



## **Avaliação de biomarcadores hematológicos em Tilápia mantida em diferentes sistemas de aquários experimentais**

## **Evaluation of hematological biomarkers in Tilapia kept in different experimental aquarium systems**

DOI: 10.55905/oelv21n10-083

Recebimento dos originais: 08/09/2023

Aceitação para publicação: 10/10/2023

### **Thais Adhmann de Lima**

Graduada em Medicina Veterinária

Instituição: Centro Universitário de Jaguariúna (UNIFA)

Endereço: Rodovia SP 340, km 127, Tanquinho Velho, Jaguariúna - SP

E-mail: thaisadhmann.vet@hotmail.com

### **Silvio Cesar Russio Pimentel**

Graduado em Medicina Veterinária

Instituição: Centro Universitário de Jaguariúna (UNIFA)

Endereço: Rodovia SP 340, km 127, Tanquinho Velho, Jaguariúna - SP

E-mail: silviorussio@outlook.com

### **Michelly Pereira Soares**

Doutora em Ciências Fisiológicas

Instituição: Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR)

Endereço: Campus Araraquara, Araraquara - SP, Brasil, CEP: 14801-903

E-mail: michelly\_psoares@hotmail.com

### **Valery Alicia Assunção de Camargo Guimarães**

Graduada em Ciências Biológicas

Instituição: Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC Campinas)

Endereço: Av. John Boyd Dunlop, s/nº, Jardim Ipaussurama, Campinas – SP,  
CEP: 13060-904

E-mail: valeryalicia.ac@gmail.com

### **Iza Santos Ribeiro**

Especialista em Biologia Celular e Molecular

Instituição: Centro Universitário de Jaguariúna (UNIFAJ)

Endereço: Rodovia SP 340, km 127, Tanquinho Velho, Jaguariúna - SP

E-mail: laboratorios.ilza@faj.br

**Julio Ferraz de Queiroz**

Doutor em Ciências Agrárias

Instituição: Embrapa Meio Ambiente

Endereço: Rodovia Governador Doutor Adhemar Pereira de Barros Tanquinho Velho

C.P, Jaguariuna - São Paulo, CEP: 13918-110

E-mail: julio.queiroz@embrapa.br

**Márcia Mayumi Ishikawa**

Doutora em Parasitologia Veterinária

Instituição: Embrapa Meio Ambiente

Endereço: Rodovia Governador Doutor Adhemar Pereira de Barros Tanquinho Velho

C.P, Jaguariuna, São Paulo, CEP: 13918-110

E-mail: marcia.ishikawa@embrapa.br

**RESUMO**

O objetivo deste estudo foi analisar biomarcadores hematológicos em juvenis de tilápia mantidos em diferentes sistemas experimentais de aquários para monitoramento da qualidade da água e bem estar animal. Foram avaliadas as alterações da série vermelha em juvenis de tilápia provenientes dos grupos controle de dois experimentos conduzidos no Laboratório de Aquicultura e Ecotoxicologia da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. Os peixes foram mantidos durante 30 dias em um sistema de aquários com volume útil de 300 L. No experimento 1 utilizaram-se quatro tratamentos e três repetições para avaliação da suplementação alimentar com farinha de minhoca em um sistema de aquários sem recirculação da água. No experimento 2 utilizaram-se quatro tratamentos e cinco repetições para avaliação da inclusão da artemisinina na ração em sistema de aquários com recirculação da água. Apenas os peixes do grupo controle dos dois experimentos foram utilizados para avaliação neste trabalho, sendo que em nenhum desses grupos foram utilizados adição de suplemento ou aditivo na ração. O monitoramento da qualidade da água dos dois experimentos foi realizado diariamente com uma sonda multiparâmetros para as seguintes variáveis: temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica. Não foram observadas diferenças significativas para essas variáveis entre os dois grupos controle, entretanto, a concentração de amônia total foi mais alta no grupo controle do sistema sem recirculação da água. Além disso, observou-se que os peixes mantidos no sistema com recirculação de água apresentaram respostas hematológicas de acordo com o descrito na literatura para tilápias saudáveis e os peixes mantidos no sistema sem recirculação apresentaram valores mais baixos de hemoglobina, hematócrito e eritrócitos. As alterações observadas na série vermelha em juvenis de tilápia sugerem seu potencial como biomarcadores para o monitoramento da qualidade da água e bem estar animal.

