UFSM

Dissertação de Mestrado

INCLUSÃO DE SAL NA RAÇÃO E A TOXICIDADE DO NITRITO EM ALEVINOS DE JUNDIÁ *(Rhamdia quelen)*

Ronaldo Lima de Lima

PPGZ

Santa Maria, RS, Brasil

2005

INCLUSÃO DE SAL NA RAÇÃO E A TOXICIDADE DO NITRITO EM ALEVINOS DE JUNDIÁ

(Rhamdia quelen)

por

Ronaldo Lima de Lima

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração Produção Animal,
daUniversidade Federal de Santa Maria (UFSM,RS),
como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

PPGZ

Santa Maria, RS, Brasil

2005

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova
a Dissertação de Mestrado

INCLUSÃO DE SAL NA RAÇÃO E A TOXICIDADE DO NITRITO EM ALEVINOS DE JUNDIÁ *(Rhamdia quelen)*

elaborada por
Ronaldo Lima de Lima

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA

_____
Dr. Bernardo Baldisserotto
(Presidente/Orientador)

_____
Dr. Paulo Cesar Falanghe Carneiro

_____
Dr. Leonardo José Gil Barcellos

Santa Maria, 15 de fevereiro de 2005

Dedico

A minha família, meu pai Antonio da Silva Lima,
minha mãe Cely Lima de Lima pelo amor,
respeito, ensinamentos e que nunca
mediram esforços durante toda
minha vida para
apoiar-me.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, a saúde, os momentos felizes da minha vida, as oportunidades que tive, colocando pessoas especiais em meu caminho.

Professor Dr.Bernardo Baldisserotto pela amizade, confiança e disposição em me orientar nestes 2 anos de mestrado.

Professor Dr. João Radünz Neto pela amizade, confiança, consideração, disposição, incentivo e respeito, não só no período do mestrado como co-orientador mas ao longo da minha vida acadêmica até hoje.

Professora Dr[a] .Vânia Lucia Pimentel Vieira pela amizade e disposição de tempo e laboratório para o meu trabalho.

A todos os professores do PPGZ que me auxiliaram na minha formação durante as aulas, a Olirta Giuliani, pela amizade e boa vontade em ajudar nos trâmites burocráticos ao longo do curso.

Professoras Dr[a]. Liliane, Katia e Marilise pela colaboração e empréstimos de equipamentos e laboratórios .

Neiva Braun pela amizade, incentivo, respeito, coleguismo, responsabilidade, ajudando a desenvolver meu trabalho em todas suas fases, sempre disposta a colaborar com todos do laboratório mesmo em prejuízo de si mesma e de seu tempo, muito calma, transmitindo muita tranqüilidade mesmo em situações onde o tempo estava esgotando, por tudo isto a minha mais sincera gratidão.

Rafael Lazzari, pela amizade, disposição em sempre me ajudar no meu trabalho de mestrado e como colega de setor na graduação, ao Luciano, pela amizade e boa vontade em ajudar sempre que necessário.

Aos alunos e amigos que me ajudaram diretamente no laboratório de fisiologia e bioquímica, Daiani Kockhhan muito prestativa, dedicada e com muito senso de responsabilidade, foi de extrema importância no meu trabalho, Bibiana Moraes pelas horas dedicadas as análises bioquímicas, a Tanise dos Santos Medeiros, Diego Rigon, Thiago, que também colaboraram, em uma das fases do meu trabalho, meu muito obrigado.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia pela amizade e respeito, Francisco Quatrin, Rosane, Florindo e Cleci que de um modo geral colaboraram com o meu trabalho.

Agradeço a todos amigos do Setor de Piscicultura desde a graduação até hoje, pela amizade e colaboração, especialmente a Maria e o Filipetto.

Agradeço também a comunidade em geral, que pagando seus impostos mantem a UFSM, ainda pública e gratuita, sem isto não poderia estar aqui.

Agradeço a todos os animais, ditos irracionais, que com o sacrifício de suas vidas colaboraram para Ciência e meu aprendizado durante toda minha formação.

Agradeço ao Centro Nacional de apoio a Pesquisa - CNPq pelo auxilio com bolsa de mestrado durante o ano de 2004.

SUMÁRIO

RESUMO..... viii
ABSTRACT..... x
1. INTRODUÇÃO..... 01
2.OBJETIVOS..... 07
2.1. Objetivo Geral..... 07
2.2.Objetivos Específicos..... 07
3. ARTIGO 08
3.1. Resumo..... 09
3.2. Introdução..... 10
3.3. Material e Métodos..... 13
3.4. Resultados..... 18
3.5. Discussão..... 21
3.6. Referências..... 25
4. CONCLUSÕES..... 42
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 43

RESUMO
Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

INCLUSÃO DE SAL NA RAÇÃO E A TOXICIDADE DO NITRITO EM ALEVINOS DE JUNDIÁ *(Rhamdia quelen)*

Autor: Ronaldo Lima de Lima
Orientador:Bernardo Baldisserotto
Data e Local da Defesa: Santa Maria, 15 de fevereiro de 2005

O nitrito é um resíduo nitrogenado que causa nos peixes vários efeitos tóxicos, um dos mais importante é a oxidação da hemoglobina causando hipóxia e morte. Com isto, o objetivo deste trabalho foi verificar a sobrevivência e o desempenho de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) expostos ao nitrito alimentados com dieta contendo diferentes níveis de cloreto de sódio. No experimento I determinou-se as concentrações letais em 96 h ($CL_{50\text{-}96h}$) de nitrito para cada nível de inclusão de NaCl na ração (0, 1, 2, 4 e 6%). No experimento II verificou-se o efeito de 4 concentrações de nitrito (0,06; 0,46; 1,19 e 1,52 mg/L de nitrito) no crescimento desta espécie, usando uma ração sem adição de NaCl. Os valores das $CL_{50\text{-}96h}$ para o nitrito foram 20,46 ± 2,76, 21,37 ± 0,84, 11,86 ± 3,91, 21,37 ± 0,71 e 24,63 ± 4,88 mg/L de nitrito, respectivamente, para os níveis de inclusão de NaCl na ração de 0, 1, 2, 4, e 6%. Não houve diferença significativa em relação à sobrevivência com o aumento dos níveis de cloreto de sódio na ração. No experimento de crescimento verificou-se mortalidade de 100% no tratamento com 1,52 mg/L de nitrito após 20 dias. Analisando o peso, taxa de crescimento específico e conversão alimentar em relação aos níveis crescentes de nitrito, não houve diferença entre os tratamentos aos 20 e 40 dias. Aos 40 dias observou-se biomassa significativamente menor no tratamento com 1,52 mg/L de nitrito quando comparada às demais concentrações. O aumento das concentrações de nitrito diminuiu o comprimento padrão e aumentou o coeficiente de variação do peso. O coeficiente de variação para o comprimento aumentou somente com o aumento do tempo de exposição em todos os tratamentos, com exceção do tratamento com 0,06 mg/L nitrito. Considerando as condições em que se realizou este experimento a concentração de nitrito,

em um nível seguro, para o crescimento de alevinos de jundiá fica abaixo de 1,19 mg/L (5,8 % da $CL_{50\text{-}96h}$ do tratamento sem adição de sal).

ABSTRACT
Master Dissertation
Post-Graduate course in Animal Husbandry
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

DIETARY SALT AND NITRITE TOXICITY IN SILVER CATFISH FINGERLINGS (*Rhamdia quelen*)
Author: Ronaldo Lima de Lima
Adviser: Bernardo Baldisserotto
Place and date of defense: Santa Maria, February 15th, 2005

Nitrite is a nitrogenous residue that has several toxic effects on fish, being one of the most important the hemoglobin oxidation, causing hypoxia and death. Therefore, the objective of this work was to verify the survival and growth of silver catfish fingerlings (*Rhamdia quelen*) exposed to nitrite in the water and fed diets containing different levels of sodium chloride. In the experiment I the 96 h lethal concentrations ($LC_{50\text{-}96h}$) of nitrite were determined using 5 nitrite concentrations in the water for each level of inclusion of NaCl in the food (0, 1, 2, 4, and 6%). In the experiment II the effect of 4 nitrite concentrations was verified (0.06, 0.46, 1.19, and 1.52 mg/L nitrite) for the feed without NaCl addition. The values of $LC_{50\text{-}96h}$ for nitrite were 20.46 ± 2.76, 21.37 ± 0.84, 11.86 ± 3.91, 21.37 ± 0.71, and 24.63 ± 4.88 mg/L nitrite, respectively, for the levels of inclusion of NaCl in the food of 0, 1, 2, 4, and 6%. There was no significant difference in relation to survival with the increase of the sodium chloride levels in the food. In the growth experiment 100% mortality rate was observed in the treatment with 1.52 mg/L nitrite after 20 days. Nitrite levels did not change weight, specific growth rate, and food conversion significantly among the treatments after 20 and 40 days. After 40 days the lowest biomass was verified in the treatment with 1.52 nitrite mg/L. The increase of nitrite concentration significantly reduced the standard length and increased the coefficient of variation of weight. The coefficient of variation of length increased significantly with the increase of time of exposure to nitrite. According to the results, the safe level of nitrite for growth of silver catfish fingerlings is below 1.19 mg/L (5,8 % of $LC_{50\text{-}96h}$ of the treatment without addition of salt in the food).

