



Universidade Federal do Maranhão
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
BR 222, Km 04, Bairro Boa Vista, Chapadinha - MA
Telefone (98)32729902 e-mail: ppgca@ufma.br
Home page: <http://www.ppgca.ufma.br>



Desempenho, parâmetros bioquímicos e hematológicos de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), expostos a diferentes níveis de nitrito e cálcio na água

GABRIEL CARDOSO NEVES

CHAPADINHA – MA

2015



Universidade Federal do Maranhão
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
BR 222, Km 04, Bairro Boa Vista, Chapadinha - MA
Telefone (98)32729902 e-mail: ppgca@ufma.br
Home page: <http://www.ppgca.ufma.br>



GABRIEL CARDOSO NEVES

Desempenho, parâmetros bioquímicos e hematológicos de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), expostos a diferentes níveis de nitrito e cálcio na água

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jane Mello Lopes
Co-orientador: Dr. Bernardo Baldisserotto

CHAPADINHA – MA

2015



Universidade Federal do Maranhão
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
BR 222, Km 04, Bairro Boa Vista, Chapadinha - MA
Telefone (98)32729902 e-mail: ppgca@ufma.br
Home page: <http://www.ppgca.ufma.br>



Neves, Gabriel Cardoso

Desempenho, parâmetros bioquímicos e hematológicos de juvenis de jundiá (*Rhandia quelen*), expostos a diferentes níveis de nitrito e cálcio na água / Gabriel Cardoso Neves. – 2015.

53 f.

Impresso por computador (fotocópia).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jane Mello Lopes.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2015.

1. Piscicultura. 2. Peixe - criação. 3. Jundiá - peixe. I. Título

CDU 639.3



Universidade Federal do Maranhão
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
BR 222, Km 04, Bairro Boa Vista, Chapadinha - MA
Telefone (98)32729902 e-mail: ppgca@ufma.br
Home page: <http://www.ppgca.ufma.br>



GABRIEL CARDOSO NEVES

Desempenho, parâmetros bioquímicos e hematológicos de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), expostos a diferentes níveis de nitrito e cálcio na água

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Aprovada em 05 / 05 / 2015

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Jane Mello Lopes (Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão

Marcos Antônio Delmondes Bomfim
Universidade Federal do Maranhão

Fabiola Helena dos Santos Fogaça
EMBRAPA/PI



Universidade Federal do Maranhão
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
BR 222, Km 04, Bairro Boa Vista, Chapadinha - MA
Telefone (98)32729902 e-mail: ppgca@ufma.br
Home page: <http://www.ppgca.ufma.br>



Dedico esse trabalho aos meus pais
Pedro Pereira Neves e Maria Janete
Cardoso Neves, à minha irmã Viviane
Cardoso Neves e a minha namorada
Dania Mendes Ribeiro, pela imensa
força, amor, carinho e compreensão que
me deram em todos os momentos da
minha vida.



Universidade Federal do Maranhão
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
BR 222, Km 04, Bairro Boa Vista, Chapadinha - MA
Telefone (98)32729902 e-mail: ppgca@ufma.br
Home page: <http://www.ppgca.ufma.br>



AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me guiar, iluminar e permitir que eu pudesse vencer em mais uma etapa da minha vida.

Aos meus pais, Pedro Pereira Neves e Maria Janete Cardoso Neves, pelo apoio, incentivo, paciência, amor e carinho que me deram ao longo dessa jornada.

A minha irmã, Viviane Cardoso Neves pelo amor, incentivo, palavras e gestos de carinho.

A minha namorada, Dania Mendes Ribeiro, pela amizade, companheirismo, paciência, amor e carinho que teve comigo durante esse tempo.

A minha orientadora, professora Dra. Jane Mello Lopes pelo apoio científico, por sua dedicação, orientação, estímulo e paciência que teve comigo durante esse período.

Ao meu co-orientador, professor Dr. Bernardo Baldisserotto, pelo apoio científico e por ter acreditado e confiado no meu trabalho.

Aos professores do PPGCA, pela dedicação, paciência e conhecimentos disponibilizados ao longo do curso.

Agradeço a FAPEMA pelo auxílio financeiro concedido durante o curso de mestrado.

A todos os amigos que fiz durante esse período, pelo companheirismo, pois de alguma forma todos foram imprescindíveis nessa caminhada durante os dois anos de curso.

Enfim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que fosse possível esta conquista.

Obrigado!



Universidade Federal do Maranhão
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
BR 222, Km 04, Bairro Boa Vista, Chapadinha - MA
Telefone (98)32729902 e-mail: ppgca@ufma.br
Home page: <http://www.ppgca.ufma.br>



SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
CAPÍTULO I	
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1. A espécie: Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>).....	16
2.2. Qualidade da água para <i>Rhamdia quelen</i>	17
2.3. Resíduos nitrogenados.....	17
2.4. Efeito tóxico do nitrito.....	18
2.3. Respostas fisiológicas dos peixes.....	19
2.4. Mecanismos de desintoxicação.....	20
3. OBJETIVOS.....	22
3.1. Objetivo geral.....	22
3.2. Objetivos específicos.....	22
4. REFERÊNCIAS.....	23
CAPÍTULO II – MANUSCRITO	
Abstract.....	31
Resumo.....	32
Introdução.....	33
Material e métodos.....	34
Manejo experimental.....	34
Parâmetros zootécnicos.....	34
Parâmetros bioquímicos.....	35
Parâmetros hematológicos.....	35
Parâmetros de qualidade da água.....	36

Análise estatística.....	36
Resultados.....	37
Discussão.....	38
Conclusão.....	40
Agradecimentos.....	40
Literatura citada.....	41



Universidade Federal do Maranhão
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
BR 222, Km 04, Bairro Boa Vista, Chapadinha - MA
Telefone (98)32729902 e-mail: ppgca@ufma.br
Home page: <http://www.ppgca.ufma.br>



LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% – Por cento
 μL – Microlitros
ATP – Adenosina trifosfato
CAA – Conversão alimentar aparente
 Ca^{2+} – Cálcio
 CaCO_3 – Carbonato de cálcio
CHCM – Concentração média de hemoglobina
 Cl^- – Cloreto
cm – Centímetros
 CO_3^{-2} – Carbonato
EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético
et al. – Entre outros
g – Grama
GP – Ganho de peso;
Hb – Hemoglobina
 HCO_3^- – Bicarbonato
Hm – Hemácias
 HNO_2 – Ácido nítrico não ionizado
Ht – Hematócrito
 K^+ – Potássio
ln – Logaritmo natural
 mg L^{-1} – Miligrama por litro
 Mg^{2+} – Magnésio
mm – Milímetro
 Na^+ – Sódio
 NaNO_2 – nitrito de sódio
 NH_3 – Amônia não ionizada
 NO_2^- – Nitrito
 NO_2^- – Nitrito ionizado
 $^\circ\text{C}$ – Grau Celsius
 $p <$ – Menor que
PB – Proteína bruta
pH – Potencial hidrogeniônico
 SO_4^{2-} – Sulfato
TCE – Taxa de crescimento específico
VCM – Volume corpuscular médio



Universidade Federal do Maranhão
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
BR 222, Km 04, Bairro Boa Vista, Chapadinha - MA
Telefone (98)32729902 e-mail: ppgca@ufma.br
Home page: <http://www.ppgca.ufma.br>



LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tratamentos utilizados (associações entre NO_2^- e Ca^{2+}) com juvenis de *Rhamdia quelen* durante o período experimental de 60 dias.....45

Tabela 2: Sobrevivência, ganho de peso, biomassa, taxa de crescimento específico, consumo de ração e conversão alimentar de juvenis de *Rhamdia quelen*, expostos a diferentes níveis de nitrito e cálcio na água por 60 dias.....45

Tabela 3: Parâmetros metabólicos de fígado e músculo de juvenis de *Rhamdia quelen*, expostos a diferentes níveis de nitrito e cálcio na água por 60 dias.....46

Tabela 4: Parâmetros hematológicos de juvenis de *Rhamdia quelen*, expostos a diferentes níveis de nitrito e cálcio na água em 60 dias.....46



Universidade Federal do Maranhão
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
BR 222, Km 04, Bairro Boa Vista, Chapadinha - MA
Telefone (98)32729902 e-mail: ppgca@ufma.br
Home page: <http://www.ppgca.ufma.br>



LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Imagem de um exemplar de Juvenil de <i>Rhamdia quelen</i>	17
Figura 2 – Modelo de célula branquial para captação de íons em peixes adaptados a ambientes hipotônicos.....	21



RESUMO

Os objetivos neste trabalho foram determinar o efeito de diferentes níveis de nitrito (NO_2^-) associado ao cálcio (Ca^{2+}) na água sobre o desempenho, parâmetros bioquímicos e hematológicos em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). Cento e sessenta animais foram estocados em 16 caixas ($n=10$) de 40 litros com aeração constante e mantidos em um sistema de recirculação de água com filtro U.V durante 60 dias. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 4 repetições em esquema fatorial com 2 níveis de NO_2^- (0,05 e 1,4 mg L^{-1}) x 2 níveis de Ca^{2+} na água (5 e 20 mg L^{-1}). Os peixes ($8,9 \pm 0,2$ g e $15,0 \pm 0,8$ cm) foram alimentados com ração extrusada (32% PB e máx. 2,0 % de Ca^{2+}) duas vezes ao dia à vontade. Diariamente foi feito a retirada dos resíduos por sifonagem, e 80% da água foi substituída por outra com níveis de nitrito e cálcio previamente ajustados. Os níveis de nitrito e cálcio foram mantidos por meio da adição de nitrito de sódio (NaNO_2) e carbonato de cálcio (CaCO_3), respectivamente. Foram avaliados: o desempenho zootécnico, os parâmetros bioquímicos e hematológicos para juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). A sobrevivência final não foi afetada pelos níveis de nitrito associado ao Ca^{2+} . Aos 30 dias, observou-se que não houve alterações ($P>0,05$) no ganho de peso, biomassa, taxa de crescimento específico e conversão alimentar entre os tratamentos analisados. Aos 60 dias, observou-se aumento ($P<0,05$) no ganho de peso, biomassa e taxa de crescimento específico para os animais do tratamento controle em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo, e para o tratamento baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} alto. Ao final do período experimental, observou-se que o consumo de ração foi maior no tratamento baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} alto. Não houve alterações ($P>0,05$) para a converção alimentar ao final dos 60 dias experimentais. Não houve alterações ($P>0,05$) nos níveis de lactato e glicogênio no fígado. Os animais do tratamento controle apresentaram níveis ($P<0,05$) mais elevados de proteína no fígado em relação aos peixes submetidos a alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo. Os níveis de glicose no fígado dos peixes foram maiores ($P<0,05$) no tratamento controle em relação aos tratamentos baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto e alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo. Os níveis de lactato e glicogênio no músculo apresentaram-se menor ($P<0,05$) no tratamento controle em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo. O nível de proteína no músculo foi menor ($P<0,05$) no tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} alto em relação ao tratamento baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto e ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo. Os níveis de glicose no músculo apresentaram-se maior ($P<0,05$) no tratamento controle em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo, e maior ($P<0,05$) no tratamento baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} alto. O aumento da dureza não favoreceu os animais submetidos a elevados níveis de nitrito em relação ao níveis de hemoglobina. Os peixes expostos a alto NO_2^- e Ca^{2+} alto, apresentaram uma redução neste parâmetro em relação ao tratamento baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto (T2). Tal resultado pode ser um indicativo de que houve oxidação da hemoglobina do sangue em metahemoglobina, causando intoxicação nos peixes. Sendo assim, a utilização de 20 mg L^{-1} Ca^{2+} na água não apresenta efeito positivo na redução da toxidez do nitrito em relação ao desempenho, parâmetros bioquímicos e hematológicos para juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*).

Palavras-chave: acúmulo de nitrito, bioquímica, composto nitrogenado, hematologia, zoofisiologia.