**Palavras-chave:** Oreochromis Niloticus, amônia, monitoramento, qualidade da água.

**ABSTRACT**

The objective of this study was to analyze hematological biomarkers of tilapia juveniles kept in different aquarium experimental systems for monitoring water quality and animal

well-being. Hematological changes in red series of tilapia juveniles collected from control groups were evaluated for two experiments conducted at the Aquaculture and Ecotoxicology Laboratory of Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. All the fishes were kept for 30 days in an experimental system with a useful volume of 300 L per aquarium. For the experiment 1, it was used four treatments with three replications to evaluate feed supplementation with earthworm meal in a system without water recirculation. And, for experiment 2, it was used four treatments and five replications to evaluate the inclusion of artemisinin in the feed in a system with water recirculation. Only the fishes from the control groups of the two experiments were used in this work, and in none of these groups was added a supplement or other additive into the feed. Water quality monitoring was carried out daily for the two experiments with a multi-parameter probe for the following variables: temperature, pH, dissolved oxygen and electrical conductivity. No significant differences between the two control groups were found for these variations, however, total ammonia concentration was higher for the control group without water recirculation. Furthermore, fish kept in the system with water recirculation showed hematological responses in accordance to results described in literature for healthy tilapia, and fish kept in the system without water recirculation showed lower values of hemoglobin, hematocrit and erythrocytes. Changes observed in the red series of tilapia juveniles suggest their potential as biomarkers for monitoring water quality and animal welfare.

**Keywords:** *Oreochromis Niloticus*, ammonia, monitoring, water quality.

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento da demanda global por alimentos de origem aquática tem estimulado o desenvolvimento de tecnologias e sistemas de produção mais eficientes e menos prejudiciais ao meio ambiente (BOYD et al., 2013; BOYD et al., 2020). Além disso, a intensificação dos sistemas de produção aquícola facilita a transmissão de doenças que podem se espalhar das espécies cultivadas para as espécies selvagens e vice-versa, resultando em impactos negativos ao meio ambiente e prejuízos aos piscicultores.

Diante disso, muitos experimentos com peixes vêm sendo executados nos laboratórios visando o aprimoramento do manejo produtivo da piscicultura. Esses experimentos envolvem não somente a avaliação dos sistemas de recirculação e da qualidade da água, como também, a inclusão de aditivos alimentares nas rações, uso de produtos naturais, desenvolvimento de ferramentas de monitoramento, validação de tratamentos alternativos, entre outros (QUEIROZ et al, 2023).



Para a execução de experimentos com peixes no laboratório é preciso atender as normas de ética e bem estar animal. Os critérios adotados atualmente, pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para medir o grau de bem estar animal definem que para atingir um alto grau de bem estar, o animal precisa estar: sadio, seguro, saudável, confortável, livre para expressar comportamentos naturais e livre de sentimentos negativos. A avaliação da qualidade da água, o estado da saúde e a prevenção de agentes patogênicos dos peixes com vistas ao desenvolvimento de Boas Práticas de Manejo Sanitário (BPMS) contempla os critérios para o bem estar animal. Esta prática visa também, garantir a qualidade do produto e agregação de valor ao produto final. Peixe saudável garante melhor desempenho, assim como, valorização e maior aceitação do produto pelo consumidor (ISHIKAWA et al, 2020).

Nesse sentido, o uso de biomarcadores tem se destacado como um método prático e eficiente para monitoramento da qualidade da água e do bem estar animal. A adoção de boas práticas de manejo sanitário (BPMS) a partir do uso de biomarcadores poderá ajudar os piscicultores a reduzir os eventuais impactos negativos da aquicultura sobre o ambiente e, ainda, contribuir diretamente para aumentar a produtividade (ISHIKAWA et al, 2020).

É imprescindível, portanto, que a produção seja feita visando o equilíbrio entre o aumento da produtividade, a preservação do ambiente aquático e o bem estar dos peixes. Com isso, espera-se alcançar um equilíbrio entre a produção aquícola e a preservação ambiental a partir do uso de padrões de produção e de qualidade para a certificação dos produtos, como por exemplo, o EcoLabel, o Green Label, BPMS e outros (BOYD et al., 2013; QUEIROZ, 2016).

O ponto de equilíbrio depende das características dos sistemas de produção aquícola, da espécie cultivada, do manejo alimentar e produtivo utilizados. Outros aspectos como, por exemplo, a densidade de estocagem, o controle do consumo de ração e nutrientes, a abundância de fitoplâncton e macrófitas, o acúmulo de matéria orgânica, a toxidez da amônia e do nitrito, e a adoção de práticas para prevenção de doenças também interferem na produtividade e no bem estar dos peixes (QUEIROZ et al., 2021).

Os biomarcadores têm sido muito estudados para avaliar a saúde dos peixes, e também apresentam resultados relevantes na avaliação da saúde ambiental,

especialmente, na detecção preventiva de efeitos adversos (AMORIM, 2003; JESUS; CARVALHO, 2008; LINS et al., 2010). Os bioindicadores podem ser espécies vegetais e animais que expressam os sintomas iniciais de estresse ambiental decorrentes do efeito de contaminantes. Biomarcadores nada mais são que a expressão de alterações na homeostasia animal com resposta biológica, seja em nível bioquímico, molecular e/ou celular, com relação aos efeitos toxicológicos de substâncias químicas (ADAMS, 2002; VAN DER OOST et al., 2003).

