



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

**EFEITO DOS COMPOSTOS NITROGENADOS EM JUVENIS DE  
CAMARÃO-ROSA *Farfantepenaeus brasiliensis* (LATREILLE, 1817)  
(CRUSTACEA: DECAPODA).**

**BRUNO RIBEIRO DE CAMPOS**

**ORIENTADOR: PROF. DR. FERNANDO D'INCAO  
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. WILSON WASIELESKY Jr.**

**RIO GRANDE  
FEVEREIRO DE 2012.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

**EFEITO DOS COMPOSTOS NITROGENADOS EM JUVENIS DE  
CAMARÃO-ROSA *Farfantepenaeus brasiliensis* (LATREILLE, 1817)  
(CRUSTACEA: DECAPODA).**

**BRUNO RIBEIRO DE CAMPOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de DOUTOR.

**ORIENTADOR: PROF. DR. FERNANDO D'INCAO  
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. WILSON WASIELESKY Jr.**

**RIO GRANDE  
FEVEREIRO DE 2012.**

## Índice

Dedicatória.....	iv
Agradecimentos.....	v
Resumo.....	vi
Abstract.....	viii
Introdução Geral.....	1
A pesca.....	1
A aquicultura.....	2
Os compostos Nitrogenados.....	5
Objetivos.....	7
Objetivo Geral.....	7
Objetivo Específico.....	7
Referências.....	8
Capítulo 1: Toxicidade aguda da amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de camarão-rosa <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda).....	14
Resumo.....	15
Abstract .....	15
Introdução.....	16
Material e Métodos.....	17
Resultados.....	19
Discussão.....	21
Referências Bibliográficas.....	24
Capítulo 2: Toxicidade crônica de amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de camarão-rosa <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda).....	28
Resumo.....	29
Abstract .....	29
Introdução.....	30
Material e Métodos.....	31
Resultados.....	32
Discussão.....	38

Referências Bibliográficas.....	41
Capítulo 3: Efeitos da amônia, nitrito e nitrato sobre o consumo de oxigênio de juvenis de camarão-rosa <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda).....	45
Resumo.....	46
Abstract .....	46
Introdução.....	48
Material e Métodos.....	49
Resultados.....	52
Discussão.....	56
Referências Bibliográficas.....	59
Capítulo 4: Efeitos da amônia, nitrito e nitrato sobre o consumo alimentar de juvenis de camarão-rosa <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda).....	63
Resumo.....	64
Abstract .....	64
Introdução.....	65
Material e Métodos.....	66
Resultados.....	68
Discussão.....	71
Referências Bibliográficas.....	73
Discussão Geral.....	77
Referências.....	80
Conclusão Geral.....	83

**“É bom ter uma meta no fim da jornada, mas é a jornada que importa, no fim.”**  
**Ursula K. LeGuin**

**“Eu prefiro a companhia dos animais. Eles são muito mais simples.”**  
**Sigmund Freud**

## AGRADECIMENTOS

Ao amigo e orientador Prof. Dr. Fernando D’Incao pela convivência durante esses anos, pelo bom humor e amizade.

Agradeço ao meu “orientador”, Mano, por todos esses anos de amizade tornando o ambiente de trabalho sempre mais alegre, fazendo o trabalho render nas horas mais difíceis, à sua orientação e principalmente, por acreditar no meu trabalho.

Aos membros da Banca, não somente por terem aceitado o convite, mas pelo apoio prestado durante a Tese e pela convivência que tive com todos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da FURG, pela oportunidade concedida, e a Capes pela bolsa de estudos.

Agradeço aos amigos, alunos e colegas da EMA pela amizade construída nesses 4 anos, e aos que direta ou indiretamente participaram dos trabalhos, e também aos funcionários da EMA.

Aos meus pais, José Roberto e Sonia, que nunca mediram esforços para me darem suporte, em todas as etapas de minha vida; pelas oportunidades de conhecimento, e essa foi mais uma; e pelo apoio incondicional. Amo vocês!!!

Gostaria de agradecer também à minha Vó Elza, pela companhia, carinho, atenção e todas as coisas de avó. À minha Vó Marina, que nos deixou no meio do caminho, mas tenho certeza que mandou todas as boas energias lá de cima.

Aos meus filhos caninos pela companhia horas a fio embaixo da mesa enquanto eu escrevia a tese... Não existe amizade mais fiel que a deles...

À minha esposa Natalia pelas horas me ajudando nos experimentos, mesmo nos feriados e finais de semana, pelas sugestões e correções nos trabalhos, e também pela paciência... Sem você o caminho seria bem mais árduo!!! Te amo!!!

## RESUMO

A aquicultura cresce rapidamente quando comparada a outros setores de produção de alimentos de origem animal. No Brasil, o consumo de camarões proveniente de cultivo vem crescendo muito nos últimos anos. Tentando diversificar a produção brasileira de camarões e diminuir os riscos ambientais causados com a utilização de espécies exóticas em ambientes costeiros, a Estação Marinha de Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande vem realizando estudos para desenvolver um pacote tecnológico de produção para as espécies nativas *Farfantepenaeus paulensis* e *F. brasiliensis* em sistemas alternativos no estuário da Lagoa dos Patos. Com isso será possível um melhor aproveitamento da produtividade natural em áreas estuarinas, possibilitando menores custos e permitindo a pescadores artesanais e pequenos agricultores, acesso a uma nova fonte de renda. O desenvolvimento e domínio das técnicas de aquicultura têm provocado intensificação na criação de diferentes espécies, existindo uma tendência de incremento na geração de compostos nitrogenados nesses sistemas de cultivo. Os compostos nitrogenados ocorrem naturalmente no meio aquoso, podendo provocar mortalidade ou afetar o crescimento dos organismos aquáticos. As formas nitrogenadas mais abundantes nos viveiros de cultivo são a amônia, o nitrito e o nitrato. A amônia é o produto final do catabolismo protéico da maioria dos organismos aquáticos. No meio aquoso, a amônia está presente na forma ionizada e não ionizada, sendo que a soma das duas constitui a amônia total. A forma química mais tóxica é a amônia não-ionizada, devido à sua capacidade de difusão pelas membranas celulares, e também pelo fato do efeito da amônia ionizada ser menos pronunciado. O nitrito é o composto intermediário na nitrificação bacteriana da amônia a nitrato (em meios oxidantes), ou produto da denitrificação do nitrato (em ambientes redutores). Este pode vir a ser bastante tóxico, de acordo com a sua concentração no meio e do estágio de desenvolvimento em que se encontram os organismos cultivados, podendo causar mortalidade em larviculturas e sistemas de cultivo. O nitrato, por ser o produto final da nitrificação, pode acumular-se em grandes quantidades, principalmente em sistemas fechados de cultivo. Esta substância pode causar efeitos letais ou subletais para diferentes organismos, ou ainda, atuar sinergicamente com outros compostos nitrogenados. A partir dessas afirmações, torna-se extremamente importante o estudo dos seus efeitos tóxicos para o desenvolvimento de diferentes espécies. Para isso, experimentos de laboratório foram

realizados, com a finalidade de avaliar os efeitos dos compostos nitrogenados sobre os juvenis de *F. brasiliensis*. Foram determinados, através de ensaios de toxicidade de curta duração, as concentrações letais medianas e os níveis de segurança de amônia, nitrito e nitrato para a espécie. Os produtos nitrogenados mostraram-se potencialmente tóxicos, em concentrações menores do que o nível de segurança proposto. Analisando o crescimento e a sobrevivência de juvenis expostos aos nitrogenados, o camarão *F. brasiliensis* foi suscetível aos compostos em concentrações equivalentes aos níveis de segurança propostos para a espécie. Para o consumo de oxigênio, os juvenis de camarão-rosa expostos a concentrações de nitrogenados com 200% do nível de segurança expressaram o maior consumo. Por sua vez, o consumo alimentar dos juvenis de *F. brasiliensis* foi influenciado pelos compostos testados (nitrito e nitrato).

## ABSTRACT

Aquaculture growth rapidly when compared to other food production sectors of animal origin. In Brazil, the shrimp consumption originating from cultivation has been increasing a lot in the last years. Trying to diversify the Brazilian shrimp production and reduce the environmental risk caused with the utilization of exotic species in coastal environment, the Estação Marinha de Aquicultura of the Federal University of Rio Grande has been performing studies to develop a technological production pack to the native species of *Farfantepenaeus paulensis* and *F. brasiliensis* in alternative systems in the Patos Lagoon estuary. With this will be possible to better use of the natural productivity in estuarine areas, enabling low costs and allowing artisanal fishermen and small farmers, access to a new source of income. The development and domain of aquaculture techniques has caused intensification in the rearing of different species, there being a tendency of increment in the generation of nitrogenous compounds in these cultivation systems. The nitrogenous compounds occur naturally in aqueous medium, and can cause mortality or affect growth in the bred organisms. The most abundant nitrogen forms in the nurseries are ammonia, nitrite and nitrate. Ammonia is the final product of the protein catabolism of most aquatic organisms. In aqueous medium, ammonia is present in ionized and unionized forms; the sum of both forms total ammonia. The most toxic chemical form is the unionized ammonia, due to its ability to diffuse cellular membranes, and also due to the fact that the effect of the ionized ammonia is less pronounced. Nitrite is the intermediate compound in bacteria nitrification of ammonia to nitrate (in oxidizing media), or the product of nitrate denitrification (in reducing environments). This can become very toxic, according to its concentration in the media and stage of development in which the cultivated organisms are found. Nitrite is a highly toxic nitrogen form highly toxic for aquatics organisms, causing mortality in hatcheries and culture systems. The nitrate, being the final product of nitrification, might accumulate in large quantities, especially in closed culture systems. This substance can cause lethal or sublethal effects to different organisms, or even, act synergistically with others nitrogenous compounds. Based on these statements, it is extremely important the study of their toxic effects to the development of different species. For this, laboratory experiments were performed with the purpose of evaluate the effects of the nitrogenous compounds over the *F. brasiliensis* juveniles. The median

lethal concentration and the safe levels of ammonia, nitrite and nitrate for the species were determinate, thru short duration toxicity tests. The nitrogenous products showed to be potentially toxic, even in lower concentrations than the safe level proposed. Analyzing the growth and survival of the exposed juveniles to the nitrogen, the *F. brasiliensis* shrimp was susceptible to the compounds at concentrations equivalent to the safe levels suggested to the species. For oxygen consumption, the pink shrimp juveniles exposed to nitrogen concentrations with 200% of the safe level expressed the highest consumption. In turn, the food consumption of the *F. brasiliensis* juveniles was influenced by the tested compounds (nitrite and nitrate).

## **1. Introdução Geral**

### **1.1. Pesca**

Os camarões marinhos são recursos extremamente valiosos, representando 20% do volume financeiro do mercado mundial de produtos pesqueiros. A produção mundial de camarões, no ano 2000, era de 4,2 milhões de toneladas e as capturas oriundas das pescarias representavam 3 milhões de toneladas (EJF 2003).

A produção global de camarões é dominada pela China, onde são capturadas aproximadamente um milhão de toneladas por ano. O segundo maior produtor mundial desse grupo é a Índia, desembarcando um total de 350 mil toneladas. O Brasil é apenas o décimo quinto país na lista de desembarques mundiais de camarão, com uma produção anual de 31 mil toneladas (FAO 2010).

Devido à crescente demanda por esse produto, a pressão pesqueira exercida sobre os estoques também vem crescendo nas últimas décadas. As espécies de camarões, geralmente, são resilientes à pressão pesqueira (Gulland & Rotschild 1981), no entanto, em muitos países onde a exploração é intensa, os limites ecológicos para a exploração sustentável desses recursos parecem já terem sido atingidos (EJF 2003). Segundo Zelle & Pauly (2005), esse fenômeno é especialmente evidenciado em pescarias tropicais e subtropicais onde declínios na abundância relativa das principais espécies pescadas por longos períodos têm se mostrado bastante significativos.

Os custos crescentes de operação e manutenção relacionados com a pescaria de camarões, aliados à competição com a produção oriunda da aquicultura têm colocado os pescadores de camarão sob pressão, especialmente em países em desenvolvimento. Através da produção de tamanhos mais consistentes, maior qualidade, menor preço e menor sazonalidade, relacionados à produção em cativeiro, esse tipo de atividade tem crescido consideravelmente (EJF 2003).

Para manutenção das atividades pesqueiras, os pescadores tendem então a intensificar o esforço de pesca, resultando em excessiva mortalidade pesqueira e degradação ambiental gerada pelas redes de arrasto, entretanto, os rendimentos econômicos aliados à pesca de camarões são extremamente tentadores para muitos países. A pesca de camarões também contribui significativamente para o comércio exterior de muitos países, gerando oportunidade de empregos e desenvolvimento industrial, todos estes muito importantes para países em desenvolvimento como o

Brasil. Entretanto, a geração desses benefícios nem sempre é feita de maneira sustentável e pode resultar em prejuízos econômicos posteriores se não houver a realização de um manejo responsável (EJF 2003).

## 1.2. Aquicultura

A pesca de captura e a aquicultura forneceram ao mundo cerca de 145 milhões de toneladas de peixes em 2009, sendo a aquicultura responsável por 55 milhões de toneladas o que representa 38% da oferta total. A captura mundial de pescados vem se mantendo estável (em torno de 90 milhões de toneladas/ano) nos últimos anos e não há indícios de que possa aumentar em curto ou médio prazo. Entretanto, a aquicultura é a atividade do setor de produção animal com maior taxa mundial de crescimento (8,3% ao ano), com a carcinocultura possuindo grande importância comercial, representando um grupo de espécies cultivadas de alto valor de mercado. Além disso, supera o crescimento da população, com oferta per capita crescente da aquicultura de 0,7 kg em 1970 para 7,8 kg em 2008, uma taxa de crescimento médio anual de 6,6% (FAO 2010).

No Brasil, a carcinocultura é a atividade mais expressiva da maricultura (IBAMA 2007). A carcinocultura marinha teve início na década de 70, mas somente na metade da década de 90, quando os produtores investiram mais recursos no cultivo do camarão-branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) é que tomou caráter empresarial (Ostrensky 2002).

