

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



EFEITO DA EXPOSIÇÃO CRÔNICA À AMÔNIA (NH₃) NO
CRESCIMENTO E NAS AMINOTRANSFERASES DE JUVENIS DE
DOURADO (*Salminus brasiliensis*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Aqüicultura.

Orientador: Prof. Dr. Evoy Zaniboni Filho

APARICIO AUGUSTO RODRIGUES STREIT

FLORIANÓPOLIS - SC
2006

Streit, Aparício Augusto Rodrigues.

Efeito da exposição crônica à amônia (NH₃) no crescimento e nas aminotransferases de juvenis de dourado (*Salminus brasiliensis*)- 2006
f. 34, grafs., tabs.

Orientador: Dr. Evoy Zaniboni Filho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina – Centro de Ciências Agrárias.

Bibliografia: f. 34p.

1. Amônia; 2. *Salminus brasiliensis*; 3 Aminotransferases plasmáticas.

Efeito da exposição crônica à amônia (NH₃) no crescimento e nas aminotransferases de juvenis de dourado (*Salminus brasiliensis*)

Por

APARÍCIO AUGUSTO RODRIGUES STREIT

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQÜICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aqüicultura.

Profª. Débora Machado Fracalossi, Dra.
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Dr. Evoy Zaniboni Filho - *Orientador*

Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñez

Dr. Bernardo Baldisserotto

Aos meus pais Armando e Jussara pelo apoio e confiança durante todas as horas.

Agradecimentos

Às minhas irmãs Silvana e Taís, minha sobrinha Gabriela e meus cunhados Rogério e Alfredo pelas boas horas de convívio.

À CAPES pela concessão de bolsa de apoio à pesquisa.

Ao meu amigo e orientador Evoy, pela oportunidade e pela confiança no decorrer dessa jornada. Muito obrigado!

Ao colega Luciano, pelo companheirismo e profissionalismo com os quais me ajudou a conduzir o trabalho.

Ao prof. Radünz, pelo incentivo inicial pela piscicultura.

Ao Prof. Carlos, pelo auxílio nas análises bioquímicas.

Aos colaboradores do trabalho: Roberta, PC, Michy e Mayara pela força durante o experimento.

Aos professores e colegas Alex, Bernardo e Débora, pelas ajudas nos momentos de dúvidas.

Ao colega Marcos, pela amizade e dedicação pela piscicultura.

Aos colegas de LAPAD: Sami, Samara, Jackson, Claudinha, Davi, Maude, Renata, pela ótima convivência neste período.

Aos meus irmãos de pós: Josiane, Saula, Ronaldo, Neiva, André, Márcia, Fanny, Rogério, Dani, Giovanni, Tom, Luciana, Giulliana, Moira, Carlos (baiano), Benjamin, Giuliano, Rafa, Fernanda e Gaúcho.

Ao grande gremista Pedrão “quati”.

Aos amigos Maurício, Flávio, Lauro, Grasi, Ronaldo e Everton pelas boas risadas compartilhadas.

Ao pessoal do Lab. Nutri: Fernanda, Renato, Vitor.

Às grandes figuras que estagiam no LAPAD: Quirino, Marina, Fausto, João (Portuga), Fred Maíra, Camilinha, Jackson, Carine e todos os demais que por lá passaram neste período.

“Há um incessante fluxo de matéria através de um organismo vivo. Cada célula sintetiza e dissolve estruturas continuamente, e elimina produtos residuais. Tecidos e órgãos substituem suas células em ciclos contínuos. Há crescimento, desenvolvimento e evolução. Desse modo a partir mesmo do princípio da biologia, o entendimento da estrutura viva tem sido inseparável do entendimento dos processos metabólicos e desenvolvimentais”.

Fritjof Capra,

1996

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT.....	ix
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	3
Geral.....	3
Específico.....	3
EFEITO DA EXPOSIÇÃO CRÔNICA À AMÔNIA (NH₃) NO DESEMPENHO E NO PERFIL DE AMINOTRANSFERASES PLASMÁTICAS DE JUVENIS DE DOURADO (<i>Salminus brasiliensis</i>).....	4
<i>Abstract</i>	4
<i>Resumo</i>	5
1. <i>Introdução</i>	6
2. <i>Material e Métodos</i>	7
2.1. <i>Origem dos peixes e condições experimentais</i>	7
2.2. <i>Procedimentos e desenho experimental</i>	7
2.3. <i>Parâmetros de crescimento</i>	8
2.4. <i>Hematócrito e aminotransferases plasmáticas e índice hepatossomático</i>	8
a. <i>Hematócrito (%)</i>	8
b. <i>Aminotransferases plasmáticas (ALT e AST)</i>	9
c. <i>Índice hepatossomático</i>	9
2.5. <i>Análises estatísticas</i>	9
3. <i>Resultados</i>	10
4. <i>Discussão</i>	13
<i>Agradecimentos</i>	15
<i>Referências bibliográficas</i>	16
<i>Considerações finais</i>	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....	21
ANEXOS.....	23
Anexo 1. Estrutura do experimento.....	24
Anexo 2. Juvenil de dourado (<i>Salminus brasiliensis</i>), durante biometria.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	-----	alanina aminotransferase
NH₃	-----	amônia
AST	-----	aspartato aminotransferase
CA	-----	conversão alimentar
FC	-----	fator de condição
GPD	-----	ganho de peso diário
H	-----	hematócrito
IHS	-----	índice hepatossomático
NH₄⁺	-----	íon amônio
TCE	-----	taxa de crescimento específico

RESUMO

Os efeitos da exposição crônica à amônia não-ionizada (NH_3) no crescimento, na utilização alimentar e na fisiologia de juvenis de dourado, *Salminus brasiliensis*, foram examinados. Os dourados foram expostos a quatro concentrações de NH_3 [0,04 (controle); 0,13; 0,24 e 0,46 mgNH_3/L] por 77 dias a 25 °C, pH 8,1 e saturação de oxigênio acima de 80%. Ao final dos 77 dias, o desempenho não foi significativamente influenciado pelas concentrações de NH_3 , assim como o índice hepatossomático (IHS) e hematócrito. Os níveis de aminotransferases plasmáticas (ALT e AST) foram significativamente menores no tratamento controle. Os demais tratamentos não diferiram entre si. Não houve diferença no consumo de ração entre os tratamentos, contudo, houve crescimento negativo e a morte de um peixe entre o 30º e 47º dia no tratamento controle, explicados pelo comportamento agressivo dos peixes. A ausência de diferença no IHS e alteração no perfil enzimático sugerem que os juvenis de dourado atingiram uma nova homeostase, em concentrações de até 0,46 mgNH_3/L .

Palavra-chave: Amônia; *Salminus brasiliensis*; aminotransferases plasmáticas.

ABSTRACT

This study examined the effects of chronic exposure to unionized ammonia (NH₃) on growth, food utilization and physiology of juvenile dourado, *Salminus brasiliensis*. Fish were exposed to four NH₃ concentrations [0.04 (control); 0.13; 0.24 and 0.46 mg NH₃/L] for 77 days at 25 °C, pH 8.1 and oxygen saturation above 80%. At the end of 77 days, performance was not significantly influenced by NH₃ concentrations, neither the hepatosomatic index (HSI) or the hematocrit. Plasma aminotransferase (ALT and AST) levels were significantly lower in the control. There were no differences among the other treatments. No difference in food intake among treatments was observed, however, negative growth and death of a fish between the 30th and 47th day occurred in the control, which can be explained by the fish aggressive behavior. No difference in the HSI and change in the enzymatic profile suggest that dourado juveniles reached a new homeostasis, in concentrations up to 0.46 mgNH₃/L.

Keywords: ammonia; *Salminus brasiliensis*; plasma aminotransferases.

INTRODUÇÃO

O dourado, *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), é um Characiforme, pertencente à família Characidae e se encontra distribuído nas bacias do Pantanal e dos rios Paraná, Uruguai e São Francisco (Paiva, 1986; Godoy, 1987). Recentemente, numa revisão feita por Géri & Lauzzane (1990), a sistemática taxonômica do dourado foi redefinida e as espécies *Salminus maxillosus* (Valenciennes, 1850), *Salminus cuvieri* (Valenciennes, 1850), *Salminus orbignyanus* (Valenciennes, 1850) e *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) passaram a ser sinônimas, valendo a nomenclatura mais antiga para representar a espécie *Salminus brasiliensis*. É uma espécie de peixe de hábito alimentar carnívoro, que habita ambientes lóticos e encachoeirados, onde realiza grandes migrações ascendentes na época reprodutiva.

