

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA
PROGRAMA DE MESTRADO EM ZOOTECNIA**

**EFEITO DO pH DA ÁGUA NO CRESCIMENTO E NO METABOLISMO DE
TILÁPIA-DO-NILO E PINTADO AMAZÔNICO**

CARLOS HENRIQUE DA PAIXÃO LEMOS

**SALVADOR-BA
OUTUBRO – 2017**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA
PROGRAMA DE MESTRADO EM ZOOTECNIA**

**EFEITO DO pH DA ÁGUA NO CRESCIMENTO E NO METABOLISMO DE
TILÁPIA-DO-NILO E PINTADO AMAZÔNICO**

CARLOS HENRIQUE DA PAIXÃO LEMOS

**SALVADOR-BA
OUTUBRO – 2017**

CARLOS HENRIQUE DA PAIXÃO LEMOS

**EFEITO DO pH DA ÁGUA NO CRESCIMENTO E METABOLISMO DE
TILÁPIA-DO-NILO E PINTADO AMAZÔNICO (*Pseudoplatystoma reticulatum* ♀
x *Leiarius marmoratus* ♂)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.
Área de Concentração: Produção de Animal

Orientador: Dr. Claudio Vaz Di Mambro
Ribeiro

Co-orientador: Dr. Carlos Eduardo Copatti

**SALVADOR-BA
OUTUBRO –2017**

“Eu não quero acreditar, eu quero conhecer”

Carl Sagan

Dedico esse trabalho a
minha mãe e vó, e a meu
eterno orientador e amigo Alberto Lima

AGRADECIMENTOS

A minha mãe, Márcia, que sempre me deu apoio e força nesta trajetória. Ao professor Alberto Lima, que foi uma peça importantíssima na minha vida acadêmica, com seus conselhos e orientações. A minha namorada, Layla, pelo apoio que me deu em todo processo. Ao orientador, Prof. Dr. Claudio Ribeiro, pelos ensinamentos, orientações e contribuições na minha formação, desde o período da graduação. Ao meu outro, e não menos especial orientador, Prof. Dr. Carlos Copatti, pela paciência, disponibilidade, incentivo, pelos ensinamentos e pelas valiosas críticas construtivas que me levaram a sempre superar e melhorar a cada dia. Uma grande pessoa e um ótimo orientador.

A Universidade Federal da Bahia, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Aos professores Albinati e Rodrigo Fortes por ceder suas instalações para a realização dos experimentos. Ao Laboratório de Extensão em Análises Clínicas do Instituto de Farmácia da UFBA, pela disponibilidade do laboratório. A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da bolsa de auxílio. A Bahia Pesca pela doação dos peixes.

A Samantha, pelo suporte que me deu nos experimentos e uma grande parceira!

A minha grande amiga Tamara, ao Pedro e Iara pela força que me deram para a realização do experimento. Aos meus Grandes amigos Tenison e Luciano pela força. Aos meus demais colegas da UFBA pelos momentos de desespero e descontração.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFBA, pelos ensinamentos, em especial aos meus orientadores Claudio e Copatti e ao professor Tadeu, são DEMAIS, pessoas maravilhosas e grandes profissionais a se espelhar! Aos secretários da Pós-Graduação (Zootecnia) da UFBA, Kléber pelo apoio.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1 - Efeito da interação de pH da água e densidade de estocagem em parâmetros metabólicos, sanguíneos e de desempenho zootécnico de juvenis de tilápia-do-Nilo

- Figura 1. Níveis de cortisol (A) e glicose (B) plasmáticos de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidos a diferentes densidades de estocagem (DE) e diferentes faixas de pH da água (n = 16 peixes por tratamento). *Indica diferença significativa (P<0,05). 26

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 - Interação do pH da água e densidade de estocagem nos parâmetros metabólicos, sanguíneos e de desempenho zootécnico de juvenis de tilápia-do-Nilo.

- | | Página |
|---|--------|
| Tabela 1. Parâmetros de qualidade da água (média ± erro padrão) de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidos a diferentes densidades de estocagem (DE) e diferentes faixas de pH da água (n = 4 tanques por tratamento). | 24 |
| Tabela 2. Parâmetros de desempenho zootécnico (média ± erro padrão) de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidos a diferentes densidades de estocagem (DE) e diferentes faixas de pH da água (n = 4 tanques por tratamento). PT = Peso total. CT = Crescimento total. GP = Ganho de peso. TCE = taxa de crescimento específico. FC = fator de condição | 25 |
| Tabela 3. Parâmetros hematológicos de juvenis tilápia-do-Nilo submetidos a diferentes densidades de estocagem (DE) e diferentes faixas de pH (n = 16 peixes por tratamento). ER = Eritrócitos. Hb = Hemoglobina. HCT = Hematócrito. VGM = Volume globular médio. HGM = Hemoglobina globular média. CHGM = Concentração de hemoglobina globular média. | 27 |
| Tabela 4. Parâmetros imunológicos de juvenis tilápia-do-Nilo submetidos a diferentes densidades de estocagem (DE) e diferentes faixas de pH (n = 16 peixes por tratamento). | 28 |

Capítulo 2 - Crescimento e parâmetros bioquímicos em híbrido pintado amazônico (*Pseudoplatystoma reticulatum* ♀ x *Leiarius marmoratus* ♂) sob diferentes pH da água

- | | |
|--|----|
| Tabela 1. Parâmetros de qualidade da água (média ± erro padrão) de juvenis de pintado amazônico (<i>P. reticulatum</i> x <i>L. marmoratus</i>) expostos a diferentes níveis de pH da água (n = 3 tanques por tratamento). | 50 |
| Tabela 2. Parâmetros bioquímicos (média ± erro padrão) de juvenis de pintado amazônico (<i>P. reticulatum</i> x <i>L. marmoratus</i>) expostos a diferentes níveis de pH da água (n = 12 peixes por tratamento). AST = Aspartato aminotransferase. | 51 |

Tabela 3. Parâmetros zootécnicos (média \pm erro padrão) de juvenis de pintado amazônico (*P. reticulatum* x *L. marmoratus*) expostos a diferentes níveis de pH da água (n = 3 tanques por tratamento). PF = peso final. CF = comprimento final. GP = ganho de peso. TCE = taxa de crescimento específico. BF = biomassa final. S = sobrevivência. FC = fator de condição. 51

SUMÁRIO

Efeito do pH da água no crescimento e metabolismo de tilápia-do-Nilo e pintado amazônico

	Página
Resumo.....	01
Abstract.....	02
Introdução Geral.....	03
Revisão de Literatura Geral.....	04
Referências.....	08

Capítulo 1 Interação do pH da água e densidade de estocagem nos parâmetros metabólicos, sanguíneos e de desempenho zootécnico de juvenis de tilápia-do-Nilo.

Resumo.....	17
Abstract.....	18
Introdução.....	19
Material e Métodos.....	20
Resultados.....	23
Discussão.....	28
Conclusão.....	33
Agradecimentos.....	33
Referências.....	33

Capítulo 2 - Crescimento e parâmetros bioquímicos em híbrido pintado amazônico (*Pseudoplatystoma reticulatum* ♀ x *Leiarius marmoratus* ♂) sob diferentes pH da água

Resumo.....	44
Abstract.....	45
Introdução.....	46
Material e Métodos.....	47
Resultados.....	49
Discussão.....	52
Conclusão.....	55
Agradecimentos.....	55
Referências.....	56
Considerações Finais	63

Efeito do pH da água no crescimento e metabolismo de tilápia-do-Nilo e pintado amazônico

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar parâmetros de desempenho, metabólicos e hematológicos de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidos a diferentes níveis pH (5,74; 7,14 e 8,62) e densidade de estocagem (DE) (0,54; 1,08; e 2,16 kg m⁻³) durante 60 dias, bem como de juvenis de híbrido pintado amazônico submetidos a diferentes níveis de pH (4,56; 6,0; 7,24 e 8,90) durante 40 dias. Foram analisados os parâmetros de qualidade de água e ao final foi realizada a biometria e coleta de sangue. A sobrevivência não foi afetada em ambos os experimentos. Para tilápia-do-Nilo, em todas as DE, a alcalinidade e a amônia não ionizada foram superiores no pH alcalino. Em todos os níveis de pH, a alcalinidade na DE 2,16 kg m⁻³ foi superior à DE 0,54 kg m⁻³ e os peixes expostos a DE 2,16 kg m⁻³ apresentaram peso e comprimento menores e biomassa maior do que as demais DE. O cortisol plasmático foi maior nos peixes expostos ao pH ácido do que os expostos aos demais pHs na DE 2,16 kg m⁻³. A glicose plasmática foi maior nos juvenis submetidos ao pH ácido quando comparada aos do pH alcalino na DE 1,08 kg m⁻³. Em pH ácido, o número de leucócitos foi menor nos exemplares expostos a DE 2,16 kg m⁻³ do que nas demais DE. Na DE 1,08 kg m⁻³, os heterófilos foram superiores para os peixes submetidos ao pH circum-neutro e em relação aos demais pHs. Para pintado amazônico, a amônia total foi superior nos tratamentos com pH 4,56 e 6,00 quando comparada aos demais pH. A alcalinidade e a amônia não ionizada foram superiores no pH 8,90 do que nos demais tratamentos. Os peixes expostos ao pH 8,90 apresentaram crescimento inferior do que os demais pH. Cortisol e proteína plasmática foram superiores nos peixes expostos ao pH 4,56 do que os expostos aos demais tratamentos. A glicose foi superior nos tratamentos com pH 7,25 e 4,56 em relação aos demais pH da água. Os exemplares expostos ao pH 7,25 tiveram os níveis de ureia plasmática superior em relação aos demais pH. Os peixes expostos aos tratamentos com pH circum-neutro e alcalino apresentaram valores de AST do plasma superiores em relação aos expostos nos demais pH. O pH circum-neutro e DE 1,08 kg m⁻³ apresentaram as melhores condições de cultivo em termos de bem-estar e desenvolvimento para tilápia-do-Nilo. Os níveis de pH da água entre 6,00 a 7,25 são recomendados para a produção de pintado amazônico.

Palavras-chave: amônia não ionizada, cortisol, desempenho, glicose.

Effect of water pH on the growth and metabolism of Nile tilapia and amazonian hybrid (*Pseudoplatystoma reticulatum* ♀ x *Leiarius marmoratus* ♂)

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the metabolic, hematological and performance of juveniles of Nile tilapia submitted to different pH levels (5.74, 7.14 and 8.62) and stocking density (SD) (0,54, 1.08, and 2.16 kg m⁻³) for 60 days, and juveniles of Amazonian hybrid submitted to different pH levels (4.56, 6.0, 7.24 and 8.90) during 40 days. The water quality parameters were analyzed and at the end, the biometry and blood collection were performed. Survival was not affected in both experiments. For Nile tilapia, in all SD, alkalinity and non-ionized ammonia were higher at alkaline pH. At all pH levels, the alkalinity in SD of 2.16 kg m⁻³ was higher than SD 0.54 kg m⁻³ and fish exposed to SD of 2.16 kg m⁻³ had lower biomass than other SD. Plasma cortisol was higher in fish exposed to acid pH than those exposed to other pH in SD 2.16 kg m⁻³. Plasma glucose was higher in juveniles subjected to acid pH when compared to alkaline pH in SD 1.08 kg m⁻³. At acid pH, the number of leukocytes was lower in the specimens exposed to SD 2.16 kg m⁻³ when compared to other the SD. In SD 1.08 kg m⁻³, the heterophiles were superior for the fish submitted to the circum-neutral pH in relation to the other pH. For the amazonian hybrids, total ammonia was higher in the treatments with pH 4.56 and 6.00 when compared to the other pH. Alkalinity and non-ionized ammonia were higher at pH 8.90 than in the other treatments. The fish exposed to pH 8.90 presented lower growth than the other pH. Cortisol and plasma protein were higher in fish exposed to pH 4.56 than those exposed to other treatments. Glucose was higher in the treatments with pH 7.25 and 4.56 in relation to the other pH of the water. The specimens showed higher plasma urea levels with pH 7.25 in relationship the in other trataments. The fish exposed to the treatments with circum-neutral and alkaline pH presented superior plasma AST values in relation to the other trataments. The circum-neutral pH and SD 1.08 kg m⁻³ presented the best conditions of cultivation in terms of well-being and development for Nile tilapia. Water pH levels between 6.00 and 7.25 are recommended for amazonian hybrid production.

Keywords: cortisol, glucose, non-ionized ammonia, performance.

INTRODUÇÃO GERAL

A piscicultura é um dos setores de produção que mais tem crescido nos últimos anos em todo mundo. Este aumento é justificado pela crescente demanda dos consumidores por carne de pescado (BOSMA & VERDEGEM, 2011; CARVALHO et al., 2011).

Diante deste aumento na produção, surge uma preocupação cada vez mais constante em manter o bem-estar dos peixes cultivados (MEIJBOOM & BOVENKERK, 2013), pois é comum os produtores intensificarem a produção aumentando a densidade de estocagem (DE) nos seus sistemas de produção (CHAGAS et al., 2009). Tais situações estressantes podem acarretar em prejuízos ao metabolismo, o que irá refletir em problemas: no comportamento, na alimentação, no crescimento e, em situações mais graves, na mortalidade (IWAMA et al., 1997).

Diante disso, é necessário desenvolver pacotes tecnológicos que promovam estratégias de cultivos adequados para espécies foco, determinando as melhores DEs, assim como os valores dos parâmetros da qualidade de água. Portanto, proporcionar melhores condições para os peixes irá favorecer o desenvolvimento e, conseqüentemente, resultará em melhora nos índices de produção.

Estudos prévios mostraram que tanto baixas, quanto altas DE acarretam estresses severos em peixes (BROWN et al., 1992; JORGENSEN et al., 1993; ALANÄRÄ & BRÄNNÄS, 1996; COSTAS et al., 2008; OCHIENG'AKETCH et al., 2014). Nestas condições podem ocorrer perdas de ganho de peso e redução da taxa de sobrevivência (EL-SHERIF & EL-FEKY, 2009; GULLIAN-KLANIAN & ARAMBURU-ADAME, 2013). Neste contexto, baixas DE causam o subaproveitamento do espaço, influenciando o aparecimento de comportamentos de territorialidade, que desencadeiam crescimento desigual entre os indivíduos (HASENBEIN et al., 2016). Altas DE, por sua vez, causam estresse devido a abrasão mecânica (ROSS & ROSS, 1999; GOMES et al., 2003), mas também pelo aumento da atividade natatória, levando a maior demanda catabólica e aumento da área branquial, ocasionando perdas de íons, diminuição do oxigênio dissolvido, e maior aporte de compostos nitrogenados no cultivo (JOBING, 1994; ÇAGILTAY et al., 2015). Com o aumento da DE, ocorrem variações no pH da água, que é outra variável importante a ser avaliada, uma vez que influencia no desenvolvimento e na sobrevivência dos peixes. Valores entre 6,5 e 8,5 geralmente são recomendados para a maioria das espécies dulciaquícolas (BALDISSEROTTO, 2011). Os efeitos fisiológicos decorrentes da exposição a águas ácidas ou alcalinas, causam distúrbios no equilíbrio

ácido-base, regulação iônica e na excreção de amônia (BALDISSEROTTO, 2011). A exposição a altas DE em níveis fora das faixas de tolerância de pH, podem promover um maior desequilíbrio fisiológico, e como consequência, afetar negativamente o crescimento e o bem-estar dos peixes.

Portanto, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito da interação da DE, e pH da água em parâmetros de desempenho, metabólicos e hematológicos em juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), e o efeito do pH da água em parâmetros de desempenho e metabólicos em juvenis de híbrido pintado amazônico (*Pseudoplatystoma reticulatum* macho x *Leiarius Marmoratus* fêmea).

REVISÃO DE LITERATURA GERAL

Tilápia

As tilápias pertencem à família Cichlidae, tendo origem no continente africano e península arábica (LUND & FIGUEIRA, 1989). São animais onívoros, apresentando um comportamento alimentar fitoplancófago (BARROS et al., 2002).

As tilápias das espécies *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis mossambicus*, *Oreochromis aureus* e *Oreochromis hornorum* foram as que tiveram mais destaque no setor piscícola mundial (MELO et al., 2006). No cenário brasileiro, *O. niloticus* das linhagens GIFT e Chitralada, são as mais cultivadas e comercializadas (RODRIGUES et al., 2013). Devido as suas diversas características desejáveis para produção, como: grande rusticidade, resistência a várias condições ambientais e a sistemas de criação, rápido crescimento, hábito alimentar, boa conversão alimentar, qualidade nutritiva e organoléptica do seu filé e ausência de espinhas em formato de “y” (FREITAS et al., 2009; MEURER et al., 2009), resultou-se em alta aceitação no mercado nacional e internacional (VICENTE et al., 2014).

A tilápia-do-Nilo foi introduzida no Nordeste brasileiro na década de 1970, com indivíduos oriundos da estação de Piscicultura de Bouaké, Costa do Marfim, África, por meio do DNOCS (Departamento Nacional de Obras Contra as Secas), em Pentecostes, estado do Ceará (SIMÕES et al., 2007). Atualmente é a principal espécie cultivada na piscicultura continental brasileira (FURUYA, 2013), atingindo uma produção de mais de 250 mil toneladas (MPA, 2014).