1.INTRODUÇÃO

O jundiá, *Rhamdia quelen*, é uma espécie nativa de grande representatividade e interesse econômico, aparentemente bem adaptada a diferentes ambientes, resistente ao inverno e que apresenta rápido crescimento (Barcellos et al.; 2003; 2004), sendo amplamente utilizada em viveiros de piscicultura principalmente na região sul do país. Sua carne é apreciada pelo consumidor devido à qualidade e ausência de espinhos intramusculares (Gomes et al., 2000; Townsed & Baldisserotto, 2001).

Esta espécie apresenta distribuição neotropical, do sudeste do México ao norte, e centro da Argentina ao sul (Silfvergrip, 1996). É encontrado na Amazônia, Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Peru, Bolívia, Guianas, Venezuela e bacias do rio São Francisco, Jequitinhonha, Mucuri, Paraíba e do Prata (Fowler, 1951).

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

A qualidade da água utilizada na piscicultura é muito importante para o crescimento e desenvolvimento do jundiá, pois para todas as fases de vida do jundiá (ovo, larva, alevino e adulto) são necessários níveis ideais de determinados parâmetros (Baldisserotto e Silva, 2004) .

E atualmente, na piscicultura, onde se busca em cada metro cúbico de água o máximo em aproveitamento e rendimento, torna-se muito mais necessária a preocupação em manter o ambiente aquático o mais próximo do ideal para a espécie que se trabalha, em relação aos parâmetros físico – químicos da água. A preocupação da aqüicultura está em conhecer qualquer característica da água que afete a sobrevivência, reprodução e crescimento (Boyd, 1998).

O nitrito tem recebido mais atenção com o passar dos anos, pois tem sido considerado um poluente importante nos sistemas aquáticos (Russo et al., 1981). É um produto intermediário na oxidação biológica da amônia a nitrato, e pode atingir concentrações elevadas quando ocorre poluição orgânica (Proença e Bittencourt, 1994). O nitrito é muito tóxico para os peixes, pois combina-se à hemoglobina do sangue originando a metahemoglobina, a qual não consegue transportar o oxigênio, resultando em hipóxia tecidual (Knudsen e Jensen, 1997). Também provoca alterações hepáticas, e tem efeito efeito vasodilatador (Costa, 2002) podendo levar à morte do peixe (Tomasso, 1994).

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

Em tambaqui (*Colossoma macropomum*) o efeito tóxico do nitrito em 24 horas causa estresse fisiológico alterando parâmetros hematológicos, aumentando os níveis de metahemoglobina como conseqüência da oxidação e anemia hemolítica. Externamente, os peixes apresentam alteração na coloração da pele e pronunciados inchaços abdominais,

revelando que estas alterações abdominais estão relacionadas à excessiva quantidade de fluído na cavidade abdominal e estômago, o que pode ser um indicativo de dano pancreático (Costa, 2001). Os níveis de glicose e lactato plasmáticos também aumentam, indicando a ativação do metabolismo anaeróbico. Os valores de pH intra e extracelular (Eddy, 1982), as concentrações de K^+ e Na^+ plasmáticos também apresentaram alterações nos exemplares expostos ao nitrito (Evans, 1993), sugerindo a ocorrência de distúrbio iônico (Grosell e Jensen, 1999). Lesões também foram observadas no epitélio dos ductos biliares e no pâncreas. O fígado dos peixes expostos ao NO_2^- apresentou alterações tissulares, depósitos intracelulares, degeneração celular e infiltração de células com características de macrófagos (Costa, 2002).

Segundo Colt et al. (1981), para juvenis de catfish do canal (*Ictalurus punctatus)* em um período de 31 dias o nitrito em níveis acima de 1,60 mg/L NO_2^- reduz o crescimento e em valores acima de 3,71 mg NO_2^- causa aumento significativo na mortalidade. Juvenis de perca prateada (*Bidyanus bidyanus*) expostos à concentração acima de 1,43 mg/l nitrito têm seu desenvolvimento reduzido (Frances et al., 1998).

As taxas de ingestão alimentar de juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) expostas ao nitrito em doses sub-letais de 1,0, 1,6 e 2,5 mg NO_2^- por um período 15 dias não são afetadas, porém as taxas de excreção de nitrogênio aumentam devido ao aumento do catabolismo de proteínas, podendo ser uma importante adaptação fisiológica para compensar os efeitos tóxicos do nitrito. Estes mesmos peixes tiveram reduzido crescimento e sobrevivência em exposição ao nitrito (Alcaraz e Espina, 1997).

Exemplares de matrinxã (*Brycon cephalus*) expostos a 0,2; 0,4 e 0,6 mg.L de nitrito diminuíram o hematócrito, hemoglobina total e o número de células vermelhas do sangue. O conteúdo de meta-hemoglobina aumentou de 1% a 69 % em 24 h de exposição e drasticamente de 5- 6% para 90% em 96 h (Avilez et al., 2004)

A presença de alguns íons comuns no meio aquático como o cloreto e o sódio têm forte efeito na diminuição da toxidez do nitrito. Como o nitrito e o íon cloreto competem pelo mesmo transportador nas células de cloreto das brânquias (Williams e Eddy, 1986), nos peixes de água doce expostos ao nitrito ocorre um decréscimo das concentrações de cloreto no plasma (Jensem et al., 1987; Aggergaard e Jensen, 2001).

Exemplares de *Ictalurus punctatus* expostos simultaneamente ao cloreto de sódio e nitrito na água apresentam reduzida formação de meta-hemoglobina, e supõe-se que esta inibição da formação de meta-hemoglobina seja pela competição do cloreto pelo transportador nas brânquias, impedindo deste modo à entrada do nitrito (Tomasso et al., 1979).

Verificou-se que os efeitos fisiológicos da exposição ao nitrito foram relativamente menores em peixes de água do mar do que em peixes de água doce (Grosell e Jensen, 1999 e 2000). Almendras (1987) relatou que o nitrito é 55 vezes mais tóxico em água doce que em água salobra para *Chanos chanos.* Em *Sciaenops ocellatus* adaptados à água doce, a concentração letal em 48h é 2,8 mg/l nitrito e na água do mar, 85,7 mg/l nitrito. Para *Anguilla anguilla* adaptado à água doce, a concentração letal em 168h é 84mg/L NO_2^- e, na água do mar, 974 mg/l NO_2^- (Maffia et al.,1993).

A toxicidade do nitrito pode variar de uma família e espécie para outra. Para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) a concentração letal em 96h é 0,21 mg/l NO_2^- e para o "Guadalupe bass" (*Micropterus treculi*),187,6 mg/l NO_2^- (Russo et al.,1981). O tamanho do peixe também pode influenciar a toxicidade do nitrito, pois exemplares de *Pimephales promelas* de 0,3 - 0,8g apresentam a concentração letal, 96h, em torno de 230 mg/l NO_2^-enquanto que para exemplares de 0,9 - 3,3g a concentração letal está em torno de 150 mg/l NO_2^- (Tomasso et al., 1979).

Os fluidos corporais dos peixes têm concentração de sais na ordem de 300-400mOsm/kg, que equivale a salinidade de 11%**o**. Em água doce, onde a concentração predominantemente é menos que 5 mOsm/kg, os peixes tendem a perder sais e a ganhar água. Em contraste, em água de mar os peixes têm concentração interna mais baixa que a concentração do meio (1.100 mOsm/kg ou 35%**o**), fazendo com que ganhem sais e percam água (Bromage e Shepherd, 1988).

Tendo em vista esta situação dos peixes de água doce, o sal adicionado à dieta tem fundamental importância, principalmente durante situações de estresse, onde ocorre elevação nas concentrações de corticosteróide no sangue, causando aumento na permeabilidade da membrana branquial, o que leva a alteração no balanço eletrolítico (Eddy, 1982; McDonald & Milligan, 1997).

Baseado nestas informações, este trabalho teve a finalidade de dar continuidade às pesquisas que estão sendo realizadas com o jundiá (*Rhamdia quelen*) e qualidade da água. A qualidade da água é um item extremamente importante em aqüicultura, principalmente quando se busca bom desempenho e produtividade. O nitrito é um dos parâmetros que

interferem diretamente na sobrevivência e desenvolvimento de muitos organismos aquáticos, sendo importante verificar seus efeitos tóxicos. Além disso, como para muitas espécies o aumento dos níveis de Cl^- na água minimiza o efeito do nitrito (Baldisserotto, 2002), é interessante analisar se o aumento do Cl^- na ração poderia também ter o mesmo efeito.

2.OBJETIVOS

2.1.OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito da inclusão de sal na ração sobre a toxicidade do nitrito em alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*).

2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a $CL_{50\text{-}96h}$ do nitrito para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen)* alimentados com dieta contendo diferentes concentrações de sal (NaCl);
- Estudar o crescimento de alevinos de jundiá expostos a doses subletais de nitrito.