Segundo Marques (2002), a espécie vigora na “Lista das Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção no Rio Grande do Sul”, como vulnerável à extinção. Os principais fatores causadores do declínio na captura de pescados nas águas continentais são: desmatamento da vegetação ciliar; excessivo esforço de pesca; captura de indivíduos jovens; drenagem de lagoas marginais; regulação do regime hidrológico dos rios; construção de barragens, poluição das águas e introdução de espécies exóticas (Zaniboni-Filho et al., 2000). A transformação de rios de águas rápidas em grandes corpos de águas lânticas constitui um impacto extremamente negativo para espécies migratórias, uma vez que estas podem encontrar dificuldades para realizar migrações reprodutivas em rotas alternativas. O dourado é um grande migrador e faz parte do grupo de peixes mais prejudicado pela construção de barragens.

A produção de dourados em cativeiro surge como uma alternativa para atenuar a redução nos estoques desta espécie no ambiente natural. Além disso, a espécie tem despertado grande interesse para a piscicultura devido a características, tais como: grande porte, esportividade, carne com excelentes características organolépticas e elevado valor de mercado. Segundo Castagnolli (1997), *S. brasiliensis*, bem como outras espécies carnívoras de grande porte, deverá ter sua produção aumentada na mesma proporção dos acréscimos da demanda dos pesque-pagues.

Um dos principais fatores limitantes no cultivo do dourado, semelhante ao de várias outras espécies nativas brasileiras, é a falta de tecnologia que propicie a produção massiva de juvenis (Zaniboni-Filho, 2000). A escassez de pesquisas nesta fase de desenvolvimento impede o cultivo desta espécie em larga escala.

A produção de uma determinada espécie de peixe em cativeiro, depende do conhecimento da biologia desse peixe, através da realização de estudos fisiológicos e comportamentais. A determinação dos limites de tolerância de uma espécie pode ser decisiva no sucesso de um cultivo. O estabelecimento da qualidade de água ideal para o cultivo de uma espécie, somente é possível a partir da definição dos limites seguros de cada um dos fatores potencialmente limitantes, além de suas interações (Person-Le Ruyet et al., 1997).

Quando os peixes são cultivados em altas densidades pode haver um gradual acúmulo de sólidos em suspensão e catabólitos naturais, tais como: amônia, dióxido de carbono, além da diminuição dos níveis de oxigênio dissolvido, especialmente quando a renovação de água é restrita. De acordo com Colt & Armstrong (1981), em cultivo intensivo de animais aquáticos a toxicidade dos

compostos nitrogenados é o parâmetro mais limitante quando são mantidos níveis adequados de oxigênio dissolvido na água.

A amônia é o principal produto nitrogenado do metabolismo de proteínas de peixes teleósteos (Foster e Goldstein, 1969). A excreção da amônia está diretamente relacionada com o consumo protéico e o tempo após a alimentação (Leung et al., 1999). Essa excreção em sistemas intensivos de cultivo pode causar picos periódicos ou até mesmo a manutenção de níveis elevados de amônia no ambiente, o que pode ser prejudicial aos peixes expostos. Na água, a amônia existe sob duas formas, ionizada (NH_4^+) e não-ionizada (NH_3). A toxicidade da amônia aos peixes e outros organismos aquáticos é primeiramente atribuída à forma não-ionizada. A quantidade de cada uma das frações depende diretamente de fatores como pH, temperatura e salinidade (Baldisserotto, 2002). A forma não-ionizada (NH_3) pode facilmente difundir-se pelo epitélio branquial, sendo considerada a forma nitrogenada mais tóxica.

Segundo Arana (1997) o aumento da concentração de amônia no meio externo, dificulta a excreção da mesma pelos organismos, provocando um aumento no nível de amônia no sangue e nos tecidos que, além de afetar seriamente a fisiologia dos animais, pode provocar redução ou paralisação da atividade alimentar a fim de reduzir a amônia metabólica. A forma não-ionizada (NH_3) pode facilmente difundir-se pelo epitélio branquial, sendo considerada a forma nitrogenada mais tóxica. Quando os peixes são expostos por períodos prolongados à amônia, podem ocorrer lesões branquiais (Smith & Piper, 1975; Smart, 1976), enquanto os efeitos tóxicos da amônia causem no aumento do volume do fígado e da produção de aminotransferases (Person-Le Ruyet et al., 1997), entre outras conseqüências. A avaliação da quantidade de aminotransferases plasmáticas é um instrumento amplamente utilizado na detecção de lesões hepáticas (Champe & Harvey, 1996).

O conhecimento das concentrações de amônia que limitam o crescimento e impedem a respiração é essencial para o manejo em aqüicultura e pode ajudar na maximização da produção (Colt & Armstrong, 1981).

Os efeitos, em longo prazo, da exposição dos peixes à amônia, não são bem documentados. Níveis seguros variam de 0,05 a 0,2 mgNH_3/L (Thurson et al., 1981). Rowland et al. (1995) registraram redução no crescimento de *Bairdiella chrysoura* em tanques, associada a valores de amônia não-ionizada acima de 0,65 mg/L . Esses valores críticos são distintos para as diferentes espécies, além da influência decorrente da interação com outros fatores ambientais, tais como o oxigênio dissolvido, o pH e a temperatura. Serafini (2005) testando o efeito sinérgico entre oxigênio dissolvido e amônia (NH_3) em juvenis de dourado, obteve CL50-96h de 0,525 $\text{mg NH}_3/\text{L}$ de amônia quando o nível de oxigênio dissolvido foi mantido em 1,65 mg/L . Este autor, fixando o valor de amônia em 0,927 mgNH_3/L , obteve a CL50-96h de oxigênio dissolvido em 4,52 mgO_2/L . Os testes de toxicidade crônica são feitos baseados em valores de CL-50 para a mesma espécie. Para juvenis de dourado (*Salminus brasiliensis*) a concentração letal média de amônia tóxica foi de 1,83 mg/L (Gazzola, 2003). Com base nestes valores foram calculadas doses sub-letais as quais os juvenis de dourados foram submetidos durante o período experimental.

OBJETIVOS

Geral

Contribuir com o desenvolvimento de técnicas adequadas para a produção do dourado (*Salminus brasiliensis*).

Específicos

- Avaliar o efeito da exposição à amônia no desempenho e conversão alimentar de juvenis de dourado;
- Avaliar alterações na resposta fisiológica dos peixes submetidos ao teste de toxicidade crônica por amônia;
- Avaliar o comportamento alimentar dos dourados submetidos ao teste de toxicidade por amônia.

O artigo científico apresentado está de acordo com as normas da revista "Journal of Experimental Biology", à qual será posteriormante submetido para publicação.

EFEITO DA EXPOSIÇÃO CRÔNICA À AMÔNIA (NH₃) NO DESEMPENHO E NO PERFIL DE AMINOTRANSFERASES PLASMÁTICAS DE JUVENIS DE DOURADO (*Salminus brasiliensis*)

EFFECT OF CHRONIC EXPOSURE TO AMMONIA (NH₃) ON GROWTH AND PLASMATIC AMINOTRANSFERASES PROFILE IN JUNVENILES OF DOURADO (*Salminus brasiliensis*)

Aparício Augusto Rodrigues Streit^{1,2}, Luciano Augusto Weiss^{1,2},
Carlos Henrique Lemos Soares³ e Evoy Zaniboni Filho^{2*}

¹Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina;

²Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce, Departamento de Aqüicultura, Uniersidade Federal de Santa Catarina, Rodovia SC 406 nº 3532, Florianópolis, 88066-000, SC, Brasil; ³Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Trindade, Florianópolis, 88040-900

*zaniboni@cca.ufsc.br

Abstract

This study examined the effects of chronic exposure to unionized ammonia (NH₃) on growth, food utilization and physiology of juvenile dourado, *Salminus brasiliensis*. Fish were exposed to four NH₃ concentrations [0.04 (control); 0.13; 0.24 and 0.46 mg NH₃/L] for 77 days at 25 °C, pH 8.1 and oxygen saturation above 80%. At the end of 77 days, performance was not significantly influenced by NH₃ concentrations, neither the hepatosomatic index (HSI) or the hematocrit. Plasma aminotrasferase (ALT and AST) levels were significantly lower in the control. There were no differences among the other treatments. No difference in food intake among treatments was observed, however, negative growth and death of a fish between the 30th and 47th day occurred in the control, which can be explained by the fish aggressive behavior. No difference in the HSI and change in the enzymatic profile suggest that dourado juveniles reached a new homeostasis, in concentrations up to 0.46 mgNH₃/L.