Universidade Federal do Maranhão
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
BR 222, Km 04, Bairro Boa Vista, Chapadinha - MA
Telefone (98)32729902 e-mail: ppgca@ufma.br
Home page: <http://www.ppgca.ufma.br>



ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the effect of different levels of nitrite (NO_2^-) associated with calcium (Ca^{2+}) in the water on the performance, biochemical and hematological parameters of jundiá (*Rhamdia quelen*). One hundred and sixty animals were stored in 16 boxes ($n = 10$) of 40 liters with constant aeration and kept in a water recirculation system with UV filter for 60 days. The design was completely randomized with 4 treatments and 4 replications in a factorial design with two levels of NO_2^- (0,05 e 1,4 mg L^{-1}) x 2 levels of Ca^{2+} in water (5 e 20 mg L^{-1}). Fish (8.9 ± 0.2 g and 15.0 ± 0.8 cm) were fed with the diet (32% CP and max. 2.0% Ca^{2+}) twice a day at home. Was done daily removal of waste by siphoning, and 80% of the water was replaced by another with nitrite and calcium levels previously set. The nitrite and calcium levels were maintained by the addition of sodium nitrite (NaNO_2) and calcium carbonate (CaCO_3), respectively. They evaluated: the growth performance, biochemical and hematological parameters for juvenile catfish (*Rhamdia quelen*). The final survival was not affected by nitrite levels associated with Ca^{2+} . At 30 days, it was observed that there was no change ($P > 0.05$) in weight gain, biomass, specific growth rate and feed conversion between the analyzed treatments. At 60 days, there was an increase ($P < 0.05$) in weight gain, biomass and specific growth rate for animals of the control treatment in relation to the treatment high NO_2^- and Ca^{2+} down, and for treatment low NO_2^- and Ca^{2+} high in relation to the treatment high NO_2^- and Ca^{2+} high. At the end of the experiment, it was found that the feed intake was higher of the treatment low NO_2^- and Ca^{2+} high in relation to the treatment high NO_2^- and Ca^{2+} high. No change ($P > 0.05$) for converting food to end the 60-day trial. No change ($P > 0.05$) in the levels of lactate and glycogen in the liver. The treatment showed control levels ($P < 0.05$) higher protein in the liver compared to fish subjected to high Ca^{2+} and NO_2^- low. Glucose levels in fish liver were higher ($P < 0.05$) in the control treatment in relation to the treatments low NO_2^- and Ca^{2+} high and high NO_2^- and Ca^{2+} down. The levels of lactate and glycogen in muscle showed a lower ($P < 0.05$) in the control treatment in relation to the treatment high NO_2^- and Ca^{2+} down. The protein level in the muscle was lower ($P < 0.05$) in treatment high NO_2^- and Ca^{2+} high in relation to treatment low NO_2^- and Ca^{2+} high and treatment high NO_2^- and Ca^{2+} down. Glucose levels in the muscle had a higher ($P < 0.05$) of the control treatment in relation to the treatment high NO_2^- and Ca^{2+} low, and higher of the treatment low NO_2^- and Ca^{2+} high in relation to the treatment high NO_2^- and Ca^{2+} high. The increase in hardness does not favored animals subjected to high levels of nitrite in relation to the hemoglobin levels. Fish exposed to high NO_2^- and Ca^{2+} high, showed a reduction in this parameter for the processing low NO_2^- and Ca^{2+} high (T2). This result may be an indication that there was blood hemoglobin oxidation in methemoglobin, causing poisoning in fish. Thus, the use of 20 mg L^{-1} Ca^{2+} in water has no positive effect in reducing the toxicity of nitrite in relation to performance, biochemical and hematological parameters for juvenile catfishes (*Rhamdia quelen*).

Keywords: nitrite accumulation, biochemistry, nitrogen compound, hematology, zoophysiology.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os resíduos nitrogenados (amônia, nitrito e nitrato) são normalmente descritos como fatores limitantes para a sobrevivência e o crescimento dos organismos aquáticos. Esses resíduos são consequência do excesso de alimento, da adição de fertilizantes/adubação orgânica, da degradação da matéria orgânica e excreção dos organismos cultivados (CHEN e CHIN, 1988; OSTRENSKY et al., 1991; TOMASSO, 1994; BIANCHINI et al., 1996), sendo portanto de extrema importância o seu monitoramento e controle durante a criação desses animais.

A amônia e o nitrito, mesmo em baixas concentrações, são tóxicos aos peixes, e desta forma muito preocupantes, enquanto que o nitrato só se torna tóxico em altas concentrações, o que normalmente não ocorre em sistemas de cultivo (BALDISSEROTTO, 2013a).

O nitrito é encontrado em ecossistemas como um componente natural do ciclo do nitrogênio (JENSEN, 2003) e existe na água em duas formas, o ácido nítrico (HNO_2^-) e o nitrito ionizado (NO_2^-). O ácido nítrico se difunde livremente nas brânquias, enquanto o nitrito é transportado através da membrana branquial pelo co-transportador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, competindo com o Cl^- .

O efeito mais importante do nitrito em peixes refere-se à capacidade que este composto tem de oxidar a hemoglobina do sangue, convertendo-a em metahemoglobina, provocando assim a morte do animal por asfixia. Contudo, supõe-se que a principal causa da toxicidade do nitrito não é a hipóxia em razão da formação da metahemoglobina, mas o efeito hepatotóxico do nitrito (ARANA, 2010; BALDISSEROTTO, 2013a).

A toxicidade do nitrito pode variar entre peixes de uma família ou espécie para outra e se baseia na capacidade que cada espécie possui de acumular esta substância. Espécies que têm menor captação de Cl^- da água apresentam maior resistência ao nitrito, uma vez que a entrada do nitrito ocorre pelo transportador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ (TOMASSO & GROSELL, 2005).

A concentração de NO_2^- é geralmente baixa ($0,03 - 0,1 \text{ mg L}^{-1}$) em sistemas de cultivo com baixa densidade (SIPAÚBA-TAVARES et al, 1999; ANDRADE et al, 2007), mas qualquer desequilíbrio no sistema de produção como altas densidades de

estocagem ou o uso indevido de fertilizantes podem causar acúmulo de NO_2^- e causar a morte de peixes (JENSEN, 2003; HARGREAVES, 1998; LEWIS & MORRIS, 1986).

A presença de alguns íons comuns no meio aquático (cloreto de potássio, cloreto de cálcio, bicarbonato de sódio e cloreto de sódio) apresenta um forte efeito na diminuição da toxidez do nitrito, atuando de maneira antagônica na formação da metahemoglobina, pois irá diminuir o requisito para a captação de nitrito através da membrana branquial (HUEY et al, 1980; ARANA, 2010).

A dureza da água também pode afetar o desempenho de várias espécies (SILVA et al, 2005) e é determinada pelo conteúdo de sais de Ca^{2+} e de Mg^{2+} , os quais podem ser abundantes em águas dulcícolas, e estão ligados aos íons carbonato (CO_3^{2-}) e bicarbonato (HCO_3^-) ou a sulfato (SO_4^{2-}), cloreto (Cl^-) e outros ânions de acidez mineral (ARANA, 2010).

Para jundiá (*Rhamdia quelen*), Ferreira et al. (2013) observaram que o aumento da dureza da água pode ser recomendado quando essa espécie é submetida a situações de hipóxia e altos níveis de amônia.

O jundiá, *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD, 1824), entre as diversas espécies de peixes nativos, vem despertando interesse em piscicultores, pelo seu desempenho no cultivo devido a várias características zootécnicas favoráveis (GOMES et al., 2000; CARNEIRO et al., 2005; BALDISSEROTTO et al, 2010). Além disso, por tratar-se de uma espécie amplamente distribuída, pode ser cultivada em várias regiões do país.

O grau de toxicidade do nitrito apresenta variações específicas significantes entre as diferentes espécies, contudo seus efeitos associados ao teor de Ca^{2+} na água sobre o desempenho zootécnico, parâmetros bioquímicos e hematológicos para teleósteos ainda é desconhecido. Nesse sentido, destaca-se a importância deste estudo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A espécie: Jundiá (*Rhamdia quelen*)

O jundiá, *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD, 1824), é uma espécie nativa de grande representatividade e interesse econômico, aparentemente bem adaptada a diferentes ambientes e de rápido crescimento (BARCELLOS et al., 2003; 2004). Apresenta distribuição neotropical, do sudeste do México ao norte, e centro da Argentina ao sul (SILFVERGRIP, 1996).

O gênero *Rhamdia* pertence à família Heptapteridae, ordem Siluriformes, classe Actinopterygii (BOCKMANN; GUAZZELLI, 2003). A espécie é onívora, vive em lagos e poços fundos dos rios, preferindo os ambientes de águas mais calmas com fundo de areia e lama, junto às margens e vegetação. Escondem-se entre pedras e troncos apodrecidos, de onde saem à noite, à procura de alimento (GUEDES, 1980).

Segundo Marchioro (1997), o jundiá caracteriza-se por ser um peixe de couro, apresentando o corpo alto e delgado na metade anterior e mais comprimido posteriormente em direção à cauda. Cabeça moderadamente estreita com achatamento dorso-ventral, boca terminal de tamanho e amplitude moderados. Possui barbilhões com forma cilíndrica, afilados; as nadadeiras são cobertas por pele fina; as nadadeiras peitorais possuem um espinho forte e serrilhado. A coloração é negra no dorso e nas nadadeiras e o ventre branco às vezes amarelada (Figura 1).

Apresenta boa produtividade quando criado em cativeiro e com uma boa aceitação no mercado consumidor, devido sua carne saborosa e sem espinhos intramusculares (CARNEIRO; MIKOS, 2005). Contudo, a produção do jundiá, assim como a de outras espécies, enfrenta alguns problemas durante o cultivo que vão desde o estresse provocado pelo manejo até as condições inadequadas de cultivo que vão refletir no bom desempenho da criação (BARCELLOS et al., 2004). O cultivo de *Rhamdia quelen* (jundiá) está aumentando, mas ainda está abaixo de seu potencial, pois várias informações sobre a espécie estão faltando ou dispersos na literatura (GOMES et al., 2000).



Figura 1: Imagem de um exemplar de Juvenil de *Rhamdia quelen*

2.2. Qualidade da água para *Rhamdia quelen*

A espécie pode ser considerada euritérmica, sendo que as temperaturas letais inferiores e superiores são 3 e 32 °C, respectivamente. (CHIPPARI-GOMES; GOMES; BALDISSEROTTO, 1999). Estima-se que 23,7 °C seria a temperatura que proporciona melhor crescimento (PIEDRAS; MORAES; POUEY, 2004). Os níveis de oxigênio dissolvido devem ficar acima de 5,2 mg/L (BRAUN et al., 2006).

Os juvenis de jundiá podem sobreviver em uma faixa de pH entre 4,0 e 9,0 em águas moles (20 a 30 mg CaCO₃/L) (ZAIONS; BALDISSEROTTO, 2000). Também suportam níveis de dureza de até 600 mg/L de CaCO₃, por 96h, sem mortalidade (TOWNSEND; BALDISSEROTTO, 2001). No entanto, o crescimento de juvenis e larvas em água com pH neutro e alcalino (8,5 – 9,0) é melhor em 20 – 50 mg CaCO₃/L que em durezas mais altas (TOWNSEND; SILVA; BALDISSEROTTO, 2003; FERREIRA et al., 2013; COPATTI, 2008).

A concentração letal de amônia não-ionizada (NH₃) (96 h) para o jundiá varia de 0,44 mg/L em pH 6,0 a 2,09 mg/L em pH 8,2 (MIRON et al., 2008) com o crescimento reduzido em níveis acima de 0,1 mg/L (MIRON, 2004).

A concentração letal de nitrito está em torno de 20 mg/l, mas os níveis devem ficar abaixo de 1,2 mg/l para não causarem mortalidade em médio prazo (LIMA et al., 2013).

2.3. Resíduos nitrogenados

Os peixes em sistemas de cultivo normalmente recebem alimento com altos níveis de proteína. Parte é assimilada pelo animal e depositada no corpo como proteína

animal, contudo, em caso de excesso de proteína, a porção que contém carbonos é convertida em carboidratos, corpos cetônicos ou ácidos graxos, e o nitrogênio pode ser excretado como amônia (NH₃), que é a principal forma de excreção de nitrogênio dos peixes, e ureia. Uma vez no ambiente aquático, a amônia é oxidada por bactérias do gênero nitrossomonas e é transformada em nitrito (NO₂⁻).



O nitrito, por sua vez, é oxidado por bactérias do gênero nitrobacter e forma nitrato (NO₃⁻).



A transformação da amônia é importante para reduzir sua concentração, mas pode reduzir o pH devido a liberação de H⁺ e reduzir os níveis de oxigênio, pois o mesmo é necessário para os processos de oxidação (BALDISSEROTO, 2013a).

A presença de compostos nitrogenados em níveis elevados no meio aquático pode gerar vários problemas fisiológicos e hemolinfáticos. A toxicidade da amônia atua sobre o processo de transporte de oxigênio, transformando hemocianina em metahemocianina, a qual é incapaz de transferir oxigênio para os tecidos (GROSS, 2004). Da mesma maneira, o nitrito entra nas hemácias e oxida o ferro, transformando a hemoglobina em metahemoglobina, que não se liga ao oxigênio e dá uma cor marrom ao sangue (BALDISSEROTO, 2013a), podendo gerar dessa forma alterações nas estruturas de órgãos importantes para a sobrevivência desses animais (CAVERO et al., 2004).