3. ARTIGO

Interações entre nitrito na água e cloreto de sódio na ração no crescimento e sobrevivência de alevinos de jundiá (Rhamdia quelen)

Ronaldo Lima de Lima,[1] Neiva Braun,[1] Rafael Lazzari[2], Daiani Kochhann[1], Bibiana Moraes[3], João Radünz Neto[2], Vania Lucia Pimentel Vieira[3], e Bernardo Baldisserotto[1]

Departamentos de Fisiologia[1], Zootecnia[2], e Química[3], Universidade Federal de Santa Maria, 97105.900 Santa Maria, RS, Brazil

Autor para correspondência:

Bernardo Baldisserotto

Departamento de Fisiologia

Universidade Federal de Santa Maria

97105.900 Santa Maria, RS, Brasil

Telefone 55 55 220-9382 fax 55 55 220-8241

e.mail – bernardo@smail.ufsm.br

Resumo

O nitrito é um composto intermediário da oxidação da amônia a nitrato, sendo muito tóxico para os peixes. Um efeito importante do nitrito é a conversão da hemoglobina em meta-hemoglobina, a qual não transporta oxigênio, causando hipóxia tecidual e morte. Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar a sobrevivência e o desempenho de alevinos de jundiá (Rhamdia quelen) expostos ao nitrito alimentados com dieta contendo diferentes níveis de cloreto de sódio. No experimento I determinou-se as concentrações letais em 96 horas ($CL_{50\text{-}96h}$) de nitrito para cada nível de inclusão de NaCl na ração (0, 1, 2, 4 e 6%). No experimento II verificou-se o efeito de 4 concentrações de nitrito (0,06; 0,46; 1,19 e 1,52 mg/L de nitrito) no crescimento desta espécie, usando uma ração sem adição de NaCl, durante 40 dias. Os valores das $CL_{50\text{-}96h}$ para o nitrito foram 20,46, 21,37, 11,86, 21,37 e 24,63 mg/L de nitrito, respectivamente, para os níveis de inclusão de NaCl na ração de 0, 1, 2, 4, e 6%. Não houve diferença significativa em relação à sobrevivência com o aumento dos níveis de cloreto de sódio na ração. No experimento de crescimento verificou-se mortalidade de 100% no tratamento com 1,52 mg/L de nitrito após 20 dias. Analisando o peso em relação aos níveis crescentes de nitrito não houve diferença entre os tratamentos aos 20 e 40 dias. Aos 40 dias

observou-se uma biomassa significativamente menor no tratamento com 1,52 mg/L de nitrito quando comparada às demais concentrações. A taxa de crescimento específico e conversão alimentar não foram significativamente afetadas pelo aumento das concentrações de nitrito e do tempo de exposição. O aumento das concentrações de nitrito diminuiu o comprimento padrão e aumentou o coeficiente de variação do peso. O coeficiente de variação para o comprimento aumentou somente com um tempo maior de exposição, em todos os tratamentos, com exceção do tratamento com 0,06 mg/L nitrito. Considerando as condições em que se realizou este experimento a concentração de nitrito, em um nível seguro, para o crescimento de alevinos de jundiá fica abaixo de 1,19 mg/L (5,8 % da $CL_{50\text{-}96h}$ do tratamento sem adição de sal).

Palavras chave: Nitrito, sal, alevino, Rhamdia quelen, sódio, cloreto

Introdução

O nitrito é um componente natural do ciclo do nitrogênio nos ecossistemas (Jensen, 2002), produto intermediário da oxidação biológica da amônia até nitrato é um contaminante em potencial no ambiente

aquático (Grosell e Jensen, 1999). Vários estudos examinaram a toxicidade e os efeitos fisiológicos do nitrito em peixes (Bath e Eddy, 1980; Mensi et al., 1982; Willians e Eddy, 1997; Hilmy et al., 1987; Jensen, 1990; Nikinmaa e Jensen, 1992; Doblander e Lackner, 1996; Knudsen e Jensen, 1997; Costa 2002; Martinez e Souza, 2002).

Em solução aquosa, o nitrito encontra-se sob duas formas: o ácido nítrico não-ionizado (HNO_2) e o nitrito ionizado (NO_2^-), e o equilíbrio entre as duas formas é determinado primeiramente pelo pH ambiental (Russo et al, 1981; Tomasso, 1994). O acúmulo de amônia e nitrito pode aparecer em tanques de aqüicultura com altas densidades de peixes e desperdício de alimentos (Hargreaves, 1998), e para eliminar estas altas concentrações em tanques de piscicultura se faz à retirada e renovação da água e, em sistemas fechados usam-se biofiltros.

Sendo muito tóxico para os peixes, o nitrito combina-se à hemoglobina do sangue originando a meta-hemoglobina, a qual não consegue transportar o oxigênio, resultando em hipóxia tecidual (Knudsen e Jensen, 1997). A meta-hemoglobinemia em peixes pode ter efeitos prejudiciais no crescimento, resistência a doenças, desempenho natatório, e morte (Lacey e Rodnick, 2002), podendo também provocar alterações hepáticas, e ter efeito vasodilatador (Costa, 2002). Um acréscimo na

concentração de nitrito na água induz o aumento de nitrito no sangue e tecidos (Hotchkiss et al., 1992)

Em peixes, o nitrito é tomado ativamente a partir do meio seguindo a mesma rota fisiológica de entrada do íon cloreto (Willians e Eddy, 1986). Desta forma, o nitrito acumula-se no plasma dos peixes em concentrações que podem variar de 10 a 100 vezes a concentração ambiental (Holt e Arnold, 1996).

Sabe-se que a presença de alguns íons comuns no meio aquático como o cloreto e o sódio têm forte efeito na diminuição da toxidez do nitrito. O Cl^- em altas concentrações ocupa o transportador (competindo pelo mesmo sítio de ligação que o NO_2^-) e impede a entrada do nitrito na circulação sanguínea (Williams e Eddy, 1986; Harris e Coley, 1991). Como o nitrito e o íon cloreto competem pelo mesmo transportador nas células de cloreto das brânquias (Williams e Eddy, 1986), nos peixes de água doce expostos ao nitrito ocorre um decréscimo das concentrações de cloreto no plasma (Jensen et al., 1987 e Aggergaard e Jensen, 2001).

Como o influxo de íons (inclusive o Cl^-) em peixes de água doce pode ser da água, através das brânquias, ou do alimento, via trato digestório (Baldisserotto, 2003), o aumento de Cl^- no alimento poderia reduzir o influxo de Cl^- da água, e conseqüentemente o influxo de nitrito.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar se a adição de cloreto de sódio na ração diminui os efeitos tóxicos do nitrito em alevinos de jundiá, Rhamdia quelen espécie endêmica resistente ao inverno e apresenta rápido crescimento no verão (Barcellos et al.; 2003; 2004), que vem despertando interesse de muitos piscicultores principalmente na região sul do país, hábito omnívoro e sua carne é apreciada pelo consumidor devido à qualidade e ausência de espinhos intramusculares (Gomes et al., 2000; Townsed & Baldisserotto, 2001), apresentando características ideais para regiões de clima temperado e subtropical (Barcellos, et al., 2004)

Material e Métodos

Foram utilizados 900 alevinos de jundiá (Rhamdia quelen, Heptapteridae) adquiridos da Piscicultura Bela Vista, do município de São João do Polêsine, RS, Brasil, procedentes de desovas distintas. Os alevinos foram transportados ao Laboratório de Fisiologia em sacos plásticos e transferidos para caixas de fibra de vidro de 250 litros com aeração. Foram mantidos por um período de três semanas para aclimatação ao laboratório, período este que antecedia cada experimento, recebendo ração comercial 42 % de proteína bruta, marca Supra Juvenil Gaiola.

Experimento l – Determinação da concentração letal ($CL_{50\text{-}96h}$) para o nitrito

Neste experimento foi avaliada a $CL_{50\text{-}96h}$ de nitrito. Após o período de aclimatação os alevinos de jundiá foram separados em 5 grupos e transferidos para caixas de 250 litros, permanecendo por mais uma semana. Cada grupo foi alimentado uma vez ao dia (5% da biomassa total) com rações com níveis de inclusão de cloreto de sódio distintos (0, 1, 2, 4 e 6%), baseadas na formulação descrita por Coldebella e Radünz Neto (2002) (Tabela 1), sendo feito observações do comportamento alimentar (alimentavam-se ou não) e natação (normal, errática, sem equilíbrio) neste período. Meia hora após o fornecimento da alimentação foi feita a sifonagem para retirada de resíduos e mortos, quando necessário.