Keywords: ammonia; *Salminus brasiliensis*; plasma aminotransferases.

Resumo

Os efeitos da exposição crônica à amônia não-ionizada (NH_3) no crescimento, na utilização alimentar e na fisiologia de juvenis de dourado, *Salminus brasiliensis*, foram examinados. Os dourados foram expostos a quatro concentrações de NH_3 [0,04 (controle); 0,13; 0,24 e 0,46 mgNH_3/L] por 77 dias a 25 °C, pH 8,1 e saturação de oxigênio acima de 80%. Ao final dos 77 dias, o desempenho não foi significativamente influenciado pelas concentrações de NH_3 , assim como o índice hepatossomático (IHS) e hematócrito. Os níveis de aminotransferases plasmáticas (ALT e AST) foram significativamente menores no tratamento controle. Os demais tratamentos não diferiram entre si. Não houve diferença no consumo de ração entre os tratamentos, contudo, houve crescimento negativo e a morte de um peixe entre o 30º e 47º dia no tratamento controle, explicados pelo comportamento agressivo dos peixes. A ausência de diferença no IHS e alteração no perfil enzimático sugerem que os juvenis de dourado atingiram uma nova homeostase, em concentrações de até 0,46 mgNH_3/L .

Palavra-chave: Amônia; *Salminus brasiliensis*; aminotransferases plasmáticas.

1. INTRODUÇÃO

A amônia (NH_3) é um produto final do catabolismo de proteínas e representa 75-90% da excreção nitrogenada dos peixes (Handy & Poxton, 1993; Dosdat et al., 1996). Mais de 90% da amônia é excretada através das brânquias (Cameron & Heisler, 1983) e isso ocorre via difusão passiva da amônia livre, embora a contribuição de um mecanismo excretório ativo ainda seja alvo discussões (Randall & Wright, 1987; Wood, 1993; Wilson & Taylor, 1992; Wilson et al., 1994).

A amônia é 300 a 400 vezes mais tóxica aos peixes do que o íon amônio (NH_4^+) pelo fato de difundir-se facilmente pelas membranas das brânquias (Thurson et al., 1981; Haywood, 1983; Russo, 1985). Com o aumento da concentração de amônia na água ocorre uma redução no gradiente de difusão entre o sangue e o meio externo ocasionando um aumento na quantidade de amônia no sangue e nos tecidos, que produz sérios problemas fisiológicos (Boyd & Tucker, 1998). Quando os peixes são expostos por períodos prolongados à amônia, podem ocorrer lesões branquiais (Smith & Piper, 1975; Smart, 1976), enquanto os efeitos tóxicos da amônia causam no aumento do volume do fígado e da produção de aminotransferases (Person-Le Ruyet et al., 1997), entre outras conseqüências.

Reduções da taxa de crescimento de peixes expostos à amônia têm sido reportadas em algumas espécies, como o turbot, *Scophthalmus maximus* (Rasmussen & Korsgaard, 1996; Person-Le Ruyet et al., 1997), gilthead seabream, *Sparus aurata* (Wajsbrot et al., 1993), Doversole, *Solea solea* (Alderson, 1979), catfish americano, *Ictalurus punctatus* (Tomasso, 1994) e silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Rowland et al., 1995; Frances et al., 2000).

A grande maioria dos trabalhos realizados com peixes objetiva determinar os efeitos da toxicidade aguda e crônica. No entanto, recentemente, alguns estudos têm demonstrado que baixos níveis de amônia na água podem estimular o crescimento de salmonídeos (Linton et al., 1997, 1999; Wood 2004), já que, é possível que a amônia exógena estimule a síntese protéica e, conseqüentemente, o crescimento, através da incorporação da amônia para a formação de aminoácidos (Wood, 2004).

A tolerância à amônia varia muito entre as espécies, com valores que oscilam de 0,02 mg NH_3 /L em truta arco-íris, *Onchorhynchus mykiss* (Arillo et al., 1981) a 0,65 mg NH_3 /L em *Bidyanus bidyanus* (Rowland et al., 1995). Os limites são atualmente desconhecidos para o dourado *Salminus brasiliensis*. Serafini (2005) testando o efeito sinérgico entre oxigênio dissolvido e amônia (NH_3) em juvenis de dourado, obteve CL50-96h de 0,525 mg NH_3 /L de amônia quando o nível de oxigênio dissolvido foi mantido em 1,65 mg/L. Este autor, fixando o valor de amônia em 0,927 mg NH_3 /L, obteve a CL50-96h de oxigênio dissolvido em 4,52 mg O_2 /L. Os testes de toxicidade crônica são feitos baseados em valores de CL-50 para a mesma espécie. Para juvenis de dourado (*Salminus brasiliensis*) a concentração letal média de amônia tóxica foi de 1,83 mg/L (Gazzola, 2003). Com base nestes valores foram calculadas doses sub-letais as quais os juvenis de dourados foram submetidos durante o período experimental. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da exposição crônica à amônia no desempenho e na resposta fisiológica de juvenis de dourado.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Origem dos peixes e condições experimentais

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce da Universidade Federal de Santa Catarina (LAPAD-UFSC), com juvenis de dourado produzidos a partir de reprodutores selvagens provenientes do alto rio Uruguai. Após seis meses, período referente à larvicultura e alevinagem, em tanque de terra, os peixes foram capturados e transportados para o LAPAD-UFSC, onde foram mantidos durante sessenta dias em tanques de 1000L, para adaptação. Dez dias antes do início do experimento 160 juvenis foram selecionados e distribuídos nas 16 unidades experimentais (UE), para um período de aclimação. Os tanques utilizados eram retangulares com volume útil de 90 litros, providos de aeração individual (pedras porosas), refúgios (canos de PVC de 100 mm) e tela de contenção na parte superior (Anexo 1). Decorridos 10 dias de aclimação, peixes pesando 36 ± 10 g (média \pm desvio-padrão) e medindo 152 ± 15 mm de comprimento total foram submetidos às condições experimentais.

2.2. Procedimentos e desenho experimental

A água utilizada foi previamente dechlorificada. Duas vezes ao dia foram feitas as análises dos parâmetros da água (pH, amônia, oxigênio dissolvido e temperatura) com o auxílio de uma sonda multiparâmetro YSI – 6600 (Tabela 1). A temperatura da água foi mantida em $25 \pm 1^\circ\text{C}$ nas unidades experimentais, com o auxílio de aquecedores elétricos nos tanques reservatórios. A água foi conduzida até as unidades experimentais com o auxílio de bombas submersas nos tanques reservatórios. O tamponamento da água foi feito por meio da adição de 150g de bicarbonato de sódio em cada tanque reservatório (900L). A alcalinidade total foi determinada semanalmente em laboratório, por método colorimétrico, e manteve-se em 105 ± 10 mg CaCO_3/L durante todo o período experimental. A taxa de renovação de água foi de 300mL/min. e os níveis de oxigênio dissolvido mantiveram-se acima de 80% de saturação.

Os peixes foram alimentados até a saciedade duas vezes ao dia (após as tomadas dos parâmetros da água) com ração comercial extrusada (40% PB). A cada alimentação a ração foi fornecida pausadamente durante uma hora. Nesse período foi observado o comportamento alimentar dos peixes dos diferentes tratamentos e a ocorrência de mortalidade. Ao final deste período, as sobras de ração foram retiradas e quantificadas, permitindo avaliar o consumo diário de cada unidade experimental. O fotoperíodo foi mantido em 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

Quinzenalmente, foram realizadas biometrias para obtenção dos valores de peso e comprimento total de todos os peixes de cada unidade experimental (Anexo 1). Os peixes foram previamente anestesiados com óleo de cravo (Eugenol) 0,025 mL/L por 3 minutos e pesados em uma balança analítica com precisão de 0,01 gramas. A cada três dias foram feitas sifonagens nas unidades experimentais com retirada de 50% da água. Quinzenalmente foi realizada limpeza em toda a estrutura do experimento.

Os tanques reservatórios (900L) eram abastecidos duas vezes ao dia com doses previamente calculadas de cloreto de amônio (NH_4Cl) para a obtenção dos níveis de amônia desejados. Enquanto o controle não recebeu adição de NH_4Cl , o tratamento com maior concentração de amônia recebeu o

equivalente a 21,78 mg de NH_4Cl em 900 L de água. Os cálculos para a adição do NH_4Cl foram feitos para pH 8, onde 5% da amônia total manifesta-se na forma de amônia (NH_3).