2.4. Efeito tóxico do nitrito

Problemas com nitrito em animais de água doce decorrem do fato de que o nitrito é transportado através da membrana branquial pelo anteporte Cl⁻/HCO₃⁻, competindo com o Cl⁻ (BALDISSEROTO, 2013a). Assim, sempre que o nitrito é presente na água do ambiente, uma parte da absorção de Cl⁻ será deslocada para a absorção de NO₂⁻ (JENSEN, 2003).

Em solução aquosa, o nitrito encontra-se sob duas formas: o ácido nítrico não ionizado (HNO₂) e o nitrito ionizado (NO₂⁻), e o equilíbrio entre as duas formas é determinado primeiramente pelo pH ambiental (RUSSO et al, 1981; TOMASSO, 1994).

A toxicidade do nitrito pode variar entre peixes de uma família, espécie ou população para outras. Essa variação pode ser devido a diferentes taxas de captação de Cl⁻ nas brânquias. Peixes com alta taxa de captação de Cl⁻ pelas brânquias são mais

sensíveis ao nitrito do que os que têm baixa taxa de captação (BALDISSEROTO, 2013a).

O sangue parece ser o alvo primário da ação do nitrito, no entanto, também se acumula nitrito em outros tecidos, tais como as brânquias, fígado, cérebro e músculo (MARGIOCCO et al., 1983).

No sangue, após passar pela membrana branquial, o nitrito penetra nas hemácias e oxida o ferro. O resultado dessa oxidação é a metahemoglobina, que não se liga ao oxigênio e dá uma cor marrom ao sangue. Peixes com grande porcentagem de hemoglobina na forma de metahemoglobina sofrem de uma anemia funcional e hipóxia tecidual, pois há uma redução na capacidade do sangue transportar oxigênio, ocorre hiperventilação, e em algumas espécies, há aumento do lactato (BALDISSEROTO, 2013a).

A quantidade de metahemoglobina necessária para reduzir o crescimento ou matar os peixes varia com a espécie e com as condições ambientais. De um modo geral, concentrações em torno de 50 % de metahemoglobina no sangue são consideradas críticas para os peixes (BOWSER et al., 1983).

2.5. Respostas fisiológicas dos peixes

O estresse pode ser definido como um conjunto de respostas fisiológicas de um organismo na presença de agentes estressores (MAZEAUD et al., 1977; WEDEMEYER & MCLEAY, 1981) e tem grande importância como predisponente a doenças e como causador de redução de desempenho zootécnico e reprodutivo.

A resposta ao estresse compreende uma série de alterações fisiológicas coordenadas pelo eixo neuroendócrino hipotálamo-hipofise-interrenal (HHI), para promover o restauro da condição de homeostase. Inicialmente os peixes respondem ao fator adverso, chamado de estressor, elevando os níveis sanguíneos de hormônios, como as catecolaminas e o cortisol, sendo estas alterações hormonais chamadas de alterações primárias. O cortisol é o principal parâmetro da avaliação da resposta ao estresse em peixes. Esses hormônios provocam alterações e respostas hematológicas, metabólicas, hidrominerais entre outras, que são chamadas alterações secundárias (BARCELLOS et al., 2003).

O efeito dessas alterações em nível individual e populacional é chamado de alterações terciárias, que compreendem impactos negativos no sistema imunológico, no metabolismo, no crescimento e na reprodução (BARCELLOS et al., 2001).

Em termos gerais, as respostas ao estresse podem ser vistas como um aumento das taxas de catabolismo, permitindo a utilização de reservas energéticas indisponíveis em condições normais (PICKERING, 1981). Na aquicultura, é frequente a exposição dos peixes a procedimentos estressores, tais como captura, transporte, hipóxia e mudanças osmóticas e de temperatura.

Uma consequência importante do nitrito decorrente da oxidação da hemoglobina para metahemoglobina (JENSEN, 2003) são as alterações hematológicas com mudanças nos valores da hemoglobina, no número de células vermelhas e no hematócrito, devido a disfunções osmorregulatórias e demanda de oxigênio (MORGAN & IWAMA, 1997). O nitrito também provoca alterações hepáticas e tem efeito vasodilatador (COSTA, 2002) podendo levar à morte do peixe (TOMASSO, 1994).

Os níveis de glicose e lactato plasmáticos também aumentam, indicando a ativação do metabolismo anaeróbico. Os valores de pH intra e extracelular (EDDY, 1982), as concentrações de K^+ e Na^+ plasmáticos também apresentaram alterações nos exemplares expostos ao nitrito (EVANS, 1993), sugerindo a ocorrência de distúrbio iônico (GROSELL & JENSEN, 1999).

Algumas espécies expostas a altas concentrações de nitrito não morrem, mas apresentam sintomas de estresse e aumento da susceptibilidade às enfermidades bacterianas, o que pode levar a redução no crescimento e ganho de peso (HANSON & GRIZZLE, 1985).

2.6. Mecanismos de desintoxicação

Entre os principais constituintes da dureza da água, o Ca^{2+} tem papel fundamental na regulação iônica por reduzir a permeabilidade das membranas biológicas e, conseqüentemente, o fluxo difusivo de íons para o meio aquático (GONZAL et al., 1987; GONZALEZ, 1996; WOOD & McDONALD, 1988; TOMASSO et al, 1980; BALDISSEROTTO, 2002). Os peixes de água doce podem absorver Ca^{2+} e Mg^{2+} diretamente da água pelas brânquias ou da alimentação via intestino (WURTS & DURBOROW, 1992; BALDISSEROTTO & MIMURA, 1995; BIJEVELDS et al., 1998; FLIK et al., 1993). A captação através das brânquias é um processo ativo mais ou menos contínuo e relativamente dependente dos níveis de Ca^{2+} na água (FLIK et al., 1993).

A entrada do cálcio se dá através de difusão pela formação do gradiente osmótico da bomba $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ (FLIK & VERBOST, 1993) (Figura 2).

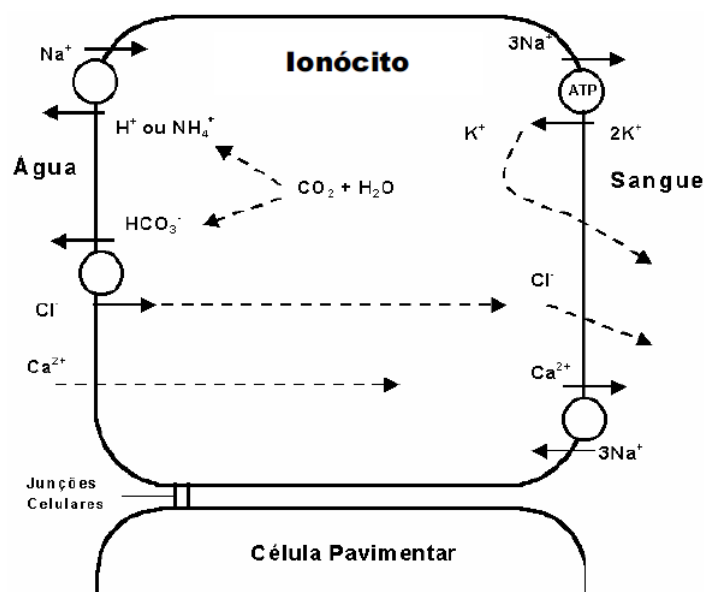


Figura 2: Modelo de célula branquial para captação de íons em peixes adaptados a ambientes hipotônicos (Flik & Verbost, 1993).

O cálcio é um íon essencial para os processos fisiológicos dos peixes, como a coagulação do sangue, formação dos ossos e escamas, contração muscular e outras reações (KANEKO & HIRANO, 1993). A presença deste íon também melhora a resistência dos peixes a substâncias tóxicas presentes na água (PERSCHBACHER & WURTS, 1999), provavelmente por diminuir a permeabilidade da membrana branquial a estas substâncias (TOMASSO et al, 1980; BALDISSEROTTO, 2002).

Como a concentração de cálcio na água é variável conforme o ambiente, os peixes desenvolveram um sistema de regulação de cálcio que reage rapidamente às variações do meio (KANEKO & HIRANO, 1993).

Krous et al. (1982) afirmam que altas concentrações de cálcio geralmente reduzem a perda de cloreto através das brânquias, isto por sua vez diminui o requisito para captação de nitrito.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito de diferentes níveis de nitrito (NO_2^-) associado à adição de cálcio (Ca^{2+}) na água sobre o desempenho zootécnico, parâmetros bioquímicos e hematológicos em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*).

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar o efeito do NO_2^- associado à adição de Ca^{2+} sobre a sobrevivência de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*);
- Avaliar o efeito do NO_2^- associado à adição Ca^{2+} sobre os parâmetros de crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*);
- Avaliar o efeito de diferentes níveis de NO_2^- associado à adição de Ca^{2+} sobre os teores de lactato, glicose, glicogênio e proteínas hepática e muscular;
- Avaliar o efeito de diferentes níveis de NO_2^- associado à adição de Ca^{2+} sobre parâmetros hematológicos de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*).

4. REFERÊNCIAS

ANDRADE, L. S.; ANDRADE, R. L. B.; BECKER A. G.; ROSSATO L. V.; ROCHA J. F.; BALDISSEROTTO, B. Interaction of water alkalinity and stocking density on survival and growth of silver catfish, *Rhamdia quelen*, juveniles. **Journal of the World Aquaculture Society**, V. 38, P. 454-458, 2007.

ARANA, L.V. **Qualidade da água em aquicultura: Princípios e Práticas**. Florianópolis: Ed. da UFSC, 238p. 2010.

BALDISSEROTTO, B.; MIMURA, O. M. Ion and water transport in the gut of the freshwater teleost *Prochilodus scrofa*. *Ciência e Cultura (Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science)* V. 47 (½), P. 83 – 85, 1995.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2002.

BALDISSEROTTO, B.; NETO, J. R.; BARCELLOS, L.G. Jundiá (*Rhamdia sp.*) In: **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**. Baldisserotto. B; Gomes, L.C. (org.), Santa Maria: Ed. da UFSM, 608p, 2010.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 352p. 2013a.

BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 608p, 2013b.

BARCELLOS L.J.G., KREUTZ, L.C., RODRIGUES, L.B., I.FIOREZE, R.M.QUEVEDO, L.CERICATO, J.CONRAD, A.B. SOSO, M. FAGUNDES, L. A.LACERDA & S. TERRA. Haematological and biochemical characteristics of male jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard Pimelodidae): changes after acute stress. **Aquaculture Research**, V. 34, P. 1565-1469, 2003.

BARCELLOS L.J.G., L.C.KREUTZ, R.M.QUEVEDO, I.FIOREZE, L.CERICATO, A.B. SOSO, M.FAGUNDES, J.CONRAD, R.K. BALDISSERA, A.BRUSCHI & F. RITTER. Nursery rearing of jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. **Aquaculture**, V. 232, P. 383-394, 2004.

BARCELLOS, L. J. G.; WOHL, V. M.; WASSERMANN, G. F.; QUEVEDO, R. M.; ITTIZÉS, I.; KRIEGER, M. H. Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), a South American catfish. **Aquaculture Research**, V. 32, N. 3, P. 123-125, 2001.

BIANCHINI, A.; WASIELESKY, W.J.; MIRANDA, K.F. Toxicity of nitrogenous compounds to juveniles of flatfish *Paralichthys orbignyanus*. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**, 56: 453-459, 1996.

BIJEVELDS, M. J. C; VAN DER VELDEN, J. A. KOLAR, Z; FLIK, G. Magnesium transport in freshwater teleosts. **Journal of Experimental Biology** 201, 1981 – 1998. 1998.

BOCKMANN; F. A.; GUAZZELLI, G. M. Family Heptapteridae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS Jr., C.J. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, P. 406-431. 2003.

BOWSER P.R., FALLS W.W., VANZANDT J., COLLIER N., PHILLIPS J.D.: Methaemoglobinaemia in channel catfish: methods of prevention. **Progressive Fish-Culturist**, V. 45, P. 154–158, 1983.

BRAUN, N. et al. Survival, growth and biochemical parameters of silver catfish, *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD, 1824), juveniles exposed to different dissolved oxygen levels. **Aquaculture Research**, V. 37, P. 1524-1531, 2006.

CAMPOS, B. R.; MIRANDA-FILHO, K. C.; D'INCAO, F.; POERSCH, L.; WASIELESKY, W. Toxicidade aguda da amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de

camarão rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (LATREILLE, 1817) (CRUSTACEA: DECAPODA). *Atlântica*, Rio Grande, V.34, N.1, P.75-81, 2012.