A aquicultura tem se tornado um colaborador cada vez mais importante para o desenvolvimento econômico nacional, a oferta global de alimentos e a segurança alimentar (NACE 2000). A investigação de espécies nativas é um fator importante para a expansão da aquicultura, evitando impactos negativos da introdução de espécies exóticas (Ross *et al.* 2008). As espécies utilizadas na carcinocultura pertencem à família Penaeidae e estão divididas em seis gêneros (*Farfantepenaeus*, *Fenneropenaeus*, *Litopenaeus*, *Marsupenaeus*, *Melicertus* e *Penaeus*) de acordo com a última modificação taxonômica proposta por Pérez-Farfante & Kensley (1997). Estes gêneros agrupam 60 espécies, das quais 50 já foram utilizadas em cultivos em diferentes países, sendo a presença dos gêneros *Farfantepenaeus* e *Litopenaeus* observada nas Américas (Arredondo-Figueroa 2002).

Apesar da biodiversidade existente no território brasileiro, na aquicultura nacional destaca-se o camarão-branco do pacífico *L. vannamei*, por suas características zootécnicas de rápido crescimento, conversão alimentar eficiente, rusticidade, taxa de sobrevivência elevada e pacote tecnológico previamente estabelecido, imprescindíveis para a consolidação da espécie como predominante na carcinocultura marinha nacional (Ostrensky 2002).

A utilização de espécies exóticas em sistemas de produção na aquicultura apresenta alta potencialidade de contaminação e disseminação de doenças às espécies nativas, bem como podem acarretar o desequilíbrio ambiental por sua simples introdução no meio ambiente, ocasionando disputa por nichos ecológicos. Já o camarão-rosa (*F. paulensis* e *F. brasiliensis*), por serem espécies nativas encontradas em quase todo mar territorial brasileiro, apresentam disponibilidade de estoque de reprodutores selvagens, não apresentam potencialidade de impactos ambientais na ocorrência de liberação ou escapes de exemplares para o meio ambiente e pode ser utilizado em ações mitigatórias de repovoamento (Lopes *et al.* 2009).

Devido às dificuldades relativas à pesca do camarão-rosa, pesquisadores da Universidade Federal do Rio Grande – FURG no início da década de 90 começaram o desenvolvimento de técnicas de cultivo da espécie *F. paulensis*. Neste sentido foram realizadas diversas pesquisas cobrindo desde a indução à maturação dos reprodutores até a engorda dos camarões (Cavalli *et al.* 1997, 1998; Wasielesky *et al.* 2001). Resultados recentes demonstraram a viabilidade do cultivo do camarão-rosa em viveiros escavados (Peixoto *et al.* 2003) e em cercados instalados diretamente no estuário da Lagoa dos Patos (Wasielesky *et al.* 2004), além da possibilidade da produção de juvenis de *F. paulensis* em gaiolas (tanques-rede) para a utilização como isca viva (Preto *et al.* 2005).

Apesar dos bons resultados alcançados, pesquisas continuam sendo desenvolvidas com o objetivo de compreender melhor a ecologia do *F. paulensis* e aprimorar as técnicas de cultivo desta espécie (Abreu *et al.* 2006; Jensen *et al.* 2006). Em relação ao cultivo, estudos que contribuam para compreender aspectos nutricionais e de manejo alimentar do camarão são de extrema importância, visto que durante a produção de camarões cerca de 50% dos custos estão relacionados com a alimentação destes organismos (Akiyama *et al.* 1992; Tacon 1999; Epp 2002). Além disso, apenas

15 a 30% do alimento fornecido são transformados em biomassa pelos organismos cultivados, o resto acaba sendo perdido para o sedimento, efluentes e atmosfera (Barbieri & Ostrensky 2002; Horowitz & Horowitz 2002).

Tentando diversificar a produção brasileira de camarões e diminuir os riscos ambientais causados com a utilização de espécies exóticas em ambientes costeiros, estudos tem sido desenvolvidos pelos pesquisadores da Estação Marinha de Aquicultura (EMA) da FURG, visando o desenvolvimento da produção de espécies nativas *F. paulensis* e *F. brasiliensis* em sistemas alternativos (gaiolas e cercados) no estuário da Lagoa dos Patos (Wasielesky *et al.* 2001).

Os sistemas alternativos permitem o melhor aproveitamento da produtividade natural em áreas estuarinas (Paquette *et al.* 1998) e possibilitam menores custos, tanto em investimento quanto em manejo de produção, ofertando a pescadores artesanais e pequenos agricultores acesso a uma nova fonte de renda (Wasielesky 1999).

Nas avaliações de estoques pesqueiros, a partir de desembarques em entrepostos de pesca, não ocorre diferenciação entre as espécies *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis* (Chagas-Soares *et al.* 1995). Estas espécies apresentam sobreposição em sua distribuição (D’Incao 1991); *F. brasiliensis* distribui-se da Carolina do Norte (EUA) à costa do Rio Grande do Sul (D’Incao 1999), enquanto que *F. paulensis* tem distribuição desde Ilhéus (Bahia) até as águas costeiras da província de Buenos Aires, Argentina (D’Incao 1991).

Estes camarões apresentam duas fases distintas no seu ciclo de vida, uma marinha marcada pela reprodução e desenvolvimento larval, e outra estuarina, quando ocorre o rápido crescimento dos juvenis. Após a fase de crescimento exponencial, os camarões migram para o oceano completando seu ciclo de vida no mar aberto (Iwai 1978). A reprodução ocorre na plataforma continental em profundidades entre 40 e 100 metros, os ovos são bentônicos e após a eclosão, seguem-se três estádios larvais planctônicos (náuplios, protozoa e mísis), cada um com vários subestágios (D’Incao 1991).

A reprodução de *F. paulensis* em cativeiro está bem documentada e vem sendo realizada com sucesso desde o início dos anos 80, utilizando estoques de camarões selvagens e nascidos em cativeiro (Peixoto 2004). Entretanto, estudos sobre a reprodução em cativeiro de *F. brasiliensis* reportam apenas a indução do

desenvolvimento gonadal (Martino 1981) e desova de fêmeas em cativeiro para repovoar a região lagunar-estuarina de Cananéia (Chagas-Soares & Pereira 1991), existindo também uma carência de informações sobre o crescimento desta espécie.

### 1.3. Compostos Nitrogenados

A manutenção do meio de cultivo e o conhecimento dos limites de tolerância de uma espécie, em relação à qualidade da água, são requisitos indispensáveis em qualquer sistema de criação (Kinne 1976). Segundo Ostrensky & Wasielesky (1995), tais fatores influenciam decisivamente o sucesso ou fracasso da atividade produtiva. O desenvolvimento e domínio das técnicas de aquicultura têm provocado intensificação nos cultivos de diferentes espécies, existindo uma tendência de incremento na geração de compostos nitrogenados nesses cultivos (Wasielesky 2000).

Nos sistemas de cultivo, os resíduos de nitrogênio são degradantes comuns do meio, sendo a excreção dos organismos e a degradação dos restos de alimentos fornecidos as principais fontes dessas substâncias. Os alimentos utilizados em aquicultura contêm altos níveis protéicos e, à medida que esses alimentos são digeridos ou degradados, aumenta a liberação de compostos nitrogenados (Tomasso 1994). Os compostos nitrogenados ocorrem naturalmente no meio aquoso, entretanto, se as concentrações atingem níveis elevados, podem provocar mortalidade ou afetar o crescimento dos organismos cultivados (Thurston 1980). As formas nitrogenadas mais abundantes nos viveiros de cultivo e que podem provocar danos significativos aos organismos cultivados são a amônia, o nitrito e o nitrato.

A amônia é o produto final do catabolismo protéico da maioria dos organismos aquáticos (Kinne 1976). No meio aquoso, amônia está presente na forma ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ) e não ionizada ( $\text{NH}_3$ ); a soma das duas constitui a amônia total ( $\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$ ). A proporção de cada uma no meio depende do pH e, em menor grau, da temperatura e salinidade (Thurston 1980). Muitos pesquisadores concordam que a forma química mais tóxica é a amônia não-ionizada, devido a sua capacidade de difusão pelas membranas celulares (Fromm & Gillette 1968) e, também pelo fato do efeito da amônia ionizada ser considerado menos pronunciado (Yu & Hirayama 1986).

O nitrito é o composto intermediário na nitrificação bacteriana da amônia a nitrato (em meios oxidantes), ou produto da denitrificação do nitrato (em ambientes

redutores). Este pode vir a ser bastante tóxico, de acordo com a sua concentração no meio e do estágio de desenvolvimento em que se encontram os organismos cultivados (Thurston 1980). Este composto é altamente tóxico para os organismos aquáticos, causando mortalidade em larviculturas e sistemas de cultivo Brownell (1980). O equilíbrio iônico do nitrito em solução aquosa é:



onde o ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ) corresponde à forma não ionizada e o nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) à forma ionizada (Tomasso 1994). A presença de nitrito no meio aquático, em elevadas concentrações, pode causar problemas hemolinfáticos. Nos artrópodes e moluscos, moléculas de oxigênio se ligam ao cobre em sítios ativos da hemocianina. O mecanismo de toxicidade do nitrito atua sobre o processo de transporte de oxigênio, ou seja, o nitrito se liga à hemocianina, ocupando o sítio ativo no qual o oxigênio deveria ligar-se, transformando a hemocianina em metahemocianina, a qual é incapaz de transferir oxigênio para os tecidos. Com isto, diminui a quantidade de oxigênio disponível para o metabolismo (Tahon *et al.* 1988). Nestas condições, pode ocorrer hipóxia e mortalidade significativa (Chen *et al.* 1986).

O nitrato é considerado uma substância com pequeno poder tóxico por parte de pesquisadores e aquicultores, mas por ser o produto final da nitrificação, pode acumular-se em grandes quantidades, principalmente em sistemas fechados de cultivo (Thurston *et al.* 1978). Esta substância pode causar efeitos letais ou subletais para diferentes organismos, ou ainda, atuar sinergicamente com outras formas nitrogenadas, tornando-se extremamente importante o estudo dos seus efeitos tóxicos para diferentes espécies (Santos *et al.* 1993).

A concentração e o tempo necessário para que um composto produza um efeito adverso, varia conforme o agente químico, a espécie de organismo e severidade do efeito (Rand & Petrocelli 1985). A sensibilidade dos organismos para um dado agente tóxico pode variar de acordo com o seu estágio de desenvolvimento, assim como o estado de saúde dos organismos (Wajsbrodt *et al.* 1993); conforme Rand & Petrocelli (1985), a variação é normalmente pequena para organismos de mesma espécie e idade similares, e geralmente maiores entre espécies diferentes; os efeitos adversos ou tóxicos

podem ser produzidos em laboratório ou no ambiente natural, através de exposições letais (curto período) ou crônicas (longo período) ao produto químico.

Vários trabalhos analisaram os efeitos dos compostos nitrogenados para *F. paulensis*: Ostrensky (1991) analisou a toxicidade da amônia no processo produtivo de pós-larvas; Ostrensky & Wasielesky (1995) determinaram a CL<sub>50</sub> (24 a 96h) de amônia para as diferentes fases do ciclo de vida; Cavalli *et al.* (1996) determinaram a CL<sub>50</sub> (96 h) dos diferentes produtos nitrogenados em adultos e Peixoto (1996) determinou os efeitos da amônia sobre o número de desovas, fecundidade e taxa de eclosão. Por sua vez, Miranda-Filho *et al.* (2009) analisou os efeitos tóxicos da amônia nas fases iniciais de crescimento; Ostrensky (1997) verificou o efeito letal de misturas de amônia e nitrito e Sachsida (1997) analisou o efeito da salinidade sobre a toxicidade aguda de nitrito e nitrato, respectivamente.

Portanto, devido ao que foi descrito anteriormente e, pelo fato de *F. brasiliensis* ter potencial de cultivo em fazendas de camarão no Brasil, possibilitando uma nova alternativa de cultivo de camarão marinho no país, a presente tese teve como objetivos:

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo Geral**

- Avaliar o efeito dos compostos nitrogenados sobre os juvenis de camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis*.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Analisar a tolerância de juvenis do camarão-rosa *F. brasiliensis* à amônia, nitrito e nitrato.

- Determinar a Concentração Letal Mediana (CL<sub>50</sub>) e Nível de Segurança (96 h) de amônia, nitrito e nitrato para juvenis do camarão-rosa.

- Avaliar os efeitos crônicos da amônia, nitrito e nitrato sobre o crescimento dos juvenis e sobrevivência de *F. brasiliensis*.

- Verificar a influência da amônia, nitrito e nitrato sobre o consumo alimentar de juvenis de *F. brasiliensis*.

- Avaliar a influência da amônia, nitrito e nitrato sobre o consumo de oxigênio de juvenis de *F. brasiliensis*.

### 3. Referências

- ABREU, PC, CSB COSTA, C BEMVENUTI, C ODEBRECHT, W GRANÉLI & AM ANÉSIO. 2006. Eutrophication processes and trophic interactions in a shallow estuary: preliminary results base on stable isotope analysis (d13C and d15N). *Estuar. and Coast.*, 29 (2): 277-285.
- AKIYAMA, D, WG DOMINY & AL LAWRENCE. 1992. Penaeid shrimp nutrition. In: FAST, AW & LJ LESTER. Marine shrimp culture: principles and practices. *Elsevier*, Amsterdan. 535-568.
- ARREDONDO-FIGUEROA, JL. 2002. El cultivo de camarón en Mexico, actualidades y perspectivas. *Contactos* 43: 41-54.
- BARBIERI, RC & A OSTRENSKY. 2002. Camarões marinhos – engorda. Viçosa Aprenda Fácil. 370p.
- BROWNELL, CL. 1980. Water quality requirements for first feeding in marine fish larvae: ammonia, nitrite and nitrate. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 44: 269-283.
- CAVALLI, RO, W WASIELESKY, CS FRANCO & K MIRANDA-FILHO. 1996. Evaluation of the short-term toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to *Penaeus paulensis* (Crustacea, Decapoda) broodstock. *Arq. Biol. Tecnol.* 39: 567-575.
- CAVALLI, RO, M SCARDUA & W WASIELESKY. 1997. Reproductive performance of different-sized wild and pond reared *Penaeus paulensis* females. *J. World Aquac. Soc.* 28(3): 260-267.
- CAVALLI, RO, SM PEIXOTO & W WASIELESKY. 1998. Performance of *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante) broodstock under long-term exposure to ammonia. *Aquac. Res.* 29: 815-822.
- CHAGAS-SOARES, F & OM PEREIRA. 1991. Repovoamento da região lagunar-estuarina de Cananéia (SP) com Camarão Rosa *Penaeus brasiliensis*. Informações preliminares. *Controle nacional de pesca e aquíicultura*. Santos (SP): 22-26.