Trinta minutos após a adição das respectivas concentrações de NH_4Cl , tempo necessário para homogeneização da água, as bombas eram religadas para reiniciar a renovação da água das unidades experimentais.

Tabela 1. Amônia não-ionizada (mg NH_3/L), pH, temperatura ($^\circ\text{C}$), oxigênio dissolvido (mg/L) e alcalinidade (mg CaCO_3/L) nas unidades experimentais com *Salminus brasiliensis*.

NH_3	pH	Temperatura	O_2 dissolvido	Alcalinidade
0,04 ± 0,02	8,12 ± 0,20	24,9 ± 0,8	6,7 ± 0,6	103 ± 10
0,13 ± 0,05	8,02 ± 0,10	25,0 ± 0,9	6,5 ± 0,5	108 ± 12
0,24 ± 0,04	8,01 ± 0,09	25,0 ± 1,0	6,5 ± 0,7	114 ± 8
0,46 ± 0,06	8,01 ± 0,11	25,1 ± 0,8	6,4 ± 0,6	109 ± 15

2.3. Parâmetros de crescimento

O desempenho dos peixes durante os 77 dias de experimento, foi avaliado em:

Consumo médio diário (CMD): Quantidade de ração consumida por indivíduo/dias ;

Ganho de peso médio diário (GPD): Ganho de peso no período (média dos tratamentos)/dias (g);

Peso médio (PM): Valores médios do peso dos peixes de cada tratamento a cada biometria (g);

Conversão alimentar (CA): Alimento consumido no período / ganho em biomassa no período (g/g);

Taxa de crescimento específico (TCE): Calculada de acordo com a fórmula de Jobling (1994): $100(\ln W_f - \ln W_i)(t_2 - t_1)^{-1}$ onde W_f e W_i são peso médio no final e no início, (t_2) e (t_1), tempo em dias no final e no início, respectivamente;

Fator de condição (g/cm^3): Relação entre o peso e o comprimento dos peixes (inicial e final). Calculado segundo a fórmula: $100 W/L^3$ onde: W =Peso (g) e L =Comprimento (cm).

2.4. Hematócrito, aminotransferases plasmáticas e índice hepatossomático.

Ao término do experimento, 20% dos peixes de cada tratamento foram coletados ao acaso e submetidos às seguintes análises:

a. Hematócrito (%)

Imediatamente após a retirada de cada peixe, no próprio local, procedeu-se a coleta da amostra de sangue, com punção na veia caudal, utilizando-se seringa heparinizada (0,1ml).

A determinação do hematócrito foi feita pela técnica de centrifugação em capilares, segundo Goldenfarb et al., (1971). Os tubos capilares heparinizados contendo amostras de sangue foram fechados em uma das extremidades com massa apropriada e centrifugados a 10.000 X G por 5 minutos. A leitura foi determinada em escala padronizada.

b. Aminotransferases plasmáticas (ALT e AST)

Com as amostras de plasma à temperatura ambiente foram feitas as determinações das enzimas plasmáticas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), utilizando o método espectrofotométrico automatizado, segundo técnicas convencionais (Plaa, 1986).

c. Índice hepatossomático

Foram feitas incisões abdominais nos peixes para a retirada dos fígados. O peso (g) do fígado foi dividido pelo peso total do respectivo peixe para a obtenção do índice hepatossomático.

2.5. Análises estatísticas

Todas as análises estatísticas para comparação entre os diferentes tratamentos foram realizadas com o auxílio do programa XLSTAT. Os valores de desempenho (TCE, CA, CM, GPD e FC), hematócrito e índice hepatossomático foram submetidos à análise de variância (ANOVA $P < 0,05$) e, em caso de diferença significativa, suas médias foram comparadas pelo teste de Tukey. As análises bioquímicas (ALT e AST) foram submetidas à regressão linear. Para todas as análises realizadas, o nível de significância utilizado foi de 5%.

3. RESULTADOS

Durante todo o período experimental ocorreu a morte de apenas um peixe em uma das unidades experimentais (UE) do tratamento controle (0,04 mgNH₃/L).

Durante a alimentação, foi observada a maior utilização dos refúgios no tratamento controle, assim como grande quantidade de escamas na água, possivelmente em virtude das brigas pelo estabelecimento de uma hierarquia nas UE deste tratamento. Nos demais tratamentos foi observado comportamento agressivo apenas nos primeiros dias, e após os peixes passaram a compor um comportamento de cardume.

No tratamento controle, a taxa de crescimento específico dos peixes foi negativa e significativamente inferior aos demais tratamentos, no período do dia 30 ao dia 47 (ANOVA $P < 0,05$; Fig. 1). No intervalo subsequente (do dia 47 ao dia 62) a taxa de crescimento específico foi significativamente maior no controle em relação aos demais tratamentos, os quais não diferiram entre si em nenhum dos períodos (Fig. 1).

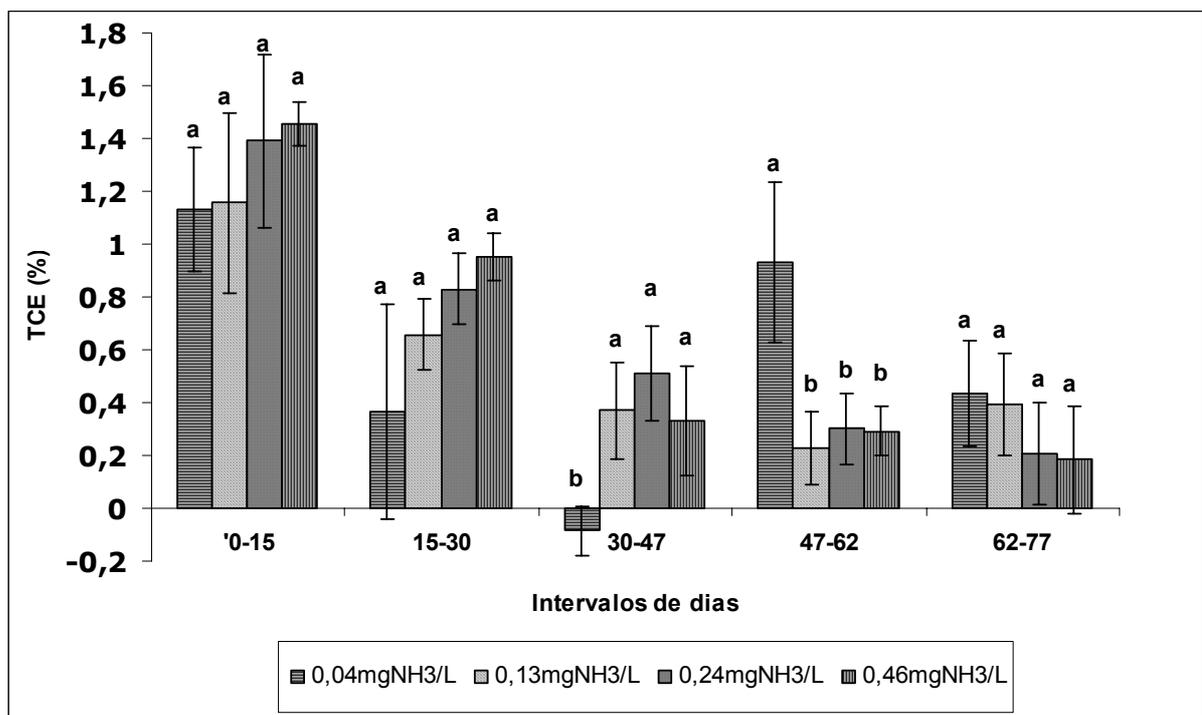


Fig. 1. Médias (\pm desvio padrão) da taxa de crescimento específico (TCE) de dourados cultivados em diferentes concentrações de amônia (NH₃). Letras diferentes indicam diferença significativa (ANOVA, $P < 0,05$) entre tratamentos em cada período.

Não houve diferença significativa no peso médio dos peixes de cada tratamento em nenhum dos períodos avaliados (ANOVA, $P > 0,05$; Tabela 2), embora tenha havido perda de peso dos peixes do tratamento controle entre os dias 30 e 47.

Tabela 2. Pesos médios (\pm desvio padrão) de dourados cultivados em diferentes concentrações de amônia (NH₃).