CARNEIRO, P.C.F.; MIKOS, J.D. Frequência alimentar e crescimento de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, V.35, N.1, P. 187-191, 2005.

CAVERO, B. A. S., PEREIRA-FILHO, M., BORDINHON, A. M., FONSECA, F. A. L., ITUASSÚ, D. R., ROUBACH, R., ONO, E. A. Tolerância de juvenis de pirarucu ao aumento da concentração de amônia em ambiente confinado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, V. 39(n-5), P. 513-16, 2004.

CHEN, J.C., CHIN, T.S. Join action of ammonia and nitrite on tiger prawn *Penaeus monodon* postlarvae. **J. World. Aquac. Soc.**, 19(3), P. 143-148, 1988.

CHIPPARI-GOMES, A. R.; GOMES, L.C.; BALDISSEROTTO, B. Lethal temperatures for *Rhamdia quelen* fingerlings (Pimelodidae). **Journal of Aquaculture**, V.9, N.4, P. 11-21, 1999.

COPATTI, C. E. **Efeito de NaCl na dieta, dureza e pH da água na sobrevivência, crescimento e fluxo iônico de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*)**. 2008, 85f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Curso de Pós-graduação em Zootecnia – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

COSTA, O. T. F.; FERREIRA, D. J. S.; MENDONÇA, F. P.; FERNANDES, M. N. Susceptibility of the Amazonian fish, *Colossoma macropomum* (Serrasalminae), to short-term exposure to nitrite. **Aquaculture**. V.232, P.627-636, 2002.

EDDY, F. B. Osmotic and ionic regulation in captive fish with particular reference to salmonids. **Comparative Biochemistry and Physiology**. V.73 (B): P.125-141, 1982.

EVANS, D. H. Osmotic and ionic regulation. **The physiology of fishes**. Florida, V.13, N.8, 1993.

FERREIRA, F.W.; CUNHA, R. B.; BALDISSEROTTO, B. The survival and growth of juvenile silver catfish, *Rhamdia quelen*, exposed to different NH₃ and hardness levels. **Journal of the world aquaculture society**, V. 44, N. 2, 2013.

FLIK, G., VERBOST, P.M. Calcium transport in fish gills and intestine. **Journal of Experimental Biology**, V. 184, P. 17-29, 1993.

FLIK, G.; VAN DER VELDEN, K. J.; DECHERING, K. J.; VERBOST, P. M.; SCHOENMAKERS, T. J. M.; KLAR, K. I., BONGA, S. E. W. Ca²⁺ and Mg²⁺ transport in gill and gut of tilapia *Oreochromis mossambicus*: a review. **Journal of Experimental Zoology**, V. 265, P. 356-365, 1993.

GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A. R. C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**. V. 30, N.1, P.179–185, 2000.

GONZAL, A. C.; ARALAR, E. V.; PAVICO, J. M. The effects of water hardness on the hatching and viability of silver carpas (*Hypophthalmichthys molitrix*) eggs. **Aquaculture**. V. 64, P. 111-118, 1987.

GONZALEZ, R. J. Ion regulation in ion poor waters of low pH. In: VAL, A. L.; ALMEIDA – VAL, V. M. F.; RANDALL, D. J. **Physiology and Biochemistry of the Fishes of the Amazon**. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 420 p. 1996.

GROSSELL, M., JENSEN, F. B. NO₂⁻ uptake and HCO₃⁻ excretion in the intestine of the European flounder (*Platichthys flesus*). **Society Experimet Biology**. V.202, P.2103-2110, 1999.

GROSS, A. Acute and chronic effects of nitrite on white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in low-salinity brackish water. **Journal of the aquaculture society**, V. 35, N. 3, P. 315-321, 2004.

GUEDES, D.S. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (*Rhamdia spp*) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, Pimelodidae)**. 99 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS. 1980.

HANSON, L., GRIZZLE, J. Nitrite-induced predisposition of channel catfish to bacterial diseases. **Fish Culture**. V.47, P.98-101, 1985.

HARGREAVES, J. A. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. **Aquaculture**, V. 166, P. 181-212, 1998.

HUEY, D; SIMCOB, B. CRISWELL, D. Nitrite-induced methemoglobin formation in *Channel catfish*. **Transactions of the American Fisheries Society**, V. 109, N. 5, P.558-562, 1980.

JENSEN F.B. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, V. 135, P. 9–24, 2003.

KANEKO, T., HIRANO, T. Role of prolactin and somatolactin in calcium regulation in fish. **Journal of Experimental of Biology**, V. 184, P. 31-45, 1993.

KROUS S.R., BLAZER V.S., MEADE T.L. Effects of acclimation time on nitrite movement across the gill epithelia of rainbow trout: the role of “chloride cells”. **Progressive Fish-Culturist**, V. 44, P. 126–130, 1982.

LIMA, R. L.; BRAUN, N.; KOCHHANN, D.; LAZZARI, R.; RADÜNZ, J.; MORAES, B. S.; LORO, V. L.; BALDISSEROTTO, B. Survival, growth and metabolic parameters of silver catfish, *Rhamdia quelen*, juveniles exposed to different waterborne nitrite levels. **Neotropical Ichthyology**, 2013.

LEWIS W.M., MORRIS D.P. Toxicity of nitrite to fish: A Review. **Transactions of the American Fisheries Society**, V. 115, P. 183–195, 1986.

MARGIOCCO C., ARILLO A., MENSI P., SHENONE G. Nitrite bioaccumulation in *Salmo gairdneri* Rich. And haematological consequences. **Aquatic Toxicology**, V. 3, P. 261–270. 1983.

MARCHIORO, M. I. Sobrevivência de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824, Pisces, Pimelodidae) à variação do pH e salinidade da água de cultivo. 87f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 1997.

MAZEAUD, M.M., MAZEAUD, F., DONALDSON, E.M. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. **Trans. Am. Fish. Soc.**, V. 106, P. 201-212, 1977.

MIRON, D. S.; MORAES, B.; BECKER, A. G.; CRESTANI, M.; SPANEVELLO, R.; LORO, V. L.; BALDISSEROTTO, B. Ammonia and pH effects on some metabolic parameters and gill histology of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae). **Aquaculture**, V. 277, P. 192-196, 2008.

MIRON, D. S. **Efeito da amônia em diferentes pH da água na sobrevivência e crescimento de juvenis de jundiá, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae).** 2004, 46f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Pós-graduação em Zootecnia – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

MORGAN, J.D.; IWAMA, G. K. Measurements of stressed states in the field. In: IWAMA, G. K.; PICKERING, A.D.; SUMPTER, J.P.; SCHRECK, C.B. Eds. **Fish stress and health in aquaculture.** Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge University Press, New York, NY, P. 247 – 270, 1997.

OSTRENSKY, A.; MARCHIORI, M.A.; SANTOS, M.H.S. Degradação de alimentos naturais utilizados na maturação de *Penaeus paulensis* e sua influência sobre a qualidade da água. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, 34(2): P. 251-261, 1991.

PERSCHBACHERA, P. W.; WURTSB, W.A. Effects of calcium and magnesium hardness on acute copper toxicity to juvenile channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, V. 172, P. 275 – 280, 1999.

PICKERING, A.D. Introduction: The Concept of Biological Stress. In: PICKERING, A.D. (Ed.) **Stress and fish**. Academic Press. P. 367, 1981.

PIEDRAS, S. R. N.; MORAES, P. R. R.; POUEY, J. L. O. F. Crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) de acordo com a temperatura da água. **Boletim do Instituto de Pesca**, V. 30, N. 2, P. 177-182, 2004.

RUSSO, R.; THURSTON K. R.; EMERSON K. Acute toxicity of nitrite to rainbow trout (*Salmo gairdneri*): effects of pH, nitrite species, and anion species. Can. **Journal of Fish Aquatic Science**. V.38, P.387-397, 1981.

SILFVERGRIP, A. M. C. **A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. Stockholm, Sweden. 1996, 156f. PhD Thesis, Department of Zoology, Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, 1996.

SILVA, L.V.F.; GOLOMBIESKI, J.; BALDISSEROTTO, B. Growth and survivalincubation of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae) larvae at different calciumand magnesium concentration. **Neotropical Ichthyology**, V.3, N.2, P.299-304, 2005.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; MORAES M. A. G.; BRAGA F. M. S. Dynamics of some limnological characteristics in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) culture tanks as function of handling. **Revista Brasileira de Biologia**, V. 59, N.4, P. 543-551, 1999.

TOMASSO, J.R.; CHERVI, A.; GOUDIE, Bill; SIMCO, A.; DAVIS, K.B. Effects of environmental pH and calcium on ammonia toxicity in channel catfish. **Transactions of the American Fisheries Society**, V. 109, P. 229 – 234, 1980.

TOMASSO, J. R. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. Reviews in **Fisheries Science**, V. 2, P. 291-314, 1994.

TOMASSO, J. R.; GROSELL, M. Physiological basis for large differences in resistance to nitrite among freshwater and freshwater-acclimated euryhaline fishes. **Environmental Science & Technology**, V. 39, P. 98-102, 2005.

TOWNSEND, C. R.; SILVA, L. V. F.; BALDISSEROTTO, B. Growth and survival of *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Pimelodidae) larvae exposed to different levels of water hardness. **Aquaculture**, V. 215, P. 103-108, 2003.

TOWNSEND, C. R. & BALDISSEROTTO, B. Survival of silver catfish fingerlings exposed to acute changes of water pH and hardness. **Aquaculture International**. V.9, P.413-419, 2001.

WEDEMEYER, G.A., MCLEAY, D.J. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In Pickering, A. D. (Ed.). **Stress and Fish**. London: Academic Press, P.247-276, 1981.

WOOD, C. M. & McDONALD, G. Impact of environmental acidification on gill function in fish. **Environmental Protection Agency**. International Symposium Guangzhou. P. 162-182, 1988.

WURTS, W. A.; DURBOROW, R. M. Interactions of pH, carbon dioxide, alkalinity and hardness in fish ponds. **Aquaculture Program-SRAC publication**, 464 ed. 4 p. 1992.

ZAIONS, M. I.; BALDISSEROTTO, B. Na⁺ and K⁺ body levels and survival of fingerlings of *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Pimelodidae) exposed to acute changes of water pH. **Ciência Rural**, V. 30, N. 6,P. 1.041-1.045, 2000.

CAPÍTULO II

Manuscrito conforme normas da Neotropical Ichthyology e adaptações de acordo com o Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (ANEXO I)

Efeito do cálcio na redução da toxicidade do nitrito para juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*)

Centro de Ciências Agrárias e ambientais da Universidade Federal do Maranhão,
Chapadinha, MA, Brasil; Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade
Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

The objectives of this study were to determine the effect of different levels of nitrite (NO_2^-) associated with calcium (Ca^{2+}) in the water on the performance, biochemical and hematological parameters of jundiá (*Rhamdia quelen*). One hundred and sixty animals were stored in 16 boxes ($n = 10$) of 40 liters with constant aeration and kept in a water recirculation system with UV filter for 60 days. The design was completely randomized with 4 treatments and 4 replications in a factorial design with two levels of NO_2^- (0,05 e 1,4 mg L^{-1}) x 2 levels of Ca^{2+} in water (5 e 20 mg L^{-1}). Fish (8.9 ± 0.2 g and 15.0 ± 0.8 cm) were fed with the diet (32% CP and max. 2.0% Ca^{2+}) twice a day at home. Was done daily removal of waste by siphoning, and 80% of the water was replaced by another with nitrite and calcium levels previously set. The nitrite and calcium levels were maintained by the addition of sodium nitrite (NaNO_2) and calcium carbonate (CaCO_3), respectively. They evaluated: the growth performance, biochemical and hematological parameters for juvenile catfish (*Rhamdia quelen*). The final survival was not affected by nitrite levels associated with Ca^{2+} . At 30 days, it was observed that there was no change ($P > 0.05$) in weight gain, biomass, specific growth rate and feed conversion between the analyzed treatments. At 60 days, there was an increase ($P < 0.05$) in weight gain, biomass and specific growth rate for animals of the control treatment in relation to the treatment high NO_2^- and Ca^{2+} down, and for treatment low NO_2^- and Ca^{2+} high in relation to the treatment high NO_2^- and Ca^{2+} high. At the end of the experiment, it was found that the feed intake was higher of the treatment low NO_2^- and Ca^{2+} high in relation to the treatment high NO_2^- and Ca^{2+} high. No change ($P > 0.05$) for converting food to end the 60-day trial. No change ($P > 0.05$) in the levels of lactate and glycogen in the liver. The treatment showed control levels ($P < 0.05$) higher protein in the liver compared to fish subjected to high Ca^{2+} and NO_2^- low. Glucose levels in fish liver were higher ($P < 0.05$) in the control treatment in relation to the treatments low NO_2^- and Ca^{2+} high and high NO_2^- and Ca^{2+} down. The levels of lactate and glycogen in muscle showed a lower ($P < 0.05$) in the control treatment in relation to the treatment high NO_2^- and Ca^{2+} down. The protein level in the muscle was lower ($P < 0.05$) in treatment high NO_2^- and Ca^{2+} high in relation to treatment low NO_2^- and Ca^{2+} high and treatment high NO_2^- and Ca^{2+} down. Glucose levels in the muscle had a higher ($P < 0.05$) of the control treatment in relation to the treatment high NO_2^- and Ca^{2+} low, and higher of the treatment low NO_2^- and Ca^{2+} high in relation to the treatment high NO_2^- and Ca^{2+} high. The increase in hardness does not favored animals subjected to high levels of nitrite in relation to the hemoglobin levels. Fish exposed to high NO_2^- and Ca^{2+} high, showed a reduction in this parameter for the processing low NO_2^- and Ca^{2+} high (T2). This result may be an indication that there was

blood hemoglobin oxidation in methemoglobin, causing poisoning in fish. Thus, the use of $20 \text{ mg L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ in water has no positive effect in reducing the toxicity of nitrite in relation to performance, biochemical and hematological parameters for juvenile catfishes (*Rhamdia quelen*).