A utilização de peixes para a avaliação de níveis de toxicidade é de grande relevância por estarem presentes em diversos ambientes aquáticos com ampla distribuição geográfica e com diferentes coeficientes tróficos da cadeia alimentar (JESUS; CARVALHO, 2008). Os peixes são um importante instrumento para a avaliação da qualidade da água, e têm sido usados como modelos de estudos biológicos (BUSS et al., 2003).

Desta forma, se faz necessário o monitoramento e a avaliação das principais variáveis de qualidade de água, como a temperatura, oxigênio dissolvido, pH, transparência, alcalinidade total e a concentração de resíduos metabólicos como a amônia (PEREIRA; MERCANTE, 2005). Diversas causas estão envolvidas na avaliação da qualidade da água, exigindo, portanto, a execução de estudos aprofundados dos processos químicos, físicos e biológicos que podem ocorrer em sistemas artificiais, assim como, em ambiente natural, realçando-se a importância da compreensão dos ciclos biogeoquímicos nos ecossistemas aquáticos (CARMOUZE, 1994).

A decomposição da matéria orgânica, aeróbica e anaeróbica, é um aspecto dos mais importantes que interferem diretamente sobre a qualidade da água dos sistemas de produção de peixes e outros organismos aquáticos. O acúmulo de matéria orgânica no ambiente aquático resultará na formação e eliminação de resíduos metabólicos, por exemplo, amônia e nitrito, que são altamente tóxicos para os peixes, independente do seu nível no meio ambiente. O principal composto nitrogenado excretado pelos peixes é a amônia, podendo afetar diretamente a qualidade da água e a fauna do ambiente em questão, seja natural ou artificial.

A amônia total é caracterizada pela soma de ambas, amônia não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) e a forma ionizada  $\text{NH}_4^+$  (íon amônio). Suas concentrações são dependentes dos níveis de pH, temperatura e salinidade. A amônia não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) eleva-se com o aumento do pH (alcalino) e temperatura, reduzindo com o aumento da salinidade (BOWER; BIDWELL, 1978).

A amônia é produzida através do catabolismo de proteínas, sobretudo no fígado. A fim de evitar bioacumulação, é preciso que seja eliminada o quanto antes para não atingir níveis de toxicidade nos peixes. A amônia é eliminada pelas brânquias, com colaboração de 2% pelo rim para a excreção de amônia total (MARTINEZ et al., 2006).

Em altas concentrações a amônia influencia na dinâmica do oxigênio dissolvido no meio. Em pH básico,  $\text{NH}_4^+$  irá ser convertido em  $\text{NH}_3$ , gerando toxicidade ao organismo do peixe (TRUSSEL, 1972). Em concentrações acima de  $0,20 \text{ mg L}^{-1}$ , a amônia já é capaz de provocar toxicidade crônica e reduzir o processo de desenvolvimento (crescimento) do animal. Em níveis entre  $0,70$  e  $2,40 \text{ mg L}^{-1}$  pode ser considerado letal para os peixes, mesmo em curto período. Em valores superiores a  $0,02 \text{ mg L}^{-1}$  pode provocar intensa inflamação e irritação das brânquias (KUBITZA, 1999, REF).

Diante disso, é fundamental monitorar diariamente a temperatura, oxigênio dissolvido e o pH. Manter, na medida do possível, o valor do pH o mais próximo possível de 7,0 e a temperatura da água em torno de  $26 \text{ }^\circ\text{C}$ , evitando, portanto, o aumento do percentual de amônia não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) que é tóxica aos peixes em concentrações entre de  $0,16$  e  $0,20 \text{ mg L}^{-1}$  (MARTINEZ et al., 2006; QUEIROZ e BOEIRA, 2007).

Nos sistemas de produção aquícola, a maior causa do aumento da concentração da amônia na água é decorrente da alimentação, e sua toxicidade eleva-se no período final da tarde devido ao aumento do pH, da temperatura e da redução da concentração de gás carbônico. Durante a tarde, a concentração de amônia pode atingir seus níveis mais críticos (BOYD, 1990, QUEIROZ et al., 2021). Assim, é de grande relevância a realização do monitoramento e o controle do aporte dos resíduos nitrogenados no ambiente dentro dos níveis seguros e de acordo com os parâmetros para cada espécie de peixe (HILLABY; RANDALL, 1979).