O cultivo mundial desta espécie está em um nível crescente, onde em 2014, sua produção alcançou uma marca aproximada de 3.7 milhões de toneladas (FAO, 2016),

onde a China representou 40% da produção mundial de tilápia (CAO et al., 2015). O peso de abate médio para comercialização da tilápia-do-Nilo é de 600 a 700g. Para atingir o peso ideal para o comércio, pode chegar de seis meses a um ano de cultivo, dependendo do tipo de alimentação aportada, manejo e qualidade da água (NOGUEIRA, 2003).

Pintado amazônico

A finalidade dos programas de hibridação de diversas espécies de peixes, tem como proposta desenvolver animais com melhor taxa de crescimento, resistências a condições ambientais e a patógenos, melhor qualidade da carne que as espécies parentais (vigor híbrido ou heterose positiva), ou seja, melhorar as características para tornar a piscicultura mais rentável (BARTLEY et al., 2000).

Para aprimorar a eficiência da produção de espécies popularmente conhecidas como bagre, pesquisas de compatibilidade genética das espécies de bagres nativas da América do Sul, iniciaram na década de 1990, com a hibridização da fêmea do cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) com macho do jundiá da Amazônia (*Leiarius Marmoratus*) (KOSSOWSKY, 1992). Estas espécies pertencem à ordem Siluriformes e família Pimelodidae. São peixes de couro que apresentam corpo roliço e alongado, cabeça achatada, três pares de barbilhões próximos à boca e o primeiro raio das nadadeiras dorsal e peitoral constitui-se de um espinho forte e pungente (CAMPOS, 2005).

O cachara, como a maioria dos animais do gênero *Pseudoplatystoma*, é um predador piscívoro, se alimentando no período noturno. A sua distribuição ocorre nas Bacias dos rios Amazonas, Corantijn, Essequibo, Orinoco, Paraná e Magdalena e; dificilmente ultrapassa 20 kg de peso corporal (CAMPOS, 2005; FERRARIS JUNIOR, 2007).

O jundiá da Amazônia, que tem distribuição nas Bacias dos rios Amazonas, Essequibo e Orinoco, pode alcançar até 1 m de comprimento e pesar 12 kg. Possui hábito alimentar onívoro e é considerado uma espécie oportunista (FERRARIS JUNIOR, 2007).

O produto gerado da hibridização dessas duas espécies é um híbrido conhecido como pintado amazônico. Tal híbrido possui maior versatilidade no hábito alimentar, aceitando dietas comerciais. Soma-se a isso o fato de que as características deste peixe, tanto morfológicamente, quanto no aspecto da qualidade da carne, são semelhantes às das espécies parentais (CAMPOS, 2005). Adicionalmente, este híbrido possui maior atividade locomotora e alimentar durante a noite (FORTES-SILVA et al., 2017). Por fim, o peso do abate recomendado é de 2,0 kg (CAMPOS, 2005).

Devido ao considerável valor de mercado da carne deste peixe, aumenta o interesse para sua produção por partes dos piscicultores, o que gera uma maior demanda por estudos voltados a desenvolver pacotes tecnológicos para o cultivo do pintado amazônico, que ainda são escassas (FURUYA & FURUYA, 2003).

Densidade de estocagem

Com o objetivo de maximizar o uso da água e do espaço para aumentar a produtividade e rentabilidade de peixes, os piscicultores, muitas vezes, aumentam a DE (ZHANG et al., 2016). Contudo, DE inadequadas podem desencadear estresse, promovendo efeitos negativos ao desenvolvimento (SANCHES & HAYASHI, 1999).

A produção em baixas DE, apesar do subaproveitamento do espaço, pode promover uma melhor taxa de crescimento e sobrevivência de algumas espécies. Porém, o cultivo de espécies que possuem comportamentos de territorialidade, além de reduzir a produtividade (menor biomassa), podem acarretar em menor crescimento e maior mortalidade (GOMES et al., 2000).

Por outro lado, manejos inadequados em cultivo em altas DE, causa prejuízos na conversão alimentar, redução de crescimento, não uniformidade nos indivíduos, distúrbios fisiológicos e até mortalidade (CAVERO et al., 2003; HASENBEIN et al., 2016). Ademais, altas DE comprometem a qualidade da água, em função do aumento dos compostos nitrogenados decorrentes do arraçamento inadequado e excreção dos peixes, o que irá acarretar estresse e aumento a suscetibilidade a doenças (JOBILING, 1994; BARCELLOS et al., 2000).

A forma não ionizada da amônia, por sua vez, é facilmente difundida da água para o epitélio branquial devido a sua solubilidade lipídica, acarretando em distúrbio no balanço iônico (McDonald e Milligan, 1997), bem como em alterações metabólicas (MIRON et al., 2008). Promovendo efeitos negativos nos peixes, principalmente em águas com pH alcalino, onde a concentração deste composto aumenta devido aos menores níveis do íon H^+ (CHEZHIAN et al., 2012). Além disso, o nitrito é outro composto nitrogenado que pode atingir níveis tóxicos em sistemas de altas DE, sendo que a concentração tóxica dependerá da espécie cultivada e da idade (TIBILE et al., 2016). Por fim, o aumento de compostos nitrogenados pode levar a eutrofização do sistema de produção, que por sua vez, irá afetar a qualidade de água (oxigênio dissolvido e pH) (BALDISSEROTO, 2013).

Estudo de DE com tilápia-do-Nílo realizada por GARCÍA-TREJO et al. (2016) mostrou que o desempenho foi maior para tratamentos com baixa DE, porém a mortalidade foi elevada (81,1%), devido ao comportamento de territorialidade. Por outro lado, os juvenis da mesma espécie submetidos a altas DE, tiveram menor ganho de peso e crescimento (SHOKO et al., 2014). Para o Jundiá (*Rhamdia quelen*), o estresse gerado por altas DE e baixas DE, promoveram alterações nos parâmetros bioquímicos destes peixes (MENEZES et al., 2015).

Potencial hidrogeniônico (pH)

Um outro fator importante a ser devidamente estabelecido para as diferentes espécies é o pH, uma vez que influencia no desenvolvimento e na sobrevivência dos peixes. O local onde o cultivo será implantado pode conter substâncias que podem promover a acidificação da água, como por exemplo, Al^{3+} e pirita de ferro (que em condições de oxigenação forma ácido sulfúrico) (ZWEIG et al., 1999). Ou pelo aporte de ácidos húmicos e fúlvicos que são formados através da decomposição da matéria orgânica vegetal (MATSUO & VAL, 2003). Valores entre 4,0 a 5,0, podem acarretar em toxidades nos peixes, devido a altas concentrações do íon H^+ que promove distúrbios ionorregulatórios e diminuição da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio (VAL et al., 1998).

A alcalinização da água, por sua vez, geralmente se deve à elevação de níveis de carbonato e outros íons (PARRA & BALDISSEROTTO, 2007). As variações do pH podem ser influenciadas também por organismos fotossintetizantes (BALDISSEROTTO, 2013), onde, durante o dia eles realizam a fotossíntese, retirando o CO_2 dissolvido, reduzindo os níveis de íons H^+ (o que eleva o pH). E à noite, a taxa fotossintética diminui, elevando excreção de CO_2 e acidificando a água (WOOD, 2001).

O principal problema da exposição ao pH alcalino é o aumento da concentração de NH_3 no sistema, devido a menor concentração do íon H^+ para reagir com esse composto nitrogenado e transforma-lo em NH_4^+ (BOLNER & BALDISSEROTTO, 2007). A elevação do NH_3 no sistema, irá inibir a excreção deste composto pelos peixes, aumentando sua concentração no plasma, o que irá desencadear toxidade (alterações osmorregulatórias, metabólicas e baixo crescimento) (CHEZHIAN et al., 2012). Adicionalmente, a exposição ao pH alcalino inibe o influxo de íons Na^+ (WILKIE & WOOD, 1996).

Algumas espécies de peixes toleram níveis de pH entre 4,0 e 10,0, o que pode ser um mecanismo adaptativo para manter o equilíbrio iônico (LIN et al., 2011; PARRA & BALDISSEROTTO, 2007). Cita-se por exemplo, tilápia do lago Mangadi, que suportam pH da água 11,0 (*Oreochromis alcalicus grahami*) e o Neon cardinal (*Paracheirodon axelrodi*), que sobrevive em pH da água 3,5 (BALDISSEROTTO, 2013). Porém valores muito ácidos ou alcalinos ou níveis de pH da água foram da faixa de tolerância para a espécie, podem interferir no crescimento e levar a mortalidade (WHITE et al., 2014).

REFERÊNCIAS

- ALANÄRÄ, A.; BRÄNNÄS, E. Dominance in demand-feeding behaviour in Arctic charr and rainbow trout: the effect of stocking density. **Journal of Fish Biology**, v. 48, p. 242-254, 1996.
- BALDISSEROTTO, B. Water pH and hardness affect growth of freshwater teleosts. **Brazilian Journal of Animal Science**, v. 40, p. 138-144, 2011.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura 3^o edição**. Santa Maria, SC, Brazil: UFSM, 2013.
- BARCELLOS, L.J.G.; SOUZA, S.M.G.; WOHL, V.M. Estresse em peixes: Fisiologia da Resposta ao Estresse, Causas e Consequências (Revisão). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 26, p. 99-111, 2000.
- BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; KLEEMANN, G.K, HISANO, H.; ROSA, G.J.M. Níveis de vitamina C e ferro para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 2149-2156, 2002.
- BARTLEY, D.M.; RANA, K.; IMMINK, A.J. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 10, p. 325–337, 2000.
- BOLNER, K.C.S.; BALDISSEROTTO, B. Water pH and urinary excretion in silver catfish *Rhamdia quelen*. **Journal of Fish Biology**, v. 70, p. 50-64, 2007.

BOSMA, R.H.; VERDEGEM, M.C.J. Sustainable aquaculture in ponds: principles, practices and limits. **Livestock Science**, v. 139, p. 58-68, 2011.

BROWN, G.E.; BROWN, J.A.; SRIVASTAVA, R.K. The effect of stocking density on the behaviour of arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). **Journal of Fish Biology**, v. 41, p. 955-963, 1992.

ÇAGILTAY, F.; ERKAN, N.; ULUSOY, Ş.; SELCUK, A.; ÖZDEN, Ö. Effects of stock density on texture-colour quality and chemical composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v. 14, p. 687-698, 2015.

CAMPOS, J.L. O cultivo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*, Spix; Agassiz, 1829), outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos. In: **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria, RS: UFSM, p. 468, 2005.

CAO, L.; NAYLOR, R.; HENRIKSSON, P.; LEADBITTER, D.; METIAN, M.; TROELL, M.; ZHANG, W. China's aquaculture and the world's wild fisheries. **Science**, v. 347, p. 133-135, 2015.

CARVALHO, J.V.; LIRA, A.D.; COSTA, D.S.P.; MOREIRA, E.L.T.; PINTO, L.F.B.; ABREU, R.D.; ALBINATI, R.C.B. Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou mananoligossacarídeo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, p. 176-187, 2011.

CAVERO, B.A.S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R.; ITUASSÚ, D.R.; GANDRA, A.L.; CRESCÊNCIO, R. Efeito da densidade de estocagem na homogeneidade de crescimento de juvenis de pirarucu em ambiente confinado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 103-107, 2003.

CHAGAS, E.C.; PILARSKI, F.; SAKABE, R.; MASSAGO, H.; FABREGAT, T.E.H.P. Suplementos na dieta para manutenção da saúde de peixes. In: TAVARES-DIAS, M. (Ed.). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo: Embrapa Amapá**, p. 132-225, 2009.

CHEZHIAN, A.; SENTHAMILSELVAN, D.; KABILAN, N. Histological changes induced by ammonia and ph on the gills of fresh water fish *Cyprinus carpio var. communis* (Linnaeus). **Asian Journal of Animal Veterinary Advances**, v. 7, p. 588-596, 2012.

COSTAS, B.; ARAGÃO, C.; MANCERA, J.M.; DINIS, M.T.; CONCEIÇÃO, L. E. High stocking density induces crowding stress and affects amino acid metabolism in *Solea senegalensis* (Kaup 1858) juveniles. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 1-9, 2008.

EL-SHERIF, M.S.; A.M.I. EL-FEKY. Performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. I. Effect of pH. *International Journal of Agriculture & Biology*, v. 11, p. 297-300, 2009.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture Opportunities and challenges. Rome, 2016. Disponível em: <<http://www.fao.org/publications/sofia/2016/en/>>. Acesso em: julho de 2017.

FERRARIS JUNIOR, C.J. Checklist of catfishes, recent and fossil (*Osteichthyes: Siluriformes*), and catalogue of *siluriform* primary types. **Zootaxa**, v. 1418, p. 1–628, 2007.

FORTES-SILVA, R.; COSTA, L.S.; PAULINO, R.R.; RODRIGUES, E.J.; SANCHEZ-VAZQUEZ, F.J.; ROSA, P.V. Hybrid fish model (*Pseudoplatystoma reticulatum*♀ × *Leiarius marmoratus*♂) to study feeding behaviour: protein source self-selection and demand-feeding rhythms. **Aquaculture Research**, v. 48, p. 3705-3718, 2017.

FREITAS, R.T.F.; LAGO, A.A.; ALLAMAN, I.B.; REIS NETO, R.V. Espécies exóticas e nativas de importância para a piscicultura brasileira. Minas Gerais: UFLA: **FAEPE**. p. 65, 2009.

FURUYA, W.M. Nutrição de Tilápias no Brasil. **Revista Varia Scientia Agrárias**, v. 3, p. 133-150, 2013.

FURUYA, W.M.; FURUYA, V.R.B. Composição de aminoácidos da carcaça de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) baseado no conceito de proteína ideal. INIA. **Zootecnia tropical**, v. 21, p. 109-117, 2003.

GARCÍA-TREJO, J.F.; PEÑA-HERREJON, G.A.; SOTO-ZARAZÚA, G.M.; MERCADO-LUNA, A.; ALATORRE-JÁCOME, O.; RICO-GARCÍA, E. Efecto de la densidad de siembra sobre el crecimiento y el consumo de oxígeno de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) bajo condiciones de invernadero. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 44, p. 177-183, 2016.

GOMES, L.C.; ARAUJO-LIMA, C.A.R.M.; ROUBACH, R., CHIPPARIGOMES, A.R.; LOPES, N.P. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 34, p. 76-84, 2003.

GOMES, L.C.; BALDISSEROTTO, B.; SENHORINI, J.A. Effect of stocking density on water quality, survival, and growth larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. **Aquacultura**, v. 183, p. 73-81, 2000.

GULLIAN-KLANIAN, M.; ARÁMBURU-ADAME, C. Performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings in a hyper-intensive recirculating aquaculture system with low water exchange. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 41, p. 150-162, 2013

HASENBEIN, M.; FANGUE, N.A.; GEIST, J.P.; KOMOROSKE, L.M.; CONNON, R.E. Physiological stress biomarkers reveal stocking density effects in late larval Delta Smelt (*Hypomesus transpacificus*). **Aquaculture**, v. 450, p. 108-115, 2016.

IWAMA, K.; PICKERING, A.D.; SUMPTER, J.P.; SCHRECK, C.B. Stress in finfish: Past, present and future – A historical perspective. **Fish Stress and Health in Aquaculture**, v. 62, p. 1-33, 1997.

JOBLING, M. **Fish bioenergetics**. London: Chapman & Hall, p. 294, 1994.

JORGENSEN, E.H.; CHRISTIANSEN, J.S.; JOBLING, M. Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). **Aquaculture**, v. 110, p. 191–204, 1993.

KOSSOWSKY, C. Avances em la hibridacion artificial de *Pseudoplatystoma Reticulatum* (Linnaeus) 1766 por *leiarius marmoratus* (gill) 1871 (Pices, *siluriformes*, *Pimelodidae*). Santafé de Bogotá – Colômbia. **Red acuicultura boletín**, v. 6, p. 3-7 1992.

LIN, C.H.; TSAI, I.L.; SU, C.H.; TSENG, D.Y.; HWANG, P.P. Reverse effect of mammalian hypocalcemic cortisol in fish: cortisol stimulates Ca^{2+} uptake via glucocorticoid receptor-mediated vitamin D3 metabolism. **PloS one**, v. 6, p. e23689, 2011.

LUND, V.X.; FIGUEIRA, M.L. O. Criação de tilápia. São Paulo: **Nobel**. p. 63 1989.

MATSUO, A.Y.O.; VAL, A.L. Fish adaptations to Amazonina blackwaters, In VAL, A.L.; KAPOOR, B.G. (Eds), **Fish Adaptations**. Science Publishers, Enfield (USA), p. 1-36, 2003.

MCDONALD, D.G.; MILLIGAN, L. Ionic, osmotic and acid–base regulation in stress. In: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P., Schreck, C.B. (Eds.), **Fish Stress and Health in Aquaculture**. University Press, Cambridge, v. 62, p. 119–144, 1997.

MEIJBOOM, F.L.B.; BOVENKERK, B. Fish welfare: Challenge for science and ethics—Why fish makes the difference. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, v. 26, p. 1-6, 2013.

