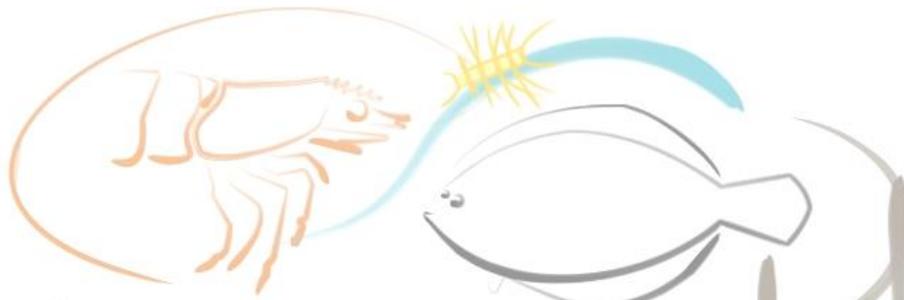


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



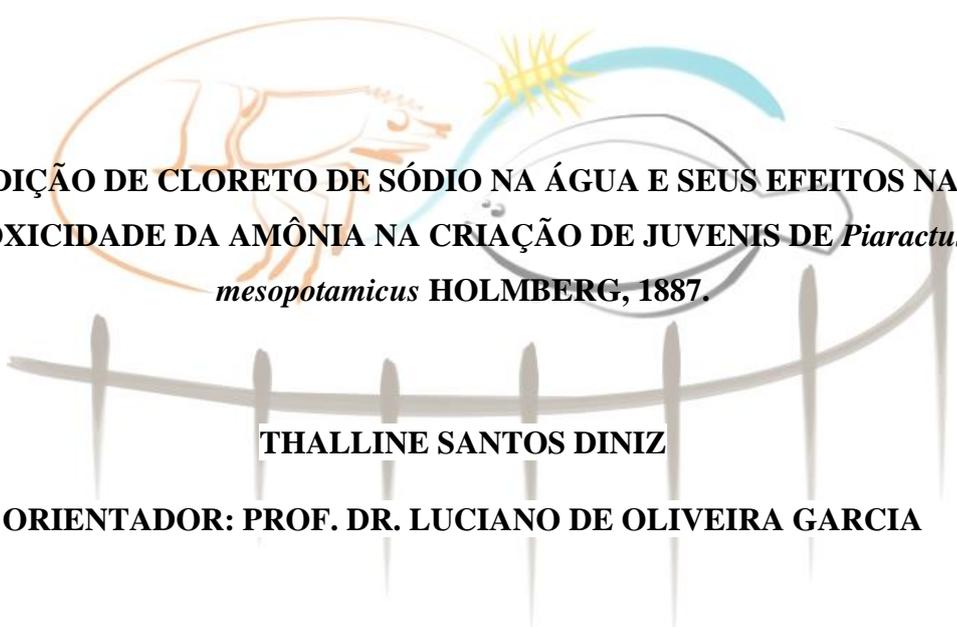
**ADIÇÃO DE CLORETO DE SÓDIO NA ÁGUA E SEUS EFEITOS NA
TOXICIDADE DA AMÔNIA NA CRIAÇÃO DE JUVENIS DE *Piaractus
mesopotamicus* HOLMBERG, 1887.**

Thalline Santos Diniz

RIO GRANDE / RS

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**ADIÇÃO DE CLORETO DE SÓDIO NA ÁGUA E SEUS EFEITOS NA
TOXICIDADE DA AMÔNIA NA CRIAÇÃO DE JUVENIS DE *Piaractus*
mesopotamicus HOLMBERG, 1887.**

THALLINE SANTOS DINIZ

ORIENTADOR: PROF. DR. LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Aquicultura pelo Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande.

RIO GRANDE / RS

Fevereiro/2024

ATA 07/2023

DE DEFESA DA 231ª DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AQUICULTURA

No dia 16 de FEVEREIRO de dois mil e vinte e quatro, às quatorze horas, reuniu-se a Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado em Aquicultura, do **THALLINE SANTOS DINIZ**, orientada pelo **Prof. Dr. LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA** composta pelos seguintes membros: **Prof. Dr. GABRIEL BERNARDES MARTINS (UNIPAMPA)**, **PROF. DR. DANIEL DE SÁ BRITTO PINTO – IO/FURG** e o **PROF. DR. MARCELO HIDEO OKAMOTO – IO/FURG**. Título da dissertação: “**ADIÇÃO DE CLORETO DE SÓDIO NA ÁGUA E SEUS EFEITOS NA TOXICIDADE DA AMÔNIA NA CRIAÇÃO DE JUVENIS DE *Piaractus mesopotamicus* HOLMBERG, 1887.**” Dando início à defesa, o Coordenador em exercício do PPGAq Prof. Dr. Dariano Krummenauer, passou a presidência da sessão ao Prof. Dr. Luciano de Oliveira Garcia, que na qualidade de orientador, passou a palavra para o candidato apresentar a Dissertação. Após ampla discussão entre os membros da Banca e o candidato, a Banca se reuniu sob a presidência do Coordenador em Exercício. Durante esse encontro ficou estabelecido que as sugestões dos membros da Banca Examinadora devem ser incorporadas na versão final da dissertação, ficando a cargo do Orientador o cumprimento desta decisão. A candidata **THALLINE SANTOS DINIZ** foi considerada **APROVADA**, devendo a versão definitiva da Dissertação ser entregue a Secretaria do PPGAq, no prazo estabelecido nas Normas Complementares do Programa. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, será assinada pela Banca Examinadora, pelo candidato e pelo Coordenador em exercício do PPGAq.

Documento assinado digitalmente

 **LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA**
Data: 17/01/2024 16:47:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

PROF. DR. LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA(ORIENTADOR – IO/FURG)

Documento assinado digitalmente

 **GABRIEL BERNARDES MARTINS**
Data: 19/01/2024 21:04:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

PROF. DR. GABRIEL BERNARDES MARTINS – UNIPAMPA

Documento assinado digitalmente

 **DANIEL DE SA BRITTO PINTO**
Data: 16/01/2024 22:33:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

PROF. DR. DANIEL DE SÁ BRITTO PINTO – IO/FURG

Documento assinado digitalmente

 **MARCELO HIDEO OKAMOTO**
Data: 17/01/2024 15:48:23-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

PROF. DR. MARCELO HIDEO OKAMOTO – IO/FURG

Documento assinado digitalmente

 **THALLINE SANTOS DINIZ**
Data: 31/01/2024 10:55:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

THALLINE SANTOS DINIZ

Documento assinado digitalmente

 **DARIANO KRUMMENAUER**
Data: 16/01/2024 17:06:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

PROF. DR. DARIANO KRUMMENAUER (Coordenador em exercício do PPGAq)

Ficha Catalográfica

D585a Diniz, Thalline Santos.

Adição de cloreto de sódio na água e seus efeitos na toxicidade da amônia na criação de juvenis de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 / Thalline Santos Diniz. – 2024.

37 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Rio Grande/RS, 2024.

Orientador: Dr. Luciano de Oliveira Garcia.

1. Piscicultura 2. Composto nitrogenado 3. Salinidade
4. Desempenho zootécnico 5. Parâmetros hematológicos I. Garcia, Luciano de Oliveira II. Título.

CDU 639.3.05

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

Índice

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO GERAL	10
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	14
CAPÍTULO 1	19
2 MATERIAL E MÉTODOS	24
2.1 Ética Animal	24
2.2 Aclimação e Experimento	24
2.3 Qualidade da Água	24
2.4 Coletas e Biometrias	25
2.5 Análise sanguínea	25
2.6 Análise Estatística	26
3 RESULTADOS	26
3.1 Desempenho Zootécnico	26
3.2 Parâmetros Sanguíneos	27
4. DISCUSSÃO	27
5. CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS	31

“Até aqui nos ajudou o Senhor”

1 Samuel 7:12

AGRADECIMENTOS

A Deus, por toda força, amor, sabedoria e coragem que tens me concedido durante toda a caminhada, fazendo-me superar os obstáculos e dificuldades durante o mestrado e em toda a minha vida. “Até aqui nos ajudou o Senhor” 1 Samuel 7:12.

Aos meus pais, Jovita Santos e Antonio Freitas, por todo amor, incentivo, compreensão, por serem meu alicerce, os maiores exemplos de vida e esforço de vontade. Amo vocês e obrigada por tudo! Ao meu irmão Thailson Silva, que nos momentos difíceis me ajudou e me incentivou para a finalização deste ciclo. Ao meu filho dog Thor, por todas as horas de companheirismo, mesmo dormindo não saiu um minuto perto de mim.

A minha enorme família Santos, em especial a minha avó Maria Madalena e tia Soledad Santos, por todo apoio e amor incondicional. Amo cada um de vocês!

Ao meu orientador Dr. Luciano Garcia por toda orientação, dedicação, compreensão, paciência, confiança que em mim foi depositada.