O objetivo deste estudo foi analisar parâmetros hematológicos de tilápias mantidas em diferentes sistemas experimentais de aquários para avaliação de biomarcadores para monitoramento da qualidade da água e do bem estar animal.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

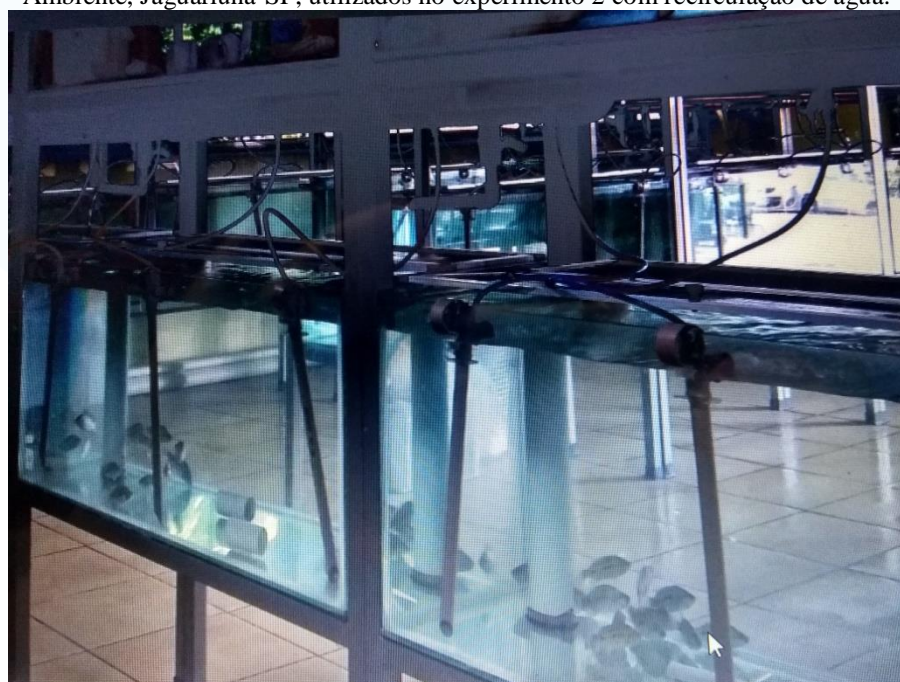
Para a realização deste estudo foram utilizados juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) oriundos de dois experimentos conduzidos no sistema modular experimental do Laboratório de Aquicultura e Ecotoxicologia da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP composto por 32 aquários de vidro com capacidade útil de 300 L. Foram utilizados 15 juvenis de tilápia (peso médio  $64,80 \pm 1,83$ ) do grupo controle do experimento 1 e 10 juvenis de tilápia (peso médio  $59,98 \pm 1,93$ ) do experimento 2. Os peixes foram adquiridos de um piscicultor de Mogi-Mirim, SP. Os experimentos foram realizados simultaneamente, porém, de forma independente. O experimento 1 foi conduzido em 12 aquários sem recirculação de água (Figura 1), mas com renovação parcial da água (30% volume total diariamente). O experimento 2 foi conduzido em 20 aquários com recirculação de água (Figura 2). Os dois experimentos foram realizados no âmbito de dois projetos diferentes aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA (Embrapa Meio Ambiente) Protocolo nº 004/2016 e Protocolo nº 009/2048. No experimento 1 avaliou-se a suplementação alimentar de tilápias com a farinha de minhoca e utilizou-se 12 peixes por aquário, sendo quatro tratamentos e três repetições, perfazendo um total de 144 peixes. No experimento 2 avaliou-se a inclusão da artemisinina na ração para tilápia e utilizou-se 12 peixes por aquário, sendo quatro tratamentos e cinco repetições, perfazendo um total de 240 peixes. Neste trabalho avaliou-se apenas os peixes do grupo controle de cada experimento.

Figura 1- Sistema modular de aquários do Laboratório de Aquicultura e Ecotoxicologia da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP utilizados no experimento 1 sem recirculação de água.



Fonte: Márcia M. Ishikawa.

Figura 2- Sistema modular de aquários do Laboratório de Aquicultura e Ecotoxicologia da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, utilizados no experimento 2 com recirculação de água.



Fonte: Márcia M. Ishikawa.





## 2.1 MONITORAMENTO DA QUALIDADE DA ÁGUA

A qualidade da água foi monitorada diariamente no período da manhã antes dos peixes serem alimentados com uma sonda multiparâmetros (marca Horiba, modelo U 50), para as seguintes variáveis: temperatura (°C), pH (unidades de pH), oxigênio dissolvido ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e condutividade elétrica específica ( $\mu\text{Scm}^{-1}$ ). A concentração de amônia total ( $\text{mg L}^{-1}$ ) foi determinada semanalmente com uso de kit da Labcon test.

## 2.2 ANÁLISE HEMATOLÓGICA

Utilizou-se os resultados dos 15 peixes do grupo controle do experimento 1 e dez peixes do grupo controle do experimento 2.