MENEZES, C.; RUIZ-JARABO, I.; MARTOS-SITCHA, J.A.; TONI, C.; SALBEGO, J.; BECKER, A.; BALDISSEROTTO, B. The influence of stocking density and food deprivation in silver catfish (*Rhamdia quelen*): a metabolic and endocrine approach. **Aquaculture**, v. 435, p. 257-264, 2015.

MELO, D.C.; OLIVEIRA, D.A.A; RIBEIRO, L.P.; TEIXEIRA, C.S.; SOUSA, A.B.; COELHO, E.G.A.; CREPALDI, D.V.; TEIXEIRA, E.A. Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilápia (*Oreochromis*) utilizando marcadores microssatélites. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 87-93, 2006.

MEURER, F.; SILVA, M.; COSTA, M.M. Probiótico com levedura na alimentação da tilápia do Nilo, durante o período de reversão sexual, cultivada em água de tanque de cultivo. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v. 10, p. 406-416, 2009.

MIRON, D.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.

MPA - MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Primeiro Anuário de Pesca e Aquicultura 2014, Brasília**. Disponível em <http://www.mpa.gov.br/index.php/topicos/240-lancado-1-anuario-brasileiro-de-pesca-e-aquicultura>>. Acesso em: setembro de 2016.

NOGUEIRA, A.J. Aspectos da biologia reprodutiva e padrões de crescimento da tilápia *Oreochromis niloticus*, (Linnaeus, 1758), linhagem Chitralada, em cultivos Experimentais. **Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco**, 2003.

OCHIENG'AKETCH, B., OYIENG'ANG'IENDA, P., RADULL, J. O., WAINDI, E. N. Effect of stocking density on the expression of glucose transporter protein 1 and other physiological factors in the Lake Victoria Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **International Aquatic Research**, v. 6, p. 1-8, 2014.

PARRA, J.E.G.; BALDISSEROTTO, B. Effect of water pH and hardness on survival and growth of freshwater teleosts. **Fish osmoregulation. Science Publishers, New Hampshire**, p. 135-150, 2007.

RODRIGUES, A.P.O.; LIMA, A.F.; ALVES, A.L.; ROSA, D.K.; TORATI, L.S.; SANTOS, V. R.V. **Piscicultura em água doce: multiplicando conhecimentos**. Brasília, DF: EMBRAPA, p. 440, 2013.

ROSS, L.G.; ROSS, B. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. **Blackwell Science**, Oxford, p. 59, 1999.

SANCHES, L.E.F.; HAYASHI, C. Densidade de estocagem no desempenho de larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), durante a reversão sexual. **Acta Scientiarum**, v. 21, n. 3, p. 619-625, 1999.

SIMÕES, M.R.; RIBEIRO, C.F.A.; RIBEIRO, S.C.A.; PARK, K.J.; MURR, F.E.X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa 163 16 (*Oreochromis niloticus*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 608-613, 2007.

SHOKO, A. P.; LIMBU, S.M.; MROSSO, H.D.J.; MKENDA, A.F.; MGAYA, Y.D. Effect of stocking density on growth, production and economic benefits of mixed sex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) in polyculture and monoculture. **Aquaculture Research**, v. 47, p. 36-50, 2016.

TIBILE, R.M.; SAWANT, P.B.; CHADHA, N.K.; LAKRA, W.S.; PRAKASH, C.; SWAIN, S.; BHAGAWATI, K. Effect of Stocking Density on Growth, Size Variation, Condition Index and Survival of Discus, *Symphysodon aequifasciatus* Pellegrin, 1904. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 16, p. 453-460, 2016.

VAL, A.L.; WOOD, C.M.; WILSON, R.W.; GONZALEZ, R.J.; PATRICK, M.L.; BERGMAN, H.L.; NARAHARA, A. Responses of an Amazonian teleost, the tambaqui (*Colossoma macropomum*), to low pH in extremely soft water. **Physiological zoology**, v. 71, p. 658-670, 1998.

VICENTE, S.T.; ELIAS, F.; FONSEA-ALVES, C.E. Perspectivas da produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, p. 392-398, 2014.

WHITE, R.S.; MCHUGH, P.A.; GLOVER, C.N.; MCINTOSH, A.R. Multiple environmental stressors increase the realised niche breadth of a forest-dwelling fish. **Ecography**, v. 38, p. 154-162, 2014.

WILKIE, M.P.; WOOD, C.M. The adaptations of fish to extremely alkaline environments. **Comp. Biochemistry and Molecular Biology**, v. 113, p. 665-673, 1996.

WOOD, C.M. Toxic response of the gill. In: SCHLENK, D & BENSON, W.H (Eds), **Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts**, v. 1, p. 1-89. 2001

ZHANG, G.; YIN, S.; WANG, Y.; LI, L.; WANG, X., DING, Y.; HU, Y. The effects of water temperature and stocking density on survival, feeding and growth of the juveniles of the hybrid yellow catfish from *Pelteobagrus fulvidraco* (♀) × *Pelteobagrus vachelli* (♂). **Aquaculture Research**, v. 47, p. 2844-2850, 2016.

ZWEIG, R.D.; MORTON, J.D.; STEWART, M.M. Source Water Quality for Aquaculture. **A Guide for Assessment. Environmentally and Socially Sustainable Development**. The World Bank. Washington, USA. p. 62, 1999.

CAPÍTULO 1

INTERAÇÃO DO pH DA ÁGUA E DENSIDADE DE ESTOCAGEM NOS PARÂMETROS METABÓLICOS, SANGUÍNEOS E DE DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DE TILÁPIA-DO-NILO

**INTERAÇÃO DO pH DA ÁGUA E DENSIDADE DE ESTOCAGEM NOS
PARÂMETROS METABÓLICOS, SANGUÍNEOS E DE DESEMPENHO
ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DE TILÁPIA-DO-NILO**

RESUMO

A intensificação nos sistemas de criação expõe continuamente os peixes a situações estressantes, como alterações na qualidade de água e adensamentos inadequados. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito de diferentes níveis de pH e densidade de estocagem (DE) em parâmetros metabólicos, sanguíneos e zootécnicos de juvenis de tilápia-do-Nilo. Foram utilizados 1512 exemplares (7,0 g; 8,63 cm) submetidos a três diferentes DE (0,54; 1,08; e 2,16 kg m⁻³) e três diferentes níveis de pH (5,74; 7,14 e 8,62) (quadruplicata) durante 60 dias. A sobrevivência variou de 89 a 100%. Em todos os níveis de pH, os peixes expostos a altas DE apresentaram comportamento de cardume e maior frenesi alimentar do que os demais tratamentos. As menores DE em todos os pH, apresentaram maior comportamento agressivo de territorialidade do que os demais tratamentos. Em todas as DE, a alcalinidade e a amônia não ionizada foram superiores no pH alcalino do que nos demais pH (P<0,05). Em todos os níveis de pH, a alcalinidade na DE 2,16 kg m⁻³ foi superior em comparação com a DE 0,54 kg m⁻³ (P<0,05). Em geral, em todos os níveis de pH, os peixes expostos a DE 2,16 kg m⁻³ apresentaram peso, ganho de peso e comprimento menores e biomassa maior do que as demais DE (P<0,05). O cortisol plasmático foi maior nos peixes expostos ao pH ácido do que nos exemplares expostos aos demais pHs na DE 2,16 kg m⁻³ (P<0,05). A glicose plasmática foi maior nos juvenis submetidos ao pH ácido quando comparada aos exemplares submetidos ao pH alcalino na DE 1,08 kg m⁻³ (P<0,05). Os valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito não diferiram entre os tratamentos. Em pH ácido, o número de leucócitos foi menor nos exemplares expostos a DE 2,16 kg m⁻³ do que nas demais DE (P<0,05). Na DE 1,08 kg m⁻³, os heterófilos apresentaram valores superiores para os peixes submetidos ao pH circum-neutro e em relação aos demais pHs (P<0,05). Em conclusão, pH circum-neutro e DE intermediária apresentaram as melhores condições de cultivo em termos de bem-estar e desenvolvimento para tilápia-do-Nilo.

Palavras-chave: qualidade da água, cortisol, ganho de peso, glicose, leucócitos.

**INTERACION OF pH AND STOCKING DENSITY IN THE BLOOD,
METABOLIC AND GROWTH PARAMETERS OF NILE TILAPIA
JUVENILES**

ABSTRACT

Improving fish production systems exposes the animals to stressful situations, such as poor water quality, and inadequate animal densities. The objective of this work was to evaluate the interaction between pH and stocking density (SD) on blood metabolites and growth parameters of Nile tilapia juveniles. The juveniles of Nile tilapia, 1512 animals (7.0 g, 8.63 cm), were submitted to three different levels of SD (0.54, 1.08, and 2.16 kg m⁻³) in three different pH (5.74, 7.14 and 8.62). After 60 days, the results showed that survival ranged varied from 89 to 100%. At all pH levels, fish exposed to high SD presented a gregarious behavior of shoals greater food frenzy than the other treatments. The lowest in all pH, presented higher aggressive territoriality behavior than the other treatments. Across all SD, alkalinity and non-ionized ammonia were higher for the basic pH than the other pH (P<0.05). Across all pH levels, the alkalinity in the 2.16 kg m⁻³ SD was higher in comparison with the 0.54 kg m⁻³ (P<0.05). The fish exposed to high SD presented weight, weight gain and length smaller than the other SD across all pH (P<0.05). The final biomass was higher in SD of 2.16 kg m⁻³ at all pH (P<0.05). The exposure to acidic pH and the highest SD promoted the highest plasma cortisol level (P<0.05). Plasma glucose was higher for the acidic pH associated with the intermediate SD when compared to the basic pH in the same SD (P<0.05). The values of erythrocytes, hemoglobin and hematocrit did not differ among treatments. For the lowest pH, the number of leukocytes was lower in the samples exposed to 2.16 kg m⁻³ SD than the other SD (P<0.05). In SD 1.08 kg m⁻³, the heterophil blood cells showed maximum values for the fish submitted to neutral pH compared to the other pH (P<0.05). In conclusion, neutral pH and intermediate SD showed the best conditions for Nile tilapia production systems, in terms of well-being and animal performance.

Key-word: cortisol, glucose, leukocytes, water quality, weight gain.

INTRODUÇÃO

Na piscicultura intensiva, os produtores, tendem a aumentar a DE, para aumentar a sua produção, o que pode afetar o bem estar dos animais, a qualidade da água de criação, desencadeando respostas de estresse (BARCELLOS et al., 1999). Estas situações podem acarretar em prejuízos no crescimento, aumentar a susceptibilidade a doenças e reduzir a sobrevivência dos peixes (BARCELLOS et al., 2011).

Neste contexto, para aumentar a produção de peixes, os piscicultores elevam a densidade de estocagem (DE) (ZHANG et al., 2016), o que pode afetar o bem-estar dos animais (BALDWIN, 2010). Por exemplo, há prejuízo em relação ao crescimento, consumo de ração, conversão alimentar, comportamento e saúde, desencadeando alterações fisiológicas (ASHLEY, 2007; HASENBEIN et al., 2016), as quais afetam a homeostase corporal. Além disso, altas DE interferem na qualidade de água pelo excesso de excreção nitrogenada (JOBILING, 1994), baixas DE, por sua vez, contribuem para o aparecimento de comportamentos de territorialidade e crescimento desigual entre os indivíduos, devido ao sub-aproveitamento do espaço nas estruturas de produção aquícola (MILLÁN-CUBILLO et al., 2016).

O pH da água é outro fator que apresenta influencia no desenvolvimento dos peixes. (BALDISSEROTTO, 2011). Níveis elevados do íon H^+ podem ocasionar toxicidade nos peixes, promovendo distúrbios ionorregulatórios devido a inibição da captura dos íons Ca^{++} e Na^+ , bem como perdas iônicas pelo afrouxamento das junções proteicas da membrana branquial, o que ocasiona a perda de íons por difusão para o ambiente (BALDISSEROTTO, 2013). A exposição ao pH alcalino reduz a conversão do NH_3 para NH_4^+ , inibindo a excreção por difusão da amônia não ionizada e aumentando sua concentração no plasma (BOLNER & BALDISSEROTTO, 2007; CHEZHIAN et al., 2012). Adicionalmente, a exposição ao pH alcalino inibe o influxo de íons Na^+ (WILKIE & WOOD, 1996). De acordo com EL-SHERIF & EL-FEKY (2009), a faixa de pH entre 7,0 e 8,0 é a ideal para o cultivo de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).

De acordo com isso, análises hematológicas, bioquímicas e de desempenho zootécnico possibilitam respostas fundamentais ao bem-estar e crescimento dos peixes (BARCELLOS et al., 2000). Dentre estas análises, o cortisol plasmático é um dos principais metabólitos que se eleva em resposta ao estresse (BARCELLOS et al., 2000), além de ser um importante hormônio no processo da osmorregulação (LIN et al., 2015).

Outro importante metabólito, mediado pelas catecolaminas e gliconeogênese, influenciados pelo cortisol é a glicose, e principal fonte de energia nos tecidos durante o estresse (BRANDÃO et al., 2004; PANKHURST, 2011).

A avaliação de eritrócitos é outro indicador relevante, uma vez que sua alteração compromete a disponibilidade de O₂ nos tecidos (WELLS et al., 2005). Além, a redução hidromineral ocasionar disfunções no hematócrito e hemoglobina, que pode reduzir o desenvolvimento e a sobrevivência dos peixes (WOOD, 1989). Os leucócitos, por sua vez, representam os principais mediadores do sistema imune inato (JANEWAY & MEDZHITOV, 2002), e seu aumento pode ser decorrente do início do estresse ou ocorrer em processos infecciosos (NGUGI et al., 2015). Contudo, sua diminuição pode ser influenciada pelo estresse, uma vez que o aumento do cortisol reduz os processos anabólicos (HARRIS & BIRD, 2000).

Todos os fatores mencionados anteriormente devem ser levados em consideração durante a produção da Tilápia do Nilo, uma das principais espécies cultivadas mundialmente (RODRIGUES et al., 2013). Isto se deve a características favoráveis para a sua produção, como: tolerância ao manejo, adaptação a diferentes sistemas de criação, resistência a variações dos parâmetros da água, rápido crescimento e boa aceitação no mercado (MEURER et al., 2009).

Portanto, devem ser levados em consideração nos sistemas intensivos de produção desta espécie a DE e o pH, pois são escassos os estudos relacionados a interação entre estes parâmetros na literatura científica. Desta forma, este estudo teve como objetivo verificar os efeitos da interação entre diferentes níveis de pH e DE em parâmetros de qualidade de água, de desenvolvimento, bioquímicos, hematológicos e imunológicos em juvenis de tilápia-do-Nilo.

MATERIAL E MÉTODOS

Manejo experimental

O estudo foi conduzido no Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (LASOA) da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Foram utilizados 1512 juvenis de tilápia-do-Nilo da linhagem gift, revertidos sexualmente ($7,0 \pm 0,85$ g; $8,63 \pm 1,2$ cm), oriundos da empresa Bahia Pesca, Cachoeira, BA. Os peixes passaram por um período de aclimatação de 10 dias em tanques de 1000 L em sistema semiestático, continuamente aerados, com DE de $0,91 \text{ kg m}^{-3}$. Após, os juvenis foram transferidos para 36 tanques de 250 L (volume útil de 200 L) de

amianto revestido com aeração constante em sistema semiestático. O experimento teve duração de 60 dias. O estudo foi aprovado sob o número 29-2015 do Comitê de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia da UFBA.

Foram testadas as DE 0,63; 1,26; e 2,52 kg m⁻³ (ou 18, 36 e 72 peixes por tanque) em pH ácido ($5,74 \pm 0,38$), circum-neutro ($7,14 \pm 0,05$) e alcalino ($8,62 \pm 0,02$). As densidades de estocagem e os pHs foram determinados para o desenvolvimento do experimento de acordo com COSTAS et al. (2008), OCHIENG'AKETCH et al. (2014) e COPATTI et al. (2011) respectivamente.

A manutenção dos níveis de pH (BIVOLT, modelo mPA-210P) foi realizado com a adição de NaOH (5 N) ou H₂SO₄ (5 N), sendo mensurada diariamente. Oxigênio dissolvido e temperatura (oxímetro, DO-48) foram monitorados diariamente, enquanto amônia total, alcalinidade, dureza e nitrito (kit alfatecnoquímica, Florianópolis) foram mensurados duas vezes por semana. A amônia não ionizada foi calculada de acordo com COLT (2002).

Os animais foram alimentados até saciedade aparente com ração tipo pellets (35% de proteína bruta e 3.600 kcal kg⁻¹ de energia digestível, Purina Nutripeixe SI) ofertada duas vezes ao dia, às 07:30 e às 16:00 h. A alimentação foi interrompida 24 h antes do término do experimento. A limpeza das caixas foi feita uma vez ao dia por sifonagem para retirada de fezes e restos de ração. A reposição da água decorrente da evaporação ou limpeza dos tanques foi substituída por outra nas mesmas condições exigidas para cada tratamento.