Após este período os alevinos de jundiá com 7.16 ± 0.27 g de peso médio foram distribuídos em 15 unidades experimentais com volume de 1,5 litros de água (10 alevinos por unidade), onde permaneceram por 96 horas para testes de sobrevivência em função das seguintes concentrações de nitrito na água (em mg/L): 0,08 ± 0,07; 5,33 ± 0,07; 10,66 ± 0,05; 21,33 ± 0,09 e 42,66 ± 0,04 para cada nível de inclusão de cloreto de sódio na ração. Estes níveis foram mantidos através da adição de nitrito de sódio

($NaNO_2$). As concentrações de nitrito foram monitoradas duas vezes ao dia pelo método descrito por Boyd e Tucker (1992) e os demais parâmetros de qualidade de água uma vez ao dia. Temperatura (25,04 ± 0,02 ºC) e oxigênio dissolvido (4,91 ± 0,04 mg/L) foram monitorados com oxímetro e termômetro YSI (modelo Y 5512); o pH (7,90 ± 0,02) com pHmetro DMPH-2, a amônia total de acordo com Boyd e Tucker (1992) a amônia não ionizada (0,06 ± 0,01 mg/L) calculada de acordo com Piper et al. (1982). A dureza da água (39,5 ± 1,5 mg/L $CaCO_3$) foi analisada pelo método titulométrico com EDTA e alcalinidade (41,3 ± 0,3 mg/L $CaCO_3$) pelo método titulométrico com ácido sulfúrico segundo Boyd e Tucker (1992). Os níveis de Na^+ (5,54 ± 0,04 mg/L)e K^+ (1,33 ± 0,06 mg/L) na água (Tabela 4) foram determinados por fotometria de chama (fotômetro Micronal B B286), e os níveis de Cl^- (3,94 ± 0,02 mg/L) foram determinados através da técnica de Zall et al. (1956). A temperatura do laboratório foi mantida estável com o auxilio de um condicionador de ar e o oxigênio com o uso de aeradores de 20 W.

Em intervalos de 12 horas foram feitas retiradas de alevinos mortos e toda água do recipiente, sendo esta substituída por outra nas mesmas condições. A percentagem de mortalidade foi determinada após exposição final de 96 horas. A $CL_{50\text{-}96h}$ foi calculada pelo método dos probitos de

acordo com Finney (1971). Brevemente, as porcentagens de mortalidade são transformadas em valores de “probitos” através de uma tabela, e a partir destes valores e do logaritmo das concentrações de nitrito utilizadas é montada uma equação linear. A partir desta equação é calculada a $CL_{50\text{-}96h}$.

Experimento II - Crescimento de alevinos de jundiá expostos ao nitrito e alimentados com ração sem adição de cloreto de sódio

Após o período de aclimatação de 3 semanas os alevinos de jundiá com 3,01 ± 0,19 g de peso médio inicial e 5,89 ± 0,13 cm de comprimento padrão foram transferidos para unidades experimentais com capacidade de 40 litros de água e volume útil de 30 litros (10 alevinos por caixa) permanecendo por um período de 40 dias para avaliação do crescimento. Os peixes foram expostos a 4 diferentes níveis de adição de nitrito na água (0 %; 2,2 %; 5,8 % e 7,4 % da $CL_{50\text{-}96h}$ para a ração experimental sem adição de sal). Estes níveis foram mantidos através da adição de nitrito de sódio ($NaNO_2$). Os alevinos de jundiá foram alimentados (5 % da biomassa) uma vez ao dia pela manhã, com a ração experimental sem

adição de sal comum (Tabela 1), e neste momento foi observado o comportamento alimentar e natação, como descrito no experimento I.

As concentrações de nitrito foram monitoradas duas vezes ao dia e os demais índices de qualidade de água uma vez ao dia, conforme descrito no experimento anterior. A média dos parâmetros foram: temperatura (21,65 ± 0,80 ºC), oxigênio dissolvido (5,82 ± 0,19 mg/L), pH (7,86 ± 0,26), a amônia total (1,55 ± 0,017 mg/L) e amônia não ionizada (0,048 ± 0,002 mg/L), dureza da água (38,6 ± 1,3 mg/L $CaCO_3$) e alcalinidade (40,2 ± 0,25 mg/L $CaCO_3$). Os níveis de Na^+, K^+ e Cl^- ficaram dentro dos valores descritos no experimento anterior.

A temperatura do laboratório foi mantida estável com o auxilio de um condicionador de ar. Diariamente foi feita a retirada dos resíduos e renovação de 80% da água, sendo esta substituída por outra nas mesmas concentrações de nitrito. Após 20 e 40 dias foi realizada biometria, sendo os peixes pesados e medidos para avaliação do crescimento e devolvidos às unidades experimentais.

Nos dois experimentos o delineamento foi inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 3 repetições para o experimento de sobrevivência e 4 tratamentos e 3 repetições para o experimento de crescimento.

Para o coeficiente de variação para peso e comprimento foi utilizada a seguinte fórmula:

(desvio padrão x 100)/ peso ou comprimento

e a taxa de crescimento específico (G) foi calculada pela fórmula:

G = (ln peso médio inicial - ln peso médio final)/ tempo em dias x 100

biomassa : peso médio x número de sobreviventes finais em cada período analisado. A conversão alimentar aparente (CA) pela fórmula:

CA = quantidade de ração oferecida/ (biomassa final - biomassa inicial)

Foram feitas análises de correlação entre a concentração de nitrito e as variáveis comprimento padrão, sobrevivência e coeficiente de variação do peso, e a correlação do fator tempo em relação a variável coeficiente de variação do comprimento, utilizando-se o programa Slide Write Plus 4.0 (1996). A homogeneidade das variâncias entre os grupos foi verificada com o teste de Levene. Como as variâncias foram homogêneas para peso, biomassa e taxa de crescimento específico, utilizou-se após análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey para comparações entre os diferentes tempos e grupos. No caso de conversão alimentar as variâncias

não foram homogêneas, utilizou-se a análise de variância Kruskal-Wallis seguida do teste de Mann-Whitney para comparações entre os diferentes tempos e grupos. Todos os testes foram feitos com o auxilio do programa Statistica versão 5 e o nível mínimo de significância foi de 95% ($P < 0,05$).

Resultados

Experimento I

Os valores médios encontrados nas $CL_{50\text{-}96h}$ para o nitrito foram 20,46 ± 2,76, 21,37 ± 0,84, 11,86 ± 3,91, 21,37 ± 0,71 e 24,63 ± 4,88 mg/L de nitrito para os níveis de inclusão de NaCl na ração de 0, 1, 2, 4 e 6%, respectivamente. Verificou-se que à medida que aumentam as concentrações de nitrito diminui a percentagem de sobreviventes (Tabela 2). Foi observado que no grupo com menor concentração de nitrito na água, durante o fornecimento de alimento os alevinos de jundiá vinham buscar os grânulos de ração com voracidade. Este comportamento também foi observado nos exemplares expostos a todas as concentrações de nitrito nas primeiras 24 horas. Após o primeiro dia de exposição ao nitrito até o final do experimento (96 horas), foram observadas 3

comportamentos distintos entre os alevinos, sendo alguns vorazes na busca do alimento e outros letárgicos, com natação errática e barbilhões paralelos ao corpo, no sentido da nadadeira caudal, ignorando a presença do alimento. Quando os alevinos apresentavam completa perda de equilíbrio morriam após 2 a 3 horas.

Não houve correlação entre a $CL_{50\text{-}96h}$ para nitrito e os níveis de cloreto de sódio na ração, nem diferença significativa entre os tratamentos.

Experimento II

No experimento de crescimento verificou-se aos 20 dias mortalidade de 66,7%, e após 40 dias a mortalidade foi total nos jundiás expostos a 1,52 mg/L de nitrito. Nos demais tratamentos a sobrevivência foi de 100% ao final dos 40 dias. Foi observado, durante o fornecimento de alimento, que os alevinos de jundiá vinham buscar os grânulos de ração com voracidade em todas as concentrações de nitrito. Após 20 dias de exposição ao nitrito foram observados comportamentos semelhantes aos do experimento da $CL_{50\text{-}96h}$ entre os alevinos do tratamento 1,52 mg/L de nitrito, com alguns alevinos que sempre vinham buscar o

alimento, outros com natação errática e ignoravam a presença do alimento e do mesmo modo, os que após perda de equilíbrio morriam.

Observou-se aumento significativo do peso aos 20 dias em relação ao início do experimento em todas as concentrações, exceto na concentração mais alta (1,52 mg/L de nitrito). No período de 20 a 40 dias não houve diferença significativa de peso. A exposição aos diferentes níveis de nitrito (abaixo de 1,52 mg/L) não alterou significativamente o peso aos 20 e 40 dias (Tabela 3). A biomassa aumentou significativamente em relação ao início do experimento apenas aos 40 dias no tratamento sem adição de nitrito. A biomassa apresentou valor significativamente menor aos 40 dias em 1,52 mg/L de nitrito quando comparada às demais concentrações (Tabela 3). Para a taxa de crescimento específico (0,97 a 1,98 %) e conversão alimentar (3,76 a 4,79) não foi observada diferença significativa entre as concentrações de nitrito e tempo de exposição.

As correlações entre concentrações de nitrito e comprimento padrão, concentrações de nitrito e coeficiente de variação do peso, tempo de exposição aos diferentes níveis de nitrito e coeficiente de variação para o comprimento, foram significativas. No comprimento padrão houve correlação apenas aos 40 dias, indicando que o aumento da

concentração de nitrito para 0,46 mg/L leva a valores menores (Figura 1). Houve um aumento no coeficiente de variação do comprimento com o aumento da concentração de nitrito (Figura 2).Verificou-se que exemplares expostos às diferentes concentrações de nitrito aumentaram o coeficiente de variação do peso ao longo do experimento (Figura 3).

