

Notas Científicas

Tolerância de juvenis de pirarucu ao aumento da concentração de amônia em ambiente confinado

Bruno Adan Sagratzki Cavero⁽¹⁾, Manoel Pereira-Filho⁽¹⁾, André Moreira Bordinhon⁽¹⁾, Flávio Augusto Leão da Fonseca⁽¹⁾, Daniel Rabello Ituassú⁽¹⁾, Rodrigo Roubach⁽¹⁾ e Eduardo Akifumi Ono⁽¹⁾

⁽¹⁾Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Pesquisas em Aqüicultura, Caixa Postal 478, CEP 69069-001 Manaus, AM. E-mail: basc@inpa.gov.br, pmanoel@inpa.gov.br, roubach@inpa.gov.br, dituassu@inpa.gov.br, andremb@inpa.gov.br, gutoleao@hotmail.com, onoedu@aol.com

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar a tolerância de juvenis de pirarucu, *Arapaima gigas*, a concentrações crescentes de amônia na água. Oito peixes ($2,6 \pm 0,4$ kg e $70,5 \pm 4,1$ cm de comprimento) foram distribuídos aleatoriamente em quatro tanques ($0,8 \times 0,9 \times 2,6$ m) com 410 L de água tamponada com Na_2PO_4 e HCl, ambos a 0,1 M, onde ficaram por 33 dias. As concentrações de amônia no plasma sanguíneo dos peixes e na água foram determinadas pelo método do salicilato. A glicose plasmática e os níveis de amônia aumentaram proporcionalmente à concentração de amônia na água. Juvenis de pirarucu toleram altas concentrações de amônia na água.

Termos para indexação: *Arapaima gigas*, fisiologia de peixes, piscicultura.

Tolerance of pirarucu juveniles to increasing ammonia concentration in a closed environment

Abstract – The objective of this work was to evaluate the tolerance of pirarucu (*Arapaima gigas*) juveniles to increasing concentrations of ammonia in the water. Eight fish (2.6 ± 0.4 kg and 70.5 ± 4.1 cm length) were evenly distributed in four tanks ($0.8 \times 0.9 \times 2.6$ m) with 410 L of water buffered with Na_2PO_4 (0.1 M) and HCl (0.1 M), where they were kept for 33 days. Ammonia concentrations in the fish blood plasma and in the water were determined by the salicylate method. Plasma glucose and ammonia levels increased proportionally to the concentration of ammonia in the water. Pirarucu juveniles tolerate high concentrations of ammonia in the water.

Index terms: *Arapaima gigas*, fish physiology, fish culture.

A principal fonte de compostos nitrogenados incorporados à água, na piscicultura intensiva, é a alimentação. No início das criações, quando a biomassa é menor, são observados baixos níveis de amônia – composto resultante do catabolismo das proteínas – que aumentam proporcionalmente à quantidade de alimento fornecido e ao aumento da biomassa (Hurvitz et al., 1997). No caso da criação de peixes carnívoros, esta situação pode ser agravada em virtude dos elevados níveis de proteína usados nas rações.

A amônia na forma não-ionizada e em concentração excessiva pode prejudicar a transformação da energia alimentar em ATP; com isso inibe o crescimento dos peixes e provoca a desaminação dos aminoácidos, o que, por sua vez, impossibilita a formação de proteínas, essencial no crescimento dos animais (Parker & Davis, 1981).

Existem registros de espécies de peixes que toleram altos níveis de amônia na água como *Opsanus beta*, *O. tau* e *Porichthys notatus*, todos da família Batrachoididae (Wang & Walsh, 2000). Essa tolerância pode estar associada a diversas adaptações ou estratégias desenvolvidas pelos peixes ao longo de sua evolução, como o fato de minimizarem a ação da amônia produzindo compostos derivados como a uréia em *Clarias batrachus* (Saha et al., 2002), ou glutamina, em *Oncorhynchus mykiss* (Wicks & Randall, 2002).

O pirarucu, *Arapaima gigas*, de hábito alimentar carnívoro, é considerado um peixe rústico (Imbiriba, 2001) por sua respiração aérea, fato que lhe permite tolerar águas com baixos teores de oxigênio dissolvido, no entanto, sua tolerância a ambientes aquáticos com altas concentrações de amônia não é conhecida.

O objetivo deste trabalho foi testar a tolerância de juvenis de pirarucu ao aumento da concentração de amônia na água.