Desempenho zootécnico

Para verificação do desempenho zootécnico dos animais foram verificados o peso (g; balança de precisão, UX8200S) e comprimento (cm; régua graduada) de todos os peixes de cada tanque no início e ao final do experimento. Outros fatores também foram avaliados, com a finalidade de avaliar a sobrevivência e o desenvolvimento dos exemplares, foram averiguados os seguintes parâmetros:

- Taxa de sobrevivência (%) = $100 \times \frac{nf}{ni}$, onde ni e nf se referem a quantidade inicial e final de peixes, respectivamente;
- Ganho de peso (g) = PF – PI, onde PF e PI se referem ao peso médio final e inicial, respectivamente;

- Taxa de crescimento específico (TCE, % dia) = $(\ln Pt2 - \ln Pt1) \times 100 \div t$, onde Pt1 é o peso total médio da amostra no instante t1 e Pt2 é o peso total médio da amostra no instante t2 e t é o tempo em dias;
- Fator de condição = $PF \div C^3$, onde PF é o peso final médio e C é o comprimento;
- Biomassa final (g) = $PF \times nf$, onde PF e nf se referem ao peso final médio e a quantidade final de peixes, respectivamente.

O monitoramento comportamental dos peixes foi adaptado de KAISER et al. (1995) e ROSS & WATTEN (1998). As observações foram realizadas pelo mesmo observador nos períodos da alimentação e 30 minutos após o arraçoamento. A duração de cada observação teve duração de 5 minutos por tanque. Foram registrados comportamentos de disputa por alimento, por espaço, perseguição, fuga e formação de grupos.

Coleta de amostras

Após a biometria, procedeu-se a coleta de sangue de 4 peixes por repetição para as determinações plasmáticas. Para estas análises, retirou-se 0,5 mL de sangue a partir de punção da veia caudal, com o auxílio de seringas heparinizada (3 mL). O plasma foi obtido a partir da centrifugação do sangue (4000 rpm por 5 min à -4 °C), e o mesmo foi mantido sob refrigeração constante (-20 °C). As análises foram realizadas no Laboratório de Extensão em Análises Clínicas do Instituto de Farmácia da UFBA.

De acordo com o mesmo procedimento, foi retirado de outros 4 peixes, uma aliquota de sangue de 0,5 mL para determinações hematológicas e imunológicas. As amostras foram refrigeradas (2 °C) e imediatamente analisadas no Laboratório Centro Veterinário Especializado Ltda, Salvador, BA, Brasil.

Determinações bioquímicas

Para determinação do cortisol plasmático foi utilizado Kit Vidas[®] Cortisol S, em um equipamento mini-VIDAS, em um teste automatizado para determinação quantitativa de cortisol em soro, plasma ou urina, a partir da técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

Os níveis de glicose plasmática foram determinados pelo método enzimático a partir da glicose oxidase (GOD) glicose peroxidase (POD)⁻¹, método colorimétrico utilizando equipamento BT 3000 (500 testes h⁻¹; Wiener lab[®], Rosario, Argentina) adaptado de SENA et al. (2016).

Determinações hematológicas

Para contagem de eritrócitos, alíquotas de sangue foram diluídas em um tubo de ensaio em uma proporção 0,02 mL de sangue para 4,0 mL do diluente de NATT & HERRICK (1952). Posteriormente, a solução foi homogeneizada e a contagem feita em câmara de Neubauer. A taxa de hemoglobina foi realizada através do método de COLLIER (1944), sendo a leitura efetuada em espectrofotômetro de absorvância com comprimento de onda de 540 nm. A percentagem de hematócrito foi determinado de acordo com GOLDENFARB et al. (1971). Os índices hematimétricos foram estimados conforme os cálculos a seguir:

- Volume Corpuscular Médio (VCM) = Hematócrito x 10^6 de Eritrócitos ($* 10^6 \mu\text{L})^{-1} = \text{fL}$;

- Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) = Taxa de Hemoglobina x 10^6 de Eritrócitos $^{-1} = \text{pg}$;

- Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) = Taxa de concentração de Hemoglobina x $100 \text{ Hematócrito}^{-1} = \text{g dL}^{-1}$.

A contagem de leucócitos totais, heterófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos foi realizada através de método colorimétrico (TAVARES-DIAS et al., 2000).

Análise Estatística

Todos os dados são apresentados em média \pm erro padrão. Foi verificada a homocedasticidade das variâncias pelo teste de Levene e a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram avaliados por análise de variância de duas vias (pH X DE) e, havendo diferença significativa, foi realizado um teste post-hoc de Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Qualidade da água

Em todas as DE, a alcalinidade e a amônia não ionizada foram significativamente superiores no pH alcalino do que nos demais pH e a alcalinidade no pH circum-neutro foi significativamente superior em relação ao pH ácido ($P < 0,05$).

Tabela 1. Parâmetros de qualidade da água (média \pm erro padrão) de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidos a diferentes densidades de estocagem (DE) e diferentes faixas de pH da água (n = 4 tanques por tratamento).

Parâmetros	DE (kg m ⁻³)		
	0,63	1,26	2,52
	pH 5,74		
pH	5,67±0,45 ^{Ca}	5,80±0,48 ^{Ca}	5,76±0,64 ^{Ca}
Oxigênio dissolvido	5,95±0,10 ^{Aa}	5,95±0,02 ^{Aa}	5,99±0,04 ^{Aa}
Temperatura	27,64±0,54 ^{Aa}	27,92±0,05 ^{Aa}	27,61±0,05 ^{Aa}
Dureza	106,67±8,43 ^{Aa}	108,00±19,85 ^{Aa}	108,00±8,00 ^{Aa}
Alcalinidade	6,20±0,38 ^{Cb}	10,36±0,12 ^{Cab}	12,20±0,09 ^{Ca}
Amônia total	1,26±0,04 ^{Aa}	1,44±0,16 ^{Aa}	1,53±0,13 ^{Aa}
Amônia não ionizada	0,40±0,05 ^{Ba}	0,63±0,08 ^{Ba}	0,60±0,16 ^{Ba}
Nitrito	1,00±0,00 ^{Aa}	1,00±0,00 ^{Aa}	0,94±0,06 ^{Aa}
	pH 7,14		
pH	7,23±0,32 ^{Ba}	7,10±0,42 ^{Ba}	7,08±0,38 ^{Ba}
Oxigênio dissolvido	5,94±0,03 ^{Aa}	5,93±0,04 ^{Aa}	5,99±0,02 ^{Aa}
Temperatura	27,52±0,36 ^{Aa}	27,70±0,25 ^{Aa}	27,97±0,17 ^{Aa}
Dureza	117,50±16,10 ^{Aa}	114,25±16,91 ^{Aa}	101,25±18,27 ^{Aa}
Alcalinidade	31,47±0,02 ^{Bb}	33,63±0,08 ^{Bab}	36,81±0,13 ^{Ba}
Amônia total	0,94±0,15 ^{Aa}	0,96±0,34 ^{Aa}	1,08±0,35 ^{Aa}
Amônia não ionizada	10,68±1,61 ^{Ba}	8,21±2,95 ^{Ba}	8,99±3,95 ^{Ba}
Nitrito	0,94±0,06 ^{Aa}	0,94±0,07 ^{Aa}	1,00±0,00 ^{Aa}
	pH 8,62		
pH	8,66±0,83 ^{Aa}	8,63±0,75 ^{Aa}	8,58±0,78 ^{Aa}
Oxigênio dissolvido	5,95±0,06 ^{Aa}	5,95±0,04 ^{Aa}	6,01±0,04 ^{Aa}
Temperatura	27,81±0,36 ^{Aa}	27,89±0,25 ^{Aa}	27,78±0,17 ^{Aa}
Dureza	115,00±12,58 ^{Aa}	112,50±13,1 ^{Aa}	117,93±11,81 ^{Aa}
Alcalinidade	190,25±1,25 ^{Ab}	196,50±1,33 ^{Ab}	240,53±0,84 ^{Aa}
Amônia total	0,83±0,27 ^{Aa}	0,83±0,32 ^{Aa}	0,92±0,10 ^{Aa}
Amônia não ionizada	199,10±66,68 ^{Aa}	189,65±90,85 ^{Aa}	190,97,1±27,07 ^{Aa}
Nitrito	0,95±0,09 ^{Aa}	0,94±0,06 ^{Aa}	0,94±0,05 ^{Aa}

Temperatura é expressa em °C, oxigênio dissolvido é expresso em mg L⁻¹, dureza e alcalinidade são expressas em mg L⁻¹ CaCO₃, amônia total é expressa em mg L⁻¹ N-NH₃ e amônia não ionizada em µg L⁻¹ N-NH₃. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas para pH em uma mesma DE (P<0,05). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas para DE em um mesmo pH (P<0,05).

Adicionalmente, em todos os níveis de pH, a alcalinidade na DE 2,52 kg m⁻³ foi significativamente superior em comparação com a DE 0,63 kg m⁻³ e no pH alcalino foi

superior a DE 1,26 kg m⁻³ (P<0,05). Os demais parâmetros de qualidade de água não diferiram significativamente entre os tratamentos (Tabela 1).

Desempenho zootécnico

A sobrevivência de juvenis de tilápia-do-Nilo variou de 89 a 100%, não diferindo entre os tratamentos (P>0,05).

Em todos os níveis de pH, os peixes expostos a DE 2,52 kg m⁻³ apresentaram comportamento gregário de cardume e maior agitação no período do arraçoamento alimentar do que os demais tratamentos. Na DE 0,63 kg m⁻³, para todos os níveis de pH, foi observado comportamento de territorialidade.

Tabela 2. Parâmetros de desempenho zootécnico (média ± erro padrão) de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidos a diferentes densidades de estocagem (DE) e diferentes pH da água (n = 4 tanques por tratamento). PT = Peso total. CT = Crescimento total. GP = Ganho de peso. TCE = taxa de crescimento específico. FC = fator de condição.

DE	PT	CT	GP	TCE	Biomassa	FC
pH 5,74						
0,63	24,27±1,50 ^a	11,18±0,34 ^a	17,02±2,12 ^a	1,96±0,25 ^a	382,62±30,40 ^b	1,41±0,28 ^a
1,26	19,00±1,48 ^a	10,63±0,16 ^a	11,75±2,47 ^{ab}	1,56±0,28 ^a	674,49±52,28 ^b	1,57±0,07 ^a
2,52	13,43±0,57 ^b	9,25±0,05 ^b	6,18±1,22 ^b	1,01±0,22 ^a	954,47±47,55 ^a	1,69±0,09 ^a
pH 7,14						
0,63	21,09±1,65 ^a	10,36±0,27 ^a	13,84±2,22 ^a	1,73±0,27 ^a	379,78±29,75 ^b	1,91±0,22 ^a
1,26	14,89±1,06 ^a	9,69±0,15 ^a	7,64±1,39 ^{ab}	1,17±0,22 ^a	536,32±38,22 ^b	1,63±0,09 ^a
2,52	11,42±0,63 ^b	8,42±0,34 ^b	4,57±1,27 ^b	0,84±0,24 ^a	815,35±49,55 ^a	1,74±0,16 ^a
pH 8,62						
0,63	19,39±0,57 ^a	10,53±0,10 ^a	12,13±1,25 ^a	1,61±0,20 ^a	348,97±10,29 ^b	1,67±0,09 ^a
1,26	16,41±0,86 ^a	10,00±0,22 ^a	9,16±1,45 ^{ab}	1,60±0,46 ^a	586,78±31,88 ^{ab}	1,64±0,05 ^{1a}
2,52	10,43±0,64 ^b	8,26±0,39 ^b	3,17±1,08 ^b	1,11±0,68 ^a	715,17±49,39 ^a	1,90±0,29 ^a

DE é expressa em kg m⁻³, PT é expresso em g, CT é expresso em cm, GP é expresso em %, Biomassa é expressa em g e FC é expressa % dia⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas para DE em um mesmo pH (P<0,05).

Em todos os níveis de pH, os peixes expostos a DE 2,52 kg m⁻³ apresentaram peso e comprimento significativamente menores e biomassa significativamente maior do que os exemplares submetidos as demais DE (exceto DE 1,26 kg m⁻³ no pH alcalino para

biomassa) ($P < 0,05$). Além disso, o ganho de peso na DE $2,52 \text{ kg m}^{-3}$ foi significativamente menor do que na DE $0,63 \text{ kg m}^{-3}$ ($P < 0,05$) (Tabela 2).

Parâmetros bioquímicos

O cortisol plasmático foi significativamente maior nos peixes expostos ao pH ácido do que nos exemplares expostos aos demais níveis de pH na DE $2,52 \text{ kg m}^{-3}$ ($P < 0,05$). A glicose plasmática foi significativamente maior nos juvenis submetidos ao pH ácido quando comparada aos exemplares submetidos ao pH alcalino na DE $1,26 \text{ kg m}^{-3}$ ($P < 0,05$) (Fig. 1).

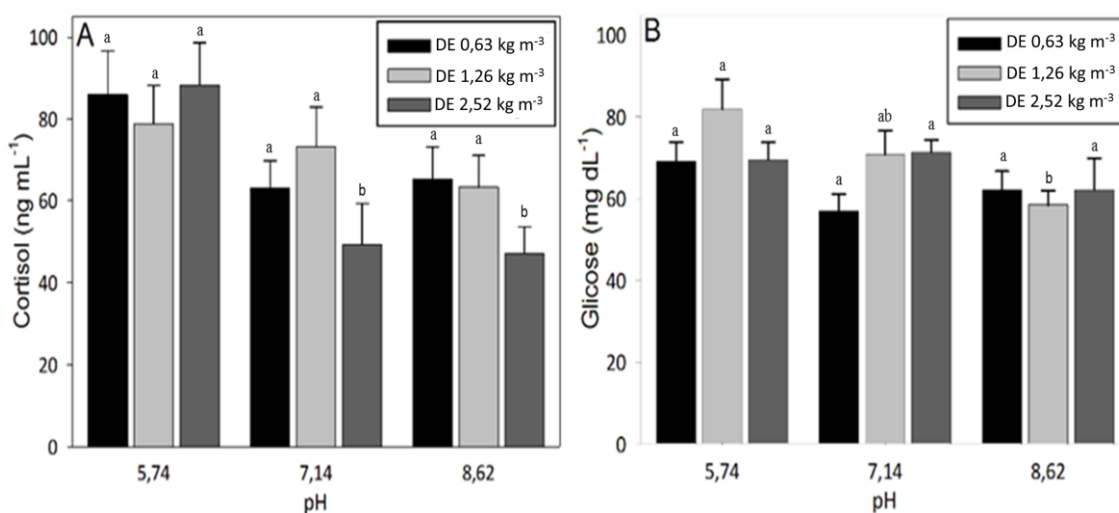


Figura 1. Níveis de cortisol (A) e glicose (B) plasmáticos de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidos a diferentes densidades de estocagem (DE) e diferentes pH da água (n = 16 peixes por tratamento). Letras diferentes indicam diferenças significativas para pH em uma mesma DE ($P < 0,05$).

Parâmetros hematológicos e imunológicos

A concentração de HGM foi significativamente maior em juvenis expostos ao pH alcalino e DE $0,63 \text{ kg m}^{-3}$ do que em exemplares submetidos ao pH ácido na mesma DE ou a DE $1,26 \text{ kg m}^{-3}$ no pH alcalino ($P < 0,05$). Os demais parâmetros hematológicos não diferiram significativamente entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros hematológicos de juvenis tilápia-do-Nilo submetidos a diferentes densidades de estocagem (DE) e diferentes faixas de pH (n = 16 peixes por tratamento). ER = Eritrócitos. Hb = Hemoglobina. HCT = Hematócrito. VGM = Volume globular médio. HGM = Hemoglobina globular média. CHGM = Concentração de hemoglobina globular média.

DE	Er	Hb	HCT	VGM	HGM	CHGM
pH 5,74						
0,63	2,23±0,10 ^{Aa}	9,36±0,30 ^{Aa}	29,69±1,27 ^{Aa}	136,31±2,15 ^{Aa}	43,25±0,97 ^{Ba}	31,75±0,6 ^{Aa}
1,26	2,10±0,08 ^{Aa}	9,63±0,26 ^{Aa}	28,56±0,95 ^{Aa}	137,44±2,82 ^{Aa}	46,19±0,90 ^{Aa}	33,94±0,82 ^{Aa}
2,52	2,05±0,06 ^{Aa}	9,20±0,34 ^{Aa}	28,25±1,06 ^{Aa}	137,37±2,05 ^{Aa}	44,88±1,04 ^{Aa}	32,63±0,6 ^{Aa}
pH 7,14						
0,63	2,27±0,09 ^{Aa}	9,98±0,30 ^{Aa}	31,27±0,89 ^{Aa}	138,93±2,80 ^{Aa}	44,93±1,17 ^{ABa}	33,13±0,74 ^{Aa}
1,26	2,01±0,11 ^{Aa}	8,96±0,42 ^{Aa}	27,00±1,59 ^{Aa}	134,13±1,93 ^{Aa}	45,06±1,25 ^{Aa}	33,75±0,96 ^{Aa}
2,52	2,34±0,12 ^{Aa}	9,34±0,66 ^{Aa}	30,00±2,14 ^{Aa}	129,64±7,22 ^{Aa}	40,14±1,90 ^{Aa}	31,50±1,02 ^{Aa}
pH 8,62						
0,63	2,02±0,17 ^{Aa}	9,99±0,36 ^{Aa}	29,47±1,62 ^{Aa}	140,53±2,21 ^{Aa}	48,67±1,84 ^{Aa}	34,53±1,24 ^{Aa}
1,26	2,33±0,09 ^{Aa}	9,79±0,28 ^{Aa}	31,31±1,25 ^{Aa}	134,75±2,01 ^{Aa}	42,43±0,81 ^{Ab}	31,56±0,73 ^{Aa}
2,52	2,18±0,13 ^{Aa}	9,53±0,51 ^{Aa}	29,06±1,90 ^{Aa}	133,00±1,65 ^{Aa}	44,25±0,93 ^{Aab}	33,25±0,77 ^{Aa}

DE é expresso em kg m⁻³, Er é expresso em x10⁶ µL, Hb é expressa em g %, HCT é expresso em %, VGM é expresso em uu³, HGM é expressa em pg, CHGM é expressa em %. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas para pH em uma mesma DE (P<0,05). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas para DE em um mesmo pH (P<0,05).