Discussão

Os valores médios encontrados nas $CL_{50\text{-}96h}$ foram na faixa de 20-24 mg/L de nitrito (11 mg/L no grupo com suplementação de 2% de sal na ração, mas sem diferença significativa dos outros valores). Colt e Tchobanoglous (1976) trabalhando com juvenis de bagre de canal (Ictalurus punctatus), em condições semelhantes, encontraram valores para a $CL_{50\text{-}96h}$ de 13,0 mg/L de nitrito. Konikoff (1973; 1975) também utilizando bagre do canal, obteve uma $CL_{50\text{-}96h}$ de 7,5 mg/L de nitrito, porém os peixes eram maiores (40 g). Em um mesmo período de exposição a $CL_{50\text{-}96h}$ para alevinos de bagre de canal e Tilapia aurea foi

7,1 e 16,2 mg/L de nitrito respectivamente (Palachek e Tomasso, 1984). Estes mesmos autores também encontraram para a perca prateada (Bidyanus bidyanus) 2,78 mg.L de nitrito para a $CL_{50\text{-}96h}$. Trabalho com alevinos de truta arco-iris (Oncorhynchus mykiss) com peso de 7,0 gramas encontrou a $CL_{50\text{-}96h}$ de 0,40 mg/L de nitrito (Russo et al., 1974). Portanto, alevinos de jundiá apresentam grande resistência ao nitrito quando comparados a outras espécies.

Peixes expostos ao nitrito têm uma diminuição da hemoglobina funcional na circulação, pois esta é convertida em meta-hemoglobina (Aggergaard e Jensen, 2001). O aumento dos níveis de meta-hemoglobina leva ao aparecimento de sintomas de asfixia (Spotte, 1979) No presente experimento os alevinos de jundiá apresentaram comportamento para minimizar o efeito da asfixia, caracterizadas pela busca do oxigênio na superfície e aumento do batimento opercular. Comportamento similar foi verificado em várias espécies (Parma Croux, 1994; Burleson, 2002; Chapman, 2002; Delaney, 2004).

Trabalhos com outras espécies de peixes quando expostos a concentrações de nitrito simultaneamente com níveis de cloreto na água diminuem a toxicidade do nitrito. Russo e Thurston (1977), trabalhando com truta arco-íris expostas ao nitrito e 1,2 mg/L de Cl^- na água a $CL_{50\text{-}}$

$_{96h}$ foi de 0,46 mg/L e quando aumentou a concentração de Cl^- para 40,8 mg/L a $CL_{50\text{-}96h}$ foi de 12,6 mg/L . Porém, ao adicionarmos cloreto de sódio na ração não houve correlação entre a $CL_{50\text{-}96h}$ do nitrito e os níveis de cloreto de sódio na ração, nem diferença significativa entre os tratamentos, indicando com isto que não houve interação entre os níveis de cloreto de sódio na ração, nitrito e a sobrevivência dos alevinos.

No presente experimento, houve mortalidade de 66,7 % dos alevinos de jundiá após 20 dias de exposição a 1,52 mg/L de nitrito. Para juvenis de bagre do canal ocorreu um incremento significativo na mortalidade em uma concentração de 3,71 mg/L de nitrito (Konikoff, 1975). O contrário foi encontrado para perca prateada com peso semelhante ao presente experimento (6-7g), onde a sobrevivência não foi afetada em exposição até 16,2 mg/L de nitrito por um período de 25 dias (Frances et al, 1998)

O peso, biomassa, taxa de crescimento específico e conversão alimentar dos alevinos de jundiá não foram significativamente afetados pela exposição a níveis até 1,19 mg/L nitrito, mas o comprimento padrão foi reduzido a partir de 0,46 mg/L nitrito. Portanto, aparentemente valores de nitrito para o cultivo de jundiá devem ficar abaixo de 1,19 mg/L, embora um dos parâmetros analisados tenha sido afetado. Já para

perca prateada o crescimento foi significativamente afetado em exposições ao nitrito em concentrações apartir de 1,43 mg.L (Frances et al, 1998), e para juvenis de bagre do canal ocorreu uma redução no crescimento com valores de 1,62 mg/L de nitrito (Colt et al, 1981).

Neste experimento em concentrações de nitrito até 1,19 mg/L não interferiram na busca pelo alimento bem como no apetite dos alevinos de jundiá, mesmo assim os valores encontrados para conversão alimentar são considerados altos. Frances et al. (1998) encontraram para a conversão alimentar em perca prateada, valores de 1,8; 1,9 e 2,1 para concentrações de 0,02, 1,1 e 1,9 mg/L de nitrito, respectivamente, e 3,3 com concentrações de 16,2 mg/L de nitrito. Cabe salientar que no presente experimento com o jundiá foi fornecido 5% da biomassa, e a medida que ocorria mortalidade este valor foi corrigido. Mas assim mesmo foi observado resíduos no fundo das unidades experimentais, esta situação se deve a maneira como foi preparada a ração e sua formulação (6% de celulose), de difícil peletização, com isto ao ser fornecido aos alevinos e em contato com a água rapidamente se dissolvia e não era aproveitada pelos alevinos. Dados semelhantes ao do presente experimento foram encontrados em perca prateada, onde em 25 dias de experimento e concentrações de 0,02 até 4,0 mg/L de nitrito não

houve alteração significativa da taxa de crescimento especifíco. Só houve redução significativa da taxa de crescimento específico para esta espécie quando exposta a níveis mais elevados de nitrito (8,0 mg/L) (Frances et al 1998).

Verificou-se que exemplares expostos a concentrações crescentes de nitrito aumentaram o coeficiente de variação do peso e comprimento ao longo do experimento, indicando que o nitrito aumenta a heterogeneidade do grupo. Este resultado demonstra que é possível que o efeito do nitrito no crescimento seja diferenciado dentro do mesmo grupo, pois alguns exemplares acabam crescendo mais que outros.

A concentração de nitrito, em um nível seguro, para o crescimento e sobrevivência de alevinos de jundiá fica abaixo de 1,19 mg/L de nitrito (5,8 % da $CL_{50\text{-}96h}$ do tratamento sem adição de sal), considerando as condições em que se realizou este experimento.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Apoio a Pesquisa) pelo auxílio fornecido (bolsa de mestrado para R.L. Lima e bolsa produtividade para B. Baldisserotto).

Referências bibliográficas.

Aggergard, S. e F.B. Jensen. 2001. Cardiovalscular changes and physiological response during nitrite exposure in rainbow trout. J.Fish Biol. 59: 13-27.

Baldisserotto, B. 2003. Osmoregulatory adaptations of freshwater teleosts. p. 179-201 in B.G Kapoor e A.l. Val. Org. Fish adaptations. New Hampshire.

Barcellos L.J.G., L.C. Kreutz., L.B. Rodrigues, I.Fioreze, R.M.Quevedo, L.Cericato, J.Conrad, A.B. Soso, M.Fagundes, L. A.Lacerda & S. Terra. 2003. Haematological and biochemical characteristics of male jundiá (Rhamdia quelen Quoy & Gaimard Pimelodidae): changes after acute stress. Aquaculture Research 34, 1565-1469.

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

Bath, R.N. e F.B. Eddy. 1980. Transport of nitrite across fish gills. J. Exp. Zool. 214: 119-121.

Boyd, C. E. e Tucker, C.S. 1992. Water quality and pond soil analyses for aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama, USA.

Burleson, M.L., Carlton, A.L. e Silva, P.E. 2002. Cardioventilatory effects of acclimatization to aquatic hypoxia in channel catfish. Respiratory Physiology & Neurobiology. 131: 223-232.

Chapman, L.J., Chapman, C.A.; Nordlie, F.G. e Rosenberger, A.E. 2002. Physiological refugia: swamps, hypoxia tolerance and maintenance of fish diversity in the Lake Victoria region. Comparative Biochemistry and Physiology Part A. 133 (9): 421-437.

Coldebella, I. e J. Radünz Neto. 2002. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundia (Rhamdia quelen). Ciencia Rural. 23(3): 499-503.

Colt, J.E. e G. Tchobanoglous. 1976. Evaluation of the short-term toxicity of nitrogenous compounds to channel cat fish, Ictalurus punctatus. Aquaculture. 8(3): 209-224.

Colt, J.E.,R., G. Tchobanoglous e J. Cech. 1981. The effects of nitrite on the short-term growth and survival of channel catfish, Ictalurus punctatus. Aquaculture. 24: 111-122.

Costa, O.T.F., Diana, F.S.J., Fabiana, L.P.M. e Marisa, N.F. 2002. Susceptibility of the Amazonian fish, Colossoma macropomum

(Serrasalminae), to short-term exposure to nitrite. Aquaculture. 232: 627-636.

Delaney, M.A. & Klesius, P.H. 2004. Hypoxic conditions induce Hsp70 production in blood, brain and head kidney of juvenile Nile tilapia Oreochromis niloticus (L). Aquaculture. 236: 633-644.