- CHAGAS-SOARES, F, OM PEREIRA & EP SANTOS. 1995. Contribuição ao ciclo biológico de *Penaeus schimitti* (Burkenroad, 1936), *Penaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) e *Penaeus paulensis* (Pèrez Farfante, 1967), na região lagunar-estuarina de Cananéia, São Paulo, Brasil. *Bol. Inst. Pesca Sao Paulo*, 22: 49-59.
- CHEN, JC, CK CHIN & CK LEE. 1986. Effects of ammonia and nitrite on larval development of the shrimp *Penaeus monodon*. The First Asian Fisheries Forum. *Asian Fisheries Society*, Manila, Philippines 657-662.
- D'INCAO, F. 1991. Pesca e biologia de *Penaeus paulensis* na Lagoa dos Patos, RS. *Atlântica*, 12: 31-51.
- D'INCAO, F. 1999. Subordem DENDROBRANCHIATA (camarões marinhos). In: BUCKUP, L, & G BOND-BUCKUP. (Ed. Universidade/ UFRGS). "O Crustáceos do Rio Grande do Sul", Porto Alegre. 275-299.
- EJF, 2003. Squandering the Seas: How shrimp trawling is threatening ecological integrity and food security around the world? *Environmental Justice Foundation*, London, 48p.
- EPP, MA. 2002. Stable isotopes in shrimp aquaculture. *World Aquacult.* 33, 18–19.
- FAO. 2010. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome, FAO. 2010. 197p.
- FROMM, PO & JR GILLETE. 1968. Effect of ambient ammonia on blood ammonia and nitrogen excretion of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Bioch. And Physiol.*, 26: 887-896.
- GULLAND, JA & BJ ROTSCCHILD. 1981. Penaeid shrimps: their biology and management. *Fishing news books*. 299p.
- HOROWITZ, S & A HOROWITZ. 2002. Microbial intervention in Aquaculture. In: LEE, C-S & P O'BRIEN (eds.) Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems. *The World Aquaculture Society*, Baton Rouge, Louisiana, USA, Chap. 9: 119-129.
- IBAMA, 2007. Estatística da Pesca e aqüicultura: grandes regiões e unidades da federação. Brasília. 147p.

- IWAI, M. 1978. Desenvolvimento larval e pós-larval de *Penaeus (Melicertus) paulensis* Pérez-Farfante, 1967 (Crustacea, Decapoda) e o ciclo de vida dos camarões do gênero *Penaeus* da região centro-sul do Brasil. São Paulo, Univ. de São Paulo, Inst. de Biociências. (Dissertação de Doutorado). 138p.
- JENSEN, LV, W WASIELESKY, ELC BALLESTER, RO CAVALLI & MS SANTOS. 2006. Role of the microalgae *Thalassiosira fluviatilis* in weight gain and survival of the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* reared in indoor nursery tanks. *Nauplius*, 14, 37-43.
- KINNE, O. 1976. Marine Ecology, John Wiley and Sons, New York, NY, 577 pp.
- LOPES, DA, SRM PEIXOTO, W WASIELESKY & ELC BALLESTER. 2009. Análise comparativa da criação dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis* criados em gaiolas em ambiente estuarino. *Ciência Rural* (UFSM. Impresso). 39: 1540-1546.
- MARTINO, RC. 1981. Indução a maturação em *Penaeus (Farfantepenaeus) paulensis* e *Penaeus (Farfantepenaeus) brasiliensis* através da ablação do pedúnculo ocular. Comunicado Técnico. Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro.
- MIRANDA-FILHO, KC, GLL PINHO, W WASIELESKY & A BIANCHINI. 2009. Long-term ammonia toxicity to the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C 150: 377–382.
- NACE, 2000. Aquaculture Development Beyond 2000: The Bangkok Declaration and Strategy. Conference on Aquaculture in Third Millenium. FAO. Bangkok, Tailândia. 27pp.
- OSTRENSKY, A. 1991. Toxicidade da amônia e do nitrito no processo produtivo de pós-larvas do camarão-rosa, *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. Tese de mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 105p.
- OSTRENSKY, A. 1997. Estudos para viabilização tecnológica dos cultivos de camarões marinhos no litoral do Estado do Paraná, Brasil. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. Brasil. 126 pp.

- OSTRENSKY, AN. 2002. Aquicultura brasileira e sua sustentabilidade. XII Simpósio Brasileiro de Aquicultura. Anais. pp. 4-10.
- OSTRENSKY, A & W WASIELESKY. 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the São Paulo shrimp, *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. *Aquaculture*, 132: 339-347.
- PAQUOTTE, P, L CHIM, JLM MARTIN, E LEMOS, M STERN & G TOSTA. 1998. Intensive culture of shrimp *Penaeus vannamei* in floating cages: Zootechnical, economic and environmental aspects. *Aquaculture*. 164: 151-166.
- PEIXOTO, SRM. 1996. Efeito da amônia na performance reprodutiva do camarão rosa *Penaeus paulensis* capturado no estuário da Lagoa dos Patos. Monografia de graduação, curso de Oceanologia, FURG, Rio Grande, RS. 41 pp.
- PEIXOTO, S. 2004. Avanços nas técnicas de reprodução do Camarão Rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Crustacea: Decapoda) em cativeiro. Rio Grande: Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 2004 (Tese de Doutorado).
- PEIXOTO, S, W WASIELESKY & L LOUZADA. 2003. Comparative analysis of pink shrimp, *Farfantepenaeus paulensis*, and Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, culture in extreme southern Brazil. *J. Ap. Aquac.*, 14, 47-56.
- PÉREZ FARFANTE, I & B KENSLE. 1997. Penaeoid and Sergestoid shrimps and prawns of the world. Key of diagnoses for the families and genera. Éditions du Muséum national d'Histoire Naturelle, Paris, 233 pp.
- PRETO, AL, RO CAVALLI, T PISSETTI, PC ABREU, & W WASIELESKY. 2005. Efeito da densidade de estocagem sobre o biofilme e o desempenho de pós-larvas do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* cultivadas em gaiolas. *Ciência Rural* 35, 1417–1423.
- RAND, GM & PR PETROCELLI. 1985. Introduction. In: (Ed. Taylor & Francis) *Fundamentals of aquatic toxicology*. U.S.A. 666.
- ROSS, LG, CA MARTINEZ PALACIOS & EJ MORALES. 2008. Developing native fish species for aquaculture: the interacting demands of biodiversity, sustainable aquaculture and livelihoods. *Aquac. Res.* 39: 675–683.

- SANTOS, MHS, KF MIRANDA, LH POERSCH & W WASIELESKY. 1993. Efeito agudo do nitrato sobre alevinos da tainha *Mugil platanus* (Pisces: Mugilidae). *Anais do Simpósio Brasileiro sobre Cultivo de Camarões*. 811 - 821.
- SACHISIDA, A. 1997. Efeito do nitrato no crescimento de juvenis do camarão rosa *Penaeus paulensis* (Crustacea: Decapoda) Monografia de graduação, curso de Oceanologia, FURG, Rio Grande, RS.
- TACON, AGJ. 1999. Aquafeeds and the Oceanic Institute's AQUAFAN Program. *Gl. Aquac. Advoc.* 2(6): 14-16.
- TAHON, JP, D van HOOFF, C VINCKIER, R WITTERS, M de LEY & R LONHE. 1988. The reaction of nitrite with the haemocyanin of *Astacus leptodactylus*. *Biochem. J.* 249: 233-242.
- THURSTON, RV. 1980. Some factor affecting the toxicity of ammonia to fishes. *EPA Ecol. Res. Ser.*, EPA-600/9-80-034: 118-137.
- TOMASSO, JR. 1994. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. *Rev. Fish sci.* 2: 291-314.
- WASIELESKY, W. 1999. Produção do camarão marinho *Penaeus paulensis* no sul do Brasil: Cultivo em estruturas alternativas. Prêmio Jovem Cientista 1997: publicação resumida dos trabalhos vencedores. Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico, Rio de Janeiro.
- WASIELESKY, W. 2000. Cultivo de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda, Penaeidae) no estuário da Lagoa dos Patos: Efeitos dos parâmetros ambientais. Tese de doutorado. Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, RS, 199p.
- WASIELESKY, W, LH POERSCH, L JENSEN & A BIANCHINI. 2001. Effect of stocking density on pen reared pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967) (Decapoda, Penaeidae). *Nauplius*, 9 (2): 163-167.
- WASIELESKY, W, S PEIXOTO, L JENSEN, L POERSCH & A BIANCHINI. 2004. Estudo preliminar do cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* em cercados no estuário da Lagoa dos Patos. *B. Inst. Pesca*, 30: 63-70.

- WAJSBROT, N, A GASITH, A DIAMANT & DM POPPER. 1993. Chronic toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* and related histopathological effects. *J. Fish.Biol.*, 42: 321-328.
- YU, JP & K HIRAYAMA. 1986. The effect of un-ionized ammonia on the growth of the rotifer in mass culture. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 52: 1509-1513.
- ZELLER, D & D PAULY. 2005. Good news, bad news: global fisheries discards are declining, but so are total catches. *Fish Fish.* 6: 156-159.

## Capítulo I

TOXICIDADE AGUDA DA AMÔNIA, NITRITO E NITRATO SOBRE OS JUVENIS  
DE CAMARÃO-ROSA *Farfantepenaeus brasiliensis* (LATREILLE, 1817)  
(CRUSTACEA: DECAPODA).

## Resumo

O desenvolvimento e domínio das técnicas de aquicultura têm levado a intensificação na criação de diferentes espécies, existindo uma tendência de incremento na concentração de compostos nitrogenados nos sistemas de cultivo. Os compostos nitrogenados ocorrem naturalmente no meio aquoso, podendo provocar mortalidade ou afetar o crescimento dos organismos criados. As formas nitrogenadas mais abundantes nos viveiros são a amônia, nitrito e nitrato. Juvenis de camarão-rosa, *Farfantepenaeus brasiliensis*, foram expostos a diferentes concentrações de amônia, nitrito e nitrato em ensaios de curta duração. Os valores de concentração letal mediana (CL<sub>50</sub>) para amônia, nitrito e nitrato para 24h a 96h foram respectivamente 24,77 a 8,81mg/L; 252,04 a 105,97mg/L; 1882,63 a 912,07mg/L. De acordo com os resultados obtidos foi possível estimar o nível de segurança de amônia, nitrito e nitrato para juvenis de camarão-rosa em 0,88mg/L, 10,60 e 91,21mg/L, respectivamente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Amônia, Nitrito, Nitrato, *Farfantepenaeus brasiliensis*.

## Abstract

The development of new techniques has led to the intensification of aquaculture regarded to rearing of different species. Therefore, there is a tendency to increase the generation of nitrogen compounds in these cropping systems. The nitrogen compounds naturally occur in the water of rearing systems, and may cause death or affect the individual growth. The most abundant nitrogen forms in the ponds are ammonia, nitrite and nitrate. The juveniles of pink-shrimp, *Farfantepenaeus brasiliensis* were exposed to different concentrations of ammonia, nitrite and nitrate. The LC<sub>50</sub> values for ammonia, nitrite and nitrate for 24h to 96h are respectively 24.77 to 8.81mg/L, 252.04 to 105.97mg/L, 1882.63 to 912.07mg/L, respectively. The safe level of ammonia, nitrite and nitrate to pink shrimp juveniles estimated were 0.88mg/L, 10.60 and 91.21mg/L, respectively.

**KEYWORDS:** Ammonia, Nitrite, Nitrate, *Farfantepenaeus brasiliensis*.

## INTRODUÇÃO

A manutenção e o conhecimento dos limites de tolerância de uma espécie, em relação à qualidade da água, são requisitos indispensáveis em qualquer sistema de criação (Kinne 1976). Segundo Ostrensky & Wasielesky (1995), tais fatores influenciam decisivamente no sucesso ou fracasso dessa atividade produtiva. O desenvolvimento e domínio das técnicas de aquicultura têm provocado intensificação nos cultivos de diferentes espécies, existindo uma tendência de incremento na excreção de compostos nitrogenados nesses cultivos (Wasielesky 2000).

Na criação de organismos aquáticos, os resíduos de nitrogênio são degradantes comuns do meio (Tomasso 1994), sendo que a excreção dos organismos cultivados e a degradação dos restos alimentares, as principais fontes dessas substâncias (Gross *et al.* 2000). Os compostos nitrogenados ocorrem naturalmente no meio aquoso, entretanto, se as concentrações atingirem níveis elevados, pode afetar o crescimento ou provocar mortalidade dos organismos cultivados (Thurston 1980). As formas nitrogenadas mais abundantes nos viveiros de cultivo e que podem provocar danos significativos aos organismos cultivados são a amônia, o nitrito e o nitrato.

A amônia é o produto final do catabolismo protéico da maioria dos organismos aquáticos (Kinne 1976). No meio aquoso, amônia está presente na forma ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ) e não ionizada ( $\text{NH}_3$ ), as quais juntas constituem a amônia total ( $\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$ ). Muitos pesquisadores concordam que a forma química mais tóxica é a amônia não-ionizada, devido a sua capacidade de difusão pelas membranas celulares (Fromm & Gillette 1968) e, também pelo fato do efeito da amônia ionizada ser considerado menos pronunciado (Yu & Hirayama 1986).

O nitrito é o composto intermediário na nitrificação bacteriana da amônia a nitrato (em meios oxidantes), ou produto da denitrificação do nitrato (em ambientes redutores), sendo tóxico para peixes (Tsai & Chen 2002). Nitrito pode vir a ser bastante tóxico, de acordo com a sua concentração no meio e do estágio de desenvolvimento em que se encontram os organismos cultivados (Thurston 1980). O nitrito é uma forma nitrogenada altamente tóxica para organismos aquáticos, causando mortalidade em larviculturas e sistemas de cultivo (Brownell 1980). A presença de nitrito no meio aquático, em elevadas concentrações, pode causar problemas hemolinfáticos, uma vez que o mecanismo de toxicidade do nitrito atua sobre o processo de transporte de

oxigênio, transformando hemocianina em metahemocianina, a qual é incapaz de transferir oxigênio para os tecidos (Gross 2004). Com isto, diminui a quantidade de oxigênio disponível para o metabolismo (Tahon *et al.* 1988) e nestas condições, pode ocorrer hipóxia e mortalidade significativa (Chen *et al.* 1986).