Em pH ácido, o número de leucócitos foi significativamente menor nos exemplares expostos a DE 2,52 kg m⁻³ do que nas demais DE (P<0,05). Na DE 1,26 kg m⁻³, os heterófilos apresentaram valores significativamente superiores para os peixes submetidos ao pH circum-neutro em relação aos demais níveis de pH (P<0,05) (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros imunológicos de juvenis tilápia-do-Nilo submetidos a diferentes densidades de estocagem (DE) e diferentes faixas de pH (n = 16 peixes por tratamento).

DE (kg m ⁻³)	Leucócitos (x10 ³ µL)	Heterófilos (%)	Linfócitos (%)	Eosinófilo (%)	Monócitos (%)
pH 5,74					
0,63	12,16 ±1,18 ^{Aa}	44,06±1,17 ^{Aa}	53,56±1,15 ^{Aa}	1,19±0,10 ^{Aa}	1,19±0,10 ^{Aa}
1,26	11,68±1,06 ^{Aa}	44,04±0,95 ^{Ba}	52,69±1,21 ^{Aa}	1,19±0,10 ^{Aa}	1,19±0,10 ^{Aa}
2,52	8,07±0,82 ^{Ab}	46,56±1,49 ^{Aa}	50,56±1,29 ^{Aa}	1,06±0,06 ^{Aa}	1,25±0,11 ^{Aa}
pH 7,14					
0,63	11,45±1,12 ^{Aa}	44,67±0,75 ^{Aa}	52,87±0,77 ^{Aa}	1,20±0,11 ^{Aa}	1,27±0,12 ^{Aa}
1,26	8,95±1,06 ^{Aa}	47,93±1,71 ^{Aa}	49,31±1,67 ^{Aa}	1,13±0,09 ^{Aa}	1,25±0,12 ^{Aa}
2,52	9,72±1,09 ^{Aa}	46,35±1,73 ^{Aa}	51,6±1,8 ^{Aa}	1,14±0,10 ^{Aa}	1,07±0,07 ^{Aa}
pH 8,62					
0,63	12,56±1,83 ^{Aa}	42,60±1,23 ^{Aa}	54,06±1,19 ^{Aa}	1,27±0,12 ^{Aa}	1,40±0,13 ^{Aa}
1,26	9,32±1,24 ^{Aa}	44,00±1,24 ^{Ba}	53,31±1,34 ^{Aa}	1,38±0,13 ^{Aa}	1,32±0,12 ^{Aa}
2,52	12,41±1,63 ^{Aa}	46,75±0,95 ^{Aa}	50,81±0,94 ^{Aa}	1,19±0,10 ^{Aa}	1,25±0,11 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas para pH em uma mesma DE (P<0,05). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas para diferentes DE em um mesmo pH (P<0,05).

DISCUSSÃO

Qualidade da água

A qualidade da água é um dos fatores mais importantes para o cultivo de organismos aquáticos, devendo ser constantemente monitorada a fim de manter as características desejáveis para o cultivo de peixes (COPATTI et al., 2005; COPATTI & AMARAL, 2009). Situações estressantes relacionadas a DE e pH podem comprometer a qualidade de água, especialmente em relação a alcalinidade e compostos nitrogenados (REBOUÇAS et al., 2015; NI et al., 2014).

A redução da alcalinidade da água em situação de pH ácido verificada neste estudo deve-se a altas concentrações de íons H⁺, que reagem diretamente com o carbonato de cálcio (CaCO₃), ocasionando redução deste composto no sistema (BOYD et al., 2016). Adicionalmente, nos tratamentos com pH ácido os valores de alcalinidade foram inclusive abaixo do recomendado para tilápia-do-Nilo (15-57 mg L⁻¹ CaCO₃) por ROJAS &

ROCHA (2004), o que poderia prejudicar o desenvolvimento e a homeostase fisiológica dos animais.

Em nosso estudo, os maiores valores de alcalinidade ocorreram nos tratamentos com a maior DE. Este aumento ocorre devido ao aumento da concentração de CO₂ na água, que reage com hidróxidos e aumenta os níveis de bicarbonatos (BOYD, 2016) e, conseqüentemente, a alcalinidade da água.

Sistemas piscícolas com altas DE são comumente associados a elevação da taxa de compostos nitrogenados, devido ao maior número de peixes estocados e, conseqüentemente, maior concentração de excretas (EROI et al., 2010). Contudo, no presente estudo, não foi observada interferência da DE na concentração de amônia.

O pH é outro fator que influencia nas concentrações de amônia na água. Os níveis de amônia não ionizada são maiores em águas cujo o pH é alcalino, devido à baixa concentração do íon H⁺ neste ambiente para reagir com NH₃ e transforma-la na sua forma hidratada (NH₄⁺) (WRIGHT & WOOD, 2012). Que, por sua vez, possui maior dificuldade de se difundir pela porção hidrofóbica da membrana branquial.

Como esperado, os níveis de amônia não ionizada no presente estudo, foram superiores para os tratamentos em pH alcalino. Valores que ficaram inclusive fora da faixa de tolerância para a tilápia-do-Nilo (abaixo de 140 µg L⁻¹ N-NH₃) (EL-SHAFAI et al., 2004), o que poderia comprometer o desenvolvimento da espécie.

Desempenho zootécnico

A concentração de íons de hidrogênio (H⁺) indica o pH da água, podendo interferir na sobrevivência, no crescimento e, na reprodução, ou seja, pode limitar o cultivo de peixes se estiver fora da sua faixa de conforto (WHITE et al., 2014). Assim, a exposição dos animais a níveis de pH fora da faixa ideal da espécie pode ocasionar um maior direcionamento da energia para órgãos e funções prioritárias, diminuindo o aporte para atividades anabólicas de longo prazo como o crescimento (BARCELLOS et al., 2000). Por outro lado, já foi observado em juvenis tilápia-do-Nilo que condições de acidificação da água (pH 4, 5 e 6) melhoraram os parâmetros zootécnicos em comparação ao pH alcalino (pH 8), devido o pH alcalino ter ocasionado aumento da concentração de amônia não ionizada (REBOUÇAS et al., 2015). Contudo, neste estudo, embora o pH alcalino tenha elevado a amônia não ionizada da água, o desenvolvimento dos juvenis não foi afetado.

A tilápia-do-Nilo é uma espécie conhecida pela capacidade de tolerar diferentes situações de cultivo (FURUYA et al., 2005). Contudo, sob condições de DE alta o desenvolvimento pode ser prejudicado, uma vez que tal situação é frequentemente associada à redução da ingestão de alimentos pelos peixes (PAPOUTSOGLU et al., 2006; LIU et al., 2016). Isso decorre do aumento da disputa por alimento e da redução de espaço, o que acarreta em estresse e aumento da frequência natatória, contribuindo para uma maior demanda catabólica (ÇAGILTAY et al., 2015). Dessa forma, como demonstrado pelos resultados deste estudo, embora a biomassa tenha sido aumentada na maior DE (devido ao maior número de indivíduos estocados nos tanques), outros parâmetros como ganho de peso e comprimento foram reduzidos. E isto reflete na produção final, uma vez que exemplares menores tendem a ser comercializados com um menor preço do mercado (SHOKO et al., 2016).

Entretanto, em situação de DE baixa, ocorre subaproveitamento de espaço, contribuindo para comportamentos agnósticos de territorialidade e afetando diretamente o crescimento (MILLÁN-CUBILLO et al., 2016). Neste estudo, contudo, não foi observado comportamento agonístico capaz de interferir no desenvolvimento dos juvenis de tilápia-do-Nilo.

Parâmetros bioquímicos

Respostas ao estresse em peixes são generalizadas, uma vez que possuem conjuntos de reações comportamentais e fisiológicas adaptativas para lidar com os potenciais estressores (BARTON, 2002).

O cortisol é um metabólito importante no diagnóstico do estado fisiológico dos peixes em situações de estresse (BONGA, 1997), sendo que no presente estudo, a exposição dos juvenis de tilápia-do-Nilo a DE alta e pH ácido contribui para a elevação do cortisol plasmático nos animais. Resultado inclusive superior ao valor basal (65,67 ng mL⁻¹) descrito para a espécie (BARRETO & VOLPATO, 2006).

O aumento do cortisol plasmático nos indivíduos expostos ao pH ácido pode ser uma adaptação osmorregulatória contra os distúrbios iônicos nesses ambientes (KUMAI et al., 2012). Uma vez que o cortisol medeia a regulação iônica, aumentando a absorção dos íons Na⁺, Cl⁻ e Ca⁺ através da estimulação e diferenciação das células de cloreto (LIN et al., 2011).

O aumento do cortisol plasmático em situações estressantes promove à indução da glicogenólise hepática para aportar mais energia em situações que os organismos necessitam reagir ao agente estressor (VINODHINI & NARAYANAN, 2009). No presente estudo, foi observado uma elevação da glicemia nos peixes expostos ao pH ácido na DE intermediária, o que pode ser uma tentativa de minimizar efeitos de distúrbios no balanço ácido-base, na regulação iônica e na homeostase respiratória (DAS et al., 2006). Entretanto, a redução da glicose plasmática nos peixes submetidos ao pH alcalino na DE intermediária pode ser atribuída a diminuição do catabolismo para diminuir a produção de compostos nitrogenados. Isto se deve ao fato de que em pHs elevados a amônia não ionizada pode ser facilmente acumulada nos tecidos dos peixes (WRIGHT et al., 2007). Apesar disso, os peixes não ficaram hiperglicêmicos, uma vez que os valores encontrados neste estudo ficaram dentro da faixa de referência para tilápia-do-Nilo (14,1-92,1 mg dL⁻¹) (TAVARES-DIAS et al., 2015).

Parâmetros hematológicos e imunológicos

Parâmetros hematológicos comumente refletem os processos corporais e servem de indicadores das condições gerais ou distúrbios metabólicos em peixes (RANZANI-PAIVA et al., 2013). Apesar disso, de uma forma geral, as diferentes DE e níveis de pH avaliados neste estudo não foram suficientes para causar alterações nos níveis de hematócrito, hemoglobina e eritrócitos em juvenis de tilápia-do-Nilo.

A única alteração hematológica observada neste estudo, foi o aumento no HGM nos exemplares submetidos ao pH alcalino e DE baixa, o que pode indicar uma maior demanda por O₂ nos exemplares submetidos a esta condição. Este resultado pode ter sido influenciado pelo comportamento de territorialismo (MILLÁN-CUBILLO et al., 2016), bem como pela maior movimentação dos exemplares em função da maior disponibilidade de espaço. Ademais, condições de pH alcalino, conjuntamente com a amônia não ionizada presente neste pH no presente estudo, podem ter acarretado em maior demanda por oxigênio (BARBIERI & BONDIOLI, 2015) a fim de suprir o metabolismo tecidual (GILL et al., 1991).

Os leucócitos possuem um papel fundamental no sistema imunológico, sendo essencial em condições de estresse (NI et al., 2014). O estresse crônico implica na supressão das repostas imunes; portanto, nestas condições, os peixes estão mais propensos a infecções (TORT, 2011). Sabe-se que a liberação do hormônio corticotrófico tem efeitos de supressão sobre as repostas imunes em peixes (HARRIS & BIRD, 2000).

Uma vez que este hormônio reduz os processos anabólicos, aumentando o catabolismo em resposta ao estímulo (CASTRO & FERNANDES, 2009). Neste contexto, o valor elevado de cortisol plasmático nos peixes submetidos ao pH ácido e DE alta pode ter influenciado na redução do número de leucócitos.

Outras células de defesa importantes do sistema inato com funções fagocíticas frente a infecções são os heterófilos (RANZANI-PAIVA et al., 2013), onde em nosso estudo, a menor concentração de heterófilos nos peixes em pH ácido ou alcalino em DE intermediária, pode ter sido influenciada pelos efeitos deletérios destes pHs sobre o equilíbrio ácido-básico e homeostase fisiológica (WOOD, 2011). O que irá refletir no aumentar a susceptibilidade a infecções destes peixes expostos a estes pHs.

CONCLUSÃO

Concluimos que juvenis de tilápia-do-Nilo são capazes de tolerar as diferentes condições de pH e DE. Assim, considerando os resultados encontrados para qualidade da água, crescimento e bem-estar dos peixes, aconselha-se o cultivo de tilápia-do-Nilo em condições de pH circum-neutro e DE intermediária.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Bahia pesca pela doação dos peixes. O primeiro autor agradece a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da bolsa de auxílio.

REFERÊNCIAS

ASHLEY, P.J. Fish welfare: current issues in aquaculture. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 104, p. 199-235, 2007.

BALDISSEROTTO, B. Digestão. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. p. 19-50, 2013.

BALDWIN, L. The effects of stocking density on fish welfare. **The Plymouth Student Scientist**, v. 4, p. 372–383, 2010.

BARBIERI, E.; BONDIOLI, A.C.V. Acute toxicity of ammonia in Pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) at different temperatures levels. **Aquaculture Research**, v. 46, p. 565-571, 2015.

BARCELLOS, L.J.; NICOLAIEWSKY, S.; DE-SOUZA, S.M.; LULHIER, F. The effects of stocking density and social interaction on acute stress response in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. **Aquaculture Research**, v. 30, p. 887–892, 1999.

BARCELLOS, L.J.G.; SOUZA, S.M.G.; WOEHL, V.M. Estresse em peixes: Fisiologia da Resposta ao Estresse, Causas e Consequências (Revisão). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 26, p. 99-111, 2000.

BARCELLOS, L.J.G.; VOLPATO, G.L.; BARRETO, R.E.; COLDEBELLA, I.; FERREIRA, D. Chemical communication of handling in fish. **Physiology Behavior**, v. 103, p. 372–375, 2011.

BARRETO, R.E.; VOLPATO, G.L. Stress responses of the fish Nile tilapia subjected to electroshock and social stressors. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 39, p. 1605-1612, 2006.

BARTON, B.A. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and comparative biology**, v. 42, p. 517-525, 2002.

BOLNER, K.C.S.; BALDISSEROTTO, B. Water pH and urinary excretion in silver catfish *Rhamdia quelen*. **Journal of Fish Biology**, v. 70, p. 50-64, 2007.

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

BOYD, C.E.; TUCKER, C.S.; SOMRIDHIVE, J. Benjaporn. Alkalinity and hardness: critical but elusive concepts in aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 47, p. 6-41, 2016.

BRANDÃO, F.R.; GOMES, L.C.; CHAGAS, E.C.; DE ARAÚJO, L.D. Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanques-rede. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 357–362, 2004.

ÇAGILTAY, F.; ERKAN, N.; ULUSOY, Ş.; SELCUK, A.; ÖZDEN, Ö. Effects of stock density on texture-colour quality and chemical composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v. 14, p. 687-698, 2015.

CASTRO, F.J.; FERNANDES, M.N. Efeitos da infestação por parasitos argulídeos na fisiologia e mecanismos de defesa inata em peixes cultivados. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá: Embrapa Amapá**. p. 361-388, 2009.

CHEZHIAN, A.; SENTHAMILSELVAN, D.; KABILAN, N. Histological changes induced by ammonia and ph on the gills of fresh water fish *Cyprinus carpio var. communis* (Linnaeus). **Asian Journal of Animal Veterinary Advances**, v. 7, p. 588-596, 2012.

COLLIER, H.B. The standardizations of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, v. 50, p. 550-552, 1944.

COLT, J. List of spreadsheets prepared as a complement to the book Fish Hatchery Management. **Fish Hatchery Management. American Fisheries Society**, p. 75, 2002.

COPATTI, C.E.; AMARAL, R. Osmorregulação em juvenis de piava, *leporinus obtusidens* (characiformes: anastomidae), durante trocas do pH da água. **Biodiversidade Pampeana**, v. 7, p. 1-6, 2009.

COPATTI, C.E.; COLDEBELLA, I.J.; RADUNZ NETO, J.; GARCIA, L.O.; DA ROCHA, M.C.; BALDISSEROTTO, B. Effect of dietary calcium on growth and survival of silver catfish fingerlings, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae), exposed to different water pH. **Aquaculture Nutrition**, v. 11, p. 345-350, 2005.

COPATTI, C.E.; GARCIA, L. O.; CUNHA, M. A.; KOCHHANN, D.; BALDISSEROTTO, B. Inter-action of water hardness and pH on growth of silver catfish,

Rhamdia quelen, juveniles. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 42, p. 580-585, 2011.