Doblander, C. e R. Lackner. 1996. Metabolism and detoxification of nitrite by trout hepatocytes. Biochim. Biophys. Acta. 1289: 270-274.

Finney D.J. 1971. Probit Analysis. Cambridge, England., Cambridge University Press.

Frances, J. L., A. Geoff e F. N. Barbara. 1998. The effects of nitrite on the short-term growth of silver perch (Bidyanus. bidyanus). Aquaculture. 163: 63-72.

Gomes L.C., Baldisserotto B. & Senhorini J.A. 2000. Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of the matrinxã, Brycon cephalus (Characidae), in ponds. Aquaculture. 183: 73–81.

Grossell, M. e F. B. Jensem. 1999. NO_2^- uptake and HCO_3^- excretion in the intestine of the European flunder (Platichthys flesus). S. Exp. Biol. 202: 2103-2110.

Hargreaves, J.A. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. Aquaculture. 166: 181-212.

Harris, R. R. e S. Coley. 1991. The effect of nitrite on chloride regulation in the crayfish Pacifastacus leniusculus Dana (Crustecea: Decapoda). J. Comp. Physiol. 161: 199–206.

Hilmy, A. M., N.A. El –Domiaty e K. Wershana. 1987. Acute and chronic toxity of nitrite to Clarias lazera. Comp. Biochem. Physiol. (C). 86: 247-253.

Holt, J. e C. Arnold. 1996. Effects of ammonia and nitrite on growth and survival of red drum eggs and larvae. Transactions of the American Fisheries Society. 112: 558-562.

Hotchkiss J.H., M.A. Helser, C.M. Maragos e Y.M. Weng. 1992. Nitrate, nitrite, and N-nitroso compounds. Pages In: 400-418 in J.W Finley Robinson, S.F. e D.J. Armstrong, editor. Food safety assessment. ACS, Symposium Series.

Jensen, F.B., N.A. Andersen e N. Heisler. 1997. Effects of nitrite exposure on blood respiratory proferties, acid-base and electrolyte regulation in the Carp (Cyprinus carpio). Journal Phisiology. 157: 533-541.

Jensen, F.B. 1990. Nitrite and red cell function in carp: control factors for nitrite entry, membrane potassium ion permeation, oxygen affinity and methaemoglobin formation. J. Exp. Biol. 152: 149-166.

Jensen, F.B. 2002. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. Comparative Biochemistry and Physiology A. 135: 9-24.

Jobling, M. 1994. Fish bioenergetics, London. Chapman e Hall, p.309.

Knudsen, P.K. e F.B. Jensen, 1997. Recovery from nitrite-induced methaemoglobinaemia and potassium balance disturbances in carp. Fish Physiol. Biochem. 16: 1-10.

Konikoff, M.A. 1973. Comparison of clinoptilotite and biofilters for nitrogen removal in recirculating fish culture systems. Prog. Fish-Cult. 37(1): 36-38.

Konikoff, M.A. 1975. Toxicity of nitrite to channel catfish. Prog. Fish-Cult. 37(2): 96-98.

Lacey, J.A. e K.J. Rodnick. 2002. Important considerations for methaemoglobin measurement in fish bood: assay choice and storage conditions. J. Fish Biology. 60: 1155-1169.

Martinez, C.B.R. e M.M. Souza. 2002. Acute effects of nitrite on ions regulation in two neotropical fish species. Comp. Biochem. Physiol. Part A. 133: 151-160.

Mensi P., A. Arillo, C. Margiocco e G.L. Schenone. 1982. Lysosomal damage under nitrite intoxication in rainbow trout (Salmo gairdneri Richardson). Comp. Biochem. Physiol. C. 73: 161-165.

Nikinmaa M. e F.B. Jensen, 1992. Inhibition of adrenergic proton extrusion in rainbow trout red cells by nitrite-induced methaemoblobinaemia. J. Comp. Physiol. B. 162: 424-429.

Palachek, R.M. e J.R. Tomasso. 1984. Toxicity of nitrite to channel catfish (Ictalurus punctatus), tilapia (Tilapia aurea), and largemouth bass (Micropterus salmoides): evidence for a nitrite exclusion mechanism. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 41: 1739-1744.

Parma-de-Croux, M.J. 1994. Metabolic rate and oxygen consumption requirements of some fish species from the middle Parana river Acta Biol. Venez**.** 15 (2): 1-10.

Piper R.G., I.B Mcelwain, L.E. Orme, J.P. Mccraren, L.G. Fowler e J.R Leonard. 1982. Fish Hatchery Management. Washington: United States Departament of the Interior Fish and Wildlife Service.

Russo R.C., S.E. Smith e K.R. Thurston. 1974. Acute toxicity of nitrite to rainbow trout (Salmo gairdneri). J Fish. Res. Board Can. 31(10): 1653-1655.

Russo, R. C., e K. R. Thurston. 1977. The acute toxicity of nitrite to fish. J Fish. Res. Board Can. 3(10): 118-131.

Russo R.,K., R. Thurston e K. Emerson. 1981. Acute toxicity of nitrite to rainbow trout (Salmo gairdneri*):* effects of pH, nitrite species, and anion species. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 38: 387-397.

Spotte, S. 1979. Fish and invertebrate culture. John Wiley and Sons. New York, USA.

Tagliane P.R.A., E. Barbieri. e A.C. Neto. 1992. About a sporadic phenomenon of fish mortality by environmental hypoxia in the Senandes streamlet, State of Rio Grande do Sul, Brazil. Ciência e Cultura (Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science). 44, (6): 404-406.

Tomasso, J.R. 1994. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. Reviews in Fisheries Science. 2 (4): 291-314.

Townsend C.R. & B. Baldisserotto. 2001. Survival of silver catfish exposed to acute changes of water pH and hardness. Aquaculture International v.9**,** p.413-419.

Williams, E.M. e F.B. Eddy. 1986. Chloride uptake in freshwater teleosts and its relationship to nitrite uptake and toxicity. Journal Comp. Physiologic. 156: 867- 872.

Williams, E.M. e F.B. Eddy. 1997. Some effects of adrenaline on ion transport and nitrite-induced methaemoglobin formation in rainbow trout (Salmo gairdneri Richardson). J. Exp. Zool. 241: 269-273.

Zall, D. M., M. D. Fisher, e Q. M. Garner,. 1956. Photometric determination of chlorides in water. Analytical Chemistry, v. 28, p. 1665-1678.

Legendas das figuras

Figura 1. Efeito das concentrações de nitrito sobre o comprimento padrão dos alevinos de jundiá no experimento de crescimento (40dias). A seguinte equação se ajusta aos dados:

$y = 6,65+0,65*0,5*(1+erf((x–0,20/(1,41*-0,13)))$ $r^2 = 0,98$

Onde y = comprimento padrão (cm)

x = concentração de nitrito (mg/L)

Figura 2. Efeito das concentrações de nitrito sobre o coeficiente de variação do comprimento dos alevinos de jundiá no experimento de crescimento (40dias). As seguintes equações se ajustam aos dados

0,06 mg/L de NO_2^-: $y = 4,41+1,23*0,5*(1+erf((x-26,17)/(1,41*-7,17)))$

$r^2 = 0,89$

0,46 mg/L de NO_2^-: $y = 7,91+1,80*0,5*(1+erf((x-15,68)/(1,41*7,98)))$

$r^2 = 0,87$

1,19 mg/L de NO_2^-: $y = 6,62+3,75/(1+exp(-(x-33,22)/8,71))$ $r^2 = 0,95$

Onde y = coeficiente de variação do comprimento padrão

x = tempo (dias)

Figura 3. Efeito das concentrações de nitrito sobre o coeficiente de variação do peso dos alevinos de jundiá no experimento de crescimento (40dias). As seguintes equações se ajustam aos dados:

20 dias: $y = 16,46+10,88*0,5*(1+erf((x-0,14)/(1,41*0,06)))$ $r^2 = 0,97$

40 dias: $y = -8,90+38,71*0,5*(1+erf((x-0,03)/(1,41*0,06)))$ $r^2 = 0,82$

Onde y = coeficiente de variação do peso

x = concentração de nitrito (mg/L)

