção fecal dos peixes, uma parte do alimento que não é ingerido ou absorvido vai ser excretado como fezes dentro do próprio ambiente de cultivo. Essas fezes gerará um ambiente com maior quantidade de nutrientes e menor concentração de oxigênio por consequência da ação biológica na água. Já na excreção nitrogenada dos peixes, o ambiente aquático faz da excreção um processo simples e de baixa demanda energética. Como a amônia surge como o principal resíduo do metabolismo proteico dos peixes, os alimentos com excesso de teor proteico ou desbalanço na composição dos aminoácidos (unidades formadoras das proteínas) causam o aumento da excreção de amônia pelos peixes (KUBITZA, 1998).

Os peixes têm seu sistema excretor responsável por eliminar seus resíduos do metabolismo e dos alimentos que não são digeridos, como fezes, nitrogênio, sais, água e ureia (Figura 4). Os compostos nitrogenados excretados são os mais tóxicos aos animais e a amônia é a forma mais tóxica entre eles, exigindo uma maior quantidade de água para sua diluição. Na excreção dos produtos nitrogenados dos peixes, cerca de 70% é de amônia e essa liberação é feita de forma passiva pelas brânquias para a água onde os animais se encontram, e os 30% são excretados em forma de glutamina ou ureia pela vesícula urinária (EMBRAPA, 2013).

A toxidez da amônia para os peixes causa efeitos sobre as células. Dentro da célula, a amônia não ionizada (NH₃) é transforada em amônia ionizada (NH₄+), com a liberação de hidroxilas (OH·). Este aumento de amônia no sangue e consequentemente do pH intracelular, causa um efeito nas reações catalisadas por enzimas, assim como sobre a estabilidade de membranas. A amônia pode bloquear o processo de fosforilação oxidativa e consequentemente, afeta o crescimento dos animais, devido a incapacidade destes em converter a energia alimentar em ATP. Para os efeitos na osmorregulação, são devidos ao aumento da permeabilidade das membranas do animal em relação a água, o que provoca um decréscimo na concentração iônica interna. Além destes efeitos, causa também danos sobre a excreção, respiração, tecidos e consequentemente o animal estará mais suscetível a contrair enfermidades (ARANA, 2010).

3.3 Características diagnosticantes da espécie Astyanax altiparanae

Existem milhares de espécies chamadas popularmente por lambaris no Brasil, geralmente pertencem à família Characidae, são animais de pequeno porte que não necessariamente precisam de indução hormonal para reprodução, ou seja, possuem facilidade para se reproduzirem naturalmente em cativeiro. Dentre as espécies de lambaris, as pertencentes do gênero *Astyanax* é a que mais tem se mostrado como promissora entre os piscicultores. Principalmente a espécie *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000 (Figura 5) conhecida popularmente como lambari do rabo amarelo ou tambiú, por apresentar facilidade na produção e ser bem aceita no mercado é a espécie que mais se produz em escala comercial (EMBRAPA, 2013).

Figura 5 – Morfologia corporal do lambari do rabo amarelo, *Astyanax altiparanae* Garutti & Britiski, 2000.



Fonte: INSTITUTO DE PESCA (SP), 2018.

O *A. altiparanae*, apresenta corpo claro e nadadeiras amareladas com uma mancha umeral escura ovalada horizontalmente e faixas transversais marrons, uma mancha preta alongada na horizontal no pedúnculo caudal, indo até as extremidades dos raios caudais medianos. Sua boca está localizada na parte terminal e seu corpo alto (BAUMGARTNER *et al.*, 2012).

O lambari-do-rabo-amarelo (*A. altiparanae*) é uma espécie rústica, de pequeno porte, que pode atingir de 10 a 15 cm de comprimento e que apresenta um ciclo de vida rápido, ainda assim em cultivos intensivos, com elevada taxa de produtividade. A

espécie tem hábito alimentar onívoro e possui um crescimento consideravelmente rápido, chegando à maturidade sexual com quatro meses de idade e sua distribuição geográfica está localizada na América do Sul, sendo originário da bacia do alto Paraná (ALMEIDA, 2007).