COSTAS, B.; ARAGÃO, C.; MANCERA, J.M.; DINIS, M.T.; CONCEIÇÃO, L.E. High stocking density induces crowding stress and affects amino acid metabolism in *Solea senegalensis* (Kaup 1858) juveniles. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 1-9, 2008.

DAS, P.C.; AYYAPPAN, S.; JENA, J.K. Haematological changes in the three Indian major carps, *Catla catla* (Hamilton), *Labeo rohita* (Hamilton) and *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) exposed to acidic and alkaline water pH. **Aquaculture**, v. 256, p. 80–87, 2006.

DAS, P.C.; AYYAPPAN, S.; JENA, J.K.; DAS, B.K. Acute toxicity of ammonia and its sub-lethal effects on selected haematological and enzymatic parameters of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquaculture Research**, v. 35, p. 134-143, 2004.

EL-SHAFI, S.A.; EL-GOHARY, F.A.; NASR, F.A.; STEEN, N.P.; GIJZEN, H.J. Chronic ammonia toxicity to duckweed-fed tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 232, p. 117-12, 2004.

EL-SHERIF, M.S.; EL-FEKY, A.M.I. Performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. I. Effect of pH. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 11, p. 297-300, 2009.

EROL, C.I.; KAYIS, S.; BORAN, H.; ALTINOK, I. Acute toxicity of some agriculture fertilizers to rainbow trout. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 10, p. 19-25, 2010.

FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; MACEDO, R.M.G.; SANTOS, V.G.; SANTOS, L.D.; SILVA, T.S.C.; FURUYA, V.R.B.; SALES, P.J.P. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 1433-1441, 2005.

GILL, T.S.; PANDE, J.; TEWARI, H. Haemopathological changes associated with experimental adicarb poisoning in fish (*Puntius conchonus* Ham.). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 47, p. 628–633, 1991.

GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E. Reproducibility in the hematology laboratory: The microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 56, p. 35-39, 1971.

HARRIS, J.; BIRD, D.J. Modulation of the imune system by hormones. **Veterinary Immunology and Immunophatology**, v. 77, p. 163-176, 2000.

HASENBEIN, M.; FANGUE, N.A.; GEIST, J.P.; KOMOROSKE, L.M.; CONNON, R.E. Physiological stress biomarkers reveal stocking density effects in late larval Delta Smelt (*Hypomesus transpacificus*). **Aquaculture**, v. 450, p. 108-115, 2016.

JANEWAY JR, C.A.; MEDZHITOV, R. Innate immune recognition. **Annual Review of Immunology**, v. 20, p. 197-216, 2002.

JOBLING, M. **Fish bioenergetics**. London: Chapman & Hall. p. 294, 1994.

KUMAI, Y.; NESAN, D.; VIJAYAN, M.M.; PERRY, S.F. Cortisol regulates Na⁺ uptake in zebrafish (*Danio rerio*), larvae via the glucocorticoid receptor. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 364, p. 113–125, 2012.

KAISER, H.; WEYL, O.; HECHT, T. The effect of stocking density on growth, survival and agonistic behaviour of African catfish. **Aquaculture International**, v. 3 p. 217-225, 1995.

LIN, C.H.; SHIH, T.H.; LIU, S.T.; HSU, H.H.; HWANG, P.P. Cortisol regulates acid secretion of H⁺-ATPase-rich ionocytes in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Frontiers in physiology**, v. 6, p. 328, 2015.

LIN, C.H.; TSAI, I.L.; SU, C.H.; TSENG, D.Y.; HWANG, P.P. Reverse effect of mammalian hypocalcemic cortisol in fish: cortisol stimulates Ca²⁺ uptake via

glucocorticoid receptor-mediated vitamin D3 metabolism. **PloS one**, v. 6, p. e23689, 2011.

LIU, B.; LIU, Y.; SUN, G. Effects of stocking density on growth performance and welfare-related physiological parameters of Atlantic salmon (*Salmo salar*). in recirculating aquaculture system. **Aquaculture Research**, v. 48, p. 2133-2144, 2016.

MEURER, F.; SILVA, M.; COSTA, M.M. Probiótico com levedura na alimentação da tilápia do Nilo, durante o período de reversão sexual, cultivada em água de tanque de cultivo. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v. 10, p. 406-416, 2009.

MILLÁN-CUBILLO, A.F.; MARTOS-SITCHA, J.A.; RUIZ-JARABO, I.; CÁRDENAS, S.; MANCERA, J.M. Low stocking density negatively affects growth, metabolism and stress pathways in juvenile specimens of meagre (*Argyrosomus regius*, Asso 1801). **Aquaculture**, v. 451, p. 87-92, 2016.

NATT, M.P; HERRICK, C.A. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science, Champaign**, v. 31, p. 735-738, 1952.

NGUGI, C.C.; OYOO-OKOTH, E.; MUGO-BUNDI, J.; ORINA, P.S.; CHEMOIWA, E.J.; ALOO, P.A. Effects of dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*) on the growth performance, biochemical, hematological and immunological parameters in juvenile and adult Victoria Labeo (*Labeo victorianus*) challenged with *Aeromonas hydrophila*. **Fish & shellfish immunology**, v. 44, p. 533-541, 2015.

NI, M.; WEN, H.; LI, J.; CHI, M.; BU, Y.; REN, Y.; DING, H. Effects of stocking density on mortality, growth and physiology of juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). **Aquaculture Research**, v. 47, p. 1596-1604, 2014.

OCHIENG'AKETCH, B.; OYIENG'ANG'IENDA, P.; RADULL, J. O.; WAINDI, E.N. Effect of stocking density on the expression of glucose transporter protein 1 and other physiological factors in the Lake Victoria Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **International Aquatic Research**, v. 6, p. 69, 2014.

PANKHURST, N.W., The endocrinology of stress in fish: an environmental perspective. **General and Comparative Endocrinology**, v. 170, p. 265–275, 2011.

PAPOUTSOGLU, S.E.; KARAKATSOULI, N.; PIZZONIA, G.; DALLA, C.; POLISSIDIS, A.; PAPADOPOULOU-DAIFOTI, Z. Effects of rearing density on growth, brain neurotransmitters and liver fatty acid composition of juvenile white sea bream *Diplodus sargus* L. **Aquaculture Research**, v. 37, p. 87–95, 2006.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; PÁDUA, S.B.; TAVARES-DIAS, M. **Métodos para análise hematológica em peixes**. p. 144, 2013.

REBOUÇAS, V.T.; LIMA, F.R.D.S.; CAVALCANTE, D.D.H. Tolerance of Nile tilapia juveniles to highly acidic rearing water. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 37, p. 227-233, 2015.

RODRIGUES, A.P.O.; LIMA, A.F.; ALVES, A.L.; ROSA, D.K.; TORATI, L.S.; SANTOS, V. R.V. **Piscicultura em água doce: multiplicando conhecimentos**. Brasília, DF: EMBRAP. p. 440, 2013.

ROJAS, N.E.T.; ROCHA, O. Influência da alcalinidade da água sobre o crescimento de larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758 Perciformes, Cichlidae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 26, p. 163-167, 2004.

ROSS, R.M.; WATTEN, B.J. Importance of rearing-unit design and stocking density to the behavior, growth and metabolism of lake trout (*Salvelinus namaycush*). **Aquacultural Engineering**, v. 19, p. 41-56, 1998.

SENA, A.C.; TEIXEIRA, R.R.; FERREIRA, E.L.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTTO, B.; CARON, B.O.; COPATTI, C.E. Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, v. 465, p. 374-379, 2016.

SHOKO, A. P.; LIMBU, S.M.; MROSSO, H.D.J.; MKENDA, A.F.; MGAYA, Y.D. Effect of stocking density on growth, production and economic benefits of mixed sex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) in polyculture and monoculture. **Aquaculture Research**, v. 47, p. 36-50, 2016.

TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S.H.C.; MARTINS, M.L.; MORAES, F.R. Características hematológicas de *Oreochromis niloticus* (*Osteichthyes: Cichlidae*) cultivadas intensivamente em “pesque-pague” do município de Franca, São Paulo, Brasil. **Ars Veterinaria**, v. 16, p. 76-82, 2000.

TAVARES-DIAS, M. Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes cultivados. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). **Aquicultura no Brasil: novas perspectivas**. São Carlos, Editora Pedro e João v. 1, p. 345, 2015.

TORT, L. Stress and immune modulation in fish. Dev. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 35, p. 1366–1375, 2011.

VINODHINI R.; NARAYANAN M. The Impact of toxic heavy metals on the hematological parameters in common Carp (*Cyprinus carpio* L.). **Journal of Environmental Health Science & Engineering**, v. 6, p. 23–28, 2009.

WELLS, R.M.G.; BALDWIN, J.; SEYMOUR, R.S.; CHRISTIAN, K.; BRITAIN, T. Red blood cell function and haematology in two tropical freshwater fishes from Australia. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 141, p. 87-93, 2005.

WHITE, R.S.; MCHUGH, P.A.; GLOVER, C.N.; MCINTOSH, A.R. Multiple environmental stressors increase the realised niche breadth of a forest-dwelling fish. **Ecography**, v. 38, p. 154-162, 2014.

WILKIE, M.P.; WOOD, C.M. The adaptations of fish to extremely alkaline environments. **Comp. Biochemistry and Molecular Biology**, v. 113, p. 665-673, 1996.

WOOD, C.M. The physiological problems of fish in acid waters. **Acid toxicity and aquatic animals**. p. 125-152, 1989.

WOOD, C.M.; MILLIGAN, C. L.; AND WALSH, P. J. Renal responses of trout to chronic respiratory and metabolic acidoses and metabolic alkalosis. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 277, p. R482–R492, 1999.

WRIGHT, P.A.; STEELE, S.L.; HVITEMA, A.; BERNIER, N.J. Induction of four glutamine synthetase genes in brain of rainbow trout in response to elevated environmental ammonia. **Journal of Experimental Biology**, v. 198, p. 127–135, 2007.

WRIGHT, P.A.; WOOD, C.M. Seven things fish know about ammonia and we don't. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 184, p. 231-240, 2012.

ZHANG, G.; YIN, S.; WANG, Y.; LI, L.; WANG, X., DING, Y.; HU, Y. The effects of water temperature and stocking density on survival, feeding and growth of the juveniles of the hybrid yellow catfish from *Pelteobagrus fulvidraco* (♀)× *Pelteobagrus vachelli* (♂). **Aquaculture Research**, v. 47, p. 2844-2850, 2016.

CAPÍTULO 2

CRESCIMENTO E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM HÍBRIDO PINTADO AMAZÔNICO (*Pseudoplatystoma reticulatum* ♀ x *Leiarius marmoratus* ♂) SOB DIFERENTES pH DA ÁGUA

**CRESCIMENTO E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM HÍBRIDO PINTADO
AMAZÔNICO (*Pseudoplatystoma reticulatum* ♀ x *Leiarius marmoratus* ♂) SOB
DIFERENTES pH DA ÁGUA**

RESUMO

Manter níveis adequados de pH da água na piscicultura é de fundamental importância para melhor desenvolvimento e bem-estar dos peixes. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito de diferentes níveis de pH da água para desempenho e parâmetros bioquímicos em juvenis do híbrido pintado amazônico (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*). Foram utilizados 72 exemplares (96,2 g e 19,2 cm) submetidos a quatro diferentes níveis de pH da água (4,56; 6,0; 7,24 e 8,90) durante 40 dias. A sobrevivência variou de 94 a 100%. A amônia total foi superior nos tratamentos com pH 4,56 e 6,00 quando comparados com os demais pH da água ($P < 0,05$). A alcalinidade total e a amônia não ionizada foram superiores no pH 8,90 do que nos demais tratamentos ($P < 0,05$). Em termos gerais, os peixes expostos ao pH 8,90 apresentaram crescimento inferior do que os demais pH da água ($P < 0,05$). Cortisol e proteína plasmática foram superiores nos peixes expostos ao pH 4,56 do que nos exemplares expostos aos demais tratamentos ($P < 0,05$). A glicose foi superior nos tratamentos com pH 7,25 e 4,56 em relação aos demais pH da água ($P < 0,05$). Os exemplares expostos ao pH 7,25 tiveram os níveis de ureia plasmática significativamente superior quando comparados aos demais pH da água ($P < 0,05$). Os peixes expostos aos tratamentos com pH circum-neutro e alcalino apresentaram valores de AST do plasma superiores em relação aos peixes expostos nos demais pH da água ($P < 0,05$). Em conclusão, níveis de pH da água entre 6,00 a 7,25 são recomendados para a produção pintado amazônico.

Palavras-chave: amônia não-ionizada, cortisol, desempenho, glicose, ureia.

FISH RESPONSES HYBRID CATFISH (*Pseudoplatystoma reticulatum* ♀ x *Leiarius marmoratus* ♂) UNDER DIFFERENT WATER pH

ABSTRACT

Maintaining an appropriate pH levels for fish growth is critical for their welfare. The objective of this study was to verify the effect of different pH levels on the performance and biochemical parameters in juveniles of the amazonian hybrid (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*). Seventy-two specimens (96.2 g and 19.2 cm) were submitted to four different pH levels (4.56, 6.0, 7.24 and 8.90) for 40 days. Survival ranged from 94 to 100%. The total ammonia was higher in the treatments with pH 4.56 and 6.00 when compared with the other pH (P <0.05). Total alkalinity and non-ionized ammonia were higher at pH 8.90 than other treatments (P <0.05). In general, fish exposed to pH 8.90 presented total weight, weight gain, total length and biomass lower than the other pH (P <0.05). Cortisol and plasma protein were higher in the fish exposed to pH 4.56 than in the samples exposed to the other treatments (P <0.05). Glucose was higher in the treatments with pH 7.25 and 4.56 in relation to the other pH (P <0.05). The animals exposed to pH 7.25 had significantly higher plasma urea levels when compared to the other water pH (P <0.05). The fish exposed to the treatments with circum-neutral and alkaline pH had higher plasma AST values in relation to the fish exposed other water pH (P <0.05). In conclusion, water pH levels between 6.00 and 7.25 are recommended for the hybrid catfish production

Key-word: cortisol, glucose, non-ionized ammonia, performance, urea.

INTRODUÇÃO

Os peixes possuem uma estreita relação com o ambiente aquático e alterações nos parâmetros de qualidade de água podem comprometer o seu desenvolvimento e bem-estar. Estas alterações podem desencadear estresse e, por consequência, redução do crescimento, prejuízo a homeostase fisiológica e até mesmo mortalidade (BARCELLOS et al., 2011). Diante disso, manter características desejáveis da qualidade da água na piscicultura é essencial para alcançar boas taxas de produtividade (COPATTI et al., 2005; COPATTI & AMARAL, 2009) e rentabilidade.

O pH da água é um parâmetro fundamental para a produção piscícola, devido a sua influência no desenvolvimento e na sobrevivência dos peixes. A exposição a níveis extremos de pH representa um grande desafio aos peixes, acarretando em desequilíbrio osmorregulatório, limitação de crescimento e, em situações mais graves, mortalidade (PARRA & BALDISSEROTTO, 2007).

Condições de pH ácido da água podem promover desequilíbrio iônico devido a altas concentrações de íon H^+ , o qual ocasiona a inibição do influxo dos íons Na^+ , K^+ e Ca^{++} (ARIDE et al., 2007). A redução destes íons ocasiona desordem nas células sanguíneas, nas proteínas do plasma e no volume de fluidos dos peixes, causando a morte por insuficiência circulatória (WOOD, 1989). Por outro lado, a exposição ao pH alcalino reduz a conversão da NH_3 para NH_4^+ , comprometendo a excreção da NH_3 pelos peixes e, aumentando sua concentração no plasma e nos tecidos (BOLNER et al., 2014), além do seu acúmulo nos organismos resultando em toxicidade, prejudicando o crescimento (SCHRAM et al., 2010) e a sobrevivência. Outro prejuízo em águas alcalinas é o influxo de íons Na^+ (WILKIE & WOOD, 1996).

Sob exposição a pHs extremos, os peixes ativam mecanismos para manter a homeostase (MCEWEN & WINGFIELD, 2003). O cortisol é o primeiro metabólito a elevar-se no plasma diante ao estímulo estressor (BARCELLOS et al., 2000). Devido a isso, este hormônio é amplamente utilizado para avaliar o grau de estresse em peixes (BONGA, 1997). O cortisol também atua como hormônio osmorregulatório, estimulando o aumento da área funcional das células de cloreto (BINDON et al., 1994; LIN et al., 2011; 2015), bem como na permeabilidade das células brânquias (CHASIOTIS et al., 2010; KELLY & CHASIOTIS, 2011), para manter o equilíbrio iônico.

Outro metabólito importante na avaliação do estresse é a glicose plasmática, uma vez que aumenta para suprir a demanda energética dos tecidos (COSTAS et al., 2008).

Esse aumento também pode ser atribuído ao cortisol, uma vez que este hormônio induz a glicogenólise hepática (PANKHURST, 2011). O gasto energético para reagir ao estresse e manter a homeostase suprime o desenvolvimento dos peixes, devido a menor contribuição de energia para a formação anabólica (BARCELLOS et al., 2000).