O nitrato é considerado uma substância com pequeno poder tóxico por parte de pesquisadores, mas por ser o produto final da nitrificação, pode acumular-se em grandes quantidades, principalmente em sistemas fechados de cultivo (Thurston *et al.* 1978). Esta substância pode causar efeitos letais ou subletais para diferentes organismos, ou ainda, atuar sinergicamente com outras formas nitrogenadas, tornando-se extremamente importante o estudo dos seus efeitos tóxicos para diferentes espécies (Santos *et al.* 1993).

Vários trabalhos têm analisado os efeitos dos produtos nitrogenados para *F. paulensis*: Ostrensky (1991) analisou a toxicidade da amônia no processo produtivo de pós-larvas; Ostrensky & Wasielesky (1995) determinaram a CL<sub>50</sub> (24 a 96h) de amônia para as diferentes fases do ciclo de vida; Cavalli *et al.* (1996) determinaram a CL<sub>50</sub> (96h) dos diferentes produtos nitrogenados em adultos e Peixoto (1996) determinou os efeitos da amônia na performance reprodutiva. Por sua vez, Miranda-Filho (1997) analisou os efeitos tóxicos da amônia nas fases iniciais de crescimento; Ostrensky (1997) verificou o efeito letal de misturas de amônia e nitrito, enquanto Castaño (1997) e Sachside (1997) analisaram o efeito da salinidade sobre a toxicidade aguda de nitrito e nitrato, respectivamente.

Apesar desse grande número de trabalhos realizados, dados sobre camarão-rosa, *F. brasiliensis*, expostos aos efeitos dos produtos nitrogenados são escassos ou inexistentes. Portanto, no presente estudo foram realizados experimentos visando determinar a concentração letal mediana (CL<sub>50</sub>) de amônia, nitrito e nitrato, em 96 h para juvenis de *F. brasiliensis*, em laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Estação Marinha de Aquicultura (EMA) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e os juvenis de *F. brasiliensis* foram oriundos do processo de larvicultura realizado no próprio laboratório.

A metodologia utilizada nos experimentos de toxicidade aguda foi baseada no Manual da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA 1985).

Os experimentos foram realizados em recipientes com volume de 4,2 litros. Os juvenis (n = 10) com peso médio de 0,30 g foram avaliados, em testes de toxicidade aguda, para determinação da faixa letal dos compostos nitrogenados.

A partir dos resultados do teste preliminar, o experimento foi realizado em concentração controle e concentrações de amônia, nitrito e nitrato apresentadas na Tabela I. A temperatura da água foi de 25°C, salinidade de 28 e a média de pH ao longo do experimento foi 8,29.

Tabela I – Concentrações de amônia, nitrito e nitrato utilizadas nos testes de toxicidade aguda com juvenis de *Farfantepenaeus brasiliensis*.

Nitrogenado	Concentrações (mg/L)											
	0	2,5	5,0	10,0	12,5	15,0	20,0	25,0	30,0	35,0	40,0	
Amônia	0	2,5	5,0	10,0	12,5	15,0	20,0	25,0	30,0	35,0	40,0	
Nitrito	0	40	80	120	180	240	300	360	420	500	-	
Nitrato	0	250	500	1000	1500	2000	2500	3500	4500	5000	-	

As concentrações foram determinadas tendo como limite inferior aquela que não apresentou mortalidade e como limite superior a concentração que obteve 100% de mortalidade nos testes preliminares. Os valores das concentrações desejadas foram obtidos por meio de soluções estoque, feitas com cloreto de amônia P.A. (Synth®), nitrito de sódio P.A. (Synth®) e nitrato de sódio P.A. (Synth®). Os testes foram realizados em triplicata. Tanto no grupo controle como nos demais tratamentos, foram utilizados 10 juvenis por unidade experimental, totalizando 30 juvenis por concentração testada.

Durante o experimento, a água foi totalmente renovada a cada 24 h e as soluções adicionadas novamente, para manutenção das respectivas concentrações. Os animais foram mantidos em jejum, a aeração foi provida constantemente com o uso de pedra porosa e a temperatura e o fotoperíodo foram mantidos iguais à aclimatação. Para a determinação das concentrações letais medianas (CL<sub>50</sub>) foram utilizados os dados de mortalidade dos juvenis, observados a cada 24 h de exposição. O critério de morte adotado foi a ausência de qualquer tipo de movimento ou reação a estímulos mecânicos com uma micropipeta.

Amostras de água foram retiradas diariamente das unidades experimentais juntamente com as contagens de indivíduos mortos. Uma sub-amostra (100 ml) foi retirada para medição dos parâmetros físico-químicos como salinidade e pH, com auxílio de refratômetro ótico e pH-metro digital (DMpH-1, Digimed, precisão 0,01), respectivamente. Uma segunda sub-amostra (100 ml) foi utilizada para análises dos nitrogenados testados na água.

As  $CL_{50}$ , para juvenis de *F. brasiliensis*, em 24, 48, 72 e 96 h, e seus respectivos intervalos de confiança (95%), foram estimadas com a utilização do “software” Trimmed Spearman Karber method (Hamilton *et al.* 1977). A quantidade de amônia não-ionizada foi calculada de acordo com a fórmula proposta por Ostrensky *et al.* (1992), baseada na salinidade, temperatura e a média dos valores de pH obtida em cada experimento.

Para a determinação dos níveis de segurança (concentração de poluentes que não tenha um efeito adverso sobre os organismos) para cada nitrogenado testado (amônia, nitrito e nitrato), normalmente faz-se uso dos valores estimados de  $CL_{50}$  96h, multiplicando por um fator de aplicação, como por exemplo, o proposto por Sprague (1971) ( $CL_{50}$  96h \* 0,1).

## RESULTADOS

Não foram observadas mortalidades nos tratamentos controle durante o período experimental. Os camarões expostos à solução de amônia tiveram mortalidades em 24 h a partir da concentração de 5 mg/L, enquanto a mortalidade total ocorreu apenas em 40 mg/L. Em 48 h, a mortalidade total ocorreu a partir de 30 mg/L e para 72 e 96 horas a mortalidade total ocorreu a partir de 20 mg/L (Fig. 1a).

Para nitrito, a mortalidade do camarão-rosa em 24, 48, 72 e 96 h teve início respectivamente a partir da concentração de 180, 120, 40 e 40 mg/L. A mortalidade total para os mesmos intervalos de tempo ocorreram em 300 mg/L (Fig. 1b).

Para nitrato, a mortalidade do camarão-rosa em 24 e 48 h teve início a partir da concentração de 500 mg/L, enquanto para 72 e 96 h teve início a partir da concentração de 250 mg/L. A mortalidade total para 24 h ocorreu apenas em 5000 mg/L. Nas demais, a mortalidade total ocorreu a partir de 3500 mg/L (Fig. 1c).

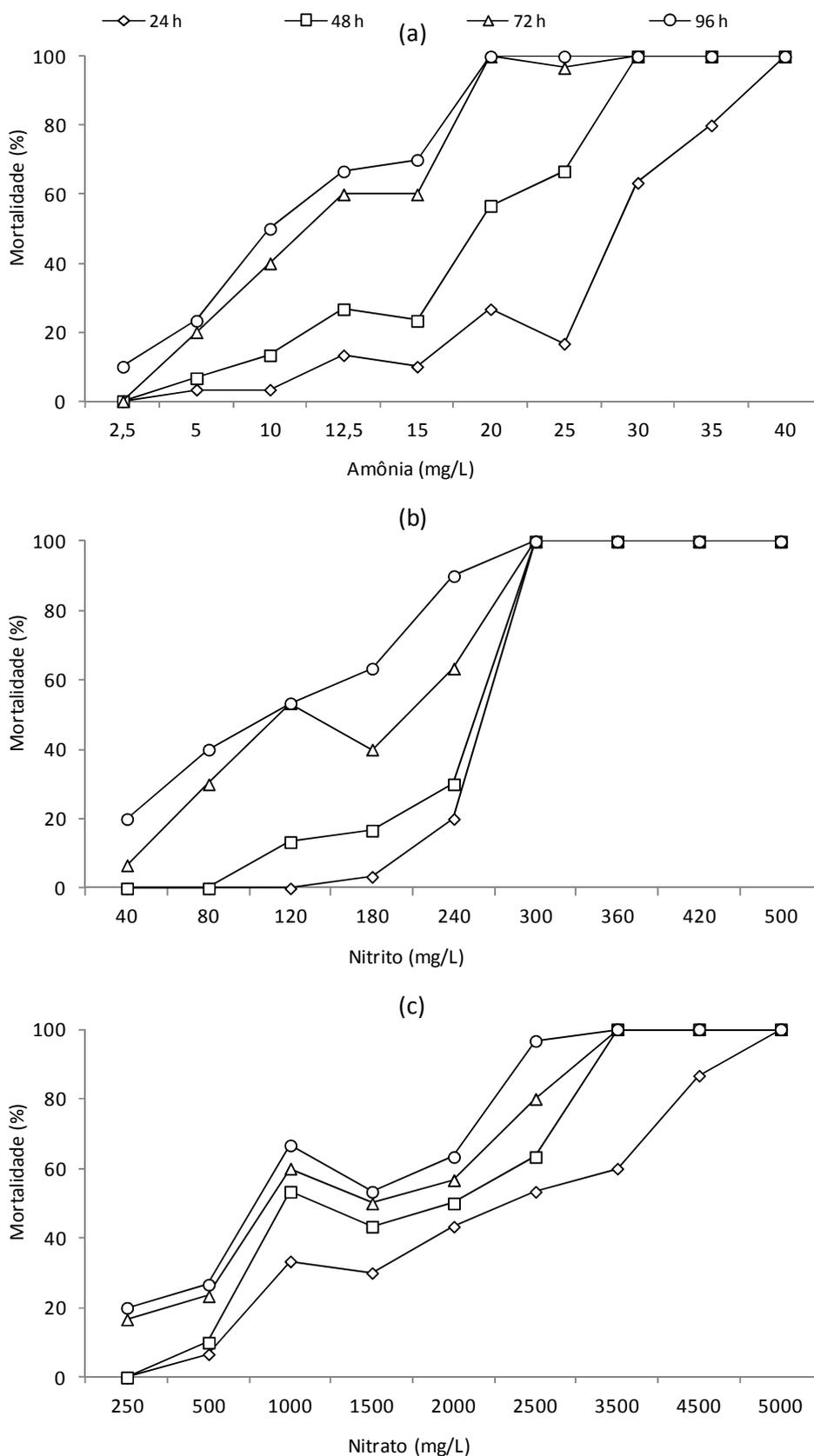


Figura 1 – Mortalidade de juvenis de *Farfantepenaeus brasiliensis* em diferentes concentrações de amônia, nitrito e nitrato.

A partir das mortalidades observadas para cada concentração dos nitrogenados testados, foram estimadas a CL<sub>50</sub> para 24, 48, 72 e 96 h (Tab. II).

Tabela II – Valores de CL<sub>50</sub> de amônia gasosa, amônia total, nitrito e nitrato para juvenis de *Farfantepenaeus brasiliensis* e seus respectivos intervalos de confiança entre parênteses.

	CL <sub>50</sub> (24h)	CL <sub>50</sub> (48h)	CL <sub>50</sub> (72h)	CL <sub>50</sub> (96h)
Amônia Gasosa (mg/L)	1,99 (1,82 – 2,17)	1,34 (1,19 – 1,50)	0,85 (0,76 – 0,95)	0,71 (0,59 – 0,85)
Amônia Total (mg/L)	24,77 (22,65 – 27,10)	16,68 (14,88 – 18,69)	10,65 (9,54 – 11,89)	8,81 (7,30 – 10,62)
Nitrito (mg/L)	252,04 (241,27 - 263,29)	222,24 (204,92 - 241,03)	136,82 (115,89 - 161,53)	105,97 (83,23 - 134,93)
Nitrato (mg/L)	1882,63 (1611,00 - 2200,05)	1269,84 (1090,58 - 1478,56)	1059,88 (817,76 - 1373,70)	912,07 (684,62 - 1215,09)

Baseado nos índices de Sprague (1971), os níveis de segurança dos diferentes compostos nitrogenados para juvenis de *F. brasiliensis* foram estimados e os resultados estão expressos na tabela III.

Tabela III – Níveis de Segurança de amônia, nitrito e nitrato para juvenis de *Farfantepenaeus brasiliensis*, estimados a partir da CL<sub>50</sub> de 96h.

	CL <sub>50</sub> 96h	Fator de Aplicação (Sprague, 1971)	Nível de Segurança
Amônia Gasosa (mg/L)	0,71		0,07
Amônia Total (mg/L)	8,81	0,1	0,88
Nitrito (mg/L)	105,97		10,59
Nitrato (mg/L)	912,07		91,20

## DISCUSSÃO

A decomposição de matéria orgânica e a excreção dos organismos cultivados é a principal razão da presença de produtos nitrogenados em sistemas de cultivo (Tomasso 1994). Na revisão realizada por Colt & Armstrong (1981), o valor da CL<sub>50</sub>

(96h) para amônia não-ionizada, foi de 0,40 a 2,31 mg/L para crustáceos em geral. No presente estudo, o valor foi de 0,71 mg/L, estando dentro do intervalo proposto.

Com relação à amônia total, os dados obtidos no presente estudo mostraram uma CL<sub>50</sub> (96h) de 8,81mg/L, corroborando os dados obtidos por outros autores em estudos com outras espécies de juvenis de peneídeos (Tab. IV).

Tabela IV – Valores de CL<sub>50</sub> (mg/L) de amônia total para juvenis de peneídeos.

Espécies	24h (mg/L)	48h (mg/L)	72h (mg/L)	96h (mg/L)	Autores
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	24,77	16,68	10,65	8,81	Presente estudo
<i>Penaeus semisulcatus</i>	-	-	-	23,7	Wajsbrodt <i>et al.</i> (1990)
<i>Fenneropenaeus chinensis</i>	79,9	51,1	37	35,1	Chen <i>et al.</i> (1990)
<i>Penaeus monodon</i>	-	-	-	37,4	Allan <i>et al.</i> (1990)
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	51,8	43,1	40,1	38,7	Ostrensky & Wasielesky (1995)
<i>Penaeus monodon</i>	97,9	88	53,4	42,6	Chen <i>et al.</i> (1990)
<i>Litopenaeus vannamei</i>	-	110,6	85,3	70,9	Frías-Espericueta <i>et al.</i> (1999)

Comparando a toxicidade de amônia total (96h) das diferentes espécies de camarões peneídeos, é possível observar que *F. brasiliensis* é a espécie mais sensível a este composto tóxico, seguido por *Penaeus semisulcatus*, *Fenneropenaeus chinensis*, *P. monodon*, *F. paulensis* e *Litopenaeus vannamei*.