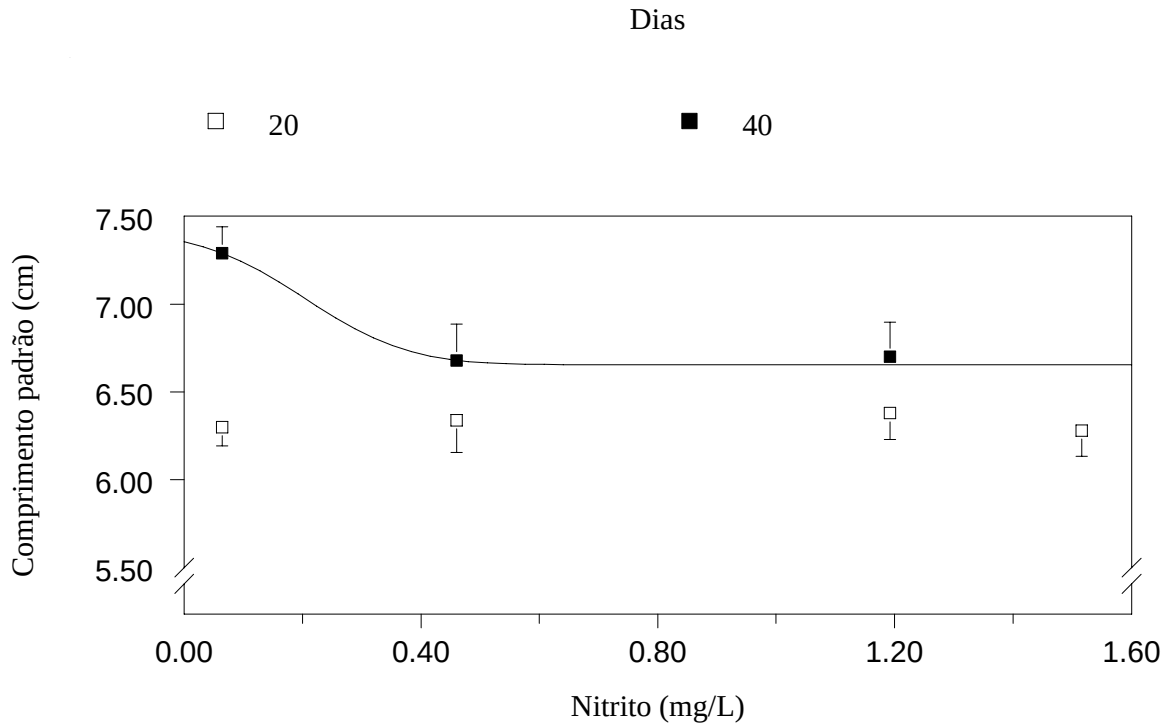
Dias
20
40
7.50
7.00
6.50
6.00
5.50
Comprimento padrão (cm)
0.00
0.40
0.80
1.20
1.60
Nitrito (mg/L)

Figura 1.

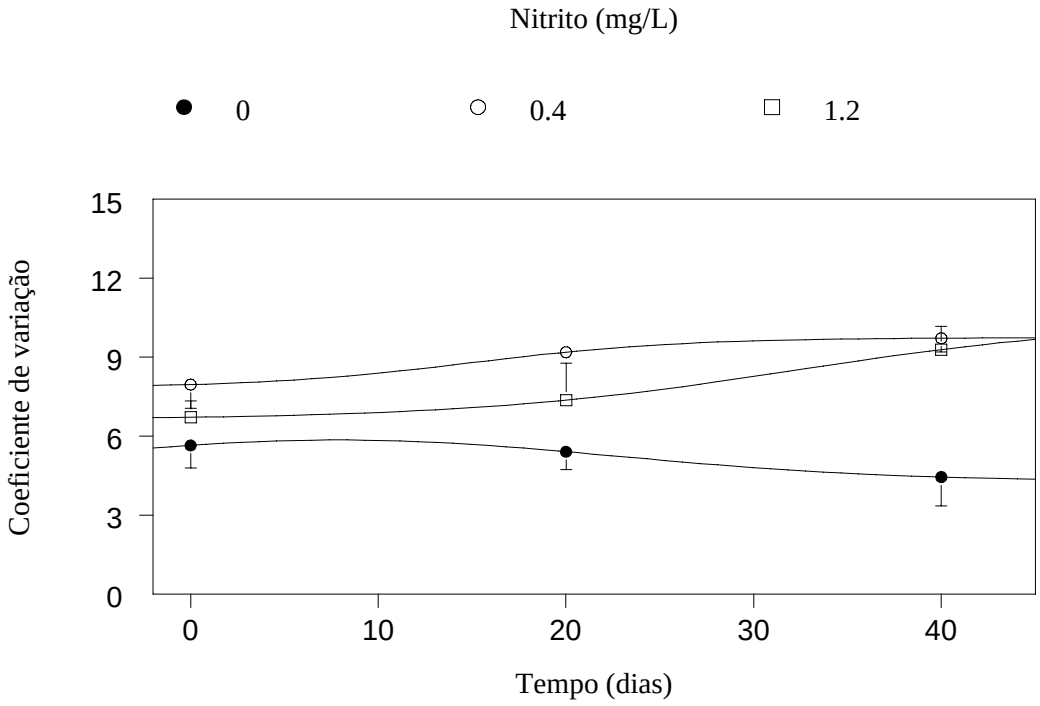
Nitrito (mg/L)
0
0.4
1.2
Coeficiente de variação
15
12
9
6
3
0
0
10
20
30
40
Tempo (dias)

Figura 2.

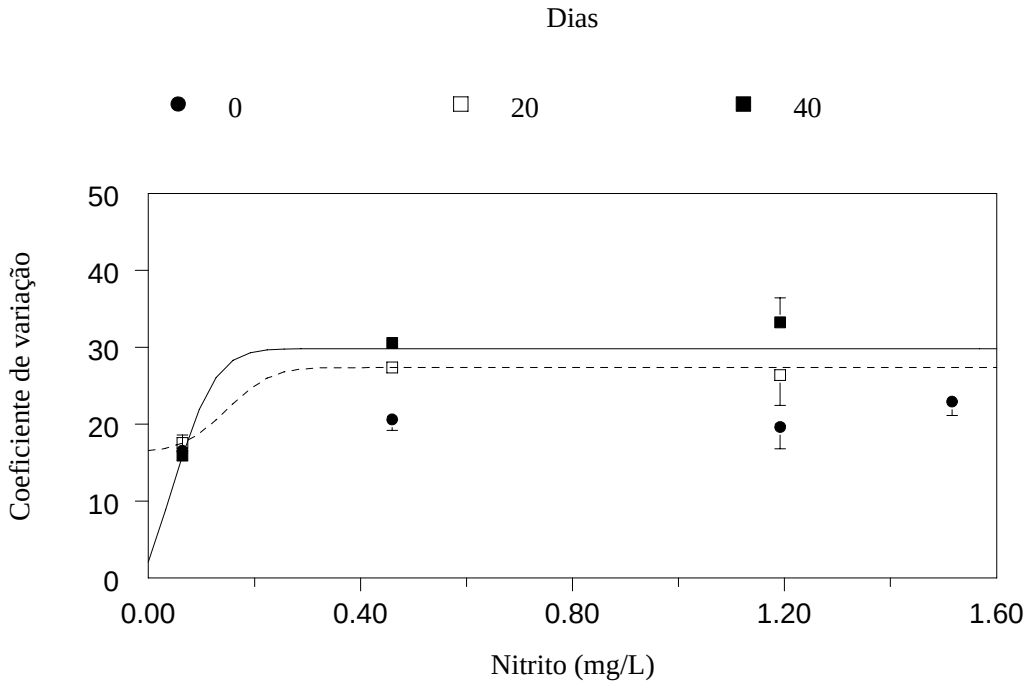
Dias
0
20
40
Coeficiente de variação
50
40
30
20
10
0
0.00
0.40
0.80
1.20
1.60
Nitrito (mg/L)

Figura 3.

Tabela 1. Composição centesima das rações experimentais preparadas com base em Coldebella e Radünz Neto (2002)

	Inclusão de sal				
Ingredientes(%)	0%	1%	2%	4%	6%
Levedura de cana	34,15	34,15	34,15	34,15	34,15
Farelo de soja	34,15	34,15	34,15	34,15	34,15
Farelo milho	11,45	11,45	11,45	11,45	11,45
Farelo de trigo	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Celulose	6,00	5,00	4,00	2,00	0,00
Óleo de canola	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Premix Vit.e Min.	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Sal (NaCl)	0,00	1,00	2,00	4,00	6,00
Total	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**

Composição do premix vitamínico e mineral (por kg): Vit. A: 6.000.000 UI; Vit. E: 100.000 UI; Vit K: 5.000 UI; Riboflavina: 10.000mg; Ac. Pantotênico: 30.000 mg; Niacina: 60.000 mg; Vit. B12: 20.000 µg; Biotina: 600 µg; Tiamina: 10.000 mg; Piridoxina: 20.000mg. Cobre: 12.001 mg; Ferro: 75.000 mg; Manganês: 99.974 mg; Iodo: 998 mg; Selênio: 250 mg; Zinco: 90.001 mg.

Tabela 2. Sobrevivência (%) ao final de 96 horas de alevinos de jundiá expostos a diferentes concentrações de nitrito.

mg/L(NO_2^-)	Inclusão sal ração (%)				
	0	1	2	4	6
0,08	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
5,33	100 ± 0,0	100 ± 0,0	80 ± 11,5	100 ± 0,0	100 ± 0,0
10,66	80 ± 11,5	100 ± 0,0	40 ± 15,3	100 ± 0,0	90 ± 5,8
21,33	50 ± 5,8	50 ± 11,5	40 ± 21,9	50 ± 10	50 ± 20,9
42,66	10 ± 10	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0	20 ± 15,3

Valores são expressos com média ± se.