O experimento foi realizado no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) no período de 8 de outubro a 10 de novembro de 2002.

Oito juvenis de pirarucu, com $2,6 \pm 0,4$ kg e $70,5 \pm 4,1$ cm, oriundos do Município de Coari, AM, foram distribuídos homogeneamente em quatro tanques de alvenaria ($0,8 \times 0,9 \times 2,6$ cm), contendo aproximadamente 410 L de água, onde foram mantidos por 33 dias. A água dos tanques foi tamponada para pH $6,6 \pm 0,2$, usando fosfato de sódio di-básico e ácido clorídrico, ambos a 0,1 M. Os peixes foram alimentados uma vez ao dia até a saciedade aparente, evitando a deposição de resíduos oriundos da ração. Foi utilizada ração extrusada comercial, específica para peixes carnívoros, com 40% de proteína bruta e 3.000 kcal/kg de energia bruta.

O gradiente da concentração da amônia total no sistema foi controlado pela adição de cloreto de amônio. Durante o período experimental não houve renovação de água.

Os peixes foram amostrados no início e a cada cinco dias até o final do experimento. Foi retirada uma alíquota de 1 mL de sangue de cada peixe que, em seguida, foi centrifugada a 3.000 rpm. O plasma sobrenadante foi usado para determinar os níveis de amônia plasmática segundo Verdow et al. (1977). A concentração de glicose do sangue dos peixes foi medida por meio do Advantage Blood Glucose System.

A variação dos parâmetros físico-químicos da água foi verificada diariamente a partir das observações da amônia total ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$), condutividade elétrica, nitrito, pH e temperatura. Os valores da amônia não-ionizada (NH_3) foram calculados segundo Boyd & Tucker (1992).

Os parâmetros observados foram relacionados por meio de análise de regressão a 5% de probabilidade (Ayres et al., 2000).

A temperatura e o pH da água permaneceram constantes, a $26,9 \pm 0,9^\circ\text{C}$ e $6,6 \pm 0,2$ respectivamente, o que permite inferir que estes dois parâmetros não tiveram influência sobre a toxicidade da amônia na água para os juvenis de pirarucu. A condutividade da água apresentou gradiente positivo e está diretamente relacionada à adição do cloreto de amônio, confirmando o incremento de íons dissolvidos (Figura 1). A concentração do nitrito na água dos tanques foi de $2,3 \times 10^{-4} \pm 0,3 \times 10^{-4}$ mg/L, a

qual não é considerada tóxica o bastante para influenciar a condição fisiológica dos peixes (Boyd & Tucker, 1992).

Durante o experimento, foi possível observar relação positiva entre o aumento da concentração da amônia da água dos tanques e o incremento da amônia plasmática (Figura 2). Hurvitz et al. (1997) relatam que o tempo de exposição de *Oncorhynchus mykiss* em água com altos níveis de amônia é o fator que mais influencia no incremento dos níveis de amônia plasmática do peixe. Neste trabalho, o tempo de exposição dos peixes aos gradientes de concentração da amônia na água foi de 33 dias, o que pode ter contribuído para o aumento dos níveis de amônia plasmática.

A glicose plasmática é comumente usada como indicador indireto de estresse nos peixes, mas sua resposta é extremamente complexa e seu uso como indicador depende, entre outros fatores, do agente estressor (Hurvitz et al., 1997). Neste trabalho, os níveis de glicose foram altos ao início, quando os peixes foram submetidos a práticas de rotina de biometria, reduzindo-se à medida que os peixes foram se aclimatando às condições experimentais, e ao longo do experimento, quando a concentração de amônia total na água foi aumentando (Figura 2). Esses resultados mostram que a glicose pode ser usada como indicador de estresse em juvenis de pirarucu nessas condições.

Wang & Walsh (2000) observaram que indivíduos da espécie *Opsanus tau*, peixe da família Batrachoididae, conseguem suportar até 11,8 mg/L de amônia não-

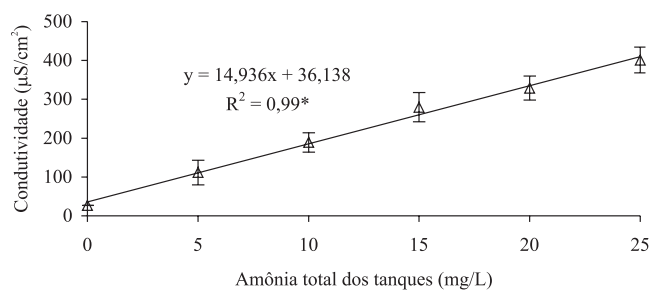


Figura 1. Variação (média±desvio-padrão) da condutividade da água em razão da concentração de amônia total em tanques experimentais de exposição de juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*) a um gradiente positivo de concentração de amônia na água (pH, $6,6 \pm 0,2$ e temperatura, $26,9 \pm 0,9^\circ\text{C}$). *Significativo a 5% de probabilidade.