Segundo Buikema *et al.* (1982), um teste de toxicidade aguda fornece informações sobre a letalidade relativa de um tóxico, mas não pode prever a concentração que tem efeitos subletais e crônicas sobre os organismos. Sprague (1971) cita que um “nível de segurança” pode ser obtido multiplicando o valor de CL<sub>50</sub> (96h) por um fator de 0,1. No presente estudo, o “nível de segurança” para juvenis de *F. brasiliensis* é de 0,88 mg/L de amônia-total e 0,071 mg/L de amônia gasosa.

Segundo Wasielesky (2000), a maior parte dos estudos sobre a toxicidade do nitrito em peneídeos trata de efeitos indiretos, ou seja, que podem afetar o crescimento

ou que determinam as concentrações subletais baseando-se em dados de CL<sub>50</sub> de curta ou média duração. Chen *et al.* (1990) estimaram o nível de segurança de 10,6 mg/L de nitrito para juvenis de *P. monodon*. Trabalhando com adultos e juvenis de *F. paulensis*, Cavalli *et al.* (1996) e Ostrensky (1997) estimaram níveis de segurança de 10,94 e 10,2 mg/L de nitrito respectivamente, resultados muito próximos daqueles obtidos por Chen *et al.* (1990) com juvenis de *P. monodon*. Nesse contexto, no presente trabalho o nível de segurança de nitrito para juvenis de *F. brasiliensis* foi de 10,59 mg/L, resultado que corrobora os autores citados.

O nitrato é o composto nitrogenado considerado de mais baixo poder tóxico para os organismos aquáticos (Wasielesky 2000). Em exposições de curta duração, os níveis letais variam entre 1000 e 3000 mg/L de nitrato (Colt & Armstrong 1981).

Tsai & Chen (2002) citam que a toxicidade aguda de nitrato tem sido relatada em teleósteos de águas doce, salobra e marinha, assim como para lagostins de água doce e camarões peneídeos. Para *P. monodon*, a CL<sub>50</sub> (96h) de nitrato indicou uma variação entre 1449 a 2316 mg/L, mostrando que o camarão marinho é mais tolerante ao nitrato que teleósteos, mas menos tolerantes ao nitrato que moluscos. Com base no valor de 96 horas e o fator de aplicação empírica 0,1 (Sprague 1971), o “nível de segurança” calculado pelos autores, para juvenis de *P. monodon*, é de 232 mg/L de nitrato em salinidade 25 (Tsai & Chen 2002).

Wasielesky (2000) analisando o efeito do nitrato em juvenis de *F. paulensis*, mostrou que camarões expostos a 80,7 mg/L tiveram suas taxas de crescimento significativamente reduzidas, evidenciando assim uma maior sensibilidade da espécie ao nitrato do que outras espécies de peneídeos. Neste trabalho, a CL<sub>50</sub> (96h) foi de 912,07 mg/L. Com base no fator de aplicação proposto por Sprague (1971), o nível de segurança calculado para juvenis de *F. brasiliensis* é 91,20 mg/L, próximo ao encontrado por outros autores que trabalharam com camarões peneídeos.

A interação entre a produção dos compostos nitrogenados e produção de camarão é uma consideração importante para os aquicultores (Frías-Espericueta *et al.* 1999). Os níveis de segurança obtidos aqui têm implicações importantes para o manejo de criação de camarões, uma vez que as comparações mostram que os juvenis de camarão-rosa *F. brasiliensis* apresentam baixa tolerância aos compostos nitrogenados testados nesse estudo, principalmente à amônia, evidenciando assim, a necessidade de

cuidados no manejo de cultivos de camarões para evitar o acúmulo destes compostos nos sistemas de produção.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAN GL, GB MAGUIRE, SJ HOPKINS. 1990. Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. *Aquaculture*, 91: 265-280
- BROWNELL, CL. 1980. Water quality requirements for first-feeding in marine fish larvae: ammonia, nitrite and nitrate. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 44: 269-283.
- BUIKEMA AL, RR NIEDERLEHNER, JJ CAIRNS. 1982. Biological monitoring Part IV. Toxicity testing. *Water Res* 16: 239-262.
- CASTAÑO, CS. 1997. Toxicidade aguda do nitrito sobre o camarão rosa *Penaeus paulensis*, cultivados em diferentes salinidades. Monografia de graduação, curso de Oceanologia, FURG, Rio Grande, RS.
- CAVALLI, RO, W WASIELESKY, CS FRANCO & KC MIRANDA FILHO. 1996. Evaluation of the short-term toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to *Penaeus paulensis* (Crustacea, Decapoda) broodstock. *Arq. Biol. Technol.* 39: 567-575.
- CHEN, JC, CK CHIN & CK LEE. 1986. Effects of ammonia and nitrite on larval development of the shrimp *Penaeus monodon*. The First Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines 657-662.
- CHEN JC, PC LIU, SC LEI. 1990. Toxicity of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* adolescents. *Aquaculture*, 89: 127-137.
- CHEN, JC; YY TING, JN LIN & MN LIN. 1990. Lethal effects of ammonia and nitrite on *Penaeus chinensis* juveniles. *Mar. Biol.* 107(3): 427-431.
- COLT, JE & DA ARMSTRONG. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. In: ALLEN, LJ, EC KINNEY. (eds.) Proceedings of the Bioengineering Symposium for Fish Culture Section, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, 34-47.

- EPA, 1985. Acute toxicity test for estuarine and marine organisms (shrimp 96-hour acute toxicity test). EPA-540/9-85-010.
- FRIAS-ESPERICUETA MG, M HARFUSH-MELENDZ, JI OSUNA-LSPEZ, F PAEZ-OSUNA. 1999. Acute toxicity of ammonia to juvenile shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62: 646-652
- FROMM, PO & JR GILLETE. 1968. Effect of ambient ammonia on blood ammonia and nitrogen excretion of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Bioch. Physiol.*, 26: 887-896.
- GROSS, A. 2004. Acute and chronic effects of nitrite on white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in low-salinity brackish water. *Journ. Aquacult. Society*, 35(3) 315-321.
- GROSS, A, CE BOYD & CW WOOD. 2000. Nitrogen budget and transformations in channel catfish ponds. *Aquacult. Eng.*, 24: 113-132.
- HAMILTON, MA, RC RUSSO & RV THURSTON. 1977. Trimmed Spearman Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.*, 11: 714-719. *Correction Environ. Sci. Technol.*, 12: 417 (1978).
- KINNE, O. 1976. *Mar. Ecol.* Ed. John Wiley & Sons, NY, USA, Vol III, part 1, 577.
- MIRANDA-FILHO, KC, GLL PINHO, W WASIELESKY & A BIANCHINI. 2009. Long-term ammonia toxicity to the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C 150: 377-382.
- OSTRENSKY, A. 1991. Toxicidade da amônia e do nitrito no processo produtivo de pós-larvas do camarão-rosa, *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. Tese de mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 105.
- OSTRENSKY, A. 1997. Estudos para viabilização tecnológica dos cultivos de camarões marinhos no litoral do Estado do Paraná, Brasil. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. Brasil. 126.

- OSTRENSKY, A, MA MARCHIORI & LH POERSCH. 1992. Toxicidade aguda da amônia no processo produtivo de pós-larvas de *Penaeus paulensis*, Perez-Farfante, 1967. *An. Acad. Bras. Cien.*, 64(4): 383-389.
- OSTRENSKY, A & W WASIELESKY, 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the São Paulo shrimp *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. *Aquaculture*. 132: 339-347.
- PEIXOTO, SRM. 1996. Efeito da amônia na performance reprodutivo do camarão rosa *Penaeus paulensis* capturado no estuário da Lagoa dos Patos. Monografia de graduação, curso de Oceanologia, FURG, Rio Grande, RS. 41.
- SACHISIDA, A. 1997. Efeito do nitrato no crescimento de juvenis do camarão rosa *Penaeus paulensis* (Crustacea: Decapoda) Monografia de graduação, curso de Oceanologia, FURG, Rio Grande, RS.
- SANTOS, MHS, KF MIRANDA, LH POERSCH & W WASIELESKY. 1993. Efeito agudo do nitrato sobre alevinos da tainha *Mugil platanus* (Pisces: Mugilidae). *Anais do Simpósio Brasileiro sobre Cultivo de Camarões*. 811-821.
- SPRAGUE, JB. 1971. Measurement of pollutant toxicity to fish-III. Sublethal effects and "safe" concentrations. *Water Res.*, 5:245-266.
- TAHON, JP, D van HOOFF, C VINCKIER, R WITTERS, M de LEY & R LONHE. 1988. The reaction of nitrite with the haemocyanin of *Astacus leptodactylus*. *Biochem. J.* 249: 233-242.
- THURSTON, RV, RC RUSSO & CE SMITH. 1978. Acute toxicity of ammonia and nitrite to cutthroat trout fry. *Trans. Am. fish. Soc.*, 107: 361-368.
- THURSTON, RV. 1980. Some factor affecting the toxicity of ammonia to fishes. *EPA Ecol. Res. Ser.*, EPA-600/9-80-034: 118-137.
- TOMASSO, JR. 1994. Toxicity of nitrogenous Wastes to Aquaculture Animals. *Reviews Fish. Sci.*, 2(4): 291-314.
- TSAI SJ & JC CHEN. 2002. Acute toxicity of nitrate on *Penaeus monodon* juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*. 89: 127-137

- WAJSBROT N, A GASITH, MD KROM, TM SAMOCH. 1990. Effect of dissolved oxygen and the molt stage on the acute toxicity of ammonia to juvenile green tiger prawn *Penaeus semisulcatus*. *Environ. Toxicol. Chem.* 9: 497-504
- WASIELESKY, W. 2000. Cultivo de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda, Penaeidae) no estuário da Lagoa dos Patos: efeitos dos parâmetros ambientais. Tese de doutorado. Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, RS, 199.
- YU, JP & K HIRAYAMA. 1986. The effect of un-ionized ammonia on the growth of the rotifer in mass culture. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 52: 1509-1513.

## Capítulo II

TOXICIDADE CRÔNICA DE AMÔNIA, NITRITO E NITRATO SOBRE OS  
JUVENIS DE CAMARÃO-ROSA *Farfantepenaeus brasiliensis* (LATREILLE, 1817)  
(CRUSTACEA: DECAPODA).

## Resumo

Em geral, o efeito adverso de um composto químico presente na água varia com a concentração do mesmo, o tempo de exposição ao composto, à natureza do agente químico a idade dos organismos e a espécie exposta. Assim, o nitrogênio não necessariamente causa efeitos adversos sobre o camarão testado quanto à toxicidade aguda, uma vez que esta pode promover efeitos subletais quando expostos em longo prazo. Juvenis de *Farfantepenaeus brasiliensis* ( $\pm 0,61$  g) foram expostos a concentrações subletais de amônia, nitrito e nitrato correspondente aos "níveis de segurança" da espécie, durante 40 dias; a temperatura foi de 25°C e a salinidade foi de 28. Analisando o crescimento e a sobrevivência de juvenis expostos a amônia, nitrito e nitrato após 40 dias de experimento de toxicidade todos os grupos diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) do grupo controle. De acordo com os resultados observou-se que o camarão *F. brasiliensis* é suscetível aos compostos em concentrações equivalentes aos níveis de segurança propostos para a espécie.

**PALAVRAS-CHAVE:** Nitrogenados, Crescimento, Sobrevivência.

## Abstract

In general, the adverse effect of a chemical compound present in the water varies with the concentration of the same, time of exposure to the compound, the chemical nature of the age and species of organisms exposed. Thus, the nitrogen does not necessarily cause adverse effects on shrimp tested for acute toxicity, since this might promote sublethal effects when exposed to long term. Juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* ( $\pm 0.61$ g) were exposed to sublethal concentrations of ammonia, nitrite and nitrate corresponding to the "safe levels" of the species for 40 days, the temperature was 25°C and salinity was 28. Analyzing the growth and survival of juveniles exposed to ammonia, nitrite and nitrate after 40 days toxicity test all groups differed significantly ( $p < 0.05$ ) in the control group. According to the results it was observed that the shrimp *F. brasiliensis* was not susceptible to nitrogen compounds at concentrations equivalent safe levels proposed for the species.

**KEYWORDS:** Nitrogen, Growth, Survival.

## INTRODUÇÃO

A manutenção e o conhecimento dos limites de tolerância de uma espécie, em relação à qualidade da água, são requisitos indispensáveis em qualquer sistema de criação (Kinne 1976). Tais fatores influenciam decisivamente o sucesso ou fracasso dessa atividade produtiva (Ostrensky & Wasielesky 1995). Na criação de organismos aquáticos, os resíduos de nitrogênio são degradantes comuns do meio (Tomasso 1994), sendo que a excreção dos organismos cultivados e a degradação dos restos alimentares, as principais fontes dessas substâncias (Gross et al. 2000).

A concentração e o tempo necessário para um composto produzir um efeito adverso variam conforme o agente químico, a espécie e a severidade do efeito. Os efeitos adversos ou tóxicos podem ser produzidos em laboratório ou ambiente natural, por meio de exposições letais (concentrações elevadas e por um curto período de tempo) ou crônicas (concentrações subletais e por um longo período de tempo) ao produto químico poluente (Rand & Petrocelli 1985). A sensibilidade dos organismos para um tóxico pode variar de acordo com o seu estágio de desenvolvimento, assim como o estado de saúde dos organismos (Wajsbrodt *et al.* 1993).

Os compostos nitrogenados não necessariamente causam mortalidade ou diminuição de crescimento em camarões expostos a testes de toxicidade aguda (96 horas), no entanto efeitos subletais em longo prazo podem surgir. Assim, existe a possibilidade de avaliar possíveis efeitos adversos gerados em longo prazo pelos compostos nitrogenados, presentes em níveis subletais, através de testes de toxicidade crônica. As concentrações que produzem efeitos crônicos são bastante inferiores àquelas que apresentam efeitos agudos observáveis, como por exemplo, a mortalidade (Rand & Petrocelli 1985).