Tabela 3. Efeito das concentrações de nitrito sobre o peso e biomassa de alevinos de jundiá (Rhamdia quelen)

	Nitrito (mg/L)			
	0,06	0,46	1,19	1,52
	Peso(g)			
Dias				
0	2,97 ±0,16 ^{Aa}	3,00 ±0,20 ^{Aa}	3,01 ±0,19 ^{Aa}	3,05 ±0,22 ^{Aa}
20	3,61 ±0,20 ^{Ba}	3,72 ±0,33 ^{Ba}	3,89 ±0,33 ^{Ba}	3,62 ±0,23 ^{Aa}
40	4,42 ±0,27 ^{Ba}	4,34 ±0,43 ^{Ba}	4,42 ±0,46 ^{Ba}	**
	Biomassa (g)			
Dias				
0	29,71 ±0,51^{Aa}	30,01 ±0,28^{Aa}	30,09 ±0,37^{Aa}	30,49 ±0,38 ^{Aa}
20	36,12 ±1,37^{Aa}	36,83±1,89^{ABa}	38,92±2,24^{ABa}	*36,19 ^{Aa}
40	44,20 ±2,36^{Ba}	43,37±2,64 ^{Ba}	44,17 ±3,33 ^{Ba}	**0,0 ^{Bc}

Valores são expressos com média ± se (n = 10). Letras diferentes na coluna (maiúscula) e letras diferentes na linha (minúsculas) indicam diferença significativa.

Teste de Tukey (P < 0,05) para peso e biomassa em relação ao tempo (coluna)

e aos tratamentos (linha)

*Possui apenas uma unidade experimental

**Todos peixes mortos

Tabela 4. Concentração dos íons Na^+,K^+ e Cl^- na ração dos experimentos com alevinos de jundiá expostos ao nitrito ($CL_{50\text{-}96h}$ e crescimento)

	mmol /kg ração		
Tratamentos (% sal)	Na^+	K^+	Cl^-
0,0	3,0 ± 0,1	56,0 ± 4,4	108,1 ± 35
1,0	31,0 ± 0,6	41,9 ± 0,9	145,2 ± 34
2,0	63,0 ± 1,3	40,5 ± 0,4	436,2 ± 128
4,0	127,0 ± 1,3	47,6 ± 1,3	1104,0 ± 118
6,0	151,0 ± 1,3	41,4 ± 2,2	1403,5 ± 242

Valores são expressos com média ± se.

Tabela 5. Valores de $CL_{50\text{-}96h}$ para o nitrito (mg/L) de várias espécies de teleósteos.

Espécies	Peso (g)	$CL_{50\text{-}96h}$	Referências	Cl^- na água (mg/L)
Colossoma macropomum	65,7 ± 3,0	0,13	Costa et al., 2004	0,5
Ctenopharyngodon idella	0,17 - 0,75	0,12	Espina e Alcaraz,1993	0,08-0,17
Tilapia aurea	3,4 ± 0,2	1,15	Palachek e Tomasso, 1984	0,62
Pimephales promelas	3,1	3,10	Palachek e Tomasso, 1984	0,62
Oncorhynchus mykiss	2	0,39	Russo,et al., 1974	-
Oncorhynchus mykiss	8,8	0,14	Russo,et al., 1974	-
Oncorhynchus mykiss	24,3	0,28	Russo,et al., 1974	-
Ictalurus punctatus	40	7,5	Konikoff, 1973 e 1975	-
Rhamdia quelen	7.16 ± 0.27	19,94[a]	Presente estudo	3,94

[a] Valor que representa a média de $CL_{50\text{-}96\ h}$ com diferentes níveis de inclusão de sal na ração (0, 1, 2 , 4 e 6%)

4. CONCLUSÕES

Pelos dados obtidos neste trabalho podemos concluir:

- A $CL_{50\text{-}96h}$ do NO_2^- para alevinos de jundiá em cada nível de inclusão testado foi de 20,46; 21,37; 11,86; 21,37 e 24,63 mg/L de nitrito, respectivamente, para os níveis de inclusão de sal na ração de 0, 1, 2, 4, e 6%.

- A adição de sal na ração não altera a toxicidade do nitrito para alevinos de jundiá em 96 h.

- Níveis de NO_2^- na água até 1,19 mg/L de nitrito não afetam a sobrevivência e o crescimento de alevinos de jundiá.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGGERGARD, S. & JENSEN,. F. B. Cardiovalscular changes and physiological response during nitrite exposure in rainbow trout. **Journal Fish Biology.** v.59, p.13-27, 2001.

ALMENDRAS, J. M. E. Acute nitrite toxicity and methemoglobinemia in juvenile milkfish (*Chanos chanos* Fors skal). **Aquaculture.** v.61, p.33-40, 1987.

ALCARAZ, G. & ESPINA, S. Extension for growth of Grass carp juvenile. **Comparative Bichemistry and Physiology** part C. v.116, p. 85-88.

AVILEZ, I. M.; SILVA, L. H. A; MORAES, G. Hematological responses of the Neotropical teleost matrinxã (*Brycon cephalus*) to environmental nitrite. **Comparative Bichemistry and Physiology** part C**.** v.39, p.35-139, 2004.

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

BALDISSEROTTO B. & SILVA, L. V. F. Qualidade da água.

BALDISSEROTTO, B. & J. RADÜNZ NETO**. Criação de jundiá.** Santa Maria, UFSM, 2004. p.

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

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

BROMAGE, N. & SHEPHERD, J. Fish, their requeriments and site evaluation. In: SHEPHERD J. & BROMAGE N. (Eds). **Intensive fish farming.** London: BSP Professional Books, 1988. p. 17-48.

BOYD, C. E. **Water quality in ponds for aquaculture.** Aurburn University: Ed. Birmingham Publishing, 1998.

COLT, J., LUDWIG, R., TCHOBANOGLOUS,G, CECH, J. The effects of nitrite on the short-term growt and survival of channel catfish, *Ictalurus punctatus.*. **Aquaculture. v**.24, p.111-122, 1981.

COSTA, O. T. F. **Nitrito: tolerância, hematologia, bioacumulação e morfologia em tambaqui, Colossoma macropomum (Characiformes, Serrasalminae),** AM, 2001. 105f. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Manaus, 2001.

COSTA, O. T. F. et al. Susceptibility of the Amazonian fish, *Colossoma macropomum* (Serrasalminae), to short-term exposure to nitrite. **Aquaculture.** v.232, p.627-636, 2002.

EDDY, F. B. Osmotic and ionic regulation im captive fish with particular reference to salmonids. **Comparative Biochemistry and Physiolog**y. v.73 (B): p.125-141, 1982.

EVANS, D. H. Osmotic and ionic regulation. **The physiology of fishes**. Florida, v.13, n.8. p. 315 – 342, 1993.

FOWLER, H. W. Os peixes de água doce do Brasil. **Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo.** São Paulo, v. 6, p.405-625, 1951.

FRANCES, J. L.; GEOFF, A.; BÁRBARA, F. N. The effects of nitrite on the short-term growth of silver perch (B. bidyanus). **Aquaculture**. v.163, p. 63-72, 1998.

GOMES, L. C. et al. Biologia do jundiá (*Rhamdia quelen)* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**. v.30, n.1, p.179-185, 2000.

GROSSELL, M. & JENSEN, F. B. NO_2^- uptake and HCO_3^- excretion in the intestine of the European flunder (*Platichthys flesus*). **Society Experimet Biology.** v.202, p.2103-2110, 1999.

_____Uptake and effects of nitrite in the marine teleost fish *Platichthis Flesus*. **Aquatic Toxicology**. v.50, p.97-107, 2000.

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

JENSEN, F.B., ANDERSEN, N. A. e HEISLER, N. Effects of nitrite exposure on blood respiratory properties, acid-base and electrolyte regulation in the carp (Cyprinus carpio). **Journal Comparative Physiologic**. B 157, 533-541, 1987.

KNUDSEN, P. K. & JENSEN, F. B. Recovery from nitrite-induced methaemoglobinaemia and potassium balance disturbances in carp**. Fish Physiology Biochem.** v.16, p.1-10, 1997.

MAFFIA, M. G. et al. Ascorbic acid transport by intestinal brush-border membrana vesicles of the teleost *Anguilla anguilla.* **American Journal Physiologic**. v.264, p.1248-1253, 1993.

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

MCDONALD, D. G& MILLIGAN L. **Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress.** C.B. (ed). Fish stress and health in aquaculture. Society for Experimental Biology Series 62. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p. 119-144, 1997.

PROENÇA, C. E. M. & BITTENCOURT. P. R. L. **Manual de piscicultura tropical.** Brasília: Ed. IBAMA, 1994.

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

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

TOMASSO, J. R.; SIMCO, B. A.; DAVIS, B. K. Chloride inhibition of nitrite-induced methemoglobinemia in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Journal Fish Resource Board Can**. v.36, p.1141-1144, 1979.

TOMASSO, J. R. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. **Reviews in Fisheries Science.** v.2 (4), p.291-314, 1994.

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

WILLIAMS, E. M. & EDDY, F. B. Choride uptake in freshwater teleosts and its relationship to nitrite uptake and toxicity. **Journal Comparative Physiologic.** v.156, p. 867- 872, 1986.