Tratamentos (mgNH ₃ /L)	Pesos (g)					
	Dia 0	Dia 15	Dia 30	Dia 47	Dia 62	Dia 77
0,04	35,69a \pm 5,94	42,3a \pm 6,33	44,68a \pm 6,63	44,04a \pm 6,32	50,65a \pm 6,70	54,08a \pm 7,07
0,13	35,53a \pm 4,46	42,25a \pm 6,41	46,64a \pm 7,46	49,67a \pm 10,29	51,40a \pm 9,22	54,53a \pm 9,09
0,24	35,13a \pm 4,83	43,28a \pm 5,20	49,02a \pm 5,89	53,47a \pm 5,95	55,93a \pm 5,61	57,71a \pm 6,78
0,46	36,86a \pm 4,80	45,85a \pm 5,97	52,87a \pm 7,36	55,93a \pm 8,09	58,44a \pm 8,64	60,09a \pm 8,65

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (ANOVA, $P < 0,05$) entre tratamentos, em cada período.

O fator de condição não diferiu significativamente (ANOVA, $P > 0,05$) entre os tratamentos, em nenhum dos períodos avaliados, ficando em $1,02 \pm 0,14$ no decorrer do experimento. Não houve diferença significativa (ANOVA, $P > 0,05$) no consumo médio diário, ganho de peso médio diário e conversão alimentar entre os tratamentos em nenhum dos períodos (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios (\pm desvio padrão) do peso, comprimento, fator de condição no início e no final do experimento. Valores do ganho de peso diário, consumo médio diário e conversão alimentar média de juvenis de dourado cultivados em diferentes concentrações de amônia (NH₃) durante 77 dias.

	Tratamentos			
	T 0,04	T 0,13	T 0,24	T 0,46
Peso inicial (g)	35,69 \pm 1,17a	35,53 \pm 4,66a	35,13 \pm 1,29a	36,89 \pm 1,18a
Comprimento inicial (cm)	15,29 \pm 0,19a	15,16 \pm 0,05a	15,11 \pm 0,11a	15,45 \pm 0,25a
FC inicial (g/cm ³)	0,999 \pm 0,007a	1,013 \pm 0,034a	1,008 \pm 0,018a	1,012 \pm 0,020a
GPD	0,24 \pm 0,07a	0,21 \pm 0,07a	0,29 \pm 0,06a	0,30 \pm 0,05a
Consumo médio (g)	0,57 \pm 0,12a	0,59 \pm 0,07a	0,66 \pm 0,05a	0,67 \pm 0,02a
CA	2,44 \pm 0,22a	2,39 \pm 0,23a	2,29 \pm 0,39a	2,22 \pm 0,12a
Peso final (g)	54,08 \pm 5,35a	54,53 \pm 4,88a	57,71 \pm 5,71a	60,09 \pm 2,07a
Comprimento final (cm)	17,47 \pm 0,7a	17,44 \pm 0,32a	18,00 \pm 0,38a	18,3 \pm 0,38a
FC final (g/cm ³)	0,982 \pm 0,030a	0,984 \pm 0,004a	0,987 \pm 0,039a	0,981 \pm 0,033a

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (ANOVA, $P > 0,05$) entre tratamentos.

Os valores de hematócrito (%) não diferiram significativamente entre os tratamentos (ANOVA, $P > 0,05$; Tabela 4), apresentando valor médio de $39,28 \pm 4,81$ %.

O índice hepatossomático tenha sido semelhante entre os tratamentos (ANOVA, $P > 0,05$), com valor médio de $0,0110 \pm 0,0011$ %.

Tabela 4. Médias (\pm desvio padrão) do índice hepatossomático (IHS), hematócrito (H) de juvenis de dourado cultivados em diferentes concentrações de amônia (NH₃) durante 77 dias.

Tratamentos	IHS	Hematócrito (%)
0,04 mgNH ₃ /L	0,0104a \pm 0,001	41,2a \pm 3,6
0,13 mgNH ₃ /L	0,0127a \pm 0,002	38,8a \pm 7,5
0,24 mgNH ₃ /L	0,0108a \pm 0,002	38,5a \pm 4,5
0,46 mgNH ₃ /L	0,0102a \pm 0,003	38,6a \pm 5,5

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (ANOVA, $P > 0,05$) entre tratamentos.

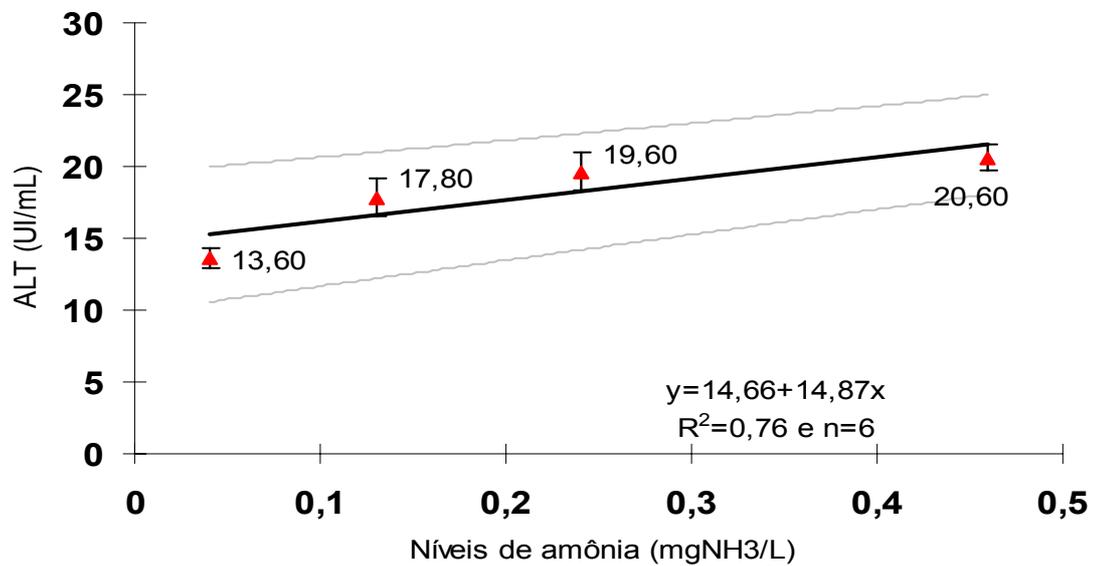


Fig. 3. Relação entre a concentração da enzima alanina aminotransferase (ALT) no plasma de dourados e os níveis de amônia na água (25°C; 6,5mg/L de O₂ dissolvido e pH 8) durante 77 dias de exposição.

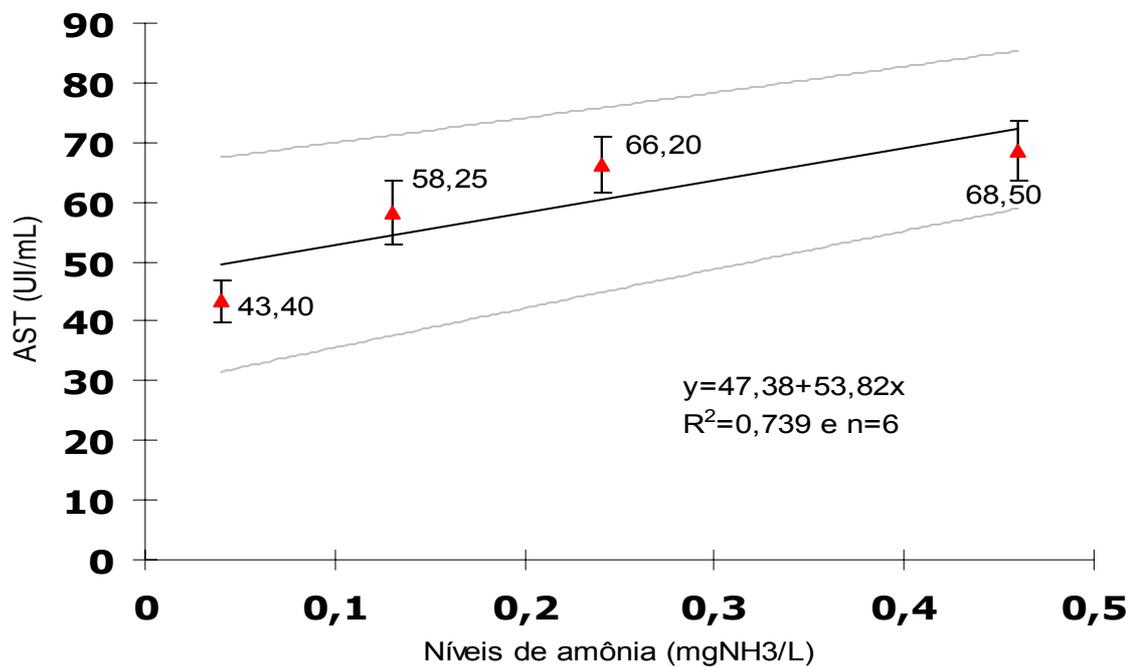


Fig. 4. Relação entre a concentração da enzima asparato aminotransferase (AST) no plasma de dourados e os níveis de amônia na água (25°C; 6,5mg/L de O₂ dissolvido e pH 8), durante 77 dias de exposição.