Os objetivos neste trabalho foram determinar o efeito de diferentes níveis de nitrito (NO_2^-) associado ao cálcio (Ca^{2+}) na água sobre o desempenho, parâmetros bioquímicos e hematológicos em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). Cento e sessenta animais foram estocados em 16 caixas ($n=10$) de 40 litros com aeração constante e mantidos em um sistema de recirculação de água com filtro U.V durante 60 dias. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 4 repetições em esquema fatorial com 2 níveis de NO_2^- ($0,05$ e $1,4 \text{ mg L}^{-1}$) x 2 níveis de Ca^{2+} na água (5 e 20 mg L^{-1}). Os peixes ($8,9 \pm 0,2 \text{ g}$ e $15,0 \pm 0,8 \text{ cm}$) foram alimentados com ração extrusada (32% PB e máx. 2,0 % de Ca^{2+}) duas vezes ao dia à vontade. Diariamente foi feito a retirada dos resíduos por sifonagem, e 80% da água foi substituída por outra com níveis de nitrito e cálcio previamente ajustados. Os níveis de nitrito e cálcio foram mantidos por meio da adição de nitrito de sódio (NaNO_2) e carbonato de cálcio (CaCO_3), respectivamente. Foram avaliados: o desempenho zootécnico, os parâmetros bioquímicos e hematológicos para juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). A sobrevivência final não foi afetada pelos níveis de nitrito associado ao Ca^{2+} . Aos 30 dias, observou-se que não houve alterações ($P>0,05$) no ganho de peso, biomassa, taxa de crescimento específico e conversão alimentar entre os tratamentos analisados. Aos 60 dias, observou-se aumento ($P<0,05$) no ganho de peso, biomassa e taxa de crescimento específico para os animais do tratamento controle em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo, e para o tratamento baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} alto. Ao final do período experimental, observou-se que o consumo de ração foi maior no tratamento baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} alto. Não houve alterações ($P>0,05$) para a conversão alimentar ao final dos 60 dias experimentais. Não houve alterações ($P>0,05$) nos níveis de lactato e glicogênio no fígado. Os animais do tratamento controle apresentaram níveis ($P<0,05$) mais elevados de proteína no fígado em relação aos peixes submetidos a alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo. Os níveis de glicose no fígado dos peixes foram maiores ($P<0,05$) no tratamento controle em relação aos tratamentos baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto e alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo. Os níveis de lactato e glicogênio no músculo apresentaram-se menor ($P<0,05$) no tratamento controle em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo. O nível de proteína no músculo foi menor ($P<0,05$) no tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} alto em relação ao tratamento baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto e ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo. Os níveis de glicose no músculo apresentaram-se maior ($P<0,05$) no tratamento controle em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo, e maior ($P<0,05$) no tratamento baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} alto. O aumento da dureza não favoreceu os animais submetidos a elevados níveis de nitrito em relação ao níveis de hemoglobina. Os peixes expostos a alto NO_2^- e Ca^{2+} alto, apresentaram uma redução neste parâmetro em relação ao tratamento baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto (T2). Tal resultado pode ser um indicativo de que houve oxidação da hemoglobina do sangue em metahemoglobina, causando intoxicação nos peixes. Sendo assim, a utilização de $20 \text{ mg L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ na água não apresenta efeito positivo na redução da toxidez do nitrito em relação ao desempenho, parâmetros bioquímicos e hematológicos para juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*).

Keywords: nitrite accumulation, biochemistry, nitrogen compound, hematology, zoophysiology.

Introdução

O nitrito é um componente natural do ciclo do nitrogênio, sendo encontrado em ecossistemas aquáticos e transportado através da membrana branquial pelo co-transportador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, competindo com o Cl^- . Assim, sempre que o nitrito está presente na água do ambiente, uma parte da absorção de Cl^- será deslocada para a absorção de NO_2^- (JENSEN, 2003).

A toxicidade do nitrito em peixes pode variar de uma família, espécie ou população para outra. Essa variação pode ser devido a diferentes taxas de captação de Cl^- nas brânquias. Peixes com alta taxa de captação de Cl^- pelas brânquias são mais sensíveis ao nitrito do que os que têm baixa taxa de captação (BALDISSEROTTO, 2013a; TOMASSO & GROSELL, 2005).

A presença de alguns íons comuns no meio aquático (cloreto de potássio, cloreto de cálcio, bicarbonato de sódio e cloreto de sódio) apresenta um forte efeito na diminuição da toxidez do nitrito, atuando de maneira antagônica na formação da metahemoglobina (HUEY et al, 1980; ARANA, 2010).

Entre os principais constituintes da dureza da água, o Ca^{2+} tem papel fundamental na regulação iônica (GONZAL et al., 1987; GONZALEZ, 1996; WOOD & McDONALD, 1988). O aumento do cálcio ambiental aumenta a tolerância do peixe a várias substâncias tóxicas, provavelmente por diminuir a permeabilidade da membrana branquial a estas substâncias (TOMASSO et al, 1980; BALDISSEROTTO, 2002).

Altas concentrações de cálcio, segundo Krous et al. (1982), geralmente reduzem a perda de cloreto através das brânquias, isto por sua vez diminui o requisito para captação de nitrito.

No estudo de Ferreira (2013) com o jundiá (*Rhamdia quelen*), o aumento da dureza da água pode ser recomendado somente quando essa espécie é submetida a situações de hipóxia e altos níveis de amônia. Segundo estes resultados, possivelmente a utilização da Ca^{2+} na água de cultivo pode reduzir a toxidez do nitrito.

O efeito mais importante do nitrito em peixes refere-se à capacidade que este composto tem de oxidar a hemoglobina do sangue, convertendo-a em metahemoglobina (JENSEN, 2003), provocando assim a morte do animal por asfixia. Contudo, supõe-se que a principal causa da toxicidade do nitrito não é a hipóxia em razão da formação da metahemoglobina, mas o efeito hepatotóxico do nitrito (BALDISSEROTTO, 2013a; ARANA, 2010).

O grau de toxicidade do nitrito apresenta variações específicas significantes entre as diferentes espécies, contudo seus efeitos associados ao nível de Ca^{2+} na água para teleósteos ainda é desconhecido. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes níveis de nitrito (NO_2^-) associado ao cálcio (Ca^{2+}) na água sobre os parâmetros zootécnicos e hematológicos em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*).

Material e métodos

Manejo experimental

Após um período de 15 dias de aclimação, 160 animais ($n=10$) com peso médio de $8,9 \pm 0,2$ g e $15,0 \pm 0,8$ cm de comprimento médio, foram estocados em caixas de polipropileno de 40 litros com aeração constante e mantidos em um sistema de recirculação de água com filtro U.V. durante 60 dias. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 4 repetições em esquema fatorial com 2 níveis de NO_2^- ($0,05$ e $1,4 \text{ mg L}^{-1}$) x 2 níveis de Ca^{2+} na água (5 e 20 mg L^{-1}). Os valores de referência em relação às concentrações de nitrito foram determinados de acordo com Lima et al (2011) (Tabela 1).

Durante o período experimental os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (*Ad libitum*), com a mesma dieta ofertada durante o período de aclimação (32% PB e máximo de 2,0 % de Ca^{2+}). Diariamente foi feita a retirada dos resíduos por sifonagem, e 80% da água das caixas foi substituída por outra água com níveis de nitrito e cálcio previamente ajustados. Os níveis de nitrito e cálcio foram mantidos por meio da adição de nitrito de sódio (NaNO_2) e carbonato de cálcio (CaCO_3), respectivamente.

A cada biometria (0, 30 e 60 dias) os peixes eram submetidos a 24 horas em jejum, coletados e sedados com eugenol $40 \mu\text{L L}^{-1}$ por 3 min segundo metodologia descrita por CUNHA et al., (2010).

Parâmetros zootécnicos

Foram avaliados os parâmetros zootécnicos: Sobrevivência (%): Sobreviventes ao final de cada período analisado / pela população inicial x 100; Ganho de peso: GP (g) = peso final (g) – peso inicial (g); Biomassa = peso médio (g) x número de sobreviventes ao final de cada período analisado; Taxa de crescimento específico: TCE (%) = $100 \times [(\ln \text{ peso final (g)} - \ln \text{ peso Inicial (g)}) / \text{período experimental}]$; Consumo de ração: Quantidade de alimento consumido (g) / número de peixes ao final de cada

período analisado; Conversão alimentar aparente: CAA = alimento fornecido (g) / ganho de peso (g).

Parâmetros bioquímicos

Ao final do período de exposição ao nitrito (60 dias), oito peixes de cada tratamento (n=8) foram despescados, anestesiados com eugenol 60µL L⁻¹ por 3 min e eutanasiados por secção da medula espinhal. As amostras de fígado, brânquias e músculo foram congeladas e armazenadas a -20°C até as análises.

O Glicogênio hepático e muscular foram determinados de acordo com Bidinotto et al.(1997) e as proteínas dos tecidos (fígado e músculo) segundo Lowry et al. (1951). As amostras de tecido foram homogeneizadas com ácido tricloroacético a 10%, utilizando um Motriz Pilão de Teflon e centrifugadas a 1000 xg durante 10 min. O sobrenadante desproteinado foi utilizado para a determinação dos níveis de lactato (HARROWER & BROWN, 1972) e glicose (PARK & JOHNSON, 1949).

Parâmetros hematológicos

Ao final do período experimental, quatro peixes de cada tratamento (n=4) foram submetidos às coletas de sangue para determinações hematológicas, sendo capturados aleatoriamente e previamente insensibilizados em gelo. As punções foram realizadas na veia caudal com o auxílio de seringas de 3 ml umedecidas com heparina, com as amostras coletadas variando entre 0,5 a 1,0 ml, armazenadas livres de coágulos em frascos do tipo “eppendorf” com capacidade para 1,5 ml. As determinações do hematócrito, número de hemácias e quantidade de hemoglobina, bem como os esfregaços sanguíneos foram realizados imediatamente após o processo de coleta. As colorações dos esfregaços com “Romanowsky” e determinações dos números totais e diferenciais leucocitários foram determinadas posteriormente (THRALL, 2006).

Determinou-se o micro-hematócrito a partir de 5 minutos de centrifugação à 12.000 rpm, e a concentração de hemoglobina foi determinada pelo método da Cianometahemoglobina, por Kit comercial (Bioclin), com verificação fotométrica realizada após a retirada dos núcleos das hemácias (THRALL, 2006).

O número de eritrócitos foi determinado através de Contagem em Câmara de Neubauer com profundidade de 0,1 mm, a partir de sangue total diluído em Natt-Herrick na proporção de 1/200.

Determinou-se o número total de Leucócitos a partir da verificação de sua proporção em relação ao número de eritrócitos em lâmina, utilizando-se 2.000 leucócitos como base de contagem.

O diferencial leucocitário foi determinado em lâmina, a partir da qualificação de 200 leucócitos. Índices hematimétricos (VCM e CHCM) obtidos através das fórmulas: $VCM = HT/HM$; $CHCM = HB/HT$.