A Renata Soraya por toda ajuda, incentivo a fazer o meu melhor, por sempre me ouvir, por estar ao meu lado e por todo esse tempo na minha vida. Agradeço também a Rose Pereira, que para mim é como se fosse uma mãe, obrigada por todo carinho e amizade.

Aos meus amigos do G6: Ladilson Rodrigues, Yago Bruno, Maria Tatielle, Geisiane Sousa e Amanda Rafaella. As minhas amigas Bianca Ramiro e Caroline Lopes, mesmo morando longe de mim sempre tiveram uma palavra amiga e positiva. Muito obrigada, meus amigos!

A minha madrinha e amiga de todas as horas Vânia Santos, por sempre estar me apoiando, pelas orações, por sempre me ouvir quando preciso e pelas palavras positivas.

A minha orientadora de graduação Dra Camila Magalhães por ter me incentivado para dar mais um passo na minha formação.

Aos integrantes do Laboratório de Aquacultura Continental (LAC) que me ajudaram com a pesquisa: Andressa, Daniel, Lilian, Liliane, Luana e Lucas. Aos funcionários do LAC, Dina, Rodrigo (Xandão) e os vigilantes, Eduardo e Aldemar.

Agradecimento mais que especial a minha comparsa e amiga Nathalia Datore, pelo companheirismo, choros, desabafos, saídas, almoços, cervejas e vinhos, principalmente por me ajudar nos momentos mais desafiadores da minha vida. Você é um presente de Deus! Meus dias foram bem mais leves com tua presença.

A minha psicóloga Aline Bragioni por me mostrar que eu sou capaz de vencer todos os obstáculos da minha vida e me fazer acreditar que eu posso e consigo chegar aonde eu quiser.

A Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e ao programa de Pós-Graduação em Aquicultura e a todo corpo docente.

A Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pela concessão da bolsa de mestrado.

À todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa e vida profissional.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a relação entre o efeito tóxico da amônia não ionizada (NH_3) com o cloreto de sódio (NaCl) em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e suas influências nos parâmetros hematológicos e de desempenho zootécnico. Para o desenvolvimento deste estudo foram utilizados 180 juvenis de pacu ($18,15 \pm 0,22$ g) os quais foram distribuídos aleatoriamente em 12 tanques de 80 L (60L volume útil) de água (15 peixes tanque^{-1}) com aeração constante em um sistema fechado (três caixas /tratamento) durante 45 dias. Durante o período experimental os animais foram expostos a 4 tratamentos, sendo eles: T1: Salinidade (6); T2: Amônia ($1,0 \text{ mg NH}_3 \text{ L}^{-1}$) T3: Salinidade (6) mais Amônia ($1,0 \text{ mg NH}_3 \text{ L}^{-1}$) e T4: Controle (salinidade 0; $\sim 0 \text{ mg NH}_3 \text{ L}^{-1}$). Ao final do experimento, foi realizada a biometria final (n =36 animais por tratamento) para verificar o desempenho zootécnico dos animais. Em seguida, foram realizadas coletas de sangue para determinação da glicose, hematócrito, hemoglobina, pH, contagem de eritrócitos e índices hematimétricos (VCM - Volume corpuscular médio, HCM – Hemoglobina corpuscular média e CHVM – Concentração de hemoglobina corpuscular média). Os resultados demonstram que houve efeito sobre os parâmetros zootécnicos e sobre os parâmetros hematológicos. De acordo com os resultados obtidos foi possível concluir que o pacu é uma espécie tolerante a variação de amônia, visto que não houve nenhuma mortalidade e que embora a salinidade aumente a tolerância dos peixes a exposição de amônia, ela não foi capaz de evitar os danos tóxicos causados pela amônia sobre os parâmetros zootécnicos e hematológicos.

Palavras-chaves: Piscicultura, Composto Nitrogenado, Salinidade, Desempenho zootécnico, Parâmetros hematológicos.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the relationship between the toxic effect of non-ionized ammonia (NH_3) and sodium chloride (NaCl) on juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) based on hematological and zootechnical performance parameters as biomarkers. For the development of this study, 180 juvenile pacu (18.15 ± 0.22 g) were used, which were randomly distributed in 12 tanks of 80 L (60 L useful volume) of water (15 fish/tank) with constant aeration in a closed system (three boxes/treatment) for 45 days. During the experimental period, the animals were exposed to 4 treatments, namely: T1: Salinity (6); T2: Ammonia ($1.0 \text{ mg NH}_3 \text{ L}^{-1}$); T3: Salinity (6) plus $1.0 \text{ mg NH}_3 \text{ L}^{-1}$ and T4: Control (salinity 0; $\sim 0 \text{ mg NH}_3 \text{ L}^{-1}$). At the end of the experiment, final biometry was performed ($n = 36$ animals per treatment) to verify the animals zootechnical performance. Then, blood samples were collected to determine glucose, hematocrit, hemoglobin, pH, erythrocyte count and hematimetric (MCV- medium corpuscular volume, MCH - medium corpuscular hemoglobin and CHVM - medium corpuscular hemoglobin concentration). The results demonstrate that there was an effect on the zootechnical parameters being affected by the interaction of salinity plus ammonia, (and on the hematological parameters. According to the results obtained, it was possible to conclude that the pacu is a species tolerant to variation in ammonia, since there was no mortality and that Although salinity increases fish tolerance to ammonia exposure, it was not able to reduce the toxic damage of ammonia on zootechnical and hematological parameters.

Keywords: Fish farming, Nitrogen compound, Salinity, Zootechnical performance, Hematological parameters.

1 INTRODUÇÃO GERAL

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (Figura 1) é uma espécie nativa com ampla distribuição no território brasileiro, sendo encontrada nos rios Paraná, Paraguai e Uruguai (Godoy, 1975). É uma espécie de hábito alimentar onívoro, que possui boa aceitação pelo mercado consumidor, devido a qualidade da carne (Urbinati, *et al.*, 2010). Além disso, apresenta rápido crescimento e facilidade de adaptação ao manejo. Devido a essas características, o pacu apresenta um bom potencial para utilização em sistemas de cultivo intensivos (Urbinati *et al.*, 2010), sendo considerada uma espécie rústica, tolerando variações de temperatura (Pinto *et al.*, 2019), pH ácidos e alcalinos (Copatti *et al.*, 2019; Pellegrin *et al.*, 2020), baixos níveis de oxigênio dissolvido (Nitz *et al.*, 2020) além de tolerância a altos níveis de amônia (Nitz *et al.*, 2019).



Figura 1 – Exemplar de *Piaractus mesopotamicus* (pacu).

(Fonte: Arquivo pessoal)

Essa espécie vem se destacando no cenário da piscicultura nacional, totalizando uma produção de cerca 7.318 toneladas (IBGE, 2023). Além do Brasil, o pacu também já apresenta uma cadeia produtiva consolidada em outros países como Argentina, Paraguai e Chile (Valadão *et al.*, 2016).

Os peixes em sistemas de cultivo intensivo são alimentados com ração com altos níveis de proteína e são mantidos em altas densidades de estocagem, sendo assim é fundamental uma gestão intensa e eficaz do monitoramento dos parâmetros de qualidade da água (Santos *et al.*, 2020). Tais alterações podem resultar em interferências no bem-

estar dos peixes, principalmente a amônia (Souza, 2021), que afeta diretamente ou indiretamente a saúde e conseqüentemente o crescimento ou até a morte dos animais (Carneiro *et al.*, 2022; Verma *et al.*, 2022).

A amônia é a principal forma de excreção de nitrogênio dos peixes e pode ser encontrada nas formas ionizada (NH_4^+) e não ionizada (NH_3) (Santos *et al.*, 2020). Entre 75 a 90% da excreção nitrogenada do peixe corresponde a forma não ionizada, a qual é excretada em 90% por meio das brânquias, sendo reconhecida como a forma química mais tóxica da amônia (Wood 1958; Randall *et al.*, 1987). Concentrações elevadas em sua forma não ionizada podem prejudicar a transformação da energia dos alimentos em adenosina trifosfato (ATP), inibindo o crescimento dos peixes e provocando o impedimento da formação de proteínas (Machado *et al.*, 2021). Assim, concentrações elevadas de NH_3 na água prejudicam a sua excreção, o que por sua vez leva ao acúmulo de amônia nos tecidos e plasma sanguíneo (Nitz *et al.*, 2019).

O aumento, das concentrações de amônia na água, pode ser proveniente da decomposição da matéria orgânica, resíduos de rações e excrementos dos animais aquáticos, considerando ainda os sistemas de produção intensivos que contribuem para o acúmulo desse metabólito (Xu *et al.*, 2021). A amônia tem um grande impacto sobre a função fisiológica dos peixes, pois pode acumular-se rapidamente e atingir concentrações consideradas tóxicas, no ambiente de cultivo, causando diversas alterações nos animais (Quaresma *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2021) A amônia não ionizada (NH_3) apresenta capacidade de difundir-se através das membranas celulares devido a sua característica lipofílica, causando prejuízos no sistema respiratório e influenciando diretamente na diminuição da taxa de alimentação e taxa de crescimento e desenvolvimento dos animais (Cong *et al.*, 2019).