4. DISCUSSÃO

Possivelmente, devido à ausência de um fator estressor exógeno (NH_3), no tratamento controle, as interações agressivas entre os peixes foram crescentes até por volta do quadragésimo sétimo dia de experimento, quando foi registrada a única mortalidade de todo o período experimental. Embora não tenha havido outras mortes, tal comportamento também foi observado nas demais unidades experimentais desse tratamento, assim como, o isolamento de alguns peixes do cardume. Isso possivelmente tenha impedido um melhor desempenho de crescimento dos peixes do tratamento controle entre os dias 0 e 47.

A avaliação em intervalos de tempo confirmou a menor taxa de crescimento específico (TCE) do tratamento controle em relação aos demais tratamentos entre o dia 30 e o dia 47. Não havendo necessidade de rearranjos fisiológicos pelos baixos níveis de amônia, os peixes do tratamento controle gastaram mais energia no estabelecimento de hierarquias. A ausência de diferenças no consumo de ração entre os tratamentos comprova que o gasto energético em disputas hierárquicas foi alto nesse período de crescimento negativo apresentado pelos peixes do tratamento controle. Embora fosse esperada uma redução no consumo de ração nos tratamentos com adição de amônia, isso não ocorreu em nenhum dos períodos avaliados. Nos tratamentos com adição de amônia, observou-se a diminuição na atividade dos peixes, que habitavam preferencialmente a superfície da água, o que pode estar ligado a uma adaptação fisiológica aos ambientes com maiores níveis de amônia exógena. A amônia pode exercer efeitos tóxicos, substituindo o potássio em músculos de vertebrados e membranas nervosas, impedindo seu funcionamento (Raabe & Lin, 1985; Cooper & Plum, 1987). Foi observada uma redução significativa na velocidade natatória de *Onchorhynchus mykiss* e *O. kisutch* quando expostas à amônia (Shingles et al., 2001) e uma redução na agressividade de peixes estressados (Newton, 1982).

No período subsequente (entre o dia 47 e o dia 62), a melhora na TCE no tratamento controle em relação aos demais tratamentos pode ser atribuída a um crescimento compensatório, já que não houve diferença significativa no consumo alimentar entre os tratamentos, nesse período.

A ausência de variação no fator de condição (FC) entre os tratamentos, permite afirmar que, mesmo em condições de adaptação à amônia exógena, os peixes mantiveram boa conformação no decorrer do experimento. Person-Lê Ruyet et al. (1998), também não encontraram diferenças no FC em juvenis de *Scophthalmus maximus* expostos a níveis de até 0,5 mg NH_3 /L por 45 dias.

Não houve diferença significativa no ganho de peso médio entre os tratamentos no decorrer do experimento, demonstrando uma boa capacidade de adaptação dos juvenis de dourado aos níveis de amônia testados. Fivelstad et al. (1995), também não encontraram diferença significativa em fator de condição e no ganho de peso em salmões-do-Atlântico (*Salmo salar*) expostos a valores de 0 a 0,08 mg NH_3 /L, por 30 dias.

A conversão alimentar dos juvenis de dourado foi estatisticamente semelhante entre os tratamentos com valor médio de $2,34 \pm 0,24$: 1. Ausências de diferenças no consumo e na CA também foram encontradas para a perca prateada (*Bidyanus bidyanus*) cultivada em níveis de até 0,36 mg NH_3 /L, embora tenha havido redução no crescimento destes peixes com a elevação da concentração de amônia (Francês et al., 2000). Apesar da menor tolerância ambiental demonstrada

pelos peixes marinhos, juvenis de *Anarhichas minor* e de *Scophthalmus maximus* não apresentaram diferença na conversão alimentar quando expostos a níveis crescentes de amônia, inclusive não havendo redução no consumo e no crescimento dos peixes com o aumento da concentração de amônia (Person-Le Ruyet, 1997; Foss et al., 2002).

Quando se avalia o período experimental como um todo, constata-se que o desempenho de juvenis de dourado não foi afetado pelos níveis de amônia testados, o que demonstra uma boa capacidade de adaptação fisiológica desses peixes à níveis de até 0,46 mgNH₃/L. Em exposições crônicas à amônia, juvenis de catfish (*Ictalurus punctatus*) cresceram 50% menos a 0,517 mgNH₃/L enquanto nenhum crescimento foi obtido a 0,967 mgNH₃/L (Colt e Tchobanoglous, 1978).

Um grande número de respostas fisiológicas surge frente às oscilações ambientais para preservar a homeostase dos organismos. Estas respostas consistem em alterações morfológicas (Val & Almeida-Val, 1995) ou fisiológicas e ajustes moleculares (Hochachka & Somero, 1984), e determinam o estabelecimento das adaptações bioquímicas requeridas.

A ausência de diferença entre os valores de hematócrito dos dourados mostra que a exposição à amônia até os níveis testados, por períodos prolongados, não produziu alterações significativas no perfil de células sangüíneas. Em salmões-do-Atlântico (*Salmo salar*) expostos à níveis entre 0 e 0,08 mgNH₃/L, por 30 dias, também não encontraram diferença no hematócrito (Fivelstad et al., 1995). Resultado semelhante foi observado para trutas arco-íris expostas a valores entre 0 e 0,076 mgNH₃/L durante 10 meses (Thurson et al., 1984). Exposições prolongadas de carpas (*C. carpio*) a baixas concentrações de amônia causaram sinais de estresse na composição do sangue e tecidos hematopoiéticos (rins e baço) após 5 semanas, mas, após 10 semanas de exposição todos os sinais de estresse desapareceram (Wlaslow et al., 1990). Possivelmente outros mecanismos de detoxificação de amônia surgiram no decorrer do experimento para normalizar o perfil sangüíneo dos dourados tratados com diferentes níveis de amônia.

Os valores semelhantes do índice hepatossomático entre os tratamentos indicam que não houve alterações hepáticas graves ou patológicas nos peixes expostos aos diferentes níveis de amônia. Quando a osmolaridade plasmática é afetada, pode resultar em variações no volume dos hepatócitos, e, além disso, afetar a atividade enzimática do fígado. A manutenção de trutas arco-íris por 6 meses expostas a 0,017 mgNH₃/L foi suficiente para promover mudanças patológicas no fígado (Smith & Piper, 1975). Hayashi et al. (1993) relataram que os hepatócitos cresceram e produziram mais proteínas quando cloreto de amônio foi adicionado ao meio de cultivo de *Anguilla japonica*.

Diferentes parâmetros fisiológicos e bioquímicos podem ser utilizados como indicadores da capacidade dos peixes de se adaptarem a moderados ou severos níveis de estresse por amônia. ALT e AST são enzimas aminotransferases que catalizam a remoção do grupo amino (NH₃) de um composto carbonado para outro. A constante de equilíbrio é próxima de 1 e estas enzimas podem funcionar tanto na degradação quanto na biossíntese de aminoácidos. Um pequeno aumento nos valores de ALT e AST comparados com o controle pode significar um estado de baixo nível de estresse ou ainda, um novo nível de homeostase (Fivelstad et al., 1995). Em indivíduos saudáveis, os níveis das enzimas plasmáticas tendem a ser mantidos constantes e representam um estado de

equilíbrio, no qual a velocidade de liberação das células no plasma é equilibrada por uma velocidade semelhante de remoção das mesmas do plasma (Champe & Harvey, 1996).

No presente estudo, os valores e os aumentos nos níveis de AST foram semelhantes aos observados para juvenis de sea bream (*Sparus aurata*) e turbot (*Scophthalmus maximus*) expostos por 7 dias a níveis crescentes de amônia (Fivelstad et al., 1995). Alguns autores relatam que o aumento na atividade das enzimas transaminases em peixes submetidos a altas concentrações de amônia indica a existência de danos teciduais no fígado (D'Apollonia & Anderson, 1980).