Apesar da grande maioria dos cultivos serem realizados com a espécie exótica *L. vannamei*, espécies nativas de camarão marinho como o *Farfantepenaeus brasiliensis* já demonstraram potencial para o cultivo (Lopes *et al.* 2009). O desenvolvimento do cultivo de espécies de camarão nativo permite a realização desta atividade em estruturas de baixo custo, como gaiolas e/ou cercados, os quais podem ser instalados em corpos de água naturais, possibilitando a inserção de comunidades de baixa renda nesta atividade (Wasielesky *et al.* 2004).

Outra possibilidade é o desenvolvimento de programas de repovoamento de camarão, principalmente em áreas que, historicamente, o declínio das capturas vem sendo registrado, como é o caso do estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande, RS, afetando diretamente as comunidades de pescadores artesanais dessa região (D’Incao *et al.* 2002).

Assim, baseado nos antecedentes citados acima, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos de concentrações subletais de amônia, nitrito e nitrato na sobrevivência e crescimento dos juvenis de *F. brasiliensis*, em laboratório.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Estação Marinha de Aquicultura (EMA) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e os juvenis de *F. brasiliensis* foram oriundos dos processos de maturação, larvicultura e berçário realizado no próprio laboratório.

Os experimentos foram realizados em tanques com volume de 300 litros, onde os juvenis (n = 30) com peso médio de 0,61g foram avaliados para determinação da toxicidade crônica dos compostos nitrogenados.

O experimento foi realizado em tratamento controle e concentrações de amônia, nitrito e nitrato, apresentadas na Tabela I. As concentrações testadas corresponderam aos “níveis de segurança” da espécie (Campos *et al.* 2012) e a metade dos valores dessas concentrações. A temperatura da água foi de 25°C e salinidade de 28.

Tabela I – Concentrações de amônia total, nitrito e nitrato utilizadas nas diferentes unidades experimentais.

Nitrogenado	Tratamento	Concentrações (mg/L)
Controle		0
		0
Amônia	A	0,44
	B	0,88
	C	5,30
Nitrito	D	10,59
	E	45,60
Nitrato	F	91,20

Os valores das concentrações desejadas foram obtidos por meio de soluções estoque, feitas com cloreto de amônia P.A. (Synth<sup>®</sup>), nitrito de sódio P.A. (Synth<sup>®</sup>) e nitrato de sódio P.A. (Synth<sup>®</sup>). Tanto no grupo controle como nos demais tratamentos, foram utilizados 30 juvenis por unidade experimental, e os testes foram realizados com três repetições para cada tratamento.

O experimento teve duração de 40 dias, sendo a água de cada tratamento totalmente renovada a cada 48h e as soluções adicionadas novamente, para manutenção das respectivas concentrações. Diariamente foi feita sifonagem para retirada de excretas e a aeração foi provida constantemente. A temperatura e salinidade, quando necessária, foram ajustadas.

Amostras de água foram retiradas diariamente das unidades experimentais para medição dos parâmetros físicos e químicos (salinidade, temperatura e pH) e para análises dos nitrogenados testados na água. Os camarões foram alimentados duas vezes por dia com ração comercial (Camaronina CR2, Purina<sup>®</sup>), em uma proporção de 10% da biomassa total de cada unidade experimental, em porções de 5% por vez. A cada 10 dias, os camarões de cada unidade experimental foram pesados, utilizando-se uma balança eletrônica digital com precisão de 0,01g e respostos às respectivas unidades experimentais.

Os dados de sobrevivência e peso úmido foram submetidos à análise de variância ANOVA (uma via) levando-se em consideração as premissas necessárias. Quando foram verificadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) aplicou-se o teste de Tukey, com objetivo de determinar a partir de quando houve efeito tóxico significativo. Os valores em porcentagem sofreram transformação arco-seno para serem analisados (Zar, 1996).

## RESULTADOS

Os compostos nitrogenados testados foram monitorados a cada 48 horas; a temperatura e o pH foram monitorados diariamente, mantendo-se dentro dos padrões desejados para a realização do experimento. Os valores médios dos compostos nitrogenados, temperatura e pH registrados para cada tratamento, bem como os resultados de sobrevivência obtidos após os 40 dias de experimento, podem ser observados na tabela II.

Tabela II – Concentrações médias de amônia (A e B), nitrito (C e D), nitrato (E e F), temperatura (°C), pH e percentual de sobrevivência de juvenis de *Farfantepenaeus brasiliensis* nos diferentes tratamentos durante os 40 dias do experimento. Os dados correspondem à média  $\pm$  desvio padrão.

	[ ] (mg/L)	pH	T°C	Sobrevivência (%)
Controle	-	8,31 $\pm$ 0,13	24,96 $\pm$ 0,21	77,78
A	0,46 $\pm$ 0,05	8,27 $\pm$ 0,11	24,90 $\pm$ 0,23	64,44
B	0,88 $\pm$ 0,08	8,32 $\pm$ 0,15	24,87 $\pm$ 0,26	60,00
C	5,32 $\pm$ 0,18	8,27 $\pm$ 0,13	24,86 $\pm$ 0,27	67,78
D	10,59 $\pm$ 0,25	8,31 $\pm$ 0,16	24,88 $\pm$ 0,22	58,89
E	45,61 $\pm$ 0,58	8,30 $\pm$ 0,15	24,96 $\pm$ 0,24	67,78
F	91,29 $\pm$ 0,36	8,27 $\pm$ 0,16	24,95 $\pm$ 0,23	56,67

As taxas de sobrevivência dos juvenis de *F. brasiliensis* expostos à amônia, nitrito e nitrato, ao longo do experimento, estão expressas na figura 1. Para o grupo controle, A e B, não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos nos dias 0 a 30. Entretanto, no dia 40 os grupos A e B diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) do grupo controle (Fig. 1a).

Entre os grupos controle, C e D, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) nos dias 0, 10 e 30. No dia 20 houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o controle e os grupos C e D. Com 40 dias, existiram diferença significativa entre todos os grupos (Fig. 1b).

Para o grupo controle, E e F, não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos nos dias 0 e 10. No dia 20 houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o controle e os grupos E e F, enquanto que com 40 dias existiram diferença significativa entre todos os grupos (Fig. 1c).

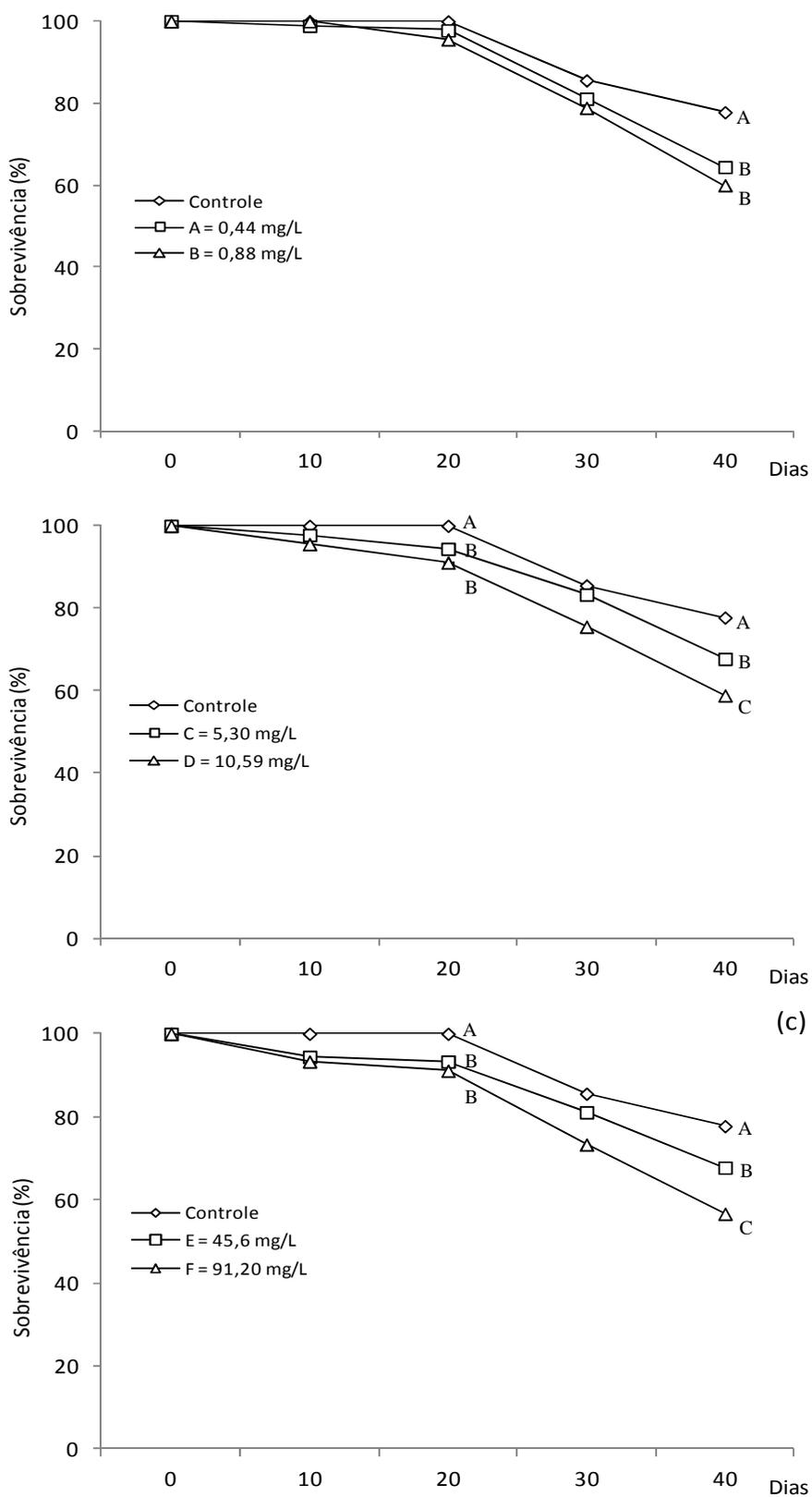


Figura 1 – Sobrevivência dos juvenis de *Farfantepenaeus brasiliensis* submetidos a concentrações subletais de amônia (a), nitrito (b) e nitrato (c).

Com relação ao crescimento dos juvenis de *F. brasiliensis*, a maior taxa ocorreu no tratamento controle em relação aos demais tratamentos. Foram detectadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) a partir de 30 dias, entre o tratamento controle x B, controle x C e D. A partir de 40 dias houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o tratamento controle e os nitrogenados testados. O crescimento em peso úmido, nas diferentes concentrações de amônia, nitrito e nitrato é apresentado na figura 2.

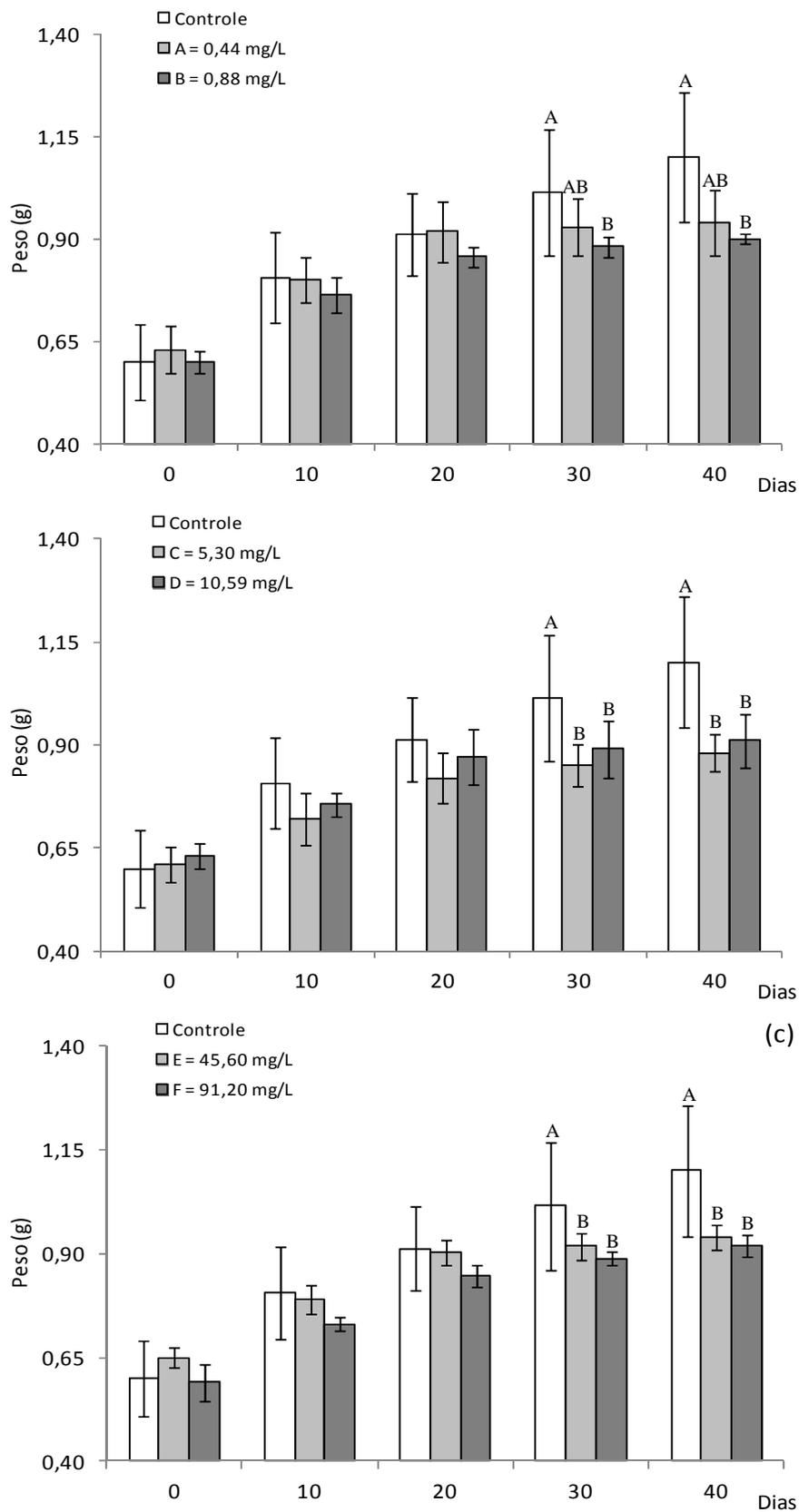


Figura 2 – Crescimento de juvenis de *Farfantepenaeus brasiliensis* em concentrações subletais de amônia (a), nitrito (b) e nitrato (c). Barras = Erro Padrão

## DISCUSSÃO

A temperatura da água durante o experimento permaneceu entre 24 a 32°C, ideal para o crescimento máximo das espécies de peneídeos (Van Wyk & Scarpa 1999). Os reais níveis de segurança, para diferentes espécies de organismos aquáticos cultivados, podem apresentar variações acentuadas em relação aos valores obtidos em testes de curta duração (Tomasso 1994). Neste trabalho, os produtos nitrogenados testados tiveram suas concentrações baseadas em níveis de segurança correspondente a 10% da CL<sub>50</sub> (96 h), determinados pelos índices de Sprague (1971).