O aumento da salinidade é uma alternativa para aumentar a tolerância dos peixes no meio de cultivo com elevados níveis de amônia e conseqüentemente sua toxicidade (Nie *et al.*, 2016; Kir & Sunar, 2018; Dasan & Edward, 2019). A salinidade é considerada um dos fatores ambientais que atua na mitigação dos efeitos da amônia, quando encontrada em níveis elevados, sendo capaz de aumentar a tolerância dos peixes a sua ação tóxica (Araújo *et al.*, 2021).

O sódio (Na) e o cloreto (Cl) são compostos essenciais para o metabolismo animal. Na forma de cloreto de sódio (NaCl), esses compostos auxiliam na melhora da alimentação, equilíbrio ácido básico, metabolismo dos animais, no controle da passagem

de nutrientes para as células e como constituinte do suco gástrico e manutenção da pressão osmótica (Aguiar *et al.*, 2022). Esta substância é usada principalmente para elevar a salinidade do meio externo de modo que fique próxima ao meio interno do animal, reduzindo assim o gradiente iônico e as respostas do animal ao estresse (Aguiar, 2018).

A presença de íons (Cl^- e Na^+) no ambiente aquático exerce forte influência na redução da amônia, impedindo a sua captação pela membrana branquial (Huey *et al.* 1980; Baldisseroto 2002; Arana 2010), contribuindo para a diminuição dos efeitos tóxicos da NH_3 , já que o aumento dos níveis de Na^+ facilita a excreção de NH_3 via NH_4^+ e Na^+ na membrana branquial impedindo a entrada de NH_3 , diminuindo a permeabilidade da membrana (Soderberg & Meade 1992). Dessa forma, alguns animais ao serem expostos a diferentes salinidades podem selecionar mecanismos de excreção ativa da amônia e pelo fato de a salinidade manter uma relação inversa às taxas de amônia, pode induzir a estimulação de processos de regulação para melhorar a tolerância dos animais aos fatores que os prejudicam (Santos *et al.*, 2020; Gomes, 2015).

Quando relacionada a aquicultura, diversos fatores contribuem para a exposição dos organismos aquáticos a procedimentos estressores: captura, transporte e alterações nos parâmetros de qualidade da água, incluindo elevados níveis de amônia (Neves, 2019). Esses fatores estressantes ocasionam diversas mudanças fisiológicas, nas quais estão incluídas hematologia, balanço de eletrólitos e osmolaridade (Prati, 2013).

Os parâmetros hematológicos podem ser utilizados como indicadores de estresse (Ventura *et al.*, 2020), pois permitem um diagnóstico preciso, rápido e de baixo custo, através da observação das alterações morfológicas celulares, ocorrência de patologias e distúrbios nutricionais (Machado *et al.*, 2021). A entrada de compostos tóxicos na água pode levar a alterações no perfil hematológico dos organismos aquáticos, a amônia quando absorvida pode se difundir através das membranas celulares até o sistema circulatório e se acumular, podendo ser utilizada esta metodologia para se avaliar os efeitos da amônia (Xu *et al.*, 2021).

Elevadas concentrações de amônia são letais aos animais aquáticos, sendo os principais sinais clínicos a hiperventilação, excitação elevada, convulsões, perda de equilíbrio e coma, uma vez que essa toxicidade atua diretamente no sistema nervoso central (Prati, 2013). Além disso, causa alterações nos parâmetros hematológicos e zootécnicos dos juvenis de pacu (Nitz *et al.* 2019; Souza, 2021).

A toxicidade da amônia não ionizada é pouco estudada para o pacu, sendo importante criar estratégias para reduzir seu efeito tóxico nos sistemas de criação. Uma vez que a amônia é um fator ambiental limitante e importante na produção aquícola, por isso é importante alternativas para mitigar seus efeitos nos animais cultivados em sistemas intensivos de produção, pois pode ocasionar perdas significativas (Chang *et al.*, 2015).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a utilização do cloreto de sódio (NaCl) como estratégia para minimizar a toxicidade da amônia não ionizada (NH₃) em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos da exposição a NH₃ e sua interação com NaCl no desempenho zootécnico em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*);
- Avaliar os efeitos da exposição a NH₃ e sua interação com NaCl nos parâmetros hematológicos em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, N. C. Inclusão de cloreto de sódio (NaCl) na ração para alevinos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*). 2018. 57 páginas. Dissertação. Universidade Federal do Paraná. Palotina. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/54891>.
- Aguiar, N. C., Zadinelo, I. V., Dias, P. S., Mauerwerk, M. T., Bombardelli, R. A., & Meurer, F. (2022). Sodium chloride levels in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) fingerling feeds free of fish meal. *Spanish Journal of Agricultural Research*, v. 20, n.1, p. e06SC01-e06SC01. <https://doi.org/10.5424/sjar/2022201-17111>.
- Arana, LV. 2010. Qualidade da água em aquicultura: Princípios e Práticas. Florianópolis: Ed. da UFSC, 238p.
- Araújo, T. P.; Brighenti, L. S.; Santos, H. B.; Castro, A. H. F.; Thomé, R. G. 2021. Toxicity of nitrogen compounds in fish influenced by physico-chemical water parameters: a review. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 11, e359101119779. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i11.1977>.
- Baldisserotto, B. 2002. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. Santa Maria: Ed. da UFSM.
- Carneiro, W. F.; Castro, T. F. D.; Reichel, T.; Uzeda, P. L. C.; Martínez-palacios, C. A.; Murgas, L. D. S. 2022. Diets containing *Arthrospira platensis* increase growth, modulate lipid metabolism, and reduce oxidative stress in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) exposed to ammonia. *Aquaculture*, Volume 547. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737402>.
- Chang, Z.W.; Chiang, P.C.; Cheng, W.; Chang, C.C. 2015. Impact of ammonia exposure on coagulation in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 118, Pages 98-102, ISSN 0147-6513. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.019>.
- Cong, M.; Wu, H.; Cao, T.; Ji, C.; Lv, J., 2019. Effects of ammonia nitrogen on gill mitochondria in clam *Ruditapes philippinarum*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, Volume 65, Pages 46-52, ISSN 1382-6689. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.12.003>.
- Copatti, C.E., Baldisserotto, B., Souza, C.F., Garcia, L. 2019. Protective effect of high hardness in pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) under acidic or alkaline pH:

- Biochemical and haematological variables. *Aquac.* 502, 250-257.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.028>.
- Dasan, Antony & Edward, Loveson. 2019. Ammonia toxicity and adaptive response in marine fishes - A review. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. 48. 273 - 279.
Disponível em: <https://ciudades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/18/16459>
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2022. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022*. Rome: FAO.
- Godoy, M.P., 1975. Peixes do Brasil: subordem Chracoidi. Bacia do rio Mogi-Guassu. Piracicaba: Franciscana, v.1-4, 216 p.
- Gomes, E. G. 2015. Efeitos do cobre e da salinidade na excreção de amônia e parâmetros associados à osmorregulação no siri-azul *Callinectes sapidus*. Dissertação. Universidade Federal Do Rio Grande – FURG. Rio Grande. 44 páginas.
Disponível em:
<https://repositorio.furg.br/bitstream/handle/1/8219/disserta%C3%A7%C3%A3o%20Eduardo%20Guerreiro%20Gomes.pdf?sequence=1>
- Huey, D.W, B.A Simco & D.W Criswell. 1980. Nitrite-induced methemoglobin formation in *Channel catfish*. *Transactions of the American Fisheries Society*, v. 109, n. 5, p.558-562.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2023. *Produção da Pecuária Municipal 2022*; Rio de Janeiro.
- Machado, S. S.; Blatt, T. L. S.; Neto, C. C. B.; Watanabe, A. L.; Nascimento, I. A.; Gaggini, T. S. 2021. Hematology and zootechnical performance of Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) cultured in bioflocs and aquapony. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v.7, n.7, p. 66555-66571 jul.
<https://doi.org/10.34117/bjdv7n7-095>.
- Neves, G. C. 2019. Adição de cloreto de sódio ou carbonato de cálcio na água como alternativas para minimizar a toxicidade do nitrito em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Tese. 110 páginas. Universidade Federal do Rio Grande
Disponível em:
https://ppgaquicultura.furg.br/Teses/2019/Tese_Gabriel_Neves_2019.pdf.
- Nie, H., Chen, P., Huo, Z., Chen, Y., Hou, X., Yang, F., & Yan, X. 2017. Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia excretion in different colour strains of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*. *Aquaculture Research*, 48(6), 2778-2786. <https://doi.org/10.1111/are.13111>