Segundo Person-Lê Ruyet et al. (1998), o efeito tóxico da amônia pode ser neutralizado pelo aumento das aminotransferases (ALT e AST) no fígado e no plasma sanguíneo. A ausência de diferenças no desempenho dos juvenis de dourado pode indicar que os peixes conseguiram atingir uma nova homeostase. Alguns mecanismos de detoxificação da amônia podem ter sido utilizados pelos juvenis de dourado em níveis de até 0,46mgNH₃/L.

Um possível mecanismo que pode proteger peixes alimentados do aumento nos níveis de amônia ambiental é a utilização de NH₄⁺ diretamente na produção de aminoácidos (Wicks e Randall, 2002). Alexis & Paparaskeva-Papatsoglo (1986) e Moyano et al. (1991) sugerem que a quantificação de aminotransferases pode ser indicadora do excesso de aminoácidos em peixes. Todos os aminoácidos, com exceção da lisina e da treonina participam da transaminação em algum ponto em seu catabolismo (Wood, 2004). Alanina e aspartato são aminoácidos não-essenciais que funcionam como doadores de grupo amino, assim como podem ser formados pela incorporação destes grupos, dependendo da disponibilidade de nitrogênio. Em teoria, é possível a amônia exógena estimular a síntese protéica e, conseqüentemente, o crescimento, através da incorporação da amônia para formação de novos aminoácidos. Estudos de Wood (2004), com juvenis de truta arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*) demonstraram que baixos níveis de amônia ambiental podem estimular o crescimento e produção de proteína sem aumentar o consumo alimentar. Saha et al. (2002), obtiveram aumentos de duas vezes na quantidade de aminotransferases (ALT e AST) em catfish indiano (*Clarias batrachus*) expostos à amônia, por sete dias. No mesmo trabalho, aumentos de 2 a 3 vezes nas quantidades de alguns aminoácidos não-essenciais foram obtidos.

Neste estudo, a ausência de diferença no desempenho dos juvenis de dourado submetidos a níveis sub-letais de amônia indica a capacidade da espécie em reorganizar os processos fisiológicos para atingir a homeostase. Os aumentos das concentrações das enzimas ALT e AST no plasma dos peixes submetidos aos tratamentos com adição de amônia podem indicar uma estratégia adaptativa da espécie em resposta ao aumento da amônia exógena.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o aporte financeiro da CAPES e da Tractebel Energia.

REFERÊNCIAS

- Alderson, R.** (1979). The effect of ammonia on the growth of juvenile Dover sole, *Solea solea* L. and turbot (*Scophthalmus maximus* L). *Aquaculture* **17**, 291–309.
- Aléxis, M. N., Paparaskeva-Papatsoglo, E.** (1986). Aminotransferase activity in the liver and white muscle of *Mugil capito* fed diet containing different levels of protein and carbohydrate. *Comparative Biochemistry Physiology* **83B**, 245-249.
- Arillo, A., Margiocco, C., Melodia, F., Mensi, P., Schenone, G.** (1981). Ammonia toxicity mechanism in fish: studies on rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Ecotoxicol. Environ. Safety* **5**, 316-328.
- Boyd, C.E.; Tucker, C.S.** (1998). *Pond aquaculture water quality management*. Kluwer Academic Publishers: Norwell. 700p.
- Cameron, J. N. and Heisler, N.** (1983). Studies of ammonia in rainbow trout: physico-chemical parameters, acid-base behaviour and respiratory clearance. *Journal of Experimental Biology* **105**, 107-125.
- Champe, P. C., Harvey, R. A.** (1996). *Bioquímica ilustrada*. Trad. Ane Rose Bolner. 2^a Ed. 451p.
- Colt, J.; Tchobanoglus, G.** (1978). Chronic exposure of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, to ammonia: effects on growth and survival. *Aquaculture* **15**, p. 353-372.
- Cooper, A.J.; Plum, F.** (1987). Biochemistry and physiology of brain ammonia. [*Physiological Reviews* **67**\(2\)](#), 440-519.
- D'Apollonia, S. & Anderson, P. D.** (1980). Optimal assay conditions for serum and liver glutamate oxalacetate transaminase, glutamate pyruvate transaminase, and sorbitol dehydrogenase from the rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **37**, 163-169.
- Dosdat, A., Servais, F., Métailler, R., Huelvan, C., Desbruyeres, E.** (1996). Comparison of nitrogenous losses in five teleost fish species. *Aquaculture* **141**, 107-127.
- Fivelstad, S.; Schwartz, J.; Stromsnes, H.** (1995). Sublethal effects and safe levels of ammonia seawater for Atlantic salmon postsmolts (*Salmo salar* L.). *Aquacultural Engineering* **14**(3), 271-280.
- Foss, A., Evensen, T.H., Vollen, T., Oiestad, V.** (2002). Effects of chronic ammonia exposure on growth and conversion efficiency in juvenile spotted wolffish (*Anarhichas minor*). *Aquaculture* **228**, 215-224.
- Frances, J., Nowak, B.F., Allan, G.L.** (2000). Effects of ammonia on juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture* **183**, 95–103.
- Gazzola, A.C.** (2003). *Efeito da amônia e do oxigênio dissolvido na sobrevivência de alevinos de dourado (Salminus brasiliensis)*. Dissertação de mestrado. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina.
- Handy, R.D., Poxton, M.G.** (1993). Nitrogen pollution in mariculture: toxicity and excretion of nitrogenous compounds by marine fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **3**, 205–241.
- Hayashi, S., Tang, M.-Q., Hirakawa, T. and Yamada, S.** (1993). Effect of high concentration of ammonia on cultured hepatocytes of eel (*Anguilla japonica*). *Comparative Biochemistry Physiology* **105C**, 17-23.

- Haywood, G.P.** (1983). Ammonia toxicity in teleost fishes: a review. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **1177**, 1–35.
- Ip, Y. K., Chew, S. F., Randall, D. J.** (2001). Ammonia toxicity, tolerance, and excretion. *Fish Physiology*, **19**. 109-148. Ed. P. A. Anderson and P. A. Wright). Orlando: Academic Press.
- Linton, T. K., Reid, S. D. and Wood, C. M.** (1997). The metabolic costs and physiological consequences to juvenile rainbow trout of a simulated summer warming scenario in the presence and absence of sublethal ammonia. *Trans. Am. Fish. Soc.* **126**, 259-272.
- Linton, T. K., Reid, S. D. and Wood, C. M.** (1999). Effects of a restricted ration on the growth and energetics of juvenile rainbow trout exposed to a summer of simulated warming and sublethal ammonia. *Trans. Am. Fish. Soc.* **128**, 758-763.
- Moyano, F.J., Cardente, G., Higuera, M.** (1991). Nutritive and metabolic utilization of proteins with glutamic acid content by the rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry Physiology* **100A**, 759-762.
- Newton, B.J.** (1982). Early stress effects on growth and adult behavior in *Poecilia reticulata*. *Developmental Psychobiology* **15(3)** , 211–220.
- Papaparaskeva-Papoutsoglou, E., Alexis, M.N.** (1986). Protein requirements of young grey mullet (*Mugil capito*). *Aquaculture* **52**, 105-115.
- Person-Le Ruyet, J.; Galland, R.; Le Roux, A.; Charlotis, H** (1997). Chronic ammonia toxicity in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* **154**, 155-171.
- Raabe, W., Lin, S.** (1985). Pathophysiology of ammonia intoxication. *Exp Neurol. Mar.*, **87(3)**, 519-532.
- Randall, J.D., Wright, P.A.** (1987). Ammonia distribution and excretion in fish. *Fish Physiology and Biochemistry* **3(3)**, 107-120.
- Randall, D.J., Wilson, J.M., Peng, K.W., Kok, T.W.K., Kuah, S.S.L., Chew, S.F., Lam, T.J., Ip, Y.K.** (1999). The mudskipper *Periophthalmodon schlosseri*, actively transport NH_4^+ against a concentration gradient. *American Journal of Physiology* **46**, 1562-1567.
- Randall, D.J., Tsui, T.K.N.** (2002). Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin* **45**, 17-23.
- Rasmussen, R.S., Korsgaard, B.** (1996). The effect of external ammonia on growth and food utilization of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **205**, 35–48.
- Rowland, S.J., Allan, G.L., Hollis, M., Pontifex, T.** (1995). Production of the Australian native freshwater silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Mitchell), at two densities in earthen ponds. *Aquaculture* **130**, 317-328.
- Russo, R.C., Thurson, R.V.** (1991). *Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to fishes*. Aquaculture and Water Quality. World Aquacultural Society Publication, pp. 58-89.
IN: Brune, E., Tomasso, J.R. (Eds),
- Saha, N., Dutta, S., Bhattacharjee, A.** (2002). Role of amino acid metabolism in an air-breathing catfish, *Clarias batrachus* in response to exposure to a high concentration of exogenous ammonia. *Comparative Biochemistry and Physiology* **133(B)**, 235–250.