4 METODOLOGIA

O experimento foi realizado no laboratório de Piscicultura da Universidade Federal da Fronteira Sul, localizado no município de Laranjeiras do Sul (PR) durante o período de 17 a 20 de outubro de 2018. Os peixes da espécie *A. altiparanae* utilizados no experimento foram provenientes das pisciculturas Piscicultura Rio leão, localizada no município de Laranjeiras do Sul e da Piscicultura Scheneider, localizada no município de Toledo, ambas no estado do Paraná.

Durante a execução do experimento foram utilizados 75 exemplares de lambarido-rabo-amarelo (*A. altiparanae*) com média de tamanho de 6,2 cm de comprimento total (de 2,9 a 8 cm) e peso na média de 3,22 g (de1,6 a 6 g). O experimento foi composto por um grupo controle sem influência dos fatores testados e quatro grupos tratamentos que sofreram a exposição a amônia por 24 horas nas concentrações de 1,0; 0,75; 0,5; 0,25 mg/L. Nesses testes foram avaliadas as respostas de consumo de oxigênio dos espécimes as concentrações de amônia excretadas, durante o período de 1 hora.

4.1 Preparação do experimento

No início do período de exposição dos exemplares à amônia não ionizada, utilizou-se água tratada, onde foi acrescentado em uma caixa 50 L de água sem cloro e 6,5 g de carbonato de cálcio (CaCO₃), para padronizar o pH e desta forma manter os níveis desejados de amônia não ionizada (Figura 6). O pH manteve-se na faixa de 8,0, a temperatura ambiente e da água controladas em 25°C.

Figura 6 – Sistema de circulação da água empregados durante a exposição em diferentes concentrações de amônia - Laboratório de Piscicultura - Universidade Federal da Fronteira Sul.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A preparação da solução de amônia foi feita com 100ml de água destilada e 0,47g do composto químico inorgânico cloreto de amônio (NH₄). As concentrações de amônia foram adicionadas aos baldes (unidades experimentais) de acordo com os tratamentos pré-estabelecidos (**Controle** - 0.0 mg/L de [NH₃], **T1** – 1.0 mg/L de [NH₃], **T2** - 0.75 mg/L de [NH₃], **T3** - 0.5 mg/L de [NH₃] e **T4** – 0,25 mg/L de [NH₃]) em triplicata.

O respirômetro é um equipamento com um sistema de recirculação de água integrado, que possibilita mensurar a quantidade de oxigênio dissolvido disponível na água (Figura 7). Foi elaborado de forma que não houvesse contato com o ar atmosférico e ficasse totalmente lacrado com circulação de água interna no sistema. Com dois frascos de vidro, tampados com vedação e conectados um a outro por meio de mangueiras de silicone, onde no interior de um frasco foi instalado uma bomba submersa e um oxímetro e o outro frasco era destinado a colocação dos peixes após o período de exposição. Assim esse sistema (respirômetro), permitia que a força pressurizadora da bomba gerasse uma pressão de sucção e impulsão da água em direção ao outro frasco por meio de um lado das mangueiras de silicone conectada

aos dois frascos, fazendo assim uma recirculação de água entre os frascos. Ao passar pelo frasco com a bomba, o oxímetro conectado fazia a marcação de quanto oxigênio estava presente na água. A medida da concentração de O₂ era anotada a cada 10 minutos durante um período de 60 minutos. O respirômetro tem capacidade para 1,15 litros de água e sua vazão no sistema era de 1,8 litros por minuto, a água utilizada para encher o respirômetro era proveniente do reservatório do laboratório, sem cloro e sem solução de amônia adicionada.

Figura 7 – Dispositivo de respirômetro montado a partir de recipiente de vidro e conexões de canos plásticos - Laboratório de Piscicultura - Universidade Federal da Fronteira Sul.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

4.2 Execução do experimento

O período de exposição dos peixes à amônia não ionizada foi de 24 horas, cada unidade experimental foi preenchida com 2 litros de água e a concentração correspondente de solução de amônia referente a cada tratamento, todas as unidades permaneceram cobertas e com aeração constante através do uso de pedra porosa (Figura 8).