Os resultados obtidos evidenciam que o nível de segurança proposto por esse método pode acarretar em erros de estimativa de concentrações, que sejam realmente crônicas para *F. brasiliensis*. Assim, é necessária a realização de experimentos com exposições de longa duração, a fim de realmente validar os níveis estimados, conforme Tomasso (1994).

Efeitos adversos são observados em sistemas de criação de crustáceos quando mantidos em condições inadequadas da água de cultivo (Montoya *et al.* 1999) e em populações selvagens em ambientes naturais altamente contaminados com matéria orgânica (Dyer *et al.* 2003). A amônia é o produto final do catabolismo protéico da maioria dos organismos aquáticos (Kinne 1976), estando presente no ambiente aquático na forma ionizada (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e não ionizada (NH<sub>3</sub>), que possui capacidade de difusão pelas membranas celulares (Fromm & Gillette 1968). A amônia ionizada possui efeito menos pronunciado nos organismos (Yu & Hirayama 1986).

Nesse contexto, após 30 dias de exposição à amônia, a sobrevivência dos camarões nos tratamentos com 0,44 e 0,88 mg/L não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle. Para o mesmo período, o crescimento em peso úmido dos camarões mostrou que uma concentração tão baixa quanto o nível de segurança determinado por Campos *et al.* (2012) causou retardo no crescimento da mesma. Após 40 dias, até metade do nível de segurança foi estatisticamente diferente ao tratamento controle.

Wickins (1976) trabalhando com outras espécies de camarões peneídeos (*Penaeus japonicus*, *P. occidentalis*, *P. schmitti*, *P. semisulcatus* e *P. setiferus*) durante 21 dias, verificou efeitos deletérios no crescimento de camarões expostos a concentrações subletais de amônia, onde concentrações médias de 0,55 mg/L (NH<sub>3</sub>)

reduziu o crescimento destas espécies em 50%, quando comparadas com os tratamentos controle.

Elevados níveis de amônia podem ser prejudiciais para os crustáceos, causando vários efeitos adversos tais como redução do crescimento e sobrevivência (Lin & Chen 2001). Wasielesky *et al.* (1994) confirmaram que as taxas de crescimento de pós-larvas de *F. paulensis* sofreram reduções significativas em concentrações de 0,07 a 0,14 mg/L de amônia gasosa (N-NO<sub>2</sub>). Miranda-Filho *et al.* (2009), trabalhando com juvenis da mesma espécie, também verificou redução de crescimento, porém seus experimentos tiveram duração de 75 dias. Já Furtado *et al.* (2011), trabalhando com *Litopenaeus vannamei* em sistema BFT (Tecnologia de bioflocos) com concentrações de amônia sugeridas por Lin & Chen (2001), não encontraram efeitos significativos da amônia sobre os camarões.

O nitrito é o composto intermediário na nitrificação bacteriana da amônia a nitrato (em meios oxidantes), ou produto da denitrificação do nitrato (em ambientes redutores), sendo tóxico para peixes (Tsai & Chen 2002). O nitrito é uma forma nitrogenada altamente tóxica para organismos aquáticos, causando mortalidade em larviculturas e sistemas de cultivo (Brownell 1980). A presença de nitrito no meio aquático, em elevadas concentrações, pode causar problemas hemolinfáticos, atuando sobre o processo de transporte de oxigênio, transformando hemocianina em metahemocianina, a qual é incapaz de transportar oxigênio para os tecidos (Gross 2004). Com isto, diminui a quantidade de oxigênio disponível para o metabolismo (Tahon *et al.* 1988) e nestas condições, pode ocorrer hipóxia e mortalidade significativa (Chen *et al.* 1986).

Os resultados do presente estudo mostraram que os juvenis de *F. brasiliensis* somente apresentaram redução significativa de ganho em peso após 30 dias de teste. Entretanto, com 20 dias de exposição ao nitrito a sobrevivência dos camarões nos tratamentos C e D apresentaram diferenças significativas em relação ao controle.

Gross (2004) relata retardo de crescimento e mortalidade em fazendas instaladas em Israel que poderiam muito bem ser atribuída à elevada concentração de nitrito (8 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). Os efeitos crônicos do nitrito também foram estudados por Wickins (1976) em diferentes espécies de peneídeos, em concentrações de 6,2 mg/L (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) os quais causaram redução de 50% do crescimento em peso. Chen & Chen (1992)

ao expor juvenis de *P. monodon* a concentrações que variaram entre 2 e 20 mg/L de nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), durante 60 dias. Os camarões submetidos a 4, 8 e 20 mg/L de nitrito apresentaram ganho de peso significativamente menor. Wasielesky (2000) estudando juvenis de *F. paulensis* cita redução significativa de ganho de peso somente em concentrações de 20,4 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (equivalente a duas vezes o nível de segurança), após 30 dias de teste. Além disso, a espécie apresentou mortalidade de 61% na concentração de 10,2 mg/L de N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, mas apesar da alta taxa de mortalidade o crescimento dos camarões que sobreviveram não foi significativamente afetado pelo nitrito. Segundo o autor, esse fato provavelmente esteja relacionado à maior necessidade de oxigênio durante o processo de muda, sugerindo que o camarão que consegue passar pela fase de muda (ecdise), apresenta ganho de peso relativamente normal por um período.

Lin & Chen (2003), em experimentos com salinidade 35, constataram que valores de 25,7 mg/L de nitrito e acima podem reduzir o crescimento *L. vannamei*. Furtado *et al.* (2011) em seus experimentos de alcalinidade, também com esta mesma espécie, não verificaram efeito significativo do nitrito sobre os camarões, nas concentrações médias de 3,1 a 4,3 mg/L. Maicá *et al.* (2011) trabalhando com diferentes salinidades em sistema BFT, citam que os níveis de nitrito mais altos ocorreram em salinidade 2 e 25, e que quando a concentração de nitrito excedeu a faixa de segurança para juvenis de *L. vannamei* ( $\leq 1$  mg/L) (Van Wyk & Scarpa 1999), entre 20 e 30 dias, teve início a mortalidade dos organismos. As maiores taxas de mortalidade ocorreram em salinidade 2, assim é provável que a concentração de nitrito alcançado seja um dos os principais fatores que tem contribuído para a mortalidade, que aumentou significativamente com a redução da salinidade. Lin & Chen (2003) demonstraram a relação inversa entre salinidade e toxicidade ao nitrito para juvenis de *L. vannamei*, enfatizando que a susceptibilidade à toxicidade ao nitrito aumenta quando os animais são expostos a uma condição hiposmótica.

O nitrato é o composto nitrogenado considerado de mais baixo poder tóxico para os organismos aquáticos, sendo o menos prejudicial para Penaeidae (Van Wyk & Scarpa 1999). Esta substância pode causar efeitos letais ou subletais para diferentes organismos, ou ainda, atuar sinergicamente com outras formas nitrogenadas, tornando-

se extremamente importante o estudo dos seus efeitos tóxicos para diferentes espécies (Santos *et al.* 1993).

Wickins (1976) estima que concentrações de até 200 mg/L de nitrato não afetaria o crescimento dos camarões peneídeos. Entretanto, para o camarão *Macrobrachium rosenbergii*, há uma redução de 50% no crescimento quando os camarões são expostos a concentrações de 180 mg/L (Colt & Armstrong 1981). Já para juvenis de *F. paulensis*, quando expostos a concentração de 80,7 mg/L de nitrato, estes apresentaram taxas de crescimento significativamente menor quando comparado ao tratamento controle (Wasielesky 2000). No presente estudo, os juvenis de *F. brasiliensis* foram expostos às concentrações de 45,6 e 91,2 mg/L de nitrato, com o seu crescimento sendo afetado a partir de 40 dias de exposição. Nesse contexto, o presente trabalho corrobora os autores citados.

De acordo com Frías-Espéricueta *et al.* (1999), a interação entre a produção dos compostos nitrogenados e produção de camarão é uma consideração importante para aquicultores. O camarão *F. brasiliensis* se mostrou susceptível aos compostos nitrogenados, em termos de sobrevivência e/ou crescimento, em concentrações que equivalem aos níveis de segurança proposto para a espécie. Campos *et al.* (2012) citam a necessidade de precauções no manejo de cultivos de camarões para evitar o acúmulo destes compostos nos sistemas de produção. Assim, cuidados especiais referentes ao controle das concentrações de produtos nitrogenados em cultivos de *F. brasiliensis* devem ser tomados, pois os três tóxicos mostraram que podem afetar significativamente a produção final desta espécie em cativeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROWNELL, CL. 1980. Water quality requirements for first feeding in marine fish larvae: ammonia, nitrite and nitrate. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 44: 269-283.
- CAMPOS, BR, K MIRANDA-FILHO, F D'INCAO, L POERSCH & W WASIELESKY. 2012. Toxicidade aguda da amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda). *Atlântica*. No prelo 2012.

- CHEN, JC, CK CHIN & CK LEE. 1986. Effects of ammonia and nitrite on larval development of the shrimp *Penaeus monodon*. The first Asian fisheries forum. *Asian fisheries society*. 657-662.
- CHEN, JC & SF CHEN. 1992. Effects of nitrite on growth and molting of *Penaeus monodon* juveniles. *Comp. Biochem. Physiol.* 101C (3): 453-458.
- COLT, JE & DA ARMSTRONG. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. In: ALLEN, LJ & EC KINNEY. (Eds.), Proceedings of the Bioengineering Symposium for Fish Culture Section. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, pp. 34-47.
- D'INCAO, F, H VALENTINI & LF RODRIGUES. 2002. Avaliação da pesca de camarões nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. *Atlântica*. 20, 103-116.
- DYER, SD, C PENG, DC MCAVOY, NJ FENDINGER, P MASSCHELEYN, LV CASTILLO & JM LIM. 2003. The influence of untreated wastewater to aquatic communities in the Balatuin River. *The Philippines. Chemosphere*. 52: 43-53.
- FRIAS-ESPERICUETA, MG, M HARFUSH-MELENDZ, JI OSUNA-LSPEZ, F PAEZ-OSUNA. 1999. Acute toxicity of ammonia to juvenile shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 62: 646-652.
- FROMM, PO & JR GILLETE. 1968. Effect of ambient ammonia on blood ammonia and nitrogen excretion of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.* 26: 887-896.
- FURTADO, PS, LH POERSCH & W WASIELESKY. 2011. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. *Aquaculture*. 321: 130-135.
- GROSS, A. 2004. Acute and chronic effects of nitrite on white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in low-salinity brackish water. *Journ. Aquacult. Soc.* 35(3): 315-321.
- KINNE, O. 1976. *Mar. Ecol.* Ed. John Wiley & Sons, NY, USA, Vol III, part 1, 577 pp.

- LIN, YC & JC CHEN. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 259: 109-119.
- LIN, YC & JC CHEN. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*. 224: 193-201.
- LOPES, DA, SRM PEIXOTO, W WASIELESKY & ELC BALLESTER. 2009. Análise comparativa da criação dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis* criados em gaiolas em ambiente estuarino. *Ciência Rural* (UFSM. Impresso). 39: 1540-1546.
- MAICÁ, PF, MR BORBA & W WASIELESKY. 2011. Effect of low salinity on microbial floc composition and performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles reared in a zero-water-exchange super-intensive system. *Aquacult. Res.*: 1-10.
- MIRANDA-FILHO, KC, GLL PINHO, W WASIELESKY & A BIANCHINI. 2009. Long-term ammonia toxicity to the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 150: 377-382.
- MONTOYA, RA, AL LAWRENCE, WE GRANT & M VELASO. 1999. Simulation of nitrogen dynamics and shrimp growth in an intensive shrimp culture system: effects of feed and feeding parameters. *Ecol. Model.* 122: 81-95.
- OSTRENSKY, A & W WASIELESKY. 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the São Paulo shrimp *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. *Aquaculture*. 132: 339-347.
- RAND, GM & PR PETROCELLI. 1985. *Fundamentals of aquatic toxicology*. Ed. Taylor & Francis, USA, pp. 666.
- SANTOS, MHS, KF MIRANDA, LH POERSCH & W WASIELESKY. 1993. Efeito agudo do nitrato sobre alevinos da tainha *Mugil platanus* (Pisces: Mugilidae). *Anais do Simpósio Brasileiro sobre Cultivo de Camarões*. 811-821.
- SPRAGUE, JB. 1971. Measurement of pollutant toxicity to fish-III. Sublethal effects and "safe" concentrations. *Water Res.* 5: 245-266.

- TAHON, JP, D VAN HOOFF, C VINCKIER, R WITTERS, M DE LEY & R LONHE. 1988. The reaction of nitrite with the haemocyanin of *Astacus leptodactylus*. *Biochem. J.* 249: 233-242.
- TSAI, SJ & JC CHEN. 2002. Acute toxicity of nitrate on *Penaeus monodon* juveniles at different salinity levels. *Aquaculture.* 89: 127-137
- TOMASSO, JR. 1994. Toxicity of nitrogenous Wastes to Aquaculture Animals. *Reviews Fish. Sci.* 2(4): 291- 314.
- VAN WYK, P & J SCARPA. 1999. Water quality requirements and management. In: Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems (ed. by P.Van Wyk). Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, FL, pp.128-138.
- WAJSBROT, N, A GASITH, A DIAMANT & DM POPPER. 1993. Chronic toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* and related histopathological effects. *J. Fish.Biol.* 42: 321-328.
- WASIELESKY, W, MA MARCHIORI (IN MEMORIAN) & MHS SANTOS. 1994. Efeito da amônia no crescimento de pós-larvas do camarão rosa, *Penaeus paulensis*, Pérez-Farfante, 1967 (Decapoda:Penaeidae). *Nauplius.* 2: 99-105.
- WASIELESKY, W. 2000. Cultivo de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda, Penaeidae) no estuário da Lagoa dos Patos: efeitos dos parâmetros ambientais. Tese de doutorado. Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, RS, pp. 199.
- WASIELESKY, W, S PEIXOTO, L JENSEN, LH POERSCH & A BIANCHINI. 2004. Estudo preliminar do cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* em cercados no estuário da Lagoa dos Patos. *Bol. Inst. Pesca Sao Paulo*, 30(1): 63 – 70.
- WICKINS, JF. 1976. The tolerance of warm-water prawns to recirculated water. *Aquac.* 9: 19-37.
- YU, JP & K HIRAYAMA. 1986. The effect of un-ionized ammonia on the growth of the rotifer in mass culture. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 52: 1509-1513.
- ZAR, JH. 1996. *Biostatistical analysis.* 3.ed. New Jersey: Prentice Hall. pp. 662.