Nos dois experimentos os peixes foram anestesiados com benzocaína  $100 \text{ mg L}^{-1}$  (banho de imersão) para coleta de sangue por punção caudal, com auxílio de seringas contendo EDTA (3%). O hematócrito (Htc%) foi determinado pelo método do microhematócrito e centrifugado em centrífuga modelo NI 1807 (Nova Instruments, Piracicaba, SP, Brasil) por 5 min a 10.000 rpm. As análises de hemoglobina (Hb;  $\text{g dL}^{-1}$ ) foram realizadas pelo método do cianeto de hemoglobina (HCN) com Kit da Labtest Diagnóstica (Labtest Diagnóstica, MG, Brasil). O número total de eritrócitos foi determinado pelo método do hemocítômetro, em câmara de Neubauer (RANZANI- PAIVA et al., 2013). Após a coleta do sangue, os animais foram eutanasiados por aprofundamento com anestésico benzocaína a  $150 \text{ mg L}^{-1}$  (banho de imersão).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 são apresentados os valores para cada um dos parâmetros de qualidade de água avaliados para os experimentos 1 e 2.



Tabela 1. Médias e desvio padrão dos parâmetros de qualidade da água dos experimentos 1 e 2.

Parâmetros	Experimento 1	Experimento 2
Temperatura (°C)	25,90±0,23 <sup>a</sup>	25,00±0,89 <sup>a</sup>
Condutividade (µScm <sup>-1</sup> )	0,199±0,01 <sup>a</sup>	0,197±0,01 <sup>a</sup>
pH (unidades de pH)	6,79±0,02 <sup>a</sup>	7,20±0,22 <sup>a</sup>
Oxigênio Dissolvido (mg L <sup>-1</sup> )	5,67±0,09 <sup>a</sup>	6,10±0,70 <sup>a</sup>
Amônia Total (mg L <sup>-1</sup> )	1,64±1,30 <sup>a</sup>	0,16±0,10 <sup>b</sup>

\* Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P < 0,05).  
Fonte: Autores (2023)

A concentração de amônia total do grupo controle do experimento 1 apresentou valores médios de 1,64 (mg L<sup>-1</sup>), porém com desvio padrão alto, ou seja, durante duas semanas a amônia alcançou altas concentrações de 1,64±1,30. Este desvio ocorreu pelo fato de ter sido utilizado apenas um filtro biológico para a manutenção da concentração de amônia em níveis adequados ao bem estar dos peixes, e também porque nesse sistema não havia recirculação da água, o que favoreceu o aumento da concentração de amônia e as variações observadas durante o período experimental.

Nesse caso, em particular, a concentração de amônia deve ser determinada diariamente por meio da coleta e análise de amostras de água ou uso de kits. Se a concentração de amônia e nitrito estiveram altas (> 0,2 mg L<sup>-1</sup> para amônia tóxica e > 0,5 mg L<sup>-1</sup> para nitrito), isto indicará que o filtro biológico não está funcionando adequadamente, de modo que a área superficial do biofiltro deverá ser aumentada (QUEIROZ et al., 2017). O nitrato se tornará tóxico especificamente em altas concentrações, principalmente, em sistemas fechados sem recirculação de água onde pode atingir altos níveis devido ao processo de nitrificação da amônia. Deste modo, nos sistemas fechados, sem recirculação de água, se faz necessária a utilização de filtros biológicos contendo bactérias nitrificantes, ao contrário dos sistemas de amplo fluxo nos quais ocorre uma rápida retirada destes compostos, impedindo seu acúmulo (BALDISSEROTO, 2002; ARANA, 1997). Em sistemas mal manejados, no entanto, este resíduo pode atingir altas concentrações, tóxicas rapidamente, levando à redução do crescimento, sobrevivência ou até causando a morte dos peixes (URBINATI; CARNEIRO, 2004).



É importante lembrar que existem experimentos nos quais não se pode utilizar filtros durante o período de tratamento, por exemplo, quando se trabalha com algum composto tóxico, pois este seria retido pelo sistema de filtragem. Para isso, utiliza-se sistemas fechados nos quais não há recirculação da água através de filtros. Os experimentos realizados nesses sistemas têm algumas limitações com relação à densidade de peixes que podem ser estocados nos aquários, e também com relação à qualidade da água que irá se deteriorar em poucos dias. Nesses casos, é necessário fazer trocas de água mais frequentes para prevenir a redução do pH e do acúmulo de amônia nos aquários (QUEIROZ et al., 2023).