Figura 8 – Unidades experimentais usadas para as exposições de amônia por 24h - Laboratório de Piscicultura - Universidade Federal da Fronteira Sul.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nas unidades experimentais durante o período de exposição, os animais foram estocados em densidade de 5 peixes por unidade experimental e mantidos em jejum.

Ao termino das 24 horas de exposição os 5 animais foram transferidos juntos para o respirômetro e permaneceram até completar 60 minutos, onde foram coletados os dados de consumo de oxigênio dos peixes dentro do sistema. Após foram coletados, a água do sistema (respirômetro) e dos baldes (unidades experimentais) para análises de excreção de amônia e na hora foi registrado o valor do pH e temperatura das águas. Os peixes passaram por biometria individual, com o uso de uma balança com precisão 0,1 gramas e um paquímetro digital para tomada do comprimento total (Figura 9).



Figura 9 – Biometria individual dos peixes plásticos - Laboratório de Piscicultura - Universidade Federal da Fronteira Sul.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

As repetições foram realizadas de modo temporal em triplicata, onde a cada tempo, cada tratamento foi exposto simultaneamente com diferença de 70 minutos para cada concentração de amônia não ionizada.

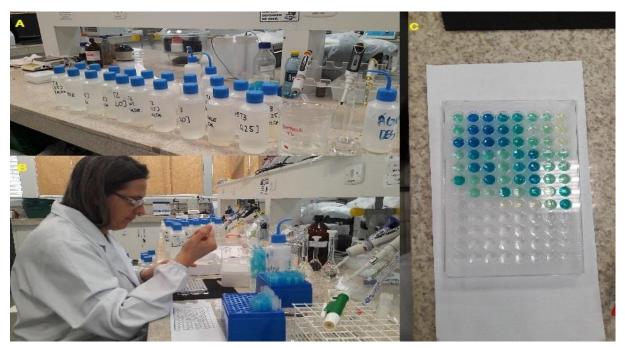
4.3 Obtenção dos dados

Os dados de consumo de oxigênio dos peixes foram obtidos através de medições utilizando oxímetro digital. Também foram anotados os dados de peso e tamanho dos peixes, pH e temperaturas das águas. A partir das medições de oxigênio dissolvidos e dos pesos dos peixes, foi calculado o consumo de O₂ por grama de peixe, e posteriormente realizada análise estatística de regressão. Os valores de excreção de amônia relacionados as concentrações de exposição também foram submetidos a análise de regressão.

Os dados de excreção de amônia dos peixes, tanto para o período de exposição como para o período mantido no respirômetro, foram analisadas a partir de amostras de águas coletadas através do método de espectrofotometria, seguindo protocolo de Amônia – Adaptado do Kit INDOTEST Alfakit do laboratório de

Bioquímica (UFFS). As análises seguiram os procedimentos de transferência de 250 μL das amostras, branco ou padrão para uma placa de microtitulação (Elisa), 5 μL dos reagentes 01, 02 e 03. Após 10 minutos, foi realizado a leitura no espectrofotômetro em 630 nm, e calculado a concentração das amostras com a equação da reta obtida a partir da curva padrão preparada (Figura 10).

Figura 10 – Análise das concentrações de amônia da água pelo método de espectrofotometria - Laboratório de Bioquímica - Universidade Federal da Fronteira Sul.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018. A) Amostras de águas coletadas no experimento, água das unidades experimentais e respirômetro. B) Transferências das amostras e reagentes para a placa de microtitulação. C) Placa de microtitulação pronta para leitura no espectrofotômetro.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos através das análises de consumo de oxigênio por influência das concentrações de amônia, mostraram que a espécie *A. altiparanae* apresentou uma redução do consumo de oxigênio dissolvido à medida que as diferentes concentrações de amônia de exposição por 24h foram sendo elevadas (Figura 11).