O pintado amazônico (*Leiarius marmoratus*♂ x *Pseudoplatystoma reticulatum*♀) é um híbrido desenvolvido na década de 1990 no Brasil e tem conquistado destaque na produção brasileira por possuir características desejáveis para a produção, como: rápido crescimento, resistência ao manejo e aceitabilidade do uso de ingredientes de origem vegetal na dieta (PRIETO-GUEVARA et al., 2015). Contudo, são escassos estudos de como diferentes níveis de pH da água afetam seu crescimento e bem-estar. Neste sentido, este estudo tem como objetivo avaliar parâmetros de crescimento e bioquímicos de juvenis de pintado amazônico submetidos a diferentes níveis de pH da água.

MATERIAL E MÉTODOS

Manejo experimental

O estudo foi realizado no Laboratório de Nutrição e Comportamento Alimentar de peixes (NEPA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Foram utilizados 72 juvenis de pintado amazônico ($96,2 \pm 0,96$ g; $19,2 \pm 0,36$ cm), provenientes da piscicultura Colpani®, Mococa, SP, Brasil. Os peixes foram mantidos durante dez dias para a aclimação em um tanque de 2000 L, em um sistema de recirculação com densidade de estocagem de $3,0 \text{ kg m}^{-3}$. Posteriormente, os peixes foram transferidos aleatoriamente para 12 tanques de 250 L (densidade de estocagem inicial de $0,40 \text{ kg m}^{-3}$ ou 6 peixes tanque⁻¹), com filtração biológica e aeração constante em sistema semi-estático. O experimento teve duração de 40 dias.

Foram testados quatro diferentes níveis de pH da água ($4,56 \pm 0,03$; $6,00 \pm 0,02$; $7,24 \pm 0,02$; $8,90 \pm 0,01$) cada um com três repetições. Durante todo período experimental, foi realizado o controle dos níveis de pH (Bivolt, modelo mPA-210P) foi mediante a adição de NaOH a 5 N ou H₂SO₄ a 5 N, sendo mensurada três vezes ao dia (8:00, 12:00 e 17:30 h). Oxigênio dissolvido e temperatura (oxímetro, DO-48) foram monitorados diariamente, enquanto amônia total, alcalinidade, dureza e nitrito (kit alfatecnoquímica, Florianópolis) foram mensurados duas vezes por semana. A amônia não ionizada foi calculada de acordo com COLT (2002).

Os animais foram alimentados até saciedade aparente com ração tipo pellets (35% de proteína bruta e 3.600 kcal/kg de energia digestível, Purina Nutripeixe SI) ofertada duas vezes ao dia, às 07:30 e 17:00 h. A alimentação foi interrompida 24 h antes do término do experimento. A limpeza das caixas foi feita uma vez por dia por sifonagem para retirada de resto de fezes e restos. A reposição da água resultante da evaporação ou limpeza dos tanques foi substituída por outra nas mesmas condições exigidas por cada tratamento.

Desempenho

Para a verificação do desempenho zootécnico dos animais foram verificados o peso (g; balança de precisão, UX8200S) e comprimento (cm; régua graduada) de todos os peixes de cada tanque foram mensurados no início e ao final do experimento. Outros fatores também foram avaliados, com a finalidade de avaliar a sobrevivência e o desenvolvimento dos exemplares, foram averiguados os seguintes parâmetros:

- Taxa de sobrevivência (%) = $100 \times \frac{nf}{ni}$, onde ni e nf se referem a quantidade inicial e final de peixes, respectivamente;
- Ganho de peso (g) = PF – PI, onde PF e PI se referem ao peso médio final e inicial, respectivamente;
- Taxa de crescimento específico (TCE, % dia) = $(\ln Pt2 - \ln Pt1) \times 100 \div t$, onde Pt1 é o peso total médio da amostra no instante t1 e Pt2 é o peso total médio da amostra no instante t2 e t é o tempo em dias;
- Fator de condição = $\frac{PF}{C^3}$, onde PF é o peso final médio e C é o comprimento;
- Biomassa final (g) = PF x nf, onde PF e nf se referem ao peso final médio e a quantidade final de peixes, respectivamente.

Determinações bioquímicas

Após a biometria, coletou-se o sangue de 4 peixes de cada tanque para as determinações plasmáticas. Retirou-se 2 mL de sangue a partir de punção da veia caudal, com o auxílio de seringas heparinizadas (3 mL). O plasma foi obtido a partir da centrifugação do sangue (4000 rpm por 4 min à -4 °C) e mantido sob refrigeração constante (-20 °C). As análises foram realizadas no Laboratório de Extensão em Análises Clínicas do Instituto de Farmácia da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

Para determinação do cortisol plasmático foi utilizado Kit Vidas® Cortisol S, em um equipamento mini-VIDAS, em um teste automatizado para determinação quantitativa

de cortisol em soro, plasma ou urina, a partir da técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

Os níveis de glicose plasmática foram determinados pelo método enzimático a partir da glicose oxidase (GOD)/glicose peroxidase (POD), método colorimétrico utilizando equipamento BT 3000 (500 testes/hora; Wiener lab[®], Rosario, Argentina) adaptado de SENA et al. (2016).

Os níveis de ácido úrico plasmático foram determinados pelo método descrito por HENRY et al. (1957). Os níveis de Aspartato aminotransferase (AST) plasmática foram determinados de acordo com TIETZ (1986). As concentrações de ureia plasmática foram determinadas pelo método enzimático cinético com urease (ROCH-RAMEL, 1967). A creatina plasmática foi determinada pelo método cinético de Jaffe (JAFFE, 1886). A albumina plasmática foi determinada pelo método fotométrico com verde de bromocresol (DOUMAS et al., 1971). Os níveis de proteínas totais foram determinados pela reação de biureto (DOUMAS et al. 1981).

Análise estatística

Todos os dados são apresentados em média \pm erro padrão. Foi verificada a homocedasticidade das variâncias pelo teste de Levene e a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram avaliados por análise de variância de uma via e, havendo diferença significativa, foi realizado um teste post-hoc de Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Parâmetros de qualidade da água

O pH da água foi significativamente diferente entre todos os tratamentos. A alcalinidade foi significativamente superior em pH 8,90 em relação aos demais tratamentos e em pH 7,24 em relação aos pHs 4,56 e 6,00 ($P < 0,05$). A amônia total foi significativamente superior em pH 4,56 e 6,00 em comparação com os demais tratamentos ($P < 0,05$). A amônia não ionizada foi significativamente superior em pH 8,90 em relação aos demais pHs ($P < 0,05$) (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros de qualidade da água (média \pm erro padrão) de juvenis de pintado amazônico (*P. reticulatum* x *L. marmoratus*) expostos a diferentes pH da água (n = 3 tanques por tratamento).

Parâmetros	pH			
	4,56	6,00	7,24	8,90
pH	4,56±0,03 ^d	6,00±0,02 ^c	7,24±0,02 ^b	8,90±0,01 ^a
Oxigênio dissolvido	7,01±0,18 ^a	7,05±0,14 ^a	6,99±0,08 ^a	7,10±0,11 ^a
Temperatura	25,88±0,22 ^a	26,12±0,04 ^a	26,04±0,06 ^a	25,90±0,06 ^a
Dureza total	98,33±3,00 ^a	93,33±7,41 ^a	90,83±2,20 ^a	93,33±5,07 ^a
Alcalinidade total	8,75±3,00 ^c	16,25±1,02 ^c	32,50±1,44 ^b	101,70±3,00 ^a
Amônia total	0,73±0,07 ^a	0,57±0,08 ^a	0,32±0,09 ^b	0,33±0,13 ^b
Amônia não ionizada	0,02±0,00 ^b	0,35±0,03 ^b	3,36±0,35 ^b	124,29±24,36 ^a
Nitrito	0,46±0,12 ^a	0,23±0,07 ^a	0,22±0,07 ^a	0,21±0,08 ^a

Temperatura é expressa em °C, oxigênio dissolvido é expresso em mg L⁻¹, dureza e alcalinidade são expressas em mg L⁻¹ CaCO₃, amônia total é expressa em mg L⁻¹ N-NH₃. Amônia não ionizada é expressa em µg L⁻¹ N-NH₃. Nitrito é expresso em mg L⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (P < 0,05).

Parâmetros bioquímicos

Os exemplares expostos ao pH 4,56 apresentaram cortisol plasmático significativamente superior em relação aos peixes submetidos aos pHs 7,25 e 8,90 (P < 0,05). Os peixes expostos ao pH 4,56 obtiveram valores significativamente maiores para os níveis de proteínas totais plasmáticas quando comparados aos demais tratamentos (P < 0,05). A glicose plasmática foi significativamente superior nos tratamentos com pH 7,25 e 4,56 em relação aos demais pHs e no pH 6,00 em relação ao pH 8,90 (P < 0,05). Os exemplares expostos ao pH 7,25 apresentaram níveis de ureia plasmática significativamente superiores quando comparados aos demais pHs e no pH 4,56 em relação aos pHs 6,00 e 8,90 (P < 0,05). Os níveis de AST plasmática nos peixes expostos ao pH 4,56 foram significativamente menores em comparação aos pHs 7,25 e 8,90 (P < 0,05) (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros bioquímicos (média ± erro padrão) de juvenis de pintado amazônico (*P. reticulatum* x *L. marmoratus*) expostos a diferentes níveis de pH da água (n = 12 peixes por tratamento). AST = Aspartato aminotransferase.

pH

Parâmetros	4,56	6,00	7,25	8,90
Cortisol (ng mL ⁻¹)	95,31±9,12 ^a	78,43±12,75 ^{ab}	56,27±9,43 ^b	57,07±7,51 ^b
Proteínas totais (g dL ⁻¹)	4,1±0,08 ^a	3,7±0,07 ^b	3,6±0,05 ^b	3,5±0,12 ^b
Glicose (mg dL ⁻¹)	97,43±3,33 ^a	85,14±1,34 ^b	99,43±4,01 ^a	72,00±1,47 ^c
Ureia (mg dL ⁻¹)	4,53±0,18 ^b	3,26±0,18 ^c	5,61±0,22 ^a	3,45±0,19 ^c
AST (U L ⁻¹)	44,33±4,47 ^b	67,44±6,68 ^{ab}	79,00±7,72 ^a	73,89±7,73 ^a
Albumina (g dL ⁻¹)	0,73±0,02 ^a	0,64±0,03 ^a	0,61±0,02 ^a	0,57±0,02 ^a
Creatina (mg dL ⁻¹)	0,20±0,00 ^a	0,20±0,00 ^a	0,21±0,01 ^a	0,21±0,01 ^a
Ácido úrico (mg dL ⁻¹)	0,11±0,01 ^a	0,15±0,02 ^a	0,13±0,02 ^a	0,11±0,02 ^a

Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (P < 0,05).

Desempenho

Tabela 3. Parâmetros zootécnicos (média ± erro padrão) de juvenis de pintado amazônico (*P. reticulatum* x *L. marmoratus*) expostos a diferentes níveis de pH da água (n = 3 tanques por tratamento). PF = peso final. CF = comprimento final. GP = ganho de peso. TCE = taxa de crescimento específico. BF = biomassa final. S = sobrevivência. FC = fator de condição.

Parâmetros	pH			
	4,56	6,00	7,24	8,90
PF (g)	145,67±3,28 ^a	139,00±1,53 ^a	127,00±2,52 ^{ab}	115,30±7,63 ^b
CF (cm)	26,60±0,42 ^a	26,73±0,13 ^a	25,41±0,12 ^{ab}	24,73±0,58 ^b
GP (g)	55,2±3,28 ^a	42,19±1,53 ^a	30,19±2,52 ^{ab}	18,54±7,56 ^b
TCE (% dia)	0,73±0,04 ^a	0,58±0,02 ^a	0,44±0,03 ^{ab}	0,28±0,09 ^b
BF (g)	912,0±17,06 ^a	787,33±38,55 ^{ab}	720,67±44,84 ^{ab}	692,00±39,64 ^b
FC	0,83±0,05 ^a	0,73±0,01 ^a	0,77±0,01 ^a	0,76±0,02 ^a
S (%)	100,0±0,00 ^a	94,44±5,56 ^a	94,44±5,56 ^a	100,0±0,00 ^a

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos (P < 0,05).

Os peixes expostos ao pH 8,90 apresentaram peso final, comprimento final, ganho de peso e TCE significativamente menores do que os exemplares submetidos aos pH 4,56 e 6,00 (P < 0,05). Os peixes expostos ao pH 4,56 apresentaram biomassa final

significativamente maior do que os exemplares submetidos ao pH 8,90 ($P < 0,05$) (Tabela 3).

DISCUSSÃO

Qualidade da água

Os parâmetros de qualidade da água (exceto alcalinidade e amônia não ionizada) do presente estudo se encontram dentro dos limites estabelecidos para cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) (CAMPOS, 2010) e jundiá (*Rhamdia quelen*) (BALDISSEROTTO, 2013), espécies do mesmo gênero das espécies parentais deste híbrido. Os outros parâmetros como, oxigênio dissolvido, amônia total e temperatura ficaram próximos ao encontrado por FORTES-SILVA et al. (2017) em estudo com juvenis de pintado amazônico.

A alcalinidade é um dos principais parâmetros de qualidade da água, devido a sua atuação como solução-tampão, evitando altas flutuações nos níveis de pH (BOYD et al., 2016). Em vista disso, valores de alcalinidade inferiores a $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ podem acarretar distúrbios no equilíbrio ácido-básico dos peixes (BHATNAGAR et al., 2013), o que poderia comprometer seu crescimento e bem-estar. Como esperado, no presente estudo foram verificados baixos níveis de alcalinidade da água nos tratamentos com pH ácido, sendo que os demais parâmetros de qualidade de água foram satisfatórios nestas concentrações (BOYD et al., 2016).

A produção de resíduos nitrogenados em peixes é oriunda do catabolismo dos aminoácidos (WOOD, 1993), que é excretada pelas brânquias para a água (WILKIE, 2002). Esta excreção é feita através das glicoproteínas Rhesus presentes nas brânquias, que estão situadas nas membranas basolateral e apical (WRIGHT & WOOD, 2009). No presente estudo, a maior preocupação está relacionada aos peixes expostos ao pH 8,90, onde os valores de amônia não ionizada da água foram elevados, o que poderia comprometer a homeostase dos peixes expostos a águas com pH muito alcalino (IP et al., 2010). O aumento da concentração de amônia não ionizada pode provocar alterações osmorregulatórias afetando negativamente a fisiologia e a sobrevivência (BALDISSEROTTO et al., 2014). As concentrações de amônia não ionizada em todos os níveis de pH no presente estudo mantiveram-se abaixo dos níveis letais ($<0,50 \text{ NH}_3$) descritos para jundiá em pH 7,57 (BALDISSEROTTO et al., 2014).

Altos níveis de amônia na água elevam a sua concentração no plasma e nos tecidos dos peixes (WRIGHT et al., 2007) em um período de exposição de 24 horas (BOLNER & BALDISSEROTTO, 2007). Essa elevação é potencializada em águas com pH alcalino, devido a altas concentrações de amônia não ionizada (BOLNER et al., 2014). Nestes sistemas a excreção de amônia é dificultada devido a menor concentração dos íons H^+ disponíveis na água para reagir com o NH_3 e transforma-lo em NH_4^+ (WRIGHT & WOOD, 2012).

Parâmetros bioquímicos

O aumento ou diminuição do cortisol plasmático providencia respostas fundamentais do estágio fisiológico dos peixes (BONGA, 1997). Pode, por exemplo, estimular a glicogenólise hepática para fornecer energia aos tecidos em situações de estresse (VINODHINI & NARAYANAN 2009).

As proteínas plasmáticas são outro metabólito importante na manutenção da pressão osmótica e no equilíbrio ácido-base dos peixes, e sua elevação reflete distúrbios iônicos e mudanças osmóticas do fluido plasmático (MILLIGAN & WOOD, 1982). A elevação do cortisol e das proteínas plasmáticas nos juvenis de pintado amazônico expostos ao pH 4,56 no presente estudo pode ser um mecanismo adaptativo protetivo contra os efeitos evidentes dos distúrbios de ionorregulação e ácido-base promovida pelo aumento das concentrações do íon H^+ (WOOD et al., 1989). Adicionalmente, a elevação do cortisol dos peixes expostos ao pH 4,56 poderia explicar o aumento da glicose plasmática neste pH, que muitas vezes é um padrão subsequente a elevação do cortisol plasmático e tem função de providenciar aporte de energia para os tecidos (WISEMAN et al., 2007).

Por outro lado, o aumento da glicose plasmática nem sempre está relacionada com o aumento dos níveis de cortisol (WENDELAAR BONGA, 1997), como verificado neste estudo para os peixes expostos ao pH 7,25. Por outro lado, o aumento da glicose plasmática observado no tratamento pH 7,25, pode estar relacionada com a elevação dos níveis de ureia plasmática, o que também foi verificado nos peixes submetidos ao pH 4,56. Isto se deve ao fato de uma estratégia para redução da toxicidade da amônia não ionizada nos peixes se dar pela metabolização da ureia (KAJIMURA et al., 2004). Mais especificamente, pelo ciclo da ornitina-ureia (RUYET et al., 2003) e pelo catabolismo da arginina dietética ou uricólise (KORSGAARD et al., 1995; ANDERSON, 2001).