Os valores de proteína plasmática total (PPT) foram verificados por refratometria.

Parâmetros de qualidade da água

O oxigênio dissolvido, a temperatura e o pH foram determinados diariamente (Oxímetro YSI modelo Y5512 YSI Inc. Yellow Springs, EUA e pHmetro DMPH-2, respectivamente). A temperatura no laboratório foi mantida estável com o auxílio de um aparelho de ar condicionado.

Os níveis de nitrito foram determinados diariamente de acordo com Boyd (1998). Os níveis de dureza e alcalinidade total foram determinados semanalmente pelo método de Adad (1982) e de titulação de EDTA (EATON et al., 2005), respectivamente.

Os níveis totais de amônia foram verificados diariamente conforme Verdouw et al. (1977) e os níveis de amônia não ionizada foram calculados de acordo com Colt (2002).

Análise estatística

As relações entre os níveis de NO_2^- e Ca^{2+} com os parâmetros de crescimento, bioquímicos e hematológicos foram avaliados utilizando-se o software Sigma Trace 8.0. A homogeneidade das variâncias entre os grupos foi verificada com o teste de Levene. Dados apresentando variâncias homogêneas, e as comparações entre os diferentes tratamentos foram analisados pela análise de variância em esquema fatorial ao nível de 5% de probabilidade. Em caso de diferenças significativas, as médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey ($p < 0,05$). A análise foi realizada utilizando o software Statistica (versão 5.1). Os dados foram apresentados como média $\pm$ Erro.

A metodologia deste trabalho foi aprovada pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal Comitê da Universidade Federal de Santa Maria. Processo numero: 108/2014 (ANEXO II).

Resultados

Os valores médios dos parâmetros de qualidade da água analisados foram: temperatura $22,71 \pm 0,16$ °C; pH $7,36 \pm 0,03$; oxigênio dissolvido $7,8 \pm 0,03$ mg L⁻¹; amônia não-ionizada $0,011 \pm 0,001$ mg L⁻¹. Os valores de nitrito, dureza e alcalinidade mantiveram-se dentro dos padrões idealizados para a realização do experimento. T1: nitrito: $0,045 \pm 0,001$ mg L⁻¹; dureza: $20,88 \pm 0,001$ mg L⁻¹CaCO₃; alcalinidade: $38,25 \pm 0,2$. T2: nitrito: $0,046 \pm 0,003$ mg L⁻¹; dureza: $44,88 \pm 0,001$ mg L⁻¹CaCO₃; alcalinidade: $48,125 \pm 0,2$ mg L⁻¹CaCO₃. T3: nitrito: $1,308 \pm 0,002$ mg L⁻¹; dureza: $25,33 \pm 0,001$ mg L⁻¹CaCO₃; alcalinidade: $38,75 \pm 0,3$ mg L⁻¹CaCO₃. T4: nitrito: $1,242 \pm 0,009$ mg L⁻¹; dureza: $40,44 \pm 0,001$ mg L⁻¹CaCO₃; alcalinidade: $46,375 \pm 0,2$ mg L⁻¹CaCO₃.

Não houve alterações ($P > 0,05$) na sobrevivência dos peixes em relação à exposição aos níveis de NO₂⁻ associado ao Ca²⁺ na água (Tabela 2).

A exposição aos níveis de NO₂⁻ associado ao teor de Ca²⁺ na água aos 30 dias, não alterou ($P > 0,05$) o ganho de peso, biomassa, taxa de crescimento específico e conversão alimentar entre os tratamentos analisados, contudo, houve aumento ($P < 0,05$) no consumo de ração no tratamento baixo NO₂⁻ e Ca²⁺ alto em relação ao tratamento alto NO₂⁻ e Ca²⁺ alto (Tabela 2).

Aos 60 dias, observou-se aumento ($P < 0,05$) no ganho de peso, biomassa e taxa de crescimento específico para os animais do tratamento controle em relação ao tratamento alto NO₂⁻ e Ca²⁺ baixo. Este resultado também foi observado para o tratamento baixo NO₂⁻ e Ca²⁺ alto em relação ao tratamento alto NO₂⁻ e Ca²⁺ alto. Ao final do período experimental, observou-se que o consumo de ração foi maior no tratamento baixo NO₂⁻ e Ca²⁺ alto em relação ao tratamento alto NO₂⁻ e Ca²⁺ alto. Observou-se que os alevinos deste grupo (baixo NO₂⁻ e Ca²⁺ alto) buscavam os grânulos de ração com maior voracidade em relação aos outros tratamentos durante a administração do alimento. A exposição aos níveis de NO₂⁻ associado ao Ca²⁺ na água não alterou ($P > 0,05$) a conversão alimentar ao final dos 60 dias experimentais (Tabela 2).

A exposição aos níveis de NO₂⁻ associado ao Ca²⁺ na água não alterou ($P > 0,05$) os níveis de lactato e o glicogênio no fígado. Os animais do tratamento controle apresentaram níveis ($P < 0,05$) mais elevados de proteína no fígado em relação aos peixes submetidos a alto NO₂⁻ e Ca²⁺ baixo. Os níveis de glicose no fígado dos peixes foram

maiores ($P<0,05$) no tratamento controle em relação aos tratamentos baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto e alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo (Tabela 3).

Os níveis de lactato e glicogênio no músculo apresentaram-se menor ($P<0,05$) no tratamento controle em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo. O nível de proteína no músculo foi menor ($P<0,05$) no tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} alto em relação ao tratamento baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto e ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo. Os níveis de glicose no músculo apresentaram-se maior ($P<0,05$) no tratamento controle em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} baixo, e maior ($P<0,05$) no tratamento baixo NO_2^- e Ca^{2+} alto em relação ao tratamento alto NO_2^- e Ca^{2+} alto (Tabela 3).

Em relação aos parâmetros hematológicos, não houve diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos para os níveis de hematócrito, hemácias, volume corpuscular médio (VCM), concentração média de hemoglobina (CHCM), leucócitos, proteínas plasmáticas totais (PPT), linfócitos, neutrófilos, monócitos e eosinófilos. Contudo, observou-se uma redução ($P<0,05$) nos níveis de hemoglobina nos peixes do tratamento alto NO_2^- e alto Ca^{2+} em relação ao tratamento baixo NO_2^- e alto Ca^{2+} (Tabela 4).

Discussão

A qualidade da água entre os tratamentos durante o período experimental apresentou-se dentro da faixa recomendável para *Rhandia quelem* (BALDISSEROTTO, 2013b), não interferindo, portanto, nos resultados obtidos neste estudo.

A exposição aos níveis de NO_2^- associado ao Ca^{2+} na água não alterou a sobrevivência dos juvenis de jundias, contudo em alguns exemplares mortos durante a fase experimental, observou-se a presença de lesões atribuídas à presença de um agente patogênico do gênero *Aeromonas*. Segundo Hanson e Grizzle (1985) algumas espécies expostas a concentrações de nitrito não morrem, mas apresentam sintomas de estresse e aumento da susceptibilidade às enfermidades bacterianas, o que pode levar como consequência a redução no crescimento.

Avaliando a sobrevivência e os parâmetros de crescimento em juvenis de jundiá, Lima et al (2011) observaram que ao final de 40 dias de exposição a níveis de até $1,19 \text{ mg L}^{-1}$ de nitrito não foram afetado: sobrevivência, peso, comprimento e taxa de crescimento específico para a espécie. Mas em $1,52 \text{ mg L}^{-1}$ de nitrito houve mortalidade de 100% dos peixes ao final do período experimental. O autor afirma que a

concentração letal de nitrito para o Jundiá está em torno de 20 mg/L, mas os níveis devem ficar abaixo de 1,2 mg/L para não causarem mortalidade a médio prazo. Os valores mínimos de compostos nitrogenados que afetam o crescimento de peixes estão na faixa de 3-12 % da CL50 - 96h (TOMASSO, 1994). Segundo estudo de Kroupova et al. (2008), a exposição de truta arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*) ao NO_2^- , reduziu o crescimento, mas a sobrevivência não foi afetada pela exposição de até 1 mg L^{-1} de nitrito.

Os parâmetros metabólicos e hematológicos são ferramentas úteis para se determinar as características sanguíneas dos peixes (CENTENO et al., 2007; TAVARES-DIAS & MORAES, 2007), pois fornecem informações relevantes sobre as condições fisiológicas e a saúde do indivíduo ou de sua população, as quais são extremamente importantes para seu manejo e manutenção em peixes de cativeiros.

No entanto, essas ferramentas têm sido pouco utilizadas porque os valores normais, e seus intervalos de confiança, para as diferentes espécies e em diferentes condições de cultivo, ainda estão indefinidos. Em jundiás as alterações das células sanguíneas, antes de estresse (valores basais) e após (estresse agudo e crônico) pode ser um indicativo de condições ambientais adversas como temperatura, pH, amônia, nitrito ou baixas concentração de oxigênio ou ainda a presença de produtos químicos tóxicos, excesso de compostos orgânicos e alta densidade de estocagem (BARCELLOS et al., 2004).

Peixes expostos ao NO_2^- demonstraram uma diminuição funcional nos níveis sanguíneos de hemoglobina, pois a hemoglobina é convertida em metemoglobina (AGGERGAARD & JENSEN, 2001). A redução nos níveis de hemoglobina no tratamento alto NO_2^- e alto Ca^{2+} pode ser um indicativo de que houve uma oxidação da hemoglobina do sangue em metahemoglobina, causando intoxicação nos animais.

O nitrito penetra nas hemácias e oxida o ferro, transformando a hemoglobina em metahemoglobina, que não se liga ao oxigênio (BALDISSEROTO, 2013a). O aumento dos níveis de metahemoglobina leva ao aparecimento de sintomas de asfixia (SPOTTE, 1979). Resultado semelhante foi observado por Avilez et al. (2004), onde exemplares de matrinxã (*Brycon cephalus*) expostos a 0,2; 0,4 e 0,6 $\text{mg L}^{-1}\text{NO}_2^-$ diminuíram o hematócrito, hemoglobina total e o número de células vermelhas do sangue.

Neste estudo, os níveis de lactato no fígado não foram alterados em função dos níveis de nitrito, apresentando resultados diferentes de Lima et al (2011), onde os jundiás mantidos em elevados níveis de NO_2^- apresentam maiores níveis de lactato no

fígado em relação a peixes expostos a baixas concentrações de NO_2^- na água. Um aumento do teor de lactato no fígado e no músculo do peixe indica distúrbios metabólicos, sugerindo que esteja havendo estresse respiratório nos peixes (BEGUM & VIJAYARAGHAVAN, 1999).

Com relação aos níveis de glicose no fígado e músculo dos peixes, Lima et al (2011) observaram resultado similar ao presente estudo, onde os níveis de glicose no fígado e músculo dos peixes expostos a alto nitrito foram menores do que em peixes expostos a baixos níveis de NO_2^- na água. A exposição crônica ao NO_2^- , provoca uma oxidação anaeróbica do substrato para obtenção de energia. Essa redução da glicose, e consequente aumento nos teores de lactato, pode significar fermentação da glicose formando lactato, deixando oxigênio disponível para a degradação de proteína.

A redução dos níveis de glicose no tratamento baixo NO_2^- e alto Ca^{2+} indica que houve queima de glicose para processar o excesso de Ca^{2+} na água sem a necessidade de utilizar a via anaeróbica, comprovado pelos baixos níveis de lactato no referido grupo. Da mesma maneira, a redução nos níveis de proteína pode significar preferência dos jundiás intoxicados em utilizar as proteínas para suprir suas necessidades energéticas.

Os resultados obtidos nesse experimento indicam que a utilização de 20 mg L^{-1} Ca^{2+} na água não foi suficiente para atuar de forma protetora em relação à toxicidade do NO_2^- .

Conclusão

A utilização de Ca^{2+} na água não minimiza a toxidez do nitrito em relação aos parâmetros zootécnicos, bioquímicos e hematológicos em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*).

Agradecimentos

A Universidade Federal do Maranhão/UFMA, a Universidade Federal de Santa Maria e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Maranhão/FAPEMA.

Literatura citada

Adad, J. M. T., 1982. Controle químico de qualidade da água. Guanabara Press, Rio de Janeiro, 203p.

Aggergaard, S. & Jensen F. B., 2001. Cardiovascular changes and physiological response during nitrite exposure in rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, V. 59, P. 13-27.

Arana, L.V. 2010. Qualidade da água em aquicultura: Princípios e Práticas. 3ed. rev. Florianópolis, Ed. Da UFSC, 238p.