A análise de consumo de oxigênio foi realizada a partir dos dados adquiridos na primeira hora após o período de exposição nas diferentes concentrações de amônia por 24h. De acordo com Ferreira *et al.* (2011), ao avaliar o consumo de

oxigênio da tilápia do Nilo submetidas a diferentes estressores constatou que este era maior na primeira hora do experimento e que o consumo pode variar dependendo do tipo de estresse em que o animal é submetido.

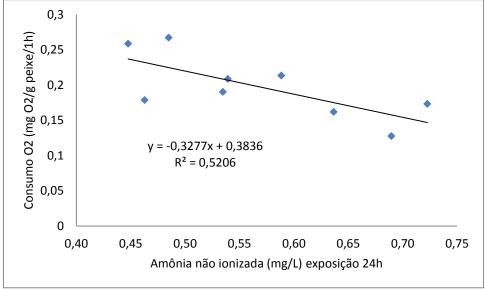
Em condições de hipóxia moderada os espécimes de *A. altiparanae* em confinamento mostram uma sensível redução no consumo de oxigênio (PEREIRA *et al.*, 2014). Em *Cyprinus carpio*, a carpa comum observa-se que o comportamento de consumo de oxigênio depende da temperatura, existindo uma relação inversa entre a taxa de consumo por grama de peixe com peso corporal do animal (FERREIRA *et al.*, 2009).

Conforme observado no presente trabalho (Figura 11), o consumo de oxigênio por grama de peixe na primeira hora após a exposição de amônia, apresentou uma queda em relação ao aumento das concentrações de amônia durante a exposição por 24 horas.

De acordo com TILAK et al. (2007), avaliando os Efeitos da amônia, nitrito e nitrato no conteúdo de hemoglobina e consumo de oxigênio pela carpa comum, observou que em exposição a concentrações letais de amônia ocorreu uma diminuição na quantidade de hemoglobina e aumento do teor de meta-hemoglobina no sangue. E como consequência desse decréscimo a capacidade de transporte de oxigênio no sangue ficou afetada. Resultado similar foi observado no presente trabalho, onde se registrou uma redução ao consumo de oxigênio dissolvido por parte dos peixes expostos a crescentes concentração de amônia não ionizada por 24h.

Neelima *et al.* (2016), constatou redução no consumo de oxigênio por *Cyprinus carpio* quando exposto à xenobióticos, como a Cipermetrina (25% Ec), que mesmo em concentrações subletais apresentou toxidade ao peixe, acarretando impactos na respiração do animal.

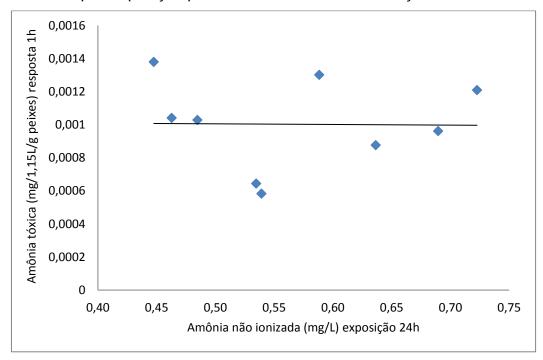
Figura 11 – Consumo de oxigênio de *A. altiparanae* (peso médio de 15, 25 g) em 60 minutos após submetidos a níveis diferentes de concentrações de amônia por 24 horas.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

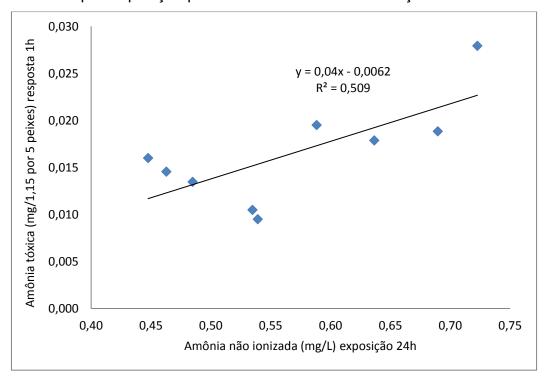
Quando realizado análises dos dados de excreção de amônia dos animais, observou-se que a excreção de amônia por grama de peixe dentro do volume de água do respirômetro (1,15 L), se manteve em constante equilíbrio dentro da primeira hora após a exposição (Figura 12). Não houve diferença na excreção da amônia, quando esta foi quando relacionado a excreção por grama de peixe. Porém, quando analisados os dados comparando ao número de indivíduos (5 indivíduos), foi observado aumento significativo na excreção de amônia (Figura 13). Este fato está de acordo com o trabalho realizado por Ismiño-Orbe, R. A. *et al.* (2003) que avaliou a excreção de amônia do tambaqui, e constatou que a quantidade de amônia excretada estava diretamente relacionada com a massa do peixe.