### Capítulo III

EFEITOS DA AMÔNIA, NITRITO E NITRATO NO CONSUMO DE OXIGÊNIO  
EM JUVENIS DE CAMARÃO-ROSA *Farfantepenaeus brasiliensis* (LATREILLE,  
1817) (CRUSTACEA: DECAPODA).

## Resumo

O camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* é uma das espécies de camarões nativos da região sul do Brasil que possui potencial para a aquicultura; estudos já foram desenvolvidos em estruturas de cultivo alternativas como cercados e gaiolas no estuário da Lagoa dos Patos. No entanto, são necessários estudos mais especializados para se desenvolver o pacote tecnológico de cultivo desta espécie. Em ambientes de cultivo intensivo ocorre o acúmulo de compostos nitrogenados resultantes da excreção dos camarões, da decomposição do alimento ofertado e dos processos de nitrificação. O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade da amônia, nitrito e nitrato sobre o consumo de oxigênio de juvenis de camarão-rosa *F. brasiliensis*. Os camarões (peso inicial  $0,7 \pm 0,15g$ ) foram expostos a níveis de 50%, 100% e 200% do nível de segurança para amônia, nitrito e nitrato durante 30 dias. Foram individualmente coletados e colocados em câmaras de respirometria onde o consumo de oxigênio foi mensurado ao longo de duas horas. Os juvenis de camarão-rosa expostos a concentrações de nitrogenados com 200% do nível de segurança para a espécie expressaram o maior consumo de oxigênio ( $p < 0,05$ ).

**PALAVRAS-CHAVE:** Compostos nitrogenados, Metabolismo, Peneídeo.

## Abstract

The pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* is one of the native shrimp species of southern region of Brazil that has potential for aquaculture; studies have already been developed in alternative cultivation structures like fences and cages in the Patos Lagoon estuary. However, it is necessary more specialized studies to develop the technological cultivation package of this species. In environments of intensive cultivation occurs the accumulation of nitrogenous compounds result of the shrimp excretion, of the decomposition of offered food and the nitrification processes. The study intended to evaluate the ammonia, nitrite and nitrate toxicity on the consumption of oxygen in pink shrimp *F. brasiliensis* juveniles. The shrimps (initial weight  $0.7 \pm 0.15g$ ) were exposed to levels of 50%, 100% and 200% of the safe level for ammonia, nitrite and nitrate during 30 days. They were individually collected and placed in respirometry chambers where the oxygen consumption was measured over a period of two hours. The pink

shrimp juveniles exposed to nitrogen concentrations with 200% of the safe level for the specie expressed the highest oxygen consumption ( $p < 0.05$ ).

**KEYWORDS:** Nitrogen Consumption, Metabolism, Peneids.

## INTRODUÇÃO

O uso de estruturas alternativas para criação de peixes e camarões, como cercados e tanques rede, pode ser uma alternativa de trabalho e renda para populações que vivem próximas a lagoas costeiras (Wasielesky *et al.* 2004). No entanto, a escolha das espécies a serem cultivadas deve ser feita de maneira a não expor o ambiente a possíveis problemas ambientais. O camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* é uma espécie nativa da costa brasileira (D’Incao 1999) e que possui potencial para ser cultivada no sul do Brasil (Lopes *et al.* 2009). Lopes *et al.* (2009) ao cultivar *Farfantepenaeus paulensis* e *F. brasiliensis* em gaiolas por 65 dias, concluíram que ambos apresentam potencial para a produção em estruturas alternativas e incentivam que novas pesquisas sejam realizadas para o desenvolvimento de um pacote tecnológico de produção dessas espécies.

O sucesso do cultivo de animais aquáticos depende da manutenção adequada da qualidade da água, provendo um ambiente propício para o crescimento animal (Boyd & Tucker 1998). A atenção ao manejo do cultivo aumenta proporcionalmente com intensificação do sistema de produção, evitando-se problemas como as baixas concentrações de oxigênio e acúmulo de toxinas na água, que são prejudiciais ao crescimento e sobrevivência dos animais (Fast & Boyd 1992).

Segundo Gross *et al.* (2000), a excreção dos organismos cultivados, bem como a degradação do alimento não consumido e dos restos alimentares são as principais fontes de compostos nitrogenados nos viveiros de cultivo, presentes nas formas de amônia, nitrito e/ou nitrato.

Os compostos nitrogenados, quando em concentrações elevadas, afetam processos fisiológicos que são importantes para as atividades de aquicultura. Dentre estes processos, a osmorregulação e a respiração podem ser afetadas, resultando em baixo crescimento ou mesmo mortalidade dos camarões (Wasielesky, 2000).

Sendo assim, o consumo de oxigênio dos camarões é um dado importante para se estimar a capacidade de carga de uma unidade de cultivo, bem como em cálculos a cerca da aeração mecânica necessária para manutenção de valores ideais de oxigênio dissolvido no sistema de produção (Bett & Vinatea 2009).

Outro fator importante a ser considerado nos sistemas semi-intensivos e intensivos de produção é a concentração de oxigênio dissolvido, que além de ser

consumido pelos animais confinados, também participa dos processos biológicos naturais (Vinatea 2004). Em alguns casos, esse parâmetro pode ser mais limitante que o próprio alimento (Krammer 1987). Durante o ciclo de engorda dos camarões, torna-se imprescindível a manutenção de níveis adequados de oxigênio dissolvido, pois em condições inadequadas tornam-se potencialmente estressantes, limitando o crescimento e tornando os camarões mais susceptíveis a doenças, podendo ainda, em casos extremos, levar o animal à morte (Jiang *et al.* 2005).

Muitos trabalhos têm sido realizados com camarões marinhos, visando determinar as taxas de consumo de oxigênio em função de uma série de variáveis (Gaudy & Sloane 1981; Licop 1985; Dall & Smith 1986; Tsuzuki 1995; Nan *et al.* 1995; Martinez-Palacios *et al.* 1996; Martínez *et al.* 1998). Contudo a maior parte das pesquisas analisou o consumo de oxigênio em diferentes níveis de temperatura e salinidade, pois são os fatores que afetam diretamente o metabolismo, além de sofrerem mudanças frequentes, tanto no ambiente quanto em viveiros de cultivo.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos dos compostos nitrogenados no consumo de oxigênio dos juvenis de *Farfantepenaeus brasiliensis* em condições de laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Estação Marinha de Aquicultura (EMA) do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e os juvenis de *F. brasiliensis* utilizados nas pesquisas foram oriundos do processo de larvicultura realizado no próprio laboratório.

Os camarões foram aclimatados durante uma semana em um tanque de 1000 L com aeração constante, temperatura (25°C) e fotoperíodo (12C/12E). A salinidade do sistema foi ajustada até atingir 28‰, com auxílio de refratômetro óptico (Atago, modelo 103, Tóquio, Japão). Após a aclimatação, foram selecionados os juvenis para a utilização no estudo, tanto para grupo controle como para os tratamentos com diferentes concentrações de amônia, nitrito e nitrato.

Os camarões com peso médio inicial de  $0,7 \pm 0,15$  g (n=15 por tratamento) foram estocados em tanques de polietileno (0,66 x 0,33 x 0,33 m) com 40 L de volume útil (densidade de estocagem de 71 camarões/m<sup>2</sup>), mantidos em salinidade 28 e 25°C de

temperatura. Foram alimentados com ração comercial (38% de proteína bruta), duas vezes ao dia em uma proporção de 10% da biomassa total de cada unidade experimental. As determinações de temperatura, pH e oxigênio foram realizadas diariamente pela manhã e pela tarde, com auxílio de pH-metro (modelo WTW pH-315i) e oxímetro (modelo 55 YSI). A cada 48h eram realizadas renovações de 100% do volume útil dos tanques.

No 30º dia foram capturados 10 camarões, de cada tratamento para análise do consumo individual de oxigênio. As medições foram realizadas em um respirômetro de fluxo contínuo, baseado no método de Lomholt & Johansen (1979). Este sistema utiliza uma bomba submersa (Resun® 400 L/h), que promove a circulação da água (a água utilizada apresentava as mesmas concentrações dos nitrogenados correspondentes a cada tratamento), mantendo constante a concentração de oxigênio na câmara, onde estavam colocados individualmente os camarões.

A câmara de respirometria foi modelada em cano de PVC 32 mm de diâmetro e 100 mm de comprimento, de cor marrom, para evitar o estresse dos camarões devido aos movimentos junto ao equipamento. As medidas das concentrações de oxigênio foram efetuadas na entrada e saída da referida câmara.

Os juvenis foram colocados na câmara do respirômetro e aclimatados por uma hora, até ocorrer estabilização do consumo de oxigênio. Após determinar o tempo básico para aclimação, as medições do consumo de oxigênio foram realizadas a cada 15 minutos no período de uma hora. O fluxo de água de cada câmara foi calculado a partir do volume de água que passou pela câmara, com o auxílio de proveta (100 ml), colocada na saída de água do respirômetro e correspondente medida do tempo. A quantidade de oxigênio consumido por cada camarão foi calculado pela fórmula abaixo:

$$CO = F \times (O_2E - O_2S) / P$$

CO = Consumo oxigênio (mgO<sub>2</sub> / g de camarão / h)

F = fluxo da água (L/h)

O<sub>2</sub>E = concentração de O<sub>2</sub> na entrada (mg/L)

O<sub>2</sub>S = concentração de O<sub>2</sub> na saída (mg/L)

P = Peso úmido do animal (g)

Os testes foram realizados em solução controle (onde não foi adicionado nenhum dos compostos nitrogenados) e concentrações de amônia, nitrito e nitrato. As concentrações onde os camarões foram submetidos corresponderam aos “níveis de segurança” (N.S.) da espécie (Campos *et al.* 2012), à metade do N.S. e ao dobro N.S. (Tab. I).

Tabela I – Concentrações de amônia total (A, B e C), nitrito (D, E e F) e nitrato (G, H e I) utilizadas ao longo dos 30 dias de experimento.

Nitrogenado	Réplicas	Concentrações (mg/L)
Controle	-	-
	-	-
	-	-
Amônia	A	0,44
	B	0,88
	C	1,76
	D	5,30
Nitrito	E	10,59
	F	21,18
	G	45,60
Nitrato	H	91,20
	I	182,4

Os valores das concentrações desejadas foram obtidos por meio de soluções estoque, feitas com cloreto de amônia P.A., nitrito de sódio P.A. e nitrato de sódio P.A.

Ao final do experimento todos os camarões de cada unidade experimental foram pesados individualmente e os seguintes parâmetros determinados:

- Peso médio final (g)
- Taxa de crescimento específico (TCE%) =  $100 \times (\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{dias de experimento}$
- Sobrevivência (%) =  $([n^{\circ} \text{ inicial de camarões} - n^{\circ} \text{ de camarões mortos}] / n^{\circ} \text{ inicial de camarões}) \times 100$

Os dados de consumo de oxigênio dos camarões nas diferentes condições de amônia, nitrito e nitrato foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), considerando-se as premissas necessárias. Os valores em percentagem sofreram transformação arco-seno para serem analisados (ZAR, 1996). Quando detectadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias, foi aplicado o teste de Fisher LSD.

## RESULTADOS

A temperatura, salinidade, pH, oxigênio dissolvido e compostos nitrogenados foram monitorados diariamente, mantendo-se dentro dos padrões desejados para a realização do experimento (Tab. II).

Tabela II – Concentrações médias de amônia total (A, B e C), nitrito (D, E e F), nitrato (G, H e I), oxigênio dissolvido (mg/L), pH, temperatura (°C) e salinidade (‰) nos diferentes tratamentos durante os 30 dias do experimento. Os dados correspondem à média  $\pm$  desvio padrão.

	[ ] (mg/L)	O.D. (mg/L)	pH	T°C	Sal (‰)
Controle	-	6,26 $\pm$ 0,50	8,31 $\pm$ 0,13	25 $\pm$ 0,21	28 $\pm$ 0,25
A	0,49 $\pm$ 0,12	6,23 $\pm$ 0,47	8,27 $\pm$ 0,11	25 $\pm$ 0,23	28 $\pm$ 0,35
B	0,91 $\pm$ 0,07	6,30 $\pm$ 0,51	8,32 $\pm$ 0,15	25 $\pm$ 0,26	28 $\pm$ 0,31
C	1,74 $\pm$ 0,08	6,32 $\pm$ 0,31	8,30 $\pm$ 0,15	25 $\pm$ 0,22	28 $\pm$ 0,34
D	5,36 $\pm$ 0,10	6,20 $\pm$ 0,27	8,27 $\pm$ 0,13	25 $\pm$ 0,27	28 $\pm$ 0,40
E	10,64 $\pm$ 0,11	6,23 $\pm$ 0,40	8,31 $\pm$ 0,16	25 $\pm$ 0,22	28 $\pm$ 0,26
F	21,21 $\pm$ 0,26	6,12 $\pm$ 0,44	8,29 $\pm$ 0,16	25 $\pm$ 0,25	28 $\pm$ 0,33
G	45,69 $\pm$ 0,05	6,28 $\pm$ 0,46	8,30 $\pm$ 0,15	25 $\pm$ 0,24	28 $\pm$ 0,24
H	91,28 $\pm$ 0,23	6,35 $\pm$ 0,39	8,27 $\pm$ 0,16	25 $\pm$ 0,23	28 $\pm$ 0,30
I	182,56 $\pm$ 0,17	6,10 $\pm$ 0,42	8,28 $\pm$ 0,16	25 $\pm$ 0,24	28 $\pm$ 0,27

Os dados de peso médio final, taxa de crescimento específico e sobrevivência referente ao