Avilez, I. M., L. H. Aguiar, A. E. Altran, G. Moraes. 2004. Acute toxicity of nitrite to matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869), (Teleostei-Characidae). *Ciência Rural*, V. 34, P. 1753-1756.

Baldisserotto, B. 2013a. Fisiologia de peixes aplicada a piscicultura. 3º edição revisada e ampliada. Ed. da UFSM. 355p.

Baldisserotto, B.; Gomes, L. C. 2013b. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Ed. da UFSM, 608p.

Baldisserotto, B. 2002. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. Ed. da UFSM. Santa Maria.

Barcellos, L.J.G., Kreutz, L.C., Quevedo, R.M., Fioreze, I., Cericato, L., Soso, A.B., Fagundes, M., Conrad, J., Baldissera, R.K., Bruschi, A.; Ritter, F. 2004. Nursery rearing of jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. *Aquaculture*, V. 232, P.383-394.

Begum, G., Vijayaraghavan, S., 1999. Effect of acute exposure of the organophosphate insecticide rogor on some biochemical aspects of *Clarias batrachus* (Linnaeus). *Environ. Res.*, V 80A, P. 80–83.

Bidinoto, P. M.; Souza R. H. S.; Moraes, G. 1997. Hepatic glycogen and glucose in eight tropical freshwater teleost fish: a procedure for field determinations of micro samples. Boletim Técnico do CEPTA, V. 10, P. 53-60.

Boyd, C. E. 1998. Water quality for pond aquaculture. Research and Development Series. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments. Alabama, Auburn University, V. 3, P. 1-37.

Centeno, L.; Silva-Acuña, R.; Barrios, R. Lugo, R.S.; Matute, C.; Pérez, J.L. 2007. Hematological characteristics of cachama (*Colossoma macropomum*) in three phases of the growth in Delta Amacuro, Venezuela. Zootecnia Tropical, V. 25, P. 237-243.

Colt, J. 2002. List of spreadsheets prepared as a complement. Disponível em: <http://www.fisheries.org/afs/hatchery.html>. Em: Wedemeyer G.A. (ed.), Fish Hatchery Management, 2 ed., American Fisheries Society.

Cunha, M. A.; Zeppenfeld, C. C.; Garcia, L. O.; Loro, V. L.; Fonseca, M. B. Emanuelli, T.; Veeck, A. P. L.; Copatti, C. E. Baldisserotto, B. 2010. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. Ciência rural, Santa Maria, V.40, N.10, P.2107-2114.

Eaton, A.D.; Clesceri, L.S.; Rice, E.W.; Greenberg, A.B. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21 ed., Washington: American Public Health Association.

Ferreira, F.W.; Cunha, R. B.; Baldisserotto, B. 2013. The survival and growth of juvenile silver catfish, *Rhamdia quelen*, exposed to different NH₃ and hardness levels. Journal of the world aquaculture society, V. 44, N. 2.

Gonzal, A. C.; Aralar, E. V.; Pavico, J. M. 1987. The effects of water hardness on the hatching and viability of silver carpas (*Hypophthalmichthys molitrix*) eggs. Aquaculture, V. 64, P. 111-118.

Gonzalez, R. J. Ion regulation in ion poor waters of low pH. In: Val, A. L.; Almeida – Val, V. M. F.; Randall, D. J. Physiology and Biochemistry of the Fishes of the Amazon. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, V. 420, P.1996.

HANSON, L. & GRIZZLE, J. 1985. Nitrite-induced predisposition of channel catfish to bacterial diseases. Fish Culture. V.47, P.98-101.

Harrower, J. R.; Brown, C. H. 1972. A micromethod adapted to field collection of microliter samples. Journal Applied Physics, V. 32, P. 709-711.

Huey, D; Simcob, B.; Criswell, D. 1980. Nitrite-induced methemoglobin formation in *Channel catfish*. Transactions of the American Fisheries Society, V. 109, P. 5, P.558-562.

Jensen, F. B. 2003. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. Comparative Biochemistry and Physiology Part A, V. 135, P. 9-24.

Kroupova, H., J. Machova, V. Piackova, J. Blahova, R. Dobsikova, L. Novotny & Z. Svobodova. 2008. Effects of subchronic nitrite exposure on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Ecotoxicology and Environmental Safety, V. 71, P. 813-820.

Krous S.R., Blazer V.S., Meade T.L. 1982. Effects of acclimation time on nitrite movement across the gill epithelia of rainbow trout: the role of “chloride cells”. Progressive Fish-Culturist, V. 44, P. 126–130.

Lima, R. L.; Braun, N.; Kochhann, D.; Lazzari, R.; Neto, J. R.; Moraes, B. S.; Moro, V. L.; Baldisserotto, B. 2011. Survival, growth and metabolic parameters of silver catfish, *Rhamdia quelen*, juveniles exposed to different waterborne nitrite levels. Neotropical Ichthyology, V. 9, N. 1, P.147-152.

Lowry, D. H.; Rosenbrough N. J.; Farr A. L.; Randal R. J. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, V. 193, P. 265-275.

Park, J. T.; Johnson, M. J. 1949. A submicro determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry*, V. 181, P. 149-151.

Spotte, S. 1979. *Fish and invertebrate culture*. New York, John Wiley and Sons, 179p.

Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. 2007. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. *Journal of Fish Biology*, V. 71, P. 383-388.

Thrall, M. A. 2006. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Capítulo 19, Hematologia de Peixes, P. 265-276.

Tomasso, J.R.; Chervi, A.; Goudie, Bill; Simco, A.; Davis, K.B. 1980. Effects of environmental pH and calcium on ammonia toxicity in channel catfish. *Transactions of the American Fisheries Society*, V. 109, P. 229 – 234.

Tomasso, J. R.; Grosell, M. 2005. Physiological basis for large differences in resistance to nitrite among freshwater and freshwater-acclimated euryhaline fishes. *Environmental Science & Technology*, V. 39, P. 98-102.

Tomasso, J. R. 1994. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. *Reviews in Fisheries Science*, V. 2, P. 291-314.

Verdouw, H.; Van echteld C. J. A.; Dekkers E. M. J. 1977. Ammonia determination based on indophenol formation with sodium salicylate. *Water Research*, V. 12. P. 399-402.

Wood, C. M. & McDonald, G. 1988. Impact of environmental acidification on gill function in fish. Environmental Protection Agency. International Symposium Guangzhou. P. 162-182.

Tabelas

Tabela 1: Tratamentos utilizados (associações entre NO_2^- e Ca^{2+}) com juvenis de *Rhamdia quelen* durante o período experimental de 60 dias

Tratamentos	Concentrações
T1(Controle)	Abaixo de $0,05 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_2^- + 5 \text{ mg L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$
T2	Abaixo de $0,05 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_2^- + 20 \text{ mg L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$
T3	$1,4 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_2^- + 5 \text{ mg L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$
T4	$1,4 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_2^- + 20 \text{ mg L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$

Tabela 2: Sobrevivência, ganho de peso, biomassa, taxa de crescimento específico, consumo de ração e conversão alimentar de juvenis de *Rhamdia quelen*, expostos a diferentes níveis de nitrito e cálcio na água por 60 dias.

Dias	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
<i>Sobrevivência (%)</i>				
30	97,5±2,5	87,5±4,7	77,5±9,4	87,5±7,5
60	95±2,8	87,5±4,7	70±8,1	85±8,6
<i>Ganho de peso (g)</i>				
30	7,51±0,75	9,23±1,84	3,64±0,47	4,08±0,67
60	21,27±2,74*	26,90±3,89 ⁺	10,29±0,83	9,75±1,82
<i>Biomassa (g)</i>				
30	159,2±7,7	166,1±25,3	98,8±11,3	106,8±12,5
60	285,5±22,6*	322,4±51,2 ⁺	136,6±19,1	151,5±18,3
<i>Taxa de crescimento específico (%)</i>				
30	2,04±0,16	2,23±0,33	1,11±0,14	1,31±0,19
60	2,02±0,16*	2,22±0,19 ⁺	1,25±0,08	1,28±0,17
<i>Consumo de ração (g)</i>				
30	6,73±0,48	10,06±1,34 ⁺	6,58±1,05	5,55±0,66
60	21,3±2,61	26,90±3,93 ⁺	10,3±1,41	9,75±1,62
<i>Conversão alimentar (g)</i>				
30	0,90±0,04	1,13±0,09	1,81±0,17	1,56±0,38
60	1,12±0,18	0,99±0,01	1,33±0,05	1,30±0,23

Notação: (T1) $0,05 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_2^- + 5 \text{ mg L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$; (T2) $0,05 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_2^- + 20 \text{ mg L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$; (T3) $1,4 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_2^- + 5 \text{ mg L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ (T4) $1,4 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_2^- + 20 \text{ mg L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$.

- Média e erro padrão (n=10). (#) Indica diferença significativa em relação ao T1; (0) Indica diferença significativa em relação ao T2; (*) Indica diferença significativa em relação ao T3; (+) Indica diferença significativa em relação ao T4. Para o teste de Tukey ($P > 0,05$).

Tabela 3: Parâmetros metabólicos de fígado e músculo de juvenis de *Rhamdia quelen*, expostos a diferentes níveis de nitrito e cálcio na água por 60 dias.

Parâmetros	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
<i>Fígado</i>				
Lactato ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	3,48 $\pm$ 0,7	2,35 $\pm$ 0,1	4,43 $\pm$ 0,3	4,19 $\pm$ 0,3
Glicogênio ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	34,38 $\pm$ 4,4	25,24 $\pm$ 1,8	36,83 $\pm$ 2,0	31,95 $\pm$ 5,1
Proteína (mg.g^{-1})	485,4 $\pm$ 105,2*	291,2 $\pm$ 28,5	199,0 $\pm$ 47,6	184,8 $\pm$ 14,5
Glicose ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	161,44 $\pm$ 10,8 ⁰ *	75,00 $\pm$ 5,8	46,69 $\pm$ 6,5	58,07 $\pm$ 5,9
<i>Músculo</i>				
Lactato ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	25,28 $\pm$ 1,5*	26,92 $\pm$ 2,9	34,40 $\pm$ 1,3	31,68 $\pm$ 1,3
Glicogênio ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	1,52 $\pm$ 0,2*	1,13 $\pm$ 0,2	3,06 $\pm$ 0,5	2,08 $\pm$ 0,2
Proteína (mg.g^{-1})	256,0 $\pm$ 30,2	285,3 $\pm$ 15,2	309,0 $\pm$ 24,6	140,6 $\pm$ 12,7 ⁰ *
Glicose ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	15,20 $\pm$ 3,5*	14,26 $\pm$ 0,8 ⁺	4,98 $\pm$ 0,5	3,55 $\pm$ 0,7

Notação: (T1) 0,05 $\text{mg L}^{-1}\text{NO}_2^-$ + 5 $\text{mg L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$; (T2) 0,05 $\text{mg L}^{-1}\text{NO}_2^-$ + 20 $\text{mg L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$; (T3) 1,4 $\text{mg L}^{-1}\text{NO}_2^-$ + 5 $\text{mg L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$ (T4) 1,4 $\text{mg L}^{-1}\text{NO}_2^-$ + 20 $\text{mg L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$.

- Média e erro padrão (n=8). (#) Indica diferença significativa em relação ao T1; (0) Indica diferença significativa em relação ao T2; (*) Indica diferença significativa em relação ao T3; (+) Indica diferença significativa em relação ao T4. Para o teste de Tukey (P>0,05).

Tabela 4: Parâmetros hematológicos de juvenis de *Rhamdia quelen*, expostos a diferentes níveis de nitrito e cálcio na água em 60 dias.