Figura 12 – Excreção de amônia de *A. altiparanae*, por gramas de peixes durante 60 minutos após exposição por 24h a diferentes concentrações de amônia.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Figura 13 - Excreção de amônia de *A. altiparanae*, por cinco indivíduos durante 60 minutos após exposição por 24h a diferentes concentrações de amônia.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A princípio, acreditava-se que haveria um aumento no consumo de oxigênio dissolvido pelos exemplares de *A. altiparanae* após exposição a crescentes concentrações de amônia não ionizada, e que a forma de amenizar os danos aos animais seria cuidar da qualidade de água, principalmente dos níveis de oxigênio dissolvido, quando os animais fossem expostos a níveis subletais de amônia tóxica. No entanto, os resultados observados foram mais preocupantes, pois os animais expostos a concentrações subletais de amônio tóxica mostraram uma redução no consumo de oxigênio dissolvido, o que pode estar relacionado a danos no sistema de transporta da molécula de O₂ e que os prejuízos causados quando da exposição a estas concentrações podem ser ainda maiores do que se acreditava inicialmente. Desta forma, os cuidados visando uma adequada qualidade de água em relação aos níveis de amônia na criação de *A. altiparanae* devem ser redobrados, em função da sensibilidade desta espécie a este parâmetro de qualidade de água.

6 CONCLUSÃO

Na avaliação dos resultados conclui-se que a respiração e/o consumo de oxigênio para a espécie *A. altiparanae* pode ser afetado quando exposto a concentrações subletais de amônia tóxica.

Quando expostos a diferentes concentrações de NH₃, o consumo de oxigênio desses organismos decresceu à medida em que as concentrações aumentavam, podendo indicar danos ao sistema de transporte de O₂ nos organismos. Já que a toxidade da amônia a nível celular pode causar danos a hemoglobina, quando o nitrito se liga as hemácias e oxida o ferro, convertendo-o em metahemoglobina. Peixes que apresentam metahemoglobina (forma oxidada da hemoglobina) desenvolvem anemia funcional, o que leva a um quadro de hipóxia devido a ineficiência de se ligar e transportar o oxigênio.

A excreção de amônia foi crescente na primeira hora após a exposição a crescente níveis de amônia por 24h, mostrando a capacidade dos animais de equilibrarem os níveis corporais através da liberação do composto do organismo.

A introdução de atividades relacionadas a avaliação metabólica de organismos aquáticos no laboratório de piscicultura da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), gerou resultados significativos a partir do presente trabalho, indicando que

mais trabalhos relacionados a área deverão ser desenvolvidos para maior aproveitamento laboral e desenvolvimento da pesquisa.

A espécie *A. altiparanae*, é extremamente exigente em relação a qualidade de água. Sendo assim imprescindível manter os cuidados preventivos e monitoramento dos parâmetros físicos, químicos, biológicos e tecnológicos de qualidade da água no cultivo, evitando assim possíveis problemas como a mortalidade dos peixes, que podem trazer o insucesso na produção.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. B. C. *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) como modelo biológico de espécie de peixe para exploração zootécnica e biomanipulação. Universidade Estadual Paulista – UNESP. Instituto de Biociências de Botucatu. Botucatu, 2007.

ARANA, L. V. Fundamentos de Aquicultura. Florianópolis: Editora da UFSC, 2004.

ARANA, L. V. **Qualidade da Água em Aquicultura: princípios e práticas**. 3 ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2010.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura**. 2 ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2009.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura**. 3 ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2013.