- Nitz, L.F., Pellegrin, L., Maltez, L.C., Pinto, D., Sampaio, L.A., Monserrat, J.M., Garcia, L., 2020. Temperature and hypoxia on oxidative stress responses in *pacu Piaractus mesopotamicus*. *Journal of Thermal Biology*, v. 92, p. 102682. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102682>.
- Nitz, Lf, Maltez, Lc, Pellegrin, L, Garcia, Ldo, Barbas, Lal & Prentice-hernández, C. 2019. Flesh quality and stress responses of *Piaractus mesopotamicus* after exposure to sublethal levels of ammonia and subsequent recovery. *Boletim do Instituto de Pesca*. 45: 325-325. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.1.325>.
- Pellegrin, L., Nitz, L.F., Maltez, L.C., Copatti, C.E., Garcia, L. 2020. Alkaline water improves the growth and antioxidant responses of pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture*, v. 519, p. 734713. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734713>.
- Pinto, D., Pellegrin, L., Nitz, L.F., Da Costa, S.T., Monserrat, J.M., Garcia, L. 2019. Haematological and oxidative stress responses in *Piaractus mesopotamicus* under temperature variations in water. *Aquac. Res.* 00, 1-11. <https://doi:10.1111/are.14260>.
- Prati, R.L. 2013. Diferentes níveis de duzera e amônia na água e suas implicações nos parâmetros de estresse oxidativo do jundiá (*Rhamdia quelen quoy & gaimard, 1824*). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande. 58 páginas. Disponível em: <https://ppgaquicultura.furg.br/imagens/Dissertacoes/2013/DissertaçãoRicardoPrati2013.pdf>
- Quaresma, F. S., Santos, F. L. B., Ribeiro, P. F., Leite, L. A., Sampaio, A. H. 2020. Technical Article Acute toxicity of non-ionized ammonia on tambacu (*Colossoma macropomum x Piaractus mesopotamicus*). *Revista Ciência Agronômica*, v. 51, n. 3, e20186277. Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. www.ccarevista.ufc.br ISSN 1806-6690
- Sampaio, R. R. Efeito letal da amônia e do nitrito nas fases iniciais da vida do *Betta splendens*. Dissertação. 2017. Universidade Federal de Minas Gerais. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-ARDHAW/1/disserta__o_mestrado___renata_rodrigues_sampaio.pdf.
- Santos, L. C.; Ballester, E. L. C.; Geraldo Junior, E. Toxicidade aguda da amônia total para pós-larvas de *Macrobrachium rosenbergii* em diferentes níveis de

- salinidades. Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG – Vol. 3, no 1, jan/jun 2020. Disponível em: <https://www.themaetscientia.fag.edu.br/index.php/ABMVFAG/article/view/1156>.
- Soderberg, R.W., Meade, J.W. 1992. Effects of sodium and calcium on acute toxicity of un-ionized ammonia to Atlantic salmon and lake trout. *Journal of Applied Aquaculture*, v. 1, n. 4, p. 83-92, 1993. https://doi.org/10.1300/J028v01n04_07
- Souza, A. C. B. Importância das boas práticas de manejo sanitário na piscicultura de água doce. Monografia. Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Goiânia - Goiás. 41 páginas. 2021. Disponível em: <https://repositorio.pucgoias.edu.br/jspui/bitstream/123456789/1901/1/Amanda%20REPOSITORIO.pdf>.
- Urbinati. E.C., Gonçalves, F.D., Takahashi, L.S., 2010. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), in: Baldisserotto, B., Gomes, L. de C. (2ª ed), Espécies nativas para piscicultura no Brasil. EditoraUFSM, Santa Maria, pp. 205-244.
- Valladão, G. M. R., Gallani, S. U., & Pilarski, F. (2018). South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, v. 10, n. 2, p. 351-369. <https://doi.org/10.1111/raq.12164>
- Ventura, A. S., de Oliveira, S. N., Junior, J. A. D., Silva, T. T., & de Araújo Gabriel, A. M. (2020). Fator de condição relativo e hematologia de reprodutores de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Research, Society and Development*, v. 9, n. 5, p. e181953338-e181953338. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i5.3338>.
- Xu, Z.; Cao, J.; Qin, X.; Qiu, W.; Mei, J.; Xie, J. 2021. Toxic Effects on Bioaccumulation, Hematological Parameters, Oxidative Stress, Immune Responses and Tissue Structure in Fish Exposed to Ammonia Nitrogen: A Review. *Animals*, v. 11, n. 11, p. 3304. <https://doi.org/10.3390/ani11113304>.

CAPÍTULO 1

Manuscrito

Adição de cloreto de sódio na água e seus efeitos na toxicidade da amônia na criação de juvenis de *Piaractus mesopotamicus*

CAPÍTULO 1

Adição de cloreto de sódio na água e seus efeitos na toxicidade da amônia na criação de juvenis de *Piaractus mesopotamicus*

Thalline S Diniz, Nathália D Fortunato, Luciano Garcia* .

Instituto de Oceanografia, Laboratório de Aquicultura Continental, Universidade Federal do Rio Grande, FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal do Rio Grande, FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

*Autor correspondente: Luciano Garcia - Laboratório de Aquicultura Continental, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, 96203-900, Rio Grande, RS, Brasil.
E-mail: garcia_log@hotmail.com

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar a utilização do cloreto de sódio (NaCl) como estratégia para minimizar a toxicidade da amônia não ionizada (NH₃) em juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus* e suas influências nos desempenho zootécnico e os parâmetros hematológicos. Para o desenvolvimento deste experimento foram utilizados 180 juvenis de pacu que foram estocados em 12 caixas de 80 L de água (15 peixes/tanque) com aeração constante em um sistema fechado (três caixas /tratamento) durante 45 dias. Os animais foram submetidos a quatro tratamentos T1: salinidade 6; T2: 1,0 mg NH₃ L⁻¹; T3: salinidade 6 e 1,0 mg NH₃ L⁻¹ e T4 - controle: salinidade 0 e 0 mg NH₃ L⁻¹, sistema fechado. Ao final do experimento, foi realizada biometria (n=36 animais por tratamento) para verificar o desempenho zootécnico. Em seguida, foram coletadas amostras de sangue para análise dos parâmetros hematológicos. Os resultados demonstraram que houve uma diminuição nos parâmetros zootécnicos, os quais foram afetados pela interação de salinidade e amônia. Quanto aos parâmetros hematológicos, os resultados apresentaram diferença significativa quando houve a interação de salinidade e amônia. Assim, concluímos que o pacu é uma espécie tolerante a concentrações de amônia e salinidade, visto que não houve nenhuma mortalidade e que embora a salinidade aumente a tolerância dos peixes na exposição de amônia, ela não foi capaz de reduzir os efeitos tóxicos da amônia nos parâmetros zootécnicos e hematológicos.

Palavras-chaves: Piscicultura, Pacu, Composto nitrogenado, Salinidade, Desempenho zootécnico, Parâmetros hematológicos.

1 INTRODUÇÃO

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é uma espécie de peixe neotropical que está distribuído na América do Sul, tendo origem nas bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai (Godoy, 1975), e é cultivado do nordeste da Argentina até o centro-oeste do Brasil. É uma espécie valorizada para fins comerciais devido sua plasticidade alimentar, adaptabilidade em diferentes sistemas de cultivo e qualidade da carne, boas taxas de crescimento e fecundidade, uma vez que está adaptada à criação intensiva, além disso suporta uma alta exposição a concentração de amônia na água (Ventura *et al.*, 2020; Nitz *et al.*, 2019).

Para um bom desenvolvimento dos organismos aquáticos e uma produção economicamente viável, é primordial o controle da qualidade de água (Leira *et al.*, 2017), onde a mesma deve ser acompanhada diariamente, pois parâmetros inadequados prejudicam o desenvolvimento, saúde e sobrevivência dos animais (Boyd & Tucker, 2012). Um dos parâmetros mais limitantes dentro do ambiente de cultivo são os compostos nitrogenados, principalmente a amônia, pois mesmo em baixas concentrações pode ocasionar prejuízo ao crescimento dos animais e até mesmo mortalidade dos organismos aquáticos (IP & Chew, 2010).

A amônia é o resultado do catabolismo das proteínas dos organismos aquáticos, sendo a principal forma de excreção destes organismos. Esta substância é oriunda a partir das excretas dos animais, degradação das sobras de alimento e decomposição dos sólidos orgânicos (Barbieri *et al.*, 2016). Na água é encontrada nas formas NH_3 (amônia não ionizada) e NH_4^+ (amônia ionizada) e a proporção entre elas está relacionada a temperatura, salinidade e pH. A concentração de NH_3 aumenta com a elevação da temperatura e pH e diminui com a salinidade (Boyd & Tucker, 2012), sendo que o aumento de 10% da concentração de salinidade resulta na redução de 10% do efeito tóxico da amônia não ionizada (Kir *et al.*, 2019). Segundo Randall & Tsui (2002), a causa primária da toxicidade da amônia em peixes pode ocorrer devido ao efeito despolarizante do íon NH_4^+ nos neurônios, que atua em substituição ao K^+ , levando a uma ativação excessiva de receptores glutamatérgicos do tipo NMDA (N-Metil-D-Aspartato) e a subsequente morte da célula.