Finalmente, a redução da glicose plasmática nos peixes expostos ao pH 8,90 pode ser uma estratégia adaptativa para poupar energia (DAS et al., 2004), diante a altas concentrações de amônia não ionizada presente em pH alcalino, potencializando a sua difusão para o epitélio branquial e dificultando a excreção (WRIGHT et al., 2007, WRIGHT & WOOD, 2012). Ou seja, uma tentativa do peixe em diminuir o catabolismo e conseqüentemente, a concentração de composto nitrogenados, o que, por sua vez, pode ter comprometido o crescimento dos peixes expostos a este pH. Resultado similar foi verificado em peixe gato (*Horabagrus brachysoma*), onde ocorreu redução da glicose hepática, muscular e renal nos exemplares expostos ao pH alcalino (10,0) em comparação com o pH ácido (3,0) (BOLNER et al., 2014).

A avaliação de AST tem sido utilizado para aferir as respostas dos peixes em condições de estresse, como mudanças de temperatura, hipóxia, pH e amônia (CHIEN et al., 2003). E a elevação desta enzima reflete o comprometimento do fígado ou do músculo esquelético (LEMAIRE et al., 1991; OHGAMI et al., 2007). A elevação de AST plasmática nos peixes expostos ao pH circum-neutro e alcalino no presente estudo provavelmente foi influenciado pelas altas concentrações de amônia não ionizada, o que poderia causar nestes peixes toxicidade e comprometimento do fígado. Contudo, os valores de AST encontrados neste estudo ficaram dentro do valor basal (114 U L^{-1}) descrito para jundiá (BORGES et al., 2004).

Desempenho

A exposição a níveis extremos de pH da água representa um grande desafio para os peixes, podendo limitar o seu desenvolvimento e, em condições extremas, levar a mortalidade (WHITE et al., 2014).

Apesar deste estudo ter submetido exemplares de pintado amazônico a valores extremos de pH (4,56 e 8,90), não houve mortalidade, demonstrando a capacidade desta espécie em tolerar águas ácidas ou alcalinas. Contudo, evidenciou-se que o desempenho dos peixes em pH alcalino foi inferior ao pH ácido (4,56 e 6,00). Isto pode estar relacionado aos altos valores de amônia não ionizada verificadas para o pH 8,90. Resultado similar foi evidenciado em tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos a três níveis de pH durante 40 dias (4,0; 6,0 e 8,0), onde o desempenho foi menor nos peixes expostos ao pH alcalino em relação aos pHs ácidos (ARIDE et al., 2007). Por outro lado, o maior crescimento dos juvenis em águas com pH ácido em relação a águas com pH alcalino pode ser explicado por uma melhor capacidade de ajuste fisiológico, o que

poderia favorecer o cultivo do pintado amazônico em regiões cujo pH da água é moderadamente ácido. Contudo, apesar dos mecanismos metabólicos de adaptação para ambientes ácidos, o tratamento com pH 4,56 apresentou as maiores variações nos parâmetros plasmáticos dos indivíduos e o menor valor de alcalinidade da água.

CONCLUSÃO

A exposição prolongada a águas alcalinas resultou em redução do crescimento de pintado amazônico, o que foi provavelmente influenciado pelas altas concentrações de amônia não ionizada neste ambiente. Neste sentido, se recomenda a produção de pintado amazônico em águas com pH levemente ácido ou circum-neutro, uma vez que apresentaram menor alteração dos parâmetros bioquímicos (exceto glicose e ureia em pH 7,25) e maior crescimento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Prof. Dr. Rodrigo Fortes-Silva da UFRB pelo fornecimento da estrutura de pesquisa e dos animais. O primeiro autor agradece a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da bolsa de auxílio.

REFERÊNCIAS

ANDERSON P.M. Urea and glutamine synthesis: environmental influences on nitrogen excretion. **Fish Physiology**, v. 20, p. 239-227, 2001.

ARIDE, P.H.R.; ROUBACH, R.; VAL, A.L. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. **Aquaculture Research**, v. 38, p. 588-594, 2007.

BARCELLOS, L.J.G.; SOUZA, S.M.G.; WOEHL, V.M. Estresse em peixes: Fisiologia da Resposta ao Estresse, Causas e Consequências (Revisão). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 26, p. 99-111, 2000.

BARCELLOS, L.J.G.; VOLPATO, G.L.; BARRETO, R.E.; COLDEBELLA, I.; FERREIRA, D. Chemical communication of handling in fish. **Physiology Behavior**, v. 103, p. 372–375, 2011.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura 3º edição**. Santa Maria, SC, Brazil: UFSM, 2013.

BALDISSEROTTO, B.; MARTOS-SITCHA, J.A.; MENEZES, C.C.; TONI, C.; PRATI, R.L.; GARCIA, L.O.; SALBEGO, J.; MANCERA, J.M.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, G. The effects of ammonia and water hardness on the hormonal, osmoregulatory and metabolic of the freshwater silver catfish *Rhamdia quelen*. **Aquatic Toxicology**, v. 152, p. 341–352, 2014.

BHATNAGAR, A.; DEVI, P. Water quality guidelines for the management of pond fish culture. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 3, p. 1980, 2013.

BINDON, S.; GILMOUR, K.; FENWICK, J.; PERRY, S. The effects of branchial chloride cell proliferation on respiratory function in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of Experimental Biology**, v. 197, p. 47–63, 1994.

BOLNER, K. C.; COPATTI, C. E.; ROSSO, F. L.; LORO, V. L.; BALDISSEROTTO, B. Water pH and metabolic parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 56, p. 202-208, 2014.

BOLNER, K.C.S.; BALDISSEROTTO, B. Water pH and urinary excretion in silver catfish *Rhamdia quelen*. **Journal of Fish Biology**, v. 70, p. 50-64, 2007.

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

BORGES, A.; SCOTTI, L. V.; SIQUEIRA, D.R.; JURINITZ, D. F.; WASSERMANN, G.F. Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 30, p. 21-25, 2004.

BOYD, C.E.; TUCKER, C.S.; SOMRIDHIVE, J.B. Alkalinity and hardness: critical but elusive concepts in aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 47, p. 6-41, 2016.

CAMPOS, J.L. O cultivo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*, Spix; Agassiz, 1829), outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos. **Espécies Nativas para Piscicultura no Brasil. UFMS, Campo Grande**. p. 335-361, 2010.

CHASIOTIS, H.; WOOD, C.M.; KELLY, S.P. Cortisol reduces paracellular permeability and increases occludin abundance in cultured trout gill epithelia. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 323, p. 232–238, 2010.

CHIEN, Y.; PAN, C.; HUNTER, B. The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. **Aquaculture**, v. 216, p. 177-191, 2003.

COLT, J. List of spreadsheets prepared as a complement to the book Fish Hatchery Management. **Fish Hatchery Management. American Fisheries Society**, p. 751, 2002.

COPATTI, C.E.; AMARAL, R. Osmorregulação em juvenis de piava, *Leporinus obtusidens* (characiformes: anastomidae), durante trocas do pH da água. **Biodiversidade Pampeana**, v. 7, p. 1-6, 2009.

COPATTI, C.E.; COLDEBELLA, I.J.; RADUNZ NETO, J.; GARCIA, L.O.; DA ROCHA, M.C.; BALDISSEROTTO, B. Effect of dietary calcium on growth and survival of silver catfish fingerlings, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae), exposed to different water pH. **Aquaculture Nutrition**, v. 11, p. 345-350, 2005.

COSTAS, B.; ARAGÃO, C.; MANCERA, J.M.; DINIS, M.T.; CONCEIÇÃO, L.E.C. High stocking density induces crowding stress and affects amino acid metabolism in Senegalese sole *Solea senegalensis* (Kaup 1858) juveniles. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 1–9, 2008.

DAS, P.C.; AYYAPPAN, S.; JENA, J.K.; DAS, B.K. Acute toxicity of ammonia and its sub-lethal effects on selected haematological and enzymatic parameters of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquaculture Research**, v. 35, p. 134-143, 2004.

DOUMAS, B.T.; BAYSE, D.D.; CARTER, R.J.; PETERS, T.; SCHAFFER, R. Candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. **Clinical Chemistry**, v. 10, p. 42–50, 1981.

DOUMAS, B.T.; WATSON, W.A.; BIGGS, H.G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. **Clinica Chimica Acta**, v. 1, p. 87–96, 1971.

FORTES-SILVA, R.; COSTA, L.S.; PAULINO, R.R.; RODRIGUES, E.J.; SANCHEZ-VAZQUEZ, F.J.; ROSA, P.V. Hybrid fish model (*Pseudoplatystoma reticulatum*♀ × *Leiarius marmoratus*♂) to study feeding behaviour: protein source self-selection and demand-feeding rhythms. **Aquaculture Research**, v. 48, p. 3705-3718, 2017.

HENRY, R.J.; SOBEL, C.; KIM, J. A modified carbonate-phosphotungstate method for the determination of uric acid and comparison with the spectrophotometric uricase method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 28, p. 152-160, 1957.

IP, YUEN K.; CHEW, S.F. Ammonia production, excretion, toxicity, and defense in fish: a review. **Frontiers in Physiology**, v. 1, p. 134, 2010.

JAFFE, M.Z. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsaure in normalem Harn erzeugt and ueber eine Reaction des Kreatinins. **Zeitschrift für physiologische Chemie**, v. 10, p. 391–400, 1886.

KAJIMURA, M.; CROKE, S.J.; GLOVER, C.N.; WOOD, C.M. Dogmas and controversies in the handling of nitrogenous wastes: the effect of feeding and fasting on the excretion of ammonia, urea and other nitrogenous waste products in rainbow trout. **Journal of Experimental Biology**, v. 207, p. 1993–2002, 2004.

KELLY, S.P.; CHASIOTIS, H. Glucocorticoid and mineralocorticoid receptors regulate paracellular permeability in a primary cultured gill epithelium. **Journal of Experimental Biology**, v. 214, p. 2308–2318, 2011.

KORSGAARD, B; MOMMSEN, T.P.; WRIGHT, P.A. Nitrogen excretion in teleostean fish: adaptive relationships to environment, ontogenesis, and viviparity. **Nitrogen Metabolism and Excretion**, p. 259-288, 1995.

LEMAIRE, P.; DRAI P.; MATHIEU, A.; LEMARIE, S.; CARRIERE, S.; GUIDICELLI, J.; LAFAURIE, M. Changes with different diets in plasma enzymes (GOT, GPT, LDH, ALP) and plasma lipids (cholesterol, triglycerides) of sea-bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v. 93, p. 63–75, 1991.

LIN, C.H.; SHIH, T.H.; LIU, S.T.; HSU, H.H.; HWANG, P.P. Cortisol regulates acid secretion of H⁺-ATPase-rich ionocytes in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Frontiers in Physiology**, v. 6, p. 328, 2015.

LIN, C.-H.; TSAI, I.L.; SU, C.H.; TSENG, D.Y.; HWANG, P.P. Reverse effect of mammalian hypocalcemic cortisol in fish: cortisol stimulates Ca²⁺ uptake via glucocorticoid receptor-mediated vitamin D3 metabolism. **PLoS ONE**, v. 6, p. e23689, 2011.

MCEWEN, B.S.; WINGFIELD J.C. The concept of allostasis in biology and biomedicine. **Hormones and Behavior**, v. 43, p. 2–15, 2003.

MILLIGAN, C.L.; WOOD, C.M. Disturbances in haematology, fluid volume distribution and circulatory function associated with low environmental pH in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. **Journal of Experimental Biology**, v. 99, p. 397–415, 1982.

OHGAMI, N.; UPADHYAY, S.; KABATA, A.; MORIMOTO, K.; KUSAKABE, H.; SUZUKI, H. Determination of the activities of glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic pyruvic transaminase in a microfluidic system. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 22, p. 1330–1336, 2007.

PANKHURST, N.W. The endocrinology of stress in fish: an environmental perspective. **General and comparative endocrinology**, v. 170, p. 265–275, 2011

PARRA, J.E.G.; BALDISSEROTTO, B. Effect of water pH and hardness on survival and growth of freshwater teleosts. **Fish osmoregulation. Science Publishers, New Hampshire**. p. 135-150, 2007.

PRIETO-GUEVARA M.J.; SILVA R.F.; COSTA L.S.; PEREIRA R.T.; ROSA P.V. Effect of fixed feeding time on growth, body composition, and hepatic histology of hybrid catfish (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*) fed with carbohydrates and lipids ratios. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 28, p. 83–92, 2015.

ROCH-RAMEL, F. An enzymic and fluorophotometric method for estimating urea concentrations in nanoliter specimens. **Analytical Biochemistry**, v. 21, p. 372–381, 1967.

RUYET, J.P.; LAMERS, A.; ROUX, A.L.; SEVERE, A.; BOEUF, G.; MAYER-GOSTAN, N. Long-term ammonia exposure of turbot: effects on plasma parameters. **Journal of Fish Biology**, v. 62, p. 879–894, 2003.

SCHRAM, E.; ROQUES, J. A.; ABBINK, W.; SPANINGS, T.; DE VRIES, P.; BIERMAN, S.; FLIK, G. The impact of elevated water ammonia concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish (*Clarias gariepinus*). **Aquaculture**, v. 306, p. 108-115, 2010.

SENA, A.C.; TEIXEIRA, R.R.; FERREIRA, E.L.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTTO, B.; CARON, B.O.; COPATTI, C.E. Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Collossoma macropomum*). **Aquaculture**, v. 465, p. 374-379, 2016.

TIETZ, N.W. **Text Book of Clinical Chemistry**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986.

VINODHINI, R.; NARAYANAN, M. The Impact of toxic heavy metals on the hematological parameters in common Carp (*Cyprinus carpio* L.). **Iran J Environ Health Sci Eng**, v. 6, p. 23–28, 2009.

WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, v.77, p. 591–625, 1997.

WHITE, R.S.; MCHUGH, P.A.; GLOVER, C.N.; MCINTOSH, A.R. Multiple environmental stressors increase the realised niche breadth of a forest-dwelling fish. **Ecography**, v. 38, p. 154-162, 2014.

WILKIE, M.P. Ammonia excretion and urea handling by fish gills: present understanding and future research challenges. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 293, p. 284–301, 2002.

WILKIE, M.P.; WOOD, C.M. The adaptations of fish to extremely alkaline environments. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 113, p. 665-673, 1996.

WISEMAN, S.; OSACHOFF, H.; BASSETT, E.; MALHOTRA, J.; BRUNO, J.; VAN, A.G.; MOMMSEN, T.P.; VIJAYAN, M.M. Gene expression. pattern in the liver during recovery from an acute stressor in rainbow trout. **Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics**, v. 2, p. 234–244, 2007.

WOOD, C.M. **Ammonia and urea metabolism and excretion. In: Evans, D. (Ed.).** The Physiology of Fishes. CRC press, Boca Raton, FL, p. 379–425, 1993.

WOOD, C.M. The physiological problems of fish in acid waters. **Acid toxicity and aquatic animals**, p. 125-152, 1989.

WRIGHT, P.A.; STEELE, S.L.; HVITEMA, A.; BERNIER, N.J. Induction of four glutamine synthetase genes in brain of rainbow trout in response to elevated environmental ammonia. **Journal of Experimental Biology**, v. 198, p. 127–135, 2007.

WRIGHT, P.A.; WOOD, C.M. A new paradigm for ammonia excretion in aquatic animals: role of Rhesus (Rh) glycoproteins. **Journal of Experimental Biology**, v. 212, p. 2303-2312, 2009.

WRIGHT, P.A.; WOOD, C.M. Seven things fish know about ammonia and we don't. **Respiratory physiology & neurobiology**, v. 184, p. 231-240, 2012.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desenvolver pacotes tecnológicos para espécies alvo a serem comercializadas é de fundamental importância, uma vez que fatores como qualidade da água, densidade de estocagem (DE) e manejo afetam o bem-estar e a produção de peixes. Neste sentido, pH e DE são fatores importantes e que afetam a produção piscícola, necessitando que seus valores sejam devidamente estabelecidos, o que nem sempre acontece.

O pH fora da faixa de tolerância pode comprometer o bem-estar e o crescimento para uma dada espécie, além de prejudicar os demais parâmetros de qualidade de água. Como observado nos juvenis de tilápia-do-Nilo e pintado amazônico neste estudo, onde ambos se mostraram sensíveis a exposição ao pH alcalino, cujos efeitos negativos foram verificados no crescimento, metabolismo e qualidade da água. Por outro lado, a exposição a águas ácidas não prejudicou o desenvolvimento dos juvenis, demonstrando a capacidade destes peixes em tolerar tais ambientes. Contudo, estes valores promoveram variações nos parâmetros bioquímicos.

De certo, a partir de nossos resultados, é possível recomendar o cultivo de ambas as espécies em águas moderadamente ácidas ou próximo a neutralidade, pois nestas condições, verificaram-se os resultados mais promissores para o desenvolvimento tanto de tilápia-do-Nilo, quanto de híbrido pintado amazônico.

Finalmente, visando estudos futuros, recomenda-se que fossem feitas avaliações do consumo aparente e análises de estresse oxidativo para melhor determinação das condições de estresse destes animais.