- Serafini, R.L.** (2005). *Efeito do oxigênio dissolvido e da amônia na sobrevivência e crescimento de juvenis de dourado (Salminus brasiliensis)*. Dissertação de mestrado. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina.
- Shingles, A., McKenzie, D. J., Taylor, E. W., Moretti, A., Butler, P. J., Ceradini, S.** (2001). Effects of sublethal ammonia exposure on swimming performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Experimental Biology* **204**, 2691-2698.
- Smart, G.R.** (1976). The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fish Biology* **8**, 471-475.
- Smith, H.W., R.G. Piper.** (1975). *Lesions associated with chronic exposure to ammonia*. In: W. E. Ribelin & G. Migaki, eds. *The pathology of fishes*. University of Wisconsin Press, Madison WI.
- Thurson, R.V., Philipps, G.R., Russo, R.C.** (1981). Increased toxicity of ammonia to rainbow trout (*S. gairdneri*) resulting from reduced concentrations of dissolved oxygen. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **38**, 983-988.
- Thurson, R.V., Russo, R.C., Luedtke, R.J., Smith, C.E., Meyn, E.L., Chakaoumakos, C., Wang, K.C., Brown, C.J.D.** (1984). Chronic toxicity of ammonia to rainbow trout. *Trans. Am. Fish. Soc.* **113**, 56-73.
- Tomasso, J.R.** (1994). Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. *Reviews of Fisheries Science* **2**, 291-314.
- Val, A.L., Almeida-Val, V.M.F.** (1995). *Fishes of the Amazon and their environment. Physiological and Biochemistry Features*. Springer Verlag, Berlin, 224 pp..
- Wajsbrodt, N., Gasith, A., Diamant, A., Popper, D.M.** (1993). Chronic toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) and related histopathological effects. *Journal of Fish Biology* **42**, 321– 328.
- Wicks, B. J., Randall, D. J.** (2002). The effect of feeding and fasting on ammonia toxicity in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicol.* **59**, 71-82.
- Wilson, R.W., Taylor, E.W.** (1992). Transbranchial ammonia gradients and acid-base responses to high external ammonia concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) acclimated to different salinities. *Journal of Experimental Biology* **166(1)**, 95-112.
- Wilson, R. W., Bergman, H. L. and Wood, C. M.** (1994). Metabolic costs and physiological consequences of acclimation to aluminum in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Acclimation specificity, resting physiology, feeding and growth. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **51**, 527-535.
- Wilson, J.M., Iwata, K., Iwama, G. K., Randall, D.J.** (1998). Inhibition of ammonia excretion and production in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* acclimated to different salinities. *Journal of Experimental Biology*, **166**, 95-112.
- Wlasow, T., Dabrowska, H., Ziomek, E.** (1990). Hematology of carp in prolonged sublethal ammonia intoxication. *Pol. Arch. Hidrobiol.* **37(3)**, 429-438.
- Wood C.M.** (1993). Ammonia and urea metabolism and excretion. In *The Physiology of Fishes* (Edited by Evans D. H.), pp. 379-425. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Wood, C.M. (2004). Dogmas and controversies in the handling of nitrogenous wastes: Is exogenous ammonia a growth stimulant in fish? *Journal of Experimental Biology* **207**, 2043-2054.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A compreensão dos requerimentos ambientais de uma espécie é determinante para o sucesso de um cultivo. Os juvenis de dourado demonstraram ótima adaptabilidade às novas condições de amônia ambientais pela ausência de diferenças nos desempenhos dos peixes estudados. As adaptações fisiológicas que ocorreram durante o período experimental revelam uma boa tolerância desses peixes à amônia ambiental. Sugerem-se novos trabalhos com maiores doses de amônia exógena, assim como o acompanhamento de alguns parâmetros que possivelmente explicarão a rota de adaptação dos dourados. A possibilidade de utilização de amônia para síntese de novos aminoácidos, excreção na forma de uréia, detoxificação à glutamina ou outras formas de adaptações aos níveis de amônia crescentes podem ser explicados em estudos futuros. Nesse caso, análises bioquímicas podem ser de grande valia.

Pelo fato de ser um peixe carnívoro e de comportamento sabidamente agressivo, sugere-se estudos atrelados ao comportamento de dourados, frente às condições adversas de meio ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

- Arana, L.V.** (1997). *Princípios Químicos de Qualidade de Água em Aqüicultura: uma revisão para peixes e camarões*. Editora da UFSC, Florianópolis. 166p.
- Baldisserotto, B.** (2002). *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. Ed. UFSM, Santa Maria, Brasil. 212p.
- Castagnolli, N.** (1997). Piscicultura intensiva e sustentável de espécies nativas brasileiras. In: *Simpósio sobre manejo e nutrição de peixes*; Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: CBNA, 117-130.
- Champe, P. C.; Harvey, R. A.** (1996). *Bioquímica ilustrada*. Trad. Ane Rose Bolner. 2ª Ed. 451p.
- Colt, J.E.; Armstrong, D.A.** (1981). Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and mollusks. In: *L. Allen and E. Kinney, eds. Proceedings of the Bio-Engineering Symposium for Fish Culture*. Fish Culture Section of the American Fisheries Society, Bethesda, Mariland USA. p. 34-37.
- Foster, R.P., Goldstein, L.**(1969) Formation of excretory products. In: W.S. Hoar e D.J. Randall (editors), *Fish Physiology (1)*, 313-350. Academy Press, New York, NY.
- Gazzola, A.C.** (2003). *Efeito da amônia e do oxigênio dissolvido na sobrevivência de alevinos de dourado (Salminus brasiliensis)*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, 44p.
- Godoy, M. P.** (1987). *Peixes do estado de Santa Catarina*. Florianópolis: UFSC, co-edição ELETROSUL/FURB, 572p.
- Leung, K.M.Y.; Chu, J.C.W.; Wu, R.S.S.** (1999). Effects of body weight, water temperature and ration size on ammonia excretion by the areolated grouper (*Epinephelus areoaltus*) and mangrove snapper (*Lutjanus argentimaculatus*). *Aquaculture* **170**, 215-227.
- Marques, A.A.B.** (2002). *Lista de Referência da Fauna Ameaçada de Extinção no Rio Grande do Sul*. Decreto no 41.672, de 10 junho de 2002. Porto Alegre: FZB/MCT–PUCRS/PANGEA, 52p.
- Paiva, M.P.** (1986). *Peixes e pesca de águas interiores do Brasil*. Brasília: Editerra, 158p.
- Person-Le Ruyet, J., Galland, R., Le Roux, A., Charlotis, H.** (1997). Chronic Ammonia Toxicity in Juvenile Turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* **154**, 155-171.
- Plaa, G.L, Hewitt, W.R.** (1986). Detection and evolution of chemically induced liver injury. In: *Principles and methods of toxicology*. A.W. Hayes (ed). Raven press, New York, pp 401–441.
- Rand, G.M., Petrocelli, S.R.** (1985). *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and application*. London, Hemisphere Publishing Corporation. Cap.1,1-28.
- Rowland, S.J., Allan, G.L., Hollis, M., Pontifex, T,** (1995). Production of the Australian freshwater silver perch (*Bidyanus bidyanus*) (Mitchell), at two densities in eathen ponds. *Aquaculture* **130**, 317-328.
- Serafini, R.L.** (2005). *Efeito do oxigênio dissolvido e ammonia na sobrevivência e crescimento de juvenis de dourado (Salminus brasiliensis)*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, 44p.
- Thurson, R.V., Philipps, G.R., Russo, R.C.** (1981). Increased toxicity of ammonia to rainbow trout (*S. gairdneri*) resulting from reduced concentrations of dissolved oxygen. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **38**, 983-988.

Zaniboni Filho, E.; Oliveira, N.A.P.; Meurer, S.; Weingartner, M.; Reynalte, D.A.T.; Iaczinski, P.; Schultz, J.; Serafini, R.L. (2000). *Relatório Final UHE-ITÁ, Monitoramento e manejo da ictiofauna do alto Rio Uruguai – Espécies migradoras*. Florianópolis-SC. 47 p.

ANEXOS



Anexo 1. Vista parcial da estrutura do experimento.



Anexo 2. Juvenil de dourado (*Salminus brasiliensis*), durante biometria.