Segundo IP e Chew (2010), a NH_3 é a forma mais tóxica devido sua natureza lipofílica, o que lhe confere maior facilidade de difusão através das brânquias dos peixes.

Desta forma, o acúmulo de amônia no sangue e nos tecidos dos peixes, pode reduzir o crescimento, influenciar na eficiência alimentar (Leira *et al.*, 2017), mudanças comportamentais, como: convulsões, hiperatividade e perda de equilíbrio (Quaresma *et al.*, 2020), indução ao estresse (Barbieri & Bondioli, 2015; Sinha *et al.*, 2015; Gonçalves *et al.*, 2017), imunossupressão (Xuan *et al.*, 2013), estresse oxidativo (Sinhá *et al.*, 2014; Hoseini *et al.*, 2019), lesão tecidual (Benli *et al.*, 2008; Dong *et al.*, 2013; Peyghan & Takamy, 2002), influência nos parâmetros hematológicos e de desempenho zootécnico (Xu *et al.*, 2021), ocasionar alterações no metabolismo, aumento do consumo de oxigênio e causar a morte (Doi *et al.*, 2012).

A eliminação da amônia pelos peixes ocorre principalmente através das brânquias, na forma de NH_3 gasoso ou NH_4^+ iônico, por difusão. A via predominantemente utilizada é a facilitada pelos canais de glicoproteína Rhesus (Rh). Como os peixes dependem da difusão para eliminar a amônia, altos níveis deste composto podem causar acúmulo e a entrada de NH_3 nos peixes devido à inversão do gradiente de difusão normal (Randall & Wright, 1987; Gilmour, 2022).

Uma das formas de minimizar a toxicidade da amônia é por meio do aumento da salinidade no sistema, onde irá reduzir o custo osmorregulatório da hiperventilação causada por substâncias tóxicas presentes na água (Lloyd and Herbert, 1960; Kadhim & Al-Faragi, 2018). O uso de cloreto de sódio (NaCl) ajuda a reduzir a toxicidade da NH_3 , aumentando os níveis de sódio na água, o que facilita a excreção de NH_3 via NH_4^+ e Na^+ nas brânquias, reduzindo a permeabilidade e aliviando os efeitos da amônia (Maetz e Garcia-Romeu, 1964; Soderberg & Meade, 1992). Além disso, a utilização do sal auxilia no processo de redução do estresse dos peixes de água doce, pois os animais quando estão estressados, tendem a perder íons para o ambiente, e por isso a adição de sal reduz esse efeito e ajuda os peixes em termos de estresse osmorregulatório (Takata & Luz, 2015)

Para a verificação dos efeitos da amônia são necessárias avaliações para medir os seus efeitos tóxicos, a fim de verificar os impactos da amônia no desenvolvimento dos organismos aquáticos (Arenzon *et al.*, 2011). De acordo com isto, também são realizados testes hematológicos para verificação de possíveis alterações que são causadas pela presença de substâncias tóxicas na água (Ranzani-Paiva *et al.*, 2013). Os testes hematológicos são importantes pois fornecem uma avaliação confiável por meios não letais (Satheeshkumar *et al.*, 2012) e podem ser utilizados como indicadores da sanidade

dos peixes de acordo com as mudanças referentes a nutrição e enfermidades (Fazio, 2019).

Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar a utilização do cloreto de sódio (NaCl) como estratégia para minimizar a toxicidade da amônia não ionizada (NH₃) em juvenis de *Piaractus mesopotamicus*, através da verificação dos parâmetros de desempenho zootécnico e os.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Ética Animal

O protocolo experimental para desenvolvimento deste trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande – FURG, com o protocolo nº P095/2016.

2.2 Aclimação e Experimento

Foram utilizados 180 juvenis de pacu (18,15 ± 0,22 g; 9,38 ± 0,05 cm), adquiridos de uma piscicultura comercial. Antes do desenvolvimento do protocolo experimental, os juvenis foram distribuídos aleatoriamente em seis tanques de 310 L (250 L de volume útil), com aeração constante e em sistema de recirculação com filtros (mecânico e biológico), em uma sala climatizada (ar condicionado) com temperatura de 27°C para uma aclimação as condições do laboratório, durante 10 dias. Durante o período de aclimação e experimento, os animais foram alimentados com ração comercial extrusada (32% PB) até a saciedade aparente, duas vezes ao dia (9 e 16 h). Após este período, os animais foram distribuídos aleatoriamente em 12 tanques de 80 L de volume útil, em quatro sistemas de recirculação, sendo quatro tratamentos T1: salinidade 6; T2: 1,0 mg NH₃ L⁻¹; T3: salinidade 6 e 1,0 mg NH₃ L⁻¹ e T4 - controle: salinidade 0 e 0 mg NH₃ L⁻¹), sistema fechado. Todos os tanques receberam aeração constante e o fotoperíodo foi ajustado em 9 L/15 E. Os juvenis foram submetidos a 45 dias experimentais.

A concentração desejada de amônia não ionizada foi obtida adicionando cloreto de amônio (NH₄Cl) à água ou na troca parcial de água quando necessário. A concentração 1,0 mg NH₃ L⁻¹ foi utilizada de acordo com os resultados obtidos por Nitz *et al.* (2019) e a salinidade 6, adição de NaCl, de acordo com Barbosa Júnior *et al.* (2011).

2.3 Qualidade da Água

Os parâmetros de qualidade da água foram monitorados diariamente e mantidos em níveis desejáveis para a espécie durante o período de aclimação e na realização do experimento, exceto para a salinidade e amônia não ionizada. As variáveis físico-químicas da água foram: temperatura ($25,47 \pm 0,13$ °C) e OD ($7,76 \pm 0,06$ °C; oxímetro YSI 200A), pH ($7,57 \pm 0,04$; pHmetro HI8424); nitrito ($0,49 \pm 0,07$ mg N-NO₂ L⁻¹; Boyd & Tucker, 2014); amônia total ($36,72 \pm 3,28$ mg N-NH₃ L⁻¹; Unesco, 1983) e alcalinidade ($73,13 \pm 1,31$ mg CaCO₃ L⁻¹; Eaton *et al.*, 2005).

2.4 Coletas e Biometrias

Para avaliação do desempenho zootécnico foram realizadas duas biometrias com todos os animais, no início (dia 0) e ao final do experimento (dia 45). Para isso, os animais foram retirados aleatoriamente dos tanques (com o auxílio de um puçá) e anestesiados individualmente em uma solução de hidrocloreto de benzocaína (50 mg/L) em um aquário de 3L, com água nas mesmas condições do seu respectivo tratamento. Após anestesiados, os peixes foram pesados em balança digital (Bioprecisa® - JH2102; precisão de 0,01g), medidos (comprimento total e padrão) com o auxílio de um ictiômetro. Logo após a biometria, foi realizada a coleta de sangue via punção venosa caudal com seringa heparinizada (1mL).

Os seguintes cálculos foram realizados para o desempenho zootécnico:

- Peso médio final (PF, g) = \sum peso final dos animais vivos (g) / n° total de animais;
- Comprimento médio total final (CT, cm) = \sum comprimento total final dos animais vivos (cm) / n° total de animais;
- Ganho de peso (GP, g) = peso médio final (g) – peso médio inicial (g);
- Taxa de crescimento específico (TCE, % por dia) = $[(\ln \text{ peso médio final (g)} - \ln \text{ peso médio inicial (g)}) / \text{n° de dias}] \times 100$;
- Fator de condição corporal (FC, g cm⁻³) = $(\text{peso médio final (g)} / \text{comprimento médio total final (cm)})^3 \times 100$;
- Sobrevivência (%) = $(\text{n° final de animais} / \text{n° inicial de animais}) \times 100$.

2.5 Análise sanguínea

Foi coletado aproximadamente 1,0 mL de sangue de cada peixe para as análises de glicose (Accu-check Performa/Roche®) e pH sanguíneo (pHmetro de bancada HANNA HI 2210®). Posteriormente, as amostras foram transferidas para capilares heparinizados e centrifugadas a 4°C a 12.000 g por 5 minutos, para verificação do hematócrito (Htc) pelo método do microhematócrito (Goldenfarb *et al.*, 1971). Para quantificação do número de eritrócitos (Eri), 0,02 mL de amostra foi diluída (1:200) em solução de cloreto de sódio 0,65% (Ranzani-Paiva *et al.*, 2013) e contada em câmara de Neubauer, com auxílio de microscópio óptico (40x). A concentração de hemoglobina (Hb) foi quantificada com kit colorimétrico (Labtest®) e lida em espectrofotômetro a 540 nm. Os índices hematimétricos foram estimados de acordo com as seguintes equações:

- Volume corpuscular médio (VCM, fL) = $Htc \times 10 / Eri (\times 106 \mu L)$;
- Hemoglobina corpuscular média (HCM, pg) = $Hb \times 10 / Eri$;
- Concentração média de hemoglobina corpuscular (CHCM g dL⁻¹) = $Hb \times 100 / Htc$.