No experimento 2 a média da concentração de amônia ( $\text{mg L}^{-1}$ ) apresentou valores abaixo de 0,5 ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e o desvio padrão foi baixo ( $\pm 0,10^b$ ). Observou-se que para os parâmetros de qualidade da água dos dois experimentos, apenas a concentração de amônia total ( $\text{mg L}^{-1}$ ) apresentou diferença significativa. Esse resultado, demonstra que concentrações elevadas de amônia total acima de 0,5 ( $\text{mg L}^{-1}$ ) é um parâmetro limitante na produção intensiva de peixes e exige um monitoramento diário para garantir produtividade e saúde dos peixes.

Os resultados dos parâmetros hematológicos dos experimentos 1 e 2 estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Médias e desvio padrão do perfil hematológico dos juvenis de tilápia mantidos nos sistemas experimentais de aquários do Laboratório de Aquicultura e Ecotoxicologia da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP com e sem recirculação de água.

Parâmetros	Experimento 1	Experimento 2
Hemoglobina ( $\text{g dL}^{-1}$ )	11,68 $\pm$ 4,00	14,22 $\pm$ 2,02
Hematócrito (%)	27,3 $\pm$ 8,67	30,50 $\pm$ 14,09
Eritrócitos ( $\times 10^6 \text{ L}$ )	1,36 $\pm$ 0,61	1,69 $\pm$ 0,39
PPT ( $\text{g L}^{-1}$ ) *	4,8 $\pm$ 0,44	4,34 $\pm$ 0,75

\* Proteína Plasmática Total.  
Fonte: Autores (2023)

Para os peixes do experimento 1, onde a concentração de amônia total foi mais elevada, observaram-se valores mais baixos de hemoglobina, hematócrito e eritrócitos em relação aos peixes do experimento 2. Esta observação sugere uma diminuição na

capacidade de compensação respiratória em decorrência do estresse ocasionado pelo aumento da concentração de amônia tóxica - amônia não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) - nos aquários sem recirculação de água. Outra hipótese provável seria devido à perda de eritrócitos decorrente de injúrias causadas pela amônia tóxica. De acordo com PEREIRA e MERCANTE (2005), a exposição crônica à amônia tóxica em concentrações acima de  $0,02 \text{ mg L}^{-1}$  podem ocasionar intensa irritação e inflamação nas brânquias. Estas reações podem influenciar nas alterações hematológicas. Estudo mais aprofundado deverá ser realizado sobre as alterações na saúde, resposta fisiológica, hematológica e das brânquias de peixes decorrentes da exposição à amônia tóxica em doses subletais, especialmente, para avaliar a resposta hematológica de juvenis de tilápias submetidas às concentrações de amônia acima de  $3,5 \text{ mg L}^{-1}$  observadas durante este estudo.

Peixes mantidos em concentrações subletais de amônia são mais suscetíveis às alterações fisiológicas, bioquímicas, histológicas e comportamentais, podendo resultar na diminuição do crescimento e comprometimento imunológico (HARGREAVES; KUCUK, 2001). Diversos parâmetros podem auxiliar na mensuração dos efeitos negativos causados por concentrações elevadas da concentração de amônia nos peixes, sendo os mais utilizados o hematócrito, hemoglobina, atividades enzimáticas relacionadas ao processo de detoxificação e degeneração branquial (MARTINEZ et al., 2006).

A amônia também pode levar à resposta de estresse, e alterar as respostas endócrinas. Variações bruscas na concentração de amônia podem gerar um conjunto de alterações de caráter primário, secundário e terciário, envolvendo níveis superiores da biologia e fisiologia, partindo do início de sintomas do SNC (sistema nervoso central) e endócrino, culminando em alterações de modo geral (URBINATI; CARNEIRO, 2004). O estresse endócrino apresenta dois tipos de resposta: a via eixo-hipotalâmico e células interrenais, elevando o cortisol no plasma e a resposta adrenérgica, quando há elevação de catecolaminas plasmáticas (BROWN, 1993).

A caracterização dos efeitos de estresse primário se dá pela resposta de hipersecreção de catecolaminas e corticosteróides. O cortisol e as catecolaminas provocam a ação de alterações fisiológicas e bioquímicas, denominadas de respostas

secundárias. Os efeitos metabólicos incluem hipoglicemia, redução das reservas teciduais de glicogênio, lipólise e síntese proteica inibida (JOBILING, 1994; THOMAS, 1990; WENDELAAR BONGA, 1997).

A exposição a concentrações subletais ou letais de amônia também podem provocar alterações histológicas em alguns tecidos e órgãos de peixes, com os danos em brânquias (ARANA, 1997). Tilápias jovens mantidas em meio com elevadas concentrações de amônia, no período de 24h, exibiram hiperplasia do epitélio branquial e fusão das lamelas (KARASU BENLI; KOKSAL, 2005). Geralmente, as brânquias são as primeiras a demonstrarem alterações, devido a sua ação multifuncional e a área de interação entre o ambiente e o animal, onde ocorrerá a purificação de contaminantes. Desta forma, por ser o órgão fundamental para a realização da respiração, seu comprometimento afetará diretamente a ação de trocas gasosas e osmorregulação. Logo, a execução de exames histológicos, juntamente com outros parâmetros analisados, auxilia na determinação da atividade de determinados compostos químicos, como a amônia (MARTINEZ e CÓLUZ, 2002).