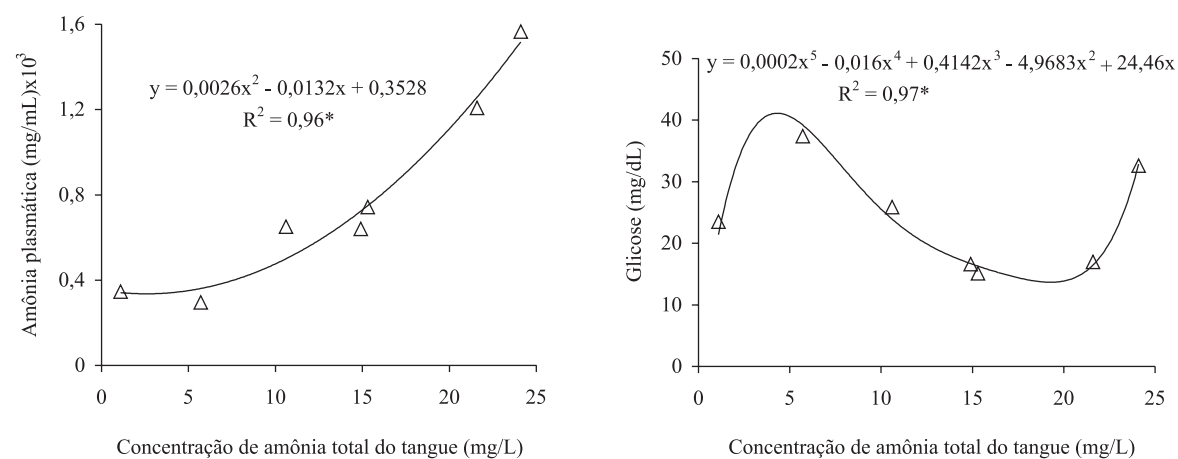


Figura 2. Variação média da concentração da amônia plasmática e da glicose plasmática de juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*) em razão da concentração da amônia total da água. *Significativo a 5% de probabilidade.

ionizada a temperaturas próximas de 20°C e pH de 7,7–7,9. Wicks & Randall (2002) observaram que níveis de até 0,8 mg/L de amônia não-ionizada na água comprometem a natação de indivíduos de *Oncorhynchus kisutch*.

Neste trabalho, os peixes foram expostos a aproximadamente 2,0 mg/L de amônia não-ionizada (25 mg/L de amônia total) (Figura 2) em condições de temperatura e pH constantes e, mesmo com este nível elevado, os peixes continuaram alimentando-se normalmente, com 100% de sobrevivência.

A tolerância às adversidades ambientais pode estar relacionada ao desenvolvimento de estratégias para suportar níveis de amônia na água, principal produto nitrogenado da excreção dos organismos aquáticos (Adams et al., 2001). Nos peixes, a excreção da amônia ocorre, na maioria, por difusão passiva através das brânquias, quando o gradiente de concentração é favorável (Hargreaves & Kucuk, 2001).

A capacidade do pirarucu de tolerar situações adversas na água é atribuída a sua respiração aérea, principalmente quando os níveis de oxigênio dissolvido são baixos (Brauner & Val, 1996). Baldisserotto (2002) enfatiza que peixes de respiração aérea, até mesmo o pirarucu, toleram águas com baixos níveis de oxigênio dissolvido, fato comum em ambientes lênticos na várzea amazônica (Junk et al., 1983).

O pirarucu habita preferencialmente lagos da várzea amazônica (Queiroz & Sardinha, 1999), os quais sofrem a influência do ciclo hidrológico das estações de seca e cheia. Em certas ocasiões, durante a estação seca, os

lagos podem ficar isolados do corpo de água principal, comprometendo a qualidade físico-química da água e adensando os organismos. Com isso há aumento da concentração de resíduos nitrogenados oriundos das excretas e da decomposição dos organismos aquáticos, em virtude da evaporação e infiltração, que diminuem o volume, e da eutrofização da água. O acúmulo dessa matéria orgânica leva a maior consumo de oxigênio, agravando as condições ambientais. Essa situação pode ter levado diversos animais, até mesmo o pirarucu, a se adaptarem às adversidades nos ambientes aquáticos.