2.6 Análise Estatística

Todos os dados obtidos estão expressos como média \pm erro padrão. A normalidade e homogeneidade das variâncias, foram testadas pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. Os dados foram submetidos à ANOVA de duas vias (salinidade x NH₃), seguida de um teste de Tukey para verificar as diferenças entre os tratamentos. Foi estabelecido um nível mínimo de significância de 5% em todos os casos ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS

3.1 Desempenho Zootécnico

Os resultados relativos ao peso (P), comprimento total (CT), ganho de peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE), fator de condição corporal (FC), conversão alimentar aparente (CAA) e sobrevivência (S) estão expressos na Tabela 1.

O peso e o comprimento final dos juvenis de *P. mesopotamicus* foi afetado significativamente no T3, apresentando o menor peso e comprimento em relação aos demais tratamentos ($p < 0,05$). O GP e a TCE dos tratamentos T1, T2 e T4 foram

significativamente maiores ($p < 0,05$) em relação ao tratamento T3. Já o FC e CAA não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$). A sobrevivência não foi afetada pela salinidade ou amônia não ionizada, apresentando valores iguais em todos os tratamentos ($p > 0,05$).

3.2 Parâmetros Sanguíneos

A tabela 2 expressa os resultados dos parâmetros hematológicos de juvenis de pacu expostos à salinidade, amônia e a interação de salinidade e amônia por 45 dias.

A glicose sanguínea e o CHCM nos diferentes tratamentos não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$). O número de Eri foi significativamente maior ($p < 0,05$) nos animais do T4 em relação a T1 e T3. A concentração de Htc foi significativamente menor ($P < 0,05$) no T3 em relação aos demais tratamentos.

No T1 e T2 as concentrações de HCM foram significativamente maiores ($p < 0,05$) se comparados ao tratamento T4. No que diz respeito ao VCM, os juvenis do T1, T2 e T3 foram significativamente maiores ($p < 0,05$) em relação ao T4.

4. DISCUSSÃO

Neste estudo, foi observado que os parâmetros zootécnicos do *P. mesopotamicus* não sofreram alterações significativas quando submetidos aos efeitos da salinidade e amônia (NH_3) isoladamente. Por outro lado, a combinação desses dois parâmetros influenciou negativamente no peso final (PF), ganho de peso (GP) e taxa de crescimento específico (TCE).

A adição de cloreto de sódio, salinidade 6, não inibiu os efeitos tóxicos da amônia neste experimento, visto que o desempenho zootécnico foi pior em relação aos tratamentos que não teve a interação de amônia e salinidade. No entanto, de acordo com Kir & Sunar (2018) e Kir et al. (2019), a salinidade é um parâmetro capaz de aumentar a tolerância dos peixes à exposição de amônia, o que corrobora com o presente estudo, visto que não houve nenhuma mortalidade durante o experimento.

Dawood & Sewilam (2023) avaliando os efeitos combinados da salinidade e da amônia na carpa comum (*Cyprinus carpio*), observaram que a salinidade resultou em melhores parâmetros e efeito regulatório nos marcadores relacionados ao estresse, o que difere do nosso estudo, visto que o efeito combinado apresentou os menores resultados

no desempenho zootécnico, o que pode estar relacionado com o aumento da atividade da Na^+/K^+ -ATPase (Huang et al., 2020). A alta atividade da Na^+/K^+ -ATPase, como um fator osmorregulador, resulta no consumo elevado de energia dos nutrientes consumidos, o que pode levar à desnutrição e conseqüentemente a diminuição no crescimento. Esse desempenho está relacionado ao distúrbio da osmorregulação e da homeostase, que compromete a função metabólica (Toh et al., 2011; Zarantoniello et al., 2021).

Dawood et al. (2023) estudando o efeito combinado da salinidade e amônia em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), observaram que a combinação afetou negativamente o desempenho do crescimento e a capacidade de sobrevivência da tilápia, corroborando com o nosso estudo. A ingestão de energia alimentar durante a regulação osmótica em condições de alta salinidade resulta em uma deterioração nas respostas metabólicas e fisiológicas, afetando assim o crescimento (Herrera et al. 2009; Chourasia et al., 2018). Além disso, a exposição prolongada à amônia perturba o estado fisiológico dos peixes, causando inflamação nas brânquias, intestinos e fígado (Evans et al. 2006).

A toxicidade da amônia pode ser afetada por diferentes fatores ambientais. A elevação da temperatura e a hipóxia possuem efeitos sinérgicos, que aumentam a toxicidade da amônia. Já a salinidade possui efeito protetor, pois de acordo com a literatura, os mais altos níveis de salinidade foram capazes de aumentar a tolerância dos peixes à amônia. No entanto, a toxicidade também depende do período de exposição à amônia, onde, períodos mais longos estão relacionados com efeitos mais tóxicos (Araújo et al., 2021). Além disso, pode estar relacionado às características particulares da espécie estudada ou aos efeitos sinérgicos da amônia não ionizada e salinidade.

No tratamento com a interação de salinidade e amônia, foi observado também, que os peixes evitavam a ração e abrigavam-se no fundo dos tanques. Este comportamento está de acordo com o estudo de Israeli-Weinstein & Kimmel (1998), onde eles relatam que esse comportamento é interpretado como uma resposta de exaustão ou uma estratégia adaptativa para economizar energia, necessária para superar a condição de estresse, o que justifica o fato dos peixes do tratamento com a interação de salinidade e amônia apresentarem os menos resultados.

Fiuza et al (2013) estudando o efeito da salinidade em tambaqui (*Colossoma macropomum*), observaram que a salinidade utilizada reduziu consideravelmente o crescimento, sobrevivência e menor consumo de alimentos, o que não corrobora com o presente estudo, visto que o tratamento com a salinidade isoladamente apresentou um dos melhores resultados no que diz respeito aos parâmetros zootécnicos. Ambiente em que

contem sal a tendência é que o animal gaste menos energia no processo de osmorregulação e, a energia livre possa ser convertida em crescimento e demais funções (Boeuf & Payan 2001; Sampaio & Bianchini 2002; Moustakas, Watanabe & Copeland 2004).

Apesar de ser um peixe resistente às mais diversas condições ambientais, o pacu, pode sofrer impactos nos parâmetros hematológicos quando expostos a um aumento de amônia e salinidade. Uma vez que a amônia entra no sistema circulatório do peixe e assim, pode resultar em mudanças nos índices hematológicos. Portanto, essas alterações podem servir como indicadores eficazes para a avaliação de toxicidade dos peixes (Xu *et al.*, 2021).

Mansourghanaei *et al.* (2022) estudando os efeitos da toxicidade da amônia em diferentes salinidades, em alevinos de esturjão estrelado (*Acipenser stellatus*), observaram que os índices de hemograma completo apresentaram maiores alterações nos tratamentos combinados de salinidade e amônia. Os autores afirmam que a salinidade não reduziu a toxicidade da amônia, no que diz respeito aos parâmetros sanguíneos, o que corrobora com o presente estudo, visto que o hematócrito (Htc) foi encontrado no tratamento em que houve a interação de salinidade e amônia, o que pode ocasionar no aumento de diversas doenças. De acordo com Zeitoun *et al.* (2016), o estresse da amônia pode causar danos nos órgãos responsáveis pela produção de glóbulos vermelhos nos teleósteos, como rim, baço e fígado.

Dawood *et al.* (2023), estudando o efeito combinado da salinidade e amônia em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), observaram que a combinação afetou significativamente os bioindicadores sanguíneos. Quando os peixes são submetidos à substâncias tóxicas, pode levar a uma diminuição das propriedades hematológicas, devido à diminuição das hemácias (Xu *et al.*, 2021), o que pode resultar em anemia, visto que a amônia tem afinidade com a hemoglobina, bloqueando a transferência de oxigênio das brânquias para o sangue (Kim *et al.*, 2020).

Kim *et al.* (2020), revelaram que a exposição à amônia, diminuiu muito os níveis de hematócrito e hemoglobina, o que difere do nosso estudo, visto que os índices do tratamento amônia apresentou um dos valores significativamente maiores ($p < 0,05$). Isso pode significar que a exposição crônica da amônia pode estimular uma produção de células vermelhas do sangue como forma de adaptação do peixe no ambiente em que está acondicionado. Segundo Kir *et al.* (2019), os peixes têm a capacidade de se adaptar às variações ambientais, como mudanças de salinidade e amônia, e isso é fortemente

influenciado pelo seu metabolismo. A salinidade do ambiente e a presença de amônia têm um efeito significativo na taxa metabólica dos peixes, afetando sua capacidade de se adaptar às condições ambientais em constante mudança.