Nesse sentido, os biomarcadores em brânquias se destacam como uma excelente ferramenta para avaliar a qualidade da água dos sistemas de recirculação em geral, e principalmente a toxicidade de amônia. Os biomarcadores em brânquias consistem em biomarcadores indiretos que podem ser observados nas brânquias dos peixes. Nos exames diretos em microscopia óptica podem ser observadas as alterações decorrentes da presença de partículas suspensas na água, como por exemplo, fitoplâncton, hifas de algas e protozoários de vida livre entre as lamelas branquiais. Alterações na coloração e na sua estrutura também são observadas na presença de poluentes ou substâncias tóxicas na água. Esta técnica embora seja prática e rápida, necessita de um microscópio óptico e pessoa capacitada para a leitura das lâminas (ISHIKAWA et al., 2020).

Alguns biomarcadores são conhecidos como sugestivos de alterações fisiológicas nos peixes decorrentes de alterações na saúde e mesmo na presença de poluentes na água. Alterações nas células do sangue dos peixes, como no eritrograma, leucograma ou íons plasmáticos são parâmetros que podem sugerir problemas sanitários, como também,



relacionados com a presença de poluentes na água (SATAKE et al., 2009; SERIANI; RANZANI-PAIVA, 2012; RANZANI- PAIVA et al., 2013).

Os resultados deste trabalho corroboram as hipóteses formuladas por outros experimentos realizados com diferentes espécies de peixes e concentrações de amônia, e remetem a importância de conduzir novos estudos onde se possa avaliar as alterações hematológicas, fisiológicas e histopatológicas de modo a validar os parâmetros hematológicos e biomarcadores de qualidade ambiental e bem estar animal.

#### **4 CONCLUSÃO**

A exposição crônica de juvenis de tilápias às concentrações subletais de amônia tóxica na água pode ocasionar respostas fisiológicas, hematológicas e alterações das brânquias. Alterações na série vermelha em juvenis de tilápias observadas nos experimentos avaliados neste trabalho indicam seu potencial como biomarcadores de qualidade da água e bem estar animal.

#### **AGRADECIMENTOS**

Ao projeto BRS Aqua pelo apoio financeiro e ao CNPq pela bolsa concedida.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, M. **Biological indicators of aquatic ecosystem stress**. American Fisheries Society, 2002. 656 p.
- AMORIM, L. C. A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 6, n. 2, p. 158-170, 2003.
- ARANA, L. V. **Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões**. Editora da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 1997. 166 p.
- BALDISSEROTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Editora da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2002. 212 p
- BOWER, C. E.; BIDWELL, J. P. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH, and salinity. *Journal of fisheries research board of Canada*, v. 25, p. 1012-1016, 1978.
- BOYD, C. E. **Water quality in ponds for aquaculture**. International Center for Aquaculture, Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, AL, USA. 1990. 482 p.
- BOYD, C. E.; QUEIROZ, J. F.; McNEVIN, A. Perspectives on the responsible aquaculture movement. *World Aquaculture*, v. 44, n. 4, p. 14-21, 2013.
- BOYD, C. E.; D'ABRAMO, L. R.; GLENCROSS, B. D.; HUYBEN, D. C.; JUAREZ, L. M.; LOCKWOOD, G. S.; MCNEVIN, A. A.; TACON, A. G. J.; TELETCHEA, F.; TOMASSO, J. R.; TUCKER, C. S.; VALENTI, W. C. Achieving sustainable Aquaculture: historical and current perspectives and future needs and challenges. *Journal of the World Aquaculture Society*, volume 51, 578 – 633. 2020.
- BROWN, J. A. Endocrine response to environmental pollutants. Páginas 2765-296 in J. C. Rankin and F.B. Jensen, editor. **Fish ecophysiology**. Chapman & Hall, Londres, UK, 1993.
- BUSS, D.F.; BAPTISTA, D.F.; NESSIMIAN, J.L Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. **Cadernos de saúde pública**, v.19, p. 465-473, 2003.
- CARMOUZE, J.P. **O metabolismo dos ecossistemas aquáticos**. 1. ed. São Paulo: Edgard Blücher /Fapesp, 1994. 253p.
- HILLABY, B. A.; RANDALL, D. J. Acute ammonia toxicity and ammonia excretion in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. 1. *Journal of the fisheries research board of Canada*, v. 36, p. 621-629, 1979.
- ISHIKAWA, M. M.; QUEIROZ, J. F. de; NASCIMENTO, J. L. do; PÁDUA, S. B. de; MARTINS, M. L. Uso de biomarcadores em peixe e boas práticas de manejo sanitário para a

piscicultura. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2020. 28 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 126).