BAUMGARTNER, G. et al. Peixes do Baixo Rio Iguaçu. Maringá: Eduem, 2012. p. 75.

EMBRAPA. **Piscicultura de água doce: Multiplicando conhecimentos**. Brasília, DF: Embrapa, 2013. p. 47.

EMBRAPA. **Espaço temático Pesca e Aquicultura**. Disponível em:< www.embrapa.br/tema-pesca-e-aquicultura>. Acesso em 8 de maio de 2018.

ESTEVES, F. A. e Colaboradores. **Fundamentos de Limnologia.** 3 ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2011. p. 113, 167

FAO. **Departamento de Pesca e Aquicultura**. Disponível em:< www.fao.org/fishery/aquaculture/en>. Acesso em 8 de maio de 2018.

FERREIRA, P. M. F. *et al.* **AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE OXIGÊNIO DA TILÁPIA DO NILO SUBMETIDAS A DIFERENTES ESTRESSORES**. Rev. Bras.
Eng. Pesca 6(1): 56-62, 2011. Disponíve e:<
https://ppg.revistas.uema.br/index.php/REPESCA/article/viewFile/387/370>.

FERREIRA, P.M.F. et al. **EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE A TAXA METABÓLICA DA CARPA-COMUM (Cyprinus carpio LINNAEUS, 1758).** Rev.

Bras. Eng. Pesca 4(2): 1-10, 2009. Disponívem em:https://docs.ufpr.br/~almircunico/html/Aula pratica temperatura.pdf>.

GARUTTI, V. Piscicultura ecológica. São Paulo: Editora UNESP, 2003.

ISMIÑO-ORBE, R. A. *et al.* Excreção de amônia por tambaqui (Colossoma macropomum) de acordo com variações na temperatura da água e massa do peixe. Pesq. agropec. bras., Brasília, v. 38, n. 10, p. 1243-1247, out. 2003. Disponível em:< http://www.scielo.br/pdf/%0D/pab/v38n10/18307.pdf>.

TILAK, K. S. et al. Effects of ammonia, nitrite and nitrate on hemoglobin content and oxygen

consumption of freshwater fish, Cyprinus carpio (Linnaeus). Department of Zoology, Acharya Nagarjuna University, Nagarjunanagar. Journal of Environmental Biology. India: January, 2007.

KUBITZA, F. **Qualidade da Água na Produção de Peixes** – Parte III (Final). Panorama da Aquicultura. Vol. 8. N. 47. Maio/Junho, 1998. p. 35 – 43.

KUBITZA, F. **Qualidade da Água na Produção de Peixes** – Parte I. Panorama da Aquicultura. Vol. 8. N. 45. Janeiro/Fevereiro, 1998. p. 36 – 41.

KUBITZA, F. Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões. 1 ed. Jundiaí, São Paulo, 2003. cap. 2. p. 9 -10.

MARTINEZ, C. B. R. *et al.* **Toxidade e Efeitos da Amônia e Peixes Neotropicais**. In AquaCiência 2004. Tópicos Especiais e Biologia Aquática e Aquicultura. Sociedade Brasileira de Biologia Aquática e Aquicultura. Jabuticabal, 2006. cap. 6. p. 81 – 95.

MOTTA-ROTH, D. HENDGES, G. H. **Produção textual na universidade.** São Paulo: Parábola Editorial, 2010. Pág. 51 – 62.

NEELIMA, P. et al. A Study on Oxygen Consumption in a Freshwater Fish Cyprinus carpio Exposed to Lethal and Sublethal Concentrations of Cypermethrin (25%Ec). Department of Zoology and Aquaculture, Acharya Nagarjuna University. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. India: April, 2016.

PORTO-FORESTI, F. *et al.* In. **Espécies nativa para piscicultura no Brasil**. 2 ed. Santa Maria: Editora UFMS, 2010. p. 109 -110.

PEREIRA, J. A. *et al.* Consumo de oxigênio de Astyanax sp. em função da temperatura e condições de oxigenação. Natureza on line, 2014. Disponível em:http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/04 PereiraJAetal 216-219.pdf>.