A hemoglobina corpuscular média (HCM), o volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) são parâmetros hematológicos que geralmente estão relacionados à capacidade do plasma de transportar oxigênio e podem ser utilizados como indicadores ambientais de alterações químicas mais significativas na água (Kumar & Banerjee, 2016). De acordo com um estudo realizado por Zeitoun et al. (2016), evidenciou-se que a exposição à amônia resulta no aumento do VCM dos glóbulos vermelhos. Isso se deve ao aumento do conteúdo de água nas células vermelhas, causado pela mudança dos níveis de cloreto, bem como à diminuição do cloreto plasmático na presença de altos níveis de amônia na água.

5. CONCLUSÃO

Os juvenis de pacu (*P. mesopotamicus*) apresentaram-se tolerantes à concentração de 1,0 mg NH₃ L⁻¹, pois não houve nenhuma mortalidade durante o nosso trabalho. Além disso, é possível afirmar que a salinidade utilizada não inibiu os efeitos tóxicos da amônia, visto que a combinação de amônia e salinidade resultou em índices zootécnicos e hematológicos abaixo do esperado em relação ao tratamento com amônia e tratamento controle.

REFERÊNCIAS

- Araújo, T. P., Brighenti, L. S., dos Santos, H. B., Castro, A. H. F., & Thomé, R. G. 2021. Toxicidade de compostos nitrogenados em peixes influenciada por parâmetros físico-químicos da água: uma revisão narrativa. *Research, Society and Development*, 10(11), e359101119779-e359101119779. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19779>
- Arenzon, A., Pereira, T., Gerber, W. Manual sobre toxicidade em efluentes industriais – Federação das Indústrias do Rio Grande do Sul, Conselho do Meio Ambiente. Porto Alegre: CEP SENAI de Artes Gráficas Henrique d'Ávila Bertaso, 2011. 40 p.
- Barbieri, E., Bondioli, A.C.V. 2015. Acute toxicity of ammonia in Pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) at different temperatures levels. *Aquac. Res.* 46, 565–571. <https://doi.org/10.1111/are.12203>.
- Barbieri, E., Bondioli, A.C.V., De Melo, C.B., Henriques, M.B. 2016. Nitrite toxicity to *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad, 1936, Crustacea) at different salinity levels. *Aquaculture Research*, 47(4), 1260-1268.
- Barbosa Júnior, S. G., Teixeira, R. B. G., Cabral, M. C., Assano, M., & Jomori, R. K. 2011. Tolerance of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* to water salinity.
- Benli, A.Ç.K., Koksall, G., Ozkul, A. 2008. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): effects on gill, liver and kidney histology. *Chemosphere* 72, 1355–1358. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.04.037>.
- Boeuf G., & Payan P. 2001 How should salinity influence fish growth? *Comparative Biochemistry and Physiology* 130C, 411–423.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S. 2012. Pond Aquaculture water quality management. Springer Science and Business Media, 700p.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S. 2014. Handbook for aquaculture water quality. Auburn, AL: Craftmaster Printers Inc.
- Chourasia T.K., D'Cotta H., Baroiller J-F, Slosman T., Cnaani A. 2018 Effects of the acclimation to high salinity on intestinal ion and peptide transporters in two tilapia species that differ in their salinity tolerance. *Comp Biochem Physiol Part A: Mol Integr Physiol* 218:16–23 <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.01.004>

- Dawood, M. A., & Sewilam, H. 2023. The combined effects of salinity and ammonia on the growth behavior, stress-related markers, and hepato-renal function of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, v. 339, n.1, p. 74-82. <https://doi.org/10.1002/jez.2654>
- Dawood, M. A., Gewaily, M., & Sewilam, H. 2023. Combined effects of water salinity and ammonia exposure on the antioxidative status, serum biochemistry, and immunity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 49(6), 1461-1477.
- Doi, A.S., Collaço, F.L., Sturaro, L.G.R., & Barbieri, E. 2012. Efeito do chumbo em nível de oxigênio e amônia no camarão rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) em relação à salinidade. *O Mundo da Saúde*, 36: 594-601.
- Dong, X., Zhang, X., Qin, J., Zong, S. 2013. Acute ammonia toxicity and gill morphological changes of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in normal versus supersaturated oxygen. *Aquac. Res.* 44, 1752–1759. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03181.x>.
- Eaton, A.D., Clesceri, L.S., Rice, E.W., Greenberg, A.E. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater, 21st ed. American Public Health Association, Washington.
- Evans, J.J., Pasnik, D.J., Brill, G.C., Klesius, P.H. 2006. Un-ionized ammonia exposure in Nile Tilapia: toxicity, stress response, and susceptibility to *Streptococcus agalactiae*. *N Am J Aquac* 68:23–33 <https://doi.org/10.1577/A05-032.1>
- Fazio, F. 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquaculture*, v. 500, p. 237-242.
- Gilmour, K.M. Pushing back against high environmental ammonia levels: A model for active NH₄⁺ excretion. *Acta Physiologica*, v. 236, n. 2, p. e13867, 2022. <https://doi.org/10.1111/apha.13867>
- Godoy, M.P., 1975. Peixes do Brasil: subordem Characidae. Bacia do rio Mogi-Guaçu. Piracicaba: Franciscana, v.1-4, 216 p.
- Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E. & Brosious, E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*, 56: 35 - 39.

- Gonçalves, A.F., Neves, J.V., Coimbra, J., Rodrigues, P., Vijayan, M.M., Wilson, J.M., 2017. Cortisol plays a role in the high environmental ammonia associated suppression of the immune response in zebrafish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 249, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.02.016>.
- Herrera, M., Vargas-Chacof, L., Hachero, I., Ruíz-Jarabo, I., Rodiles, A., Navas, J.I., Mancera J.M. 2009. Osmoregulatory changes in wedge sole (*Dicologlossa cuneata* Moreau, 1881) after acclimation to different environmental salinities. *Aquac Res* 40:762–771. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02147.x>
- Hoseini, S.M., Yousefi, M., Hoseinifar, S.H., Van Doan, H., 2019. Antioxidant, enzymatic and hematological responses of common carp (*Cyprinus carpio*) fed with myrcene- or menthol-supplemented diets and exposed to ambient ammonia. *Aquaculture* 506, 246–255. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.048>.
- Huang, J., Qin, G., Zhang, B., Tan, S., Sun, J., & Lin, Q. 2020. Effects of food, salinity, and ammonia-nitrogen on the physiology of juvenile seahorse (*Hippocampus erectus*) in two typical culture models in China. *Aquaculture*, v. 520, p. 734965. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734965>
- Ip, A.Y.K., Chew, S.F. 2010. Ammonia production, excretion, toxicity, and defense in fish: a review. *Frontiers in physiology*, v. 1, p. 134.
- Israeli-Weinstein, D., & Kimmel, E. 1998. Behavioral response of carp (*Cyprinus carpio*) to ammonia stress. *Aquaculture*, 165(1-2), 81-93. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00251-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00251-8)
- Kadhim, M.A & AL-FARAGI, J.K. 2018. Effect of adding sodium chloride in water on mortality rate, behavior and gill histopathology in *Cyprinus carpio* exposed to acute toxicity of unionized ammonia. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, v. 6, p. 721-726.
- Kim, J.H; Cho, J.H; Kim, S.R; Hur, Y.B. 2020. Toxic effects of waterborne ammonia exposure on hematological parameters, oxidative stress and stress indicators of juvenile hybrid grouper, *Epinephelus lanceolatus*♂×*Epinephelus fuscoguttatus*♀. *Ambiente. Toxicol. Pharmacol*,80, 103453.
- Kir, M & Sunar, M.C. 2018. Acute toxicity of ammonia and nitrite to sea bream, *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758), in relation to salinity. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 49 n.3, p. 516–522.