JESUS, T.B.; CARVALHO, C.E.V. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio. **Oecologia brasiliensis**, v.12, p.680-693, 2008.

JOBLING, M. **Fish bioenergetics**. Chapman & Hall, Londres, UK, 1994. 294 p.

KARASU BENLI, A.C.; KÖKSAL, G. The acute toxicity of ammonia on tilapia (*Oreochromis niloticus*L.) larvae and fingerlings. **Turkish journal of veterinary and animal sciences**, v. 29, p. 339-344, 2005.

LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; QUEIROZ, V. DA S.; CIRIO, S. M. USO DE PEIXES COMO BIOMARCADORES PARA MONITORAMENTO AMBIENTAL AQUÁTICO. REVISTA ACADÊMICA: CIÊNCIA ANIMAL, V. 8, N. 4, 2010.

MARTINEZ, C. B. R., F. AZEVEDO; E. U. WINKALER. Toxicidade e efeitos da amônia em peixes neotropicais. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C. **Tópicos especiais em biologia aquática e Aquicultura**. Aquabio, Jaboticabal, Brazil, 2006, p. 81-95.

MARTINEZ, C. B. R.; CÓLUZ, I. M. S. Biomarcadores em peixes neotropicais para o monitoramento da poluição aquática na bacia do rio Tibagi. A Bacia do Rio Tibagi, Londrina, v. 29, n. 1, p. 551-577, 2002.

MEADE J.W., Allowable ammonia for fish culture. **The progressive fish-culturist**,v. 47, p.135-145, 1985.

PEREIRA, L.; MERCANTE, C. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. **Pesca institute buletim**, v. 31, n. 1, p. 81-88, 2005.

QUEIROZ, J. F.; BOEIRA, R.C. Boas Práticas de Manejo (BPMs) para Reduzir o Acúmulo de Amônia em Viveiros de Aquicultura. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2007 (Comunicado Técnico Embrapa No.44/2007).

QUEIROZ, J. F. de. Boas práticas de manejo (BPM) para a aquicultura em viveiros escavados e em reservatórios. Jaguariúna: Embrapa meio Ambiente, 2016. 8 p. il. color. (Embrapa Meio Ambiente. Circular Técnica, 25).

QUEIROZ, J. F. de; FREATO, T. A.; LUIZ, A. J. B.; ISHIKAWA, M. M.; FRIGHETTO, R. T. S. Boas práticas de manejo para sistemas de aquaponia. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2017 29p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 113).

QUEIROZ, J.F., ALVES, J.M C., LOSEKANN, M.E., FRASCA-SCORVO, C.M.D., SCORVO FILHO, J.D., FERRI, G.H., ISHIKAWA, M.M. Manejo alimentar e da qualidade da água na produção de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). – Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2021.PDF (36 p.): – (Documentos / Embrapa Meio Ambiente, 1516-4691; 130).



QUEIROZ, J.F., ISHIKAWA, M.M., de CASTRO., V.L.S., VALLIM, J.H. Planejamento e Protocolos para Experimentos com Peixes em Ambiente Controlado. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2023.PDF (24 p.): – (Documentos / Embrapa Meio Ambiente, 1516-4691; 137).

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; PÁDUA, S. B. de; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M. I. Métodos para análise hematológica em peixes. Maringá: Eduem, 2013. 135 p.

SATAKE, F.; PÁDUA, S. B.; ISHIKAWA, M. M. Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. In: TAVARES-DIAS, M. (Org.). Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá: Embrapa Amapá, 2009. cap. 13, p. 330-345.

SERIANI, R.; RANZANI-PAIVA, M. J. T. Alterações hematológicas em peixes: aspectos fisiopatológicos e aplicações em ecotoxicologia aquática. In: SILVA-SOUZA, A.T.; LIZAMA, M. de los A. P.; TAKEMOTO, R. M. Patologia e sanidade de organismos aquáticos. Maringá: Massoni, 2012. cap. 10, p. 221-242p.

THOMAS, P. Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring. In: ADAMS, S.M. Biological indicators of stress in fish. **American fisheries society**, Maryland, USA, p. 9-28, 1990.

TRUSSEL, R.P. The percent un-ionized ammonia aqueous ammonia solutions at different pH levels and temperature. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, v.29, p.1905-1907, 1972.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P.C.F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALLOSSI, D.M.; N. CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática (Aquabio). Jaboticabal, SP, 2004, p. 171-193.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental toxicology and pharmacology**, v.13, p. 57-149, 2003.

WENDELAAR BONGA, S. The stress response in fish. **Physiological reviews**, v. 77, p. 591-625, 1997.