Parâmetros	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
Hematócrito (%)	26,7 $\pm$ 2,9	28,0 $\pm$ 1,2	25,7 $\pm$ 1,0	22,0 $\pm$ 2,3
Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	146,7 $\pm$ 23,9	159,5 $\pm$ 8,2	161,7 $\pm$ 9,9	127,0 $\pm$ 12,9
Hemoglobina (g/dL)	5,3 $\pm$ 0,6	6,2 $\pm$ 0,5	4,9 $\pm$ 0,2	4,1 $\pm$ 0,4 ⁰
VCM (fL)	188,6 $\pm$ 13,6	176,2 $\pm$ 7,5	160,2 $\pm$ 8,1	175,1 $\pm$ 15,4
CHCM (g/dL)	20,0 $\pm$ 1,4	22,2 $\pm$ 1,4	19,1 $\pm$ 0,1	19,1 $\pm$ 1,8
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	12,7 $\pm$ 1,8	13,9 $\pm$ 0,8	13,4 $\pm$ 2,3	9,5 $\pm$ 2,4
PPT (g/dL)	5,1 $\pm$ 0,3	4,9 $\pm$ 0,09	5,4 $\pm$ 0,2	5,0 $\pm$ 0,1
Linfócitos (%)	58,0 $\pm$ 5,5	44,0 $\pm$ 2,2	56,0 $\pm$ 7,5	53,5 $\pm$ 6,6
Neutrófilos (%)	35,2 $\pm$ 6,0	50,7 $\pm$ 3,0	36,0 $\pm$ 6,5	36,5 $\pm$ 5,6
Monócitos (%)	6,7 $\pm$ 1,2	5,2 $\pm$ 0,8	8,0 $\pm$ 1,4	10,0 $\pm$ 3,1
Eosinófilos (%)	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0

Notação: (T1) 0,05 $\text{mg L}^{-1}\text{NO}_2^-$ + 5 $\text{mg L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$; (T2) 0,05 $\text{mg L}^{-1}\text{NO}_2^-$ + 20 $\text{mg L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$; (T3) 1,4 $\text{mg L}^{-1}\text{NO}_2^-$ + 5 $\text{mg L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$ (T4) 1,4 $\text{mg L}^{-1}\text{NO}_2^-$ + 20 $\text{mg L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$.

- Média e erro padrão (n=8). (#) Indica diferença significativa em relação ao T1; (0) Indica diferença significativa em relação ao T2; (*) Indica diferença significativa em relação ao T3; (+) Indica diferença significativa em relação ao T4. Para o teste de Tukey (P>0,05).

ANEXO 1: NORMAS DA REVISTA REFERENTES AO CAPITULO 2 NEOTROPICAL ICHTHYOLOGY

Escopo e política editorial

A revista Neotropical Ichthyology publica artigos originais sobre peixes neotropicais de água doce e marinhos nas áreas de Biologia, Ecologia, Etologia, Fisiologia, Genética e Biologia Molecular e Sistemática.

Os manuscritos submetidos deverão ser contribuições relevantes dentro de sua área de investigação específica, devendo apresentar clara fundamentação teórica do tema, descrição dos objetivos e/ou hipóteses em análise, além de desenho amostral e analítico condizentes com a proposta. Trabalhos descritivos originais de elevada qualidade e relevância serão considerados para publicação. Observações casuais, notas científicas ou estudos meramente descritivos sem associação com questões teóricas relevantes não serão considerados para análise. O Editor e os editores de área avaliarão previamente o manuscrito submetido, a fim de determinar se seu conteúdo é adequado para publicação na revista Neotropical Ichthyology.

A revista está aberta para submissões a todos os pesquisadores da ictiofauna Neotropical. O pagamento dos custos de publicação pode ser requerido se nenhum dos autores for membro da Sociedade Brasileira de Ictiologia.

Submissão de manuscritos

Manuscritos devem ser submetidos como arquivos digitais no sítio <http://mc04.manuscriptcentral.com/ni-scielo>

Na submissão do manuscrito, os autores devem incluir uma carta com uma declaração de que se constitui em pesquisa original não submetida a outro periódico.

Nos manuscritos com múltiplos autores, o autor responsável pela submissão deve declarar na carta de submissão que todos os co-autores estão cientes e de acordo com a submissão do manuscrito.

Todos os co-autores e respectivos e-mails devem ser registrados nos formulários indicados durante a submissão do manuscrito.

Durante a submissão, indicar a área da revista (Bioquímica e Fisiologia, Biologia, Ecologia, Etologia, Genética e Biologia Molecular, Sistemática) a que o manuscrito se refere.

Durante a submissão, indique três possíveis referees (nome, instituição, país e e-mail) para a análise do manuscrito.

Manuscritos submetidos fora do formato requerido nas instruções aos autores serão devolvidos.

Manuscritos submetidos com uso inapropriado da língua inglesa serão devolvidos sem revisão. O uso adequado da língua inglesa é um requisito para a revisão e publicação.

Forma e preparação de manuscritos

Texto deve ser em Word for Windows ou arquivos rtf.

Figuras e tabelas devem ser carregadas separadamente como arquivos individuais.

Não duplique informações no texto, nas figuras e nas tabelas. Apresente apenas figuras e tabelas que são estritamente necessárias.

Formato

Texto deve ser apresentado em inglês.

O manuscrito deve conter os seguintes itens, nesta ordem:

Título

- Título em minúsculas da seguinte forma: “*Isbrueckerichthys epakmos*, a new species of loricariid catfish from the rio Ribeira de Iguape basin, Brazil (Teleostei: Siluriformes)”.

- Táxons subordinados devem ser separados por dois-pontos, como segue: “(Siluriformes: Loricariidae)”.

Autor (es) nome (s)

- Só as iniciais devem ser em letras maiúsculas. Nunca abrevie o primeiro nome.

Endereços

- Não apresente os endereços em nota de rodapé.

- Use números arábicos sobrescritos¹ para identificação no caso de múltiplos autores e endereços.

- Listar endereços completos e e-mail de todos os autores.

Abstract

- Em inglês.

Resumo

- Em Português ou espanhol. Deve ter o mesmo conteúdo do *Abstract* em inglês.

Palavras-chave

- Cinco palavras-chave em inglês, não repetir palavras ou expressões do título.

Introdução

Material e Métodos

Resultados

Discussão

Agradecimentos

Literatura citada

Tabela (s)

Legenda(s) da(s) Figura(s)

Em trabalhos taxonômicos Verifique também: *Neotropical Ichthyology* taxonomic contribution style sheet.

Texto

- Páginas de texto não podem incluir cabeçalhos, rodapés, ou notas de rodapé (exceto o número de página) ou qualquer formato de parágrafo. Texto deve ser alinhado à esquerda.

- Usar Times New Roman, fonte tamanho 12.

- Não hifenizar o texto.

- Usar a fonte “symbol” para representar os caracteres a seguir:

χ μ θ ω ε ρ τ ψ υ ι ο π α σ δ φ γ η φ κ λ ε ϖ β ν ≅ Θ Ω Σ Δ Φ

- Espécies, gêneros e termos em Latim (*et al.*, *in vitro*, *in vivo*, *vs.*) devem ser em itálico.

- Termos em Latim apresentados entre os nomes genéricos e específicos - cf., aff. (por exemplo, *Hoplias* cf. *malabaricus*) não devem ser em itálico.

- Não abreviar o nome do gênero no início de uma frase ou parágrafo.

- Não sublinhar palavras.

- Os títulos a seguir devem ser apresentados em negrito: **Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Acknowledgments, Literature Cited.**

- Listar abreviaturas utilizadas no texto em Material e Métodos, exceto para aqueles de uso comum (por exemplo, min, km, mm, kg, m, s, h, ml, L, g). 3

- As medidas devem usar o sistema métrico.

- Manuscritos devem conter as siglas institucionais e os números de catálogo de espécimes-testemunho.

- Descritores geográficos (rio, igarapé, arroio, córrego) devem ser em letras minúsculas, exceto quando se refere a um nome de localidade (*e.g.*, municipality of Arroio dos Ratos, State of Rio Grande do Sul).

- Agradecimento(s) deve(m) ser conciso(s).

Nomenclatura

- Nomes científicos devem ser citados de acordo com o ICZN (1999).
- A autoria de nomes científicos é necessária apenas em trabalhos taxonômicos e na primeira referência de uma espécie ou gênero. Não inclua autoria no resumo e abstract.
- Verifique a ortografia, nomes válidos e autoria de espécies no *Catalog of Fishes* em <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>.

Tabelas

- Tabelas devem ser numeradas sequencialmente de acordo com a sua ordem de citação no texto, usando os seguintes formatos: Table 1, Tables 1-2, Tables 1, 4.
- A palavra **Table** e o respectivo número devem ser grifados em negrito nas legendas das Tabelas.
- Tabelas devem ser construídas usando linhas e colunas; não use tabulações e espaços.
- Tabelas não podem conter linhas verticais ou notas de rodapé. Arquivos digitais de tabelas devem ser formatados em células. Arquivos digitais de tabelas com colunas separadas por tabulação ou espaço não serão aceitas.
- Legendas devem ser incluídas no final do manuscrito, no seguinte formato:

Table 1. Monthly variation of the gonadosomatic index in *Diapoma speculiferum* ...

- Os locais aproximados onde as tabelas devem ser inseridas devem ser indicados ao longo da margem do texto.

Figuras

- Figuras devem ser numeradas sequencialmente de acordo com a sua ordem de citação no texto, usando os seguintes formatos: Fig. 1, Figs. 1-2, Fig. 1a, Figs. 1a-b, Figs. 1a, c.
- A palavra **Fig.** e respectivo número devem ser apresentado em negrito nas legendas.
- Figuras devem ser de alta qualidade e definição.
- Texto incluído em gráficos e imagens deve ter tamanho de fonte compatível com reduções à largura da página (175 mm) ou largura da coluna (85 mm). Gráficos serão impressos preferencialmente com a largura de uma coluna (85 mm).
- Fotos coloridas serão aceitas somente se necessário e o custo da impressão poderá ser cobrado dos autores.

- Figuras compostas devem ser preparadas a fim de ajustar-se à largura da página (175 mm) ou largura da coluna (85 mm).
- Ilustrações devem incluir uma escala ou uma referência para o tamanho do item ilustrado na legenda da figura.
- Nunca inclua objetos ou ilustrações na legenda da figura. Substituir por texto (*e.g.*, “triângulo preto”) ou representar seu significado na própria figura.
- Uma lista de legendas das figuras deve ser apresentada no final do arquivo do manuscrito.

Literatura Citada

- Use os seguintes formatos de citação no texto: Eigenmann (1915, 1921) ou (Eigenmann, 1915, 1921; Fowler, 1945, 1948) ou Eigenmann & Norris (1918) ou Eigenmann *et al.* (1910a, 1910b).
- Não inclua resumos e relatórios técnicos na literatura citada.
- Evite referências desnecessárias a teses ou dissertações.
- Nunca use tabulação ou espaço para formatar referências.
- A literatura citada deve ser ordenada em ordem alfabética. Referências com dois ou mais autores devem ser listadas na ordem alfabética do sobrenome do primeiro autor e, em seguida, do sobrenome do segundo autor e assim sucessivamente.
- Não abreviar nomes dos periódicos.
- Não use itálico ou negrito para títulos de livros e revistas.
- As citações no texto devem corresponder às referências em Literatura Cited.
- Use os seguintes formatos:

Livros:

Campos-da-Paz, R. & J. S. Albert. 1998. The gymnotiform “eels” of Tropical America: a history of classification and phylogeny of the South American electric knifefishes (Teleostei: Ostariophysi: Siluriphysi). Pp. 419-446. In: Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena & C. A. S. Lucena (Eds.). *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre, Edipucrs.

Teses/Dissertações:

Langeani, F. 1996. Estudo filogenético e revisão taxonômica da família Hemiodontidae Boulenger, 1904 (*sensu* Roberts, 1974) (Ostariophysi, Characiformes). Unpublished Ph.D. Dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo, 171p.

Artigos:

Lundberg, J. G., F. Mago-Leccia & P. Nass. 1991. *Exallodontus aguanai*, a new genus and species of Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes) from deep river channels of South America and delimitation of the subfamily Pimelodinae. Proceedings of the Biological Society of Washington, 104: 840-869.

Artigos no prelo:

Burns, J. R., A. D. Meisner, S. H. Weitzman & L. R. Malabarba. (in press). Sperm and spermatozeugma ultrastructure in the inseminating catfish, *Trachelyopterus lucenai* (Ostariophysi: Siluriformes: Auchenipteridae). Copeia, 2002: 173-179.

Recursos da Internet:

Author. 2002. Title of website, database or other resources, Publisher name and location (if indicated), number of pages (if known). Available from: <http://xxx.xxx.xxx/> (Date of access).

Informações adicionais

Contate o editor em neoichth@ufrgs.br

ANEXO II: Carta de aprovação do Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade Federal de Santa Maria



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS-UFSM

CARTA DE APROVAÇÃO

A Comissão de Ética no Uso de Animais-UFSM, analisou o protocolo de pesquisa:

Título do Projeto: "Sobrevivência, crescimento e parâmetros metabólicos de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), expostos a diferentes níveis de nitrito e cálcio na água."

Número do Parecer: 108/2014

Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Bernardo Baldisserotto

Este projeto foi **APROVADO** em seus aspectos éticos e metodológicos. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê.

OBS: Anualmente deve-se enviar à CEUA relatório parcial ou final deste projeto.

Os membros da CEUA-UFSM não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DE APROVAÇÃO: 30/09/2014.

Santa Maria, 30 de setembro de 2014.

Prof.ª Dr.ª Vania Lucia Loro
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais- UFSM