- Kir, M, Sunar, M.C., & Gok, M.G. 2019. Acute ammonia toxicity and the interactive effects of ammonia and salinity on the standard metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, v. 511, p. 734273.
- Kumar, R. & Banerjee, T.K. 2016. Arsenic induced hematological and biochemical responses innutritionally important catfish *Clarias batrachus*(L.). *Toxicology Reports*, 3, 148-152. doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2016.01.001>
- Leira, M.H., Da Cunha, L.T., Braz, M.S., Melo, C.C.V., Botelho, H.A., & Reghim, L.S. 2017 Qualidade da água e seu uso em pisciculturas. *PUBVET*. v. 11, n.1, p. 11-17.
- Lloyd, R. e Herbert, D.W.M. 1960. A influência do dióxido de carbono na toxicidade da amônia não ionizada para a truta arco-íris (*Salmo gairdneri* Richardson). *Ana. Apl. Biol.* 48: 399–404.
- Maetz, J.; Garcia Romeu, F. The Mechanism of Sodium and Chloride Uptake by the Gills of a Fresh-Water Fish, *Carassius auratus*: ii. Evidence for $\text{NH}_4^+ / \text{Na}^+$ and $\text{HCO}_3^- / \text{Cl}^-$ exchanges. *The Journal of General Physiology*, v. 47, n. 6, p. 1209-1227, 1964. <https://doi.org/10.1085/jgp.47.6.1209>
- Mansourghanaei, A., Khara, H., Vahabzadeh Roudsari, H., Pajand, Z., & Ahmadnezhad, M. 2022. Alterations in Hematological indices, histopathology and p450 gene expression in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas, 1811) fingerlings exposed to different salinities levels and ammonia. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, p. 1343-1366.
- Moustakas C.T., Watanabe W.O. & Copeland K.A. (2004) Combined effects of photoperiod and salinity on growth, survival and osmoregulatory ability of larval southern flounder *Paralichthys lethostigma*. *Aquaculture*, v.229, p. 159–179. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00366-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00366-1)
- Nitz, L.F, Maltez, L.C, Pellegrin, L, Garcia, L.D.O, Barbas, L.A.L & Prentice-Hernández, C. 2019. Flesh quality and stress responses of *Piaractus mesopotamicus* after exposure to sublethal levels of ammonia and subsequent recovery. *Boletim do Instituto de Pesca*. 45: 325-325. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.1.325>.
- Pascke, M.S., Lanzendorf, F.N. Diferença entre peixes de água salgada e peixes de água doce. 2017. *Revista Maiêutica*, Indaial, 5(01): 57-68.

- Peyghan, R., Takamy, G.A. 2002. Histopathological, serum enzyme, cholesterol and urea changes in experimental acute toxicity of ammonia in common carp *Cyprinus carpio* and use of natural zeolite for prevention. *Aquac. Int.* 10, 317–325. [https://doi.org/ 10.1023/A:1022408529458](https://doi.org/10.1023/A:1022408529458).
- Quaresma, F.D. S, Santos, F.L.B.D, Ribeiro, P.F, Leite, L.A, & Sampaio, AH. 2020. Acute toxicity of non-ionized ammonia on tambacu (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*). *Revista Ciência Agronômica*, v. 51.
- Randall, D. J.; Wright, P.A. Ammonia distribution and excretion in fish. *Fish physiology and biochemistry*, v. 3, p. 107-120, 1987. <https://doi.org/10.1007/BF02180412>
- Ranzani-Paiva, M.J.T., de Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., Egami, M.I., 2013. Métodos para análise hematológica e peixes. Maringá: EDUEM.
- Sampaio L.A. & Bianchini A. 2002. Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 269, 187–196.
- Sinha, Ak, G Zinta, H Abdelgawad, H Asard, R Blust & Gd Boeck. 2015. High environmental ammonia elicits differential oxidative stress and antioxidant responses in five different organs of a model estuarine teleost (*Dicentrarchus labrax*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 174, p. 21-31.
- Soderberg, Rw, Meade, Jw. 1992. Effects of sodium and calcium on acute toxicity of un-ionized ammonia to Atlantic salmon and lake trout. *J. Appl. Aquac.* 1, 83–92.
- Takata, R., & Luz, Rk. 2015. Água salinizada na produção de peixes de água doce. *Aquicultura no Brasil*, 523.
- Tok, C. Y., Chew, S. F., & Ip, Y. K. 2011. Gene cloning and mRNA expression of glutamate dehydrogenase in the liver, brain, and intestine of the swamp eel, *Monopterus albus* (Zuiew), exposed to freshwater, terrestrial conditions, environmental ammonia, or salinity stress. *Frontiers in Physiology*, v. 2, p. 100. <https://doi.org/10.3389/fphys.2011.00100>.
- Ventura, A. S., de Oliveira, S. N., Junior, J. A. D., Silva, T. T., & de Araújo Gabriel, A. M. 2020. Fator de condição relativo e hematologia de reprodutores de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Research, Society and Development*, 9(5), e181953338-e181953338. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i5.3338>.

- Wood, J.D. 1958. Nitrogen excretion in some marine teleosts. *Can. J. Biochem. Physiol.* 36: 1237-1242.
- Xu, Z.; Cao, J.; Qin, X.; Qiu, W.; Mei, J.; Xie, J. 2021. Toxic Effects on Bioaccumulation, Hematological Parameters, Oxidative Stress, Immune Responses and Tissue Structure in Fish Exposed to Ammonia Nitrogen: A Review. *Animals*, 11, 3304. <https://doi.org/10.3390/ani11113304>.
- Xuan, X., Wen, X., Li, S., Zhu, D., Li, Y., 2013. Potential use of macro-algae *Gracilaria lemaneiformis* in diets for the black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*, juvenile. *Aquaculture* 412–413, 167–172. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.022>.
- Zarantoniello, M., Bortoletti, M., Olivotto, I., Ratti, S., Poltronieri, C., Negrato, E., ... & Bertotto, D. (2021). Salinity, temperature and ammonia acute stress response in seabream (*Sparus aurata*) juveniles: A multidisciplinary study. *Animals*, v. 11, n. 1, p. 97. <https://doi.org/10.3390/ani11010097>
- Zeitoun, M. M., EL-Azrak, K. E. D. M., Zaki, M. A., Nemat-Allah, B. R., & Mehana, E. S. E. (2016). Effects of ammonia toxicity on growth performance, cortisol, glucose and hematological response of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aceh Journal of Animal Science*, v. 1, n. 1, p. 21-28. <https://doi.org/10.13170/ajas.1.1.4077>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados de desempenho zootécnico de juvenis de pacu (*P. mesopotamicus*) expostos à salinidade, amônia e a interação de salinidade e amônia por 45 dias.

Variáveis	Salinidade (6g/L)	1 NH ₃	Salinidade (6g/L) + 1 NH ₃	Controle
PF (g)	30,86 ± 0,79 ^a	30,04 ± 0,73 ^a	26,39 ± 0,67 ^b	30,15 ± 0,80 ^a
CT (cm)	11,58 ± 0,10 ^a	11,57 ± 0,13 ^a	11,14 ± 0,08 ^b	11,48 ± 0,10 ^{ab}
GP (g)	12,72 ± 0,83 ^a	11,80 ± 0,74 ^a	8,23 ± 0,64 ^b	12,08 ± 0,79 ^a
TCE (% por dia)	1,15 ± 0,06 ^a	1,08 ± 0,05 ^a	0,80 ± 0,05 ^b	1,11 ± 0,05 ^a
FC (g cm ⁻³)	1,98 ± 0,04	1,95 ± 0,05	1,91 ± 0,04	1,98 ± 0,03
CAA	1,14 ± 0,11	1,23 ± 0,01	1,12 ± 0,09	1,36 ± 0,10
S (%)	100	100	100	100

Os dados são expressos como média ± EP (n = 45). Abreviações: PF, peso final; CT: comprimento total; GP: ganho de peso; TCE: taxa de crescimento específico; FC: fator de condição corporal; CAA: conversão alimentar; S: sobrevivência. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tratamentos.

Tabela 2 - Parâmetros hematológicos de juvenis de pacu (*P. mesopotamicus*) expostos à salinidade, amônia e a interação de salinidade e amônia por 45 dias.

Variáveis	Salinidade (6g/L)	1 NH ₃	Salinidade (6g/L) + 1 NH ₃	Controle
Glicose (mg L ⁻¹)	62,38 ± 2,89	61,38 ± 3,19	58,75 ± 2,46	58,0 ± 2,48
pH (un)	7,15 ± 0,02 ^a	7,0 ± 0,04 ^b	7,08 ± 0,01 ^{ab}	7,09 ± 0,03 ^{ab}
Htc (%)	40,4 ± 0,96 ^a	43,50 ± 0,82 ^a	32,0 ± 0,71 ^c	35,75 ± 0,79 ^b
Eri (10 ⁶ µL ⁻¹)	1,64 ± 0,05 ^{bc}	1,86 ± 0,07 ^{ab}	1,50 ± 0,12 ^c	2,08 ± 0,09 ^a
Hb (g dL ⁻¹)	11,13 ± 0,41 ^{ab}	12,14 ± 0,68 ^a	9,26 ± 0,25 ^b	10,53 ± 0,40 ^{ab}
VCM (fL)	237,80 ± 10,87 ^a	251,55 ± 11,46 ^a	220,0 ± 10,44 ^a	175,18 ± 9,45 ^b
HCM (pg)	68,70 ± 3,91 ^a	65,49 ± 2,66 ^a	63,46 ± 2,67 ^{ab}	51,49 ± 2,89 ^b
CHCM (g dL ⁻¹)	27,76 ± 1,37	27,98 ± 1,61	28,97 ± 0,65	29,61 ± 1,40

Os dados são expressos como média ± EP (n = 9). Abreviações: Hct: hematócrito; Eri: eritrócitos; Hb: hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média e CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tratamentos.