Esta observação abre precedentes para novos trabalhos que visem explicar o mecanismo fisiológico que esta espécie possui para metabolizar amônia, quando exposta a elevadas concentrações deste íon. A tolerância do pirarucu para suportar elevadas concentrações de amônia na água é uma característica de grande importância para a sua criação em sistema intensivo.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e à Agencia Española de Cooperación Internacional/AECI - Projeto Pirarucu, pelo suporte financeiro.

Referências

ADAMS, M.B.; POWELL, M.D.; PURSER, G.J. Effect of acute and chronic ammonia and nitrite exposure on oxygen consumption and growth of juvenile big billed seahorse. *Journal of Fish Biology*, v.58, p.848-860, 2001.

- AYRES, M.; AYRES, M.J.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. **Bio stat 2.0**: aplicações estatísticas nas áreas biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; CNPq, 2000. 272p.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2002. 212p.
- BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. **Water quality and pond soil analyses for aquaculture**. Auburn: Auburn University, 1992. 183p.
- BRAUNER, C.J.; VAL, A.L. The interaction between O₂ and CO₂ exchange in the obligate air breather, *Arapaima gigas*, and the facultative air breather, *Lipossarcus pardalis*. In: VAL, A.L.; ALMEIDA-VAL, V.M.F.; RANDALL, D.J. (Ed.). **Physiology and biochemistry of the fishes of the Amazon**. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 1996. cap.9, p.101-110.
- HARGREAVES, J.A.; KUCUK, S. Effects of diel un-ionized ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, channel catfish, and blue tilapia. **Aquaculture**, v.195, p.163-181, 2001.
- HURVITZ, A.; BERCOVIER, H.; RIJN, J. van. Effect of ammonia on the survival and the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) vaccinated against *Streptococcus iniae*. **Fish & Shellfish Immunology**, v.7, p.45-53, 1997.
- IMBIRIBA, E.P. Potencial da criação de pirarucu, *Arapaima gigas*, em cativeiro. **Acta Amazonica**, v.31, p.299-316, 2001.
- JUNK, W.J.; SOARES, G.M.; CARVALHO, F.M. Distribution of fish species in a lake of the Amazon river floodplain near Manaus (lago Camaleão) with special reference to extreme oxygen conditions. **Amazoniana**, n.7, p.397-431, 1983.
- PARKER, N.; DAVIS, K. Requirements of warmwater fish. In: THE BIOENGINEERING SYMPOSIUM FOR FISH CULTURE, 4., 1981, Bethesda. **Proceedings**. Bethesda: Fish Culture Section of the American Fisheries Society, 1981. p.21-28.
- QUEIROZ, H.L.; SARDINHA, A.D. A preservação e o uso sustentado dos pirarucus em Mamirauá. In: QUEIROZ, H.L.; CRAMPTON, W.G.R. (Ed.). **Estratégias para manejo de recursos pesqueiros em Mamirauá**. Brasília: Sociedade Civil Mamirauá; CNPq, 1999. p.108-141.
- SAHA, N.; KHARBULI, Z.Y.; ARUNDHATI, B.; GOSWAMI, C.; HÄUSSINGER. Effect of alkalinity (pH 10) on ureogenesis in the air-breathing walking catfish, *Clarias batrachus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v.132, p.353-364, 2002.
- VERDOW, H.; ECTHTELD, C.J.A. van; DEKKERS, E.M.J. Ammonia determination based on indophenol formation with sodium salicylate. **Water Research**, v.12, p.399-402, 1977.
- WANG, Y.; WALSH, P.J. High ammonia tolerance in fishes of the family Batrachoididae (Toadfish and Midshipmen). **Aquatic Toxicology**, v.50, p.205-219, 2000.
- WICKS, B.J.; RANDALL, D.J. The effect of sub-lethal ammonia exposure on fed and unfed rainbow trout: the role of glutamine in regulation ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v.132, p.275-285, 2002.

Recebido em 12 de fevereiro de 2003 e aprovado em 2 de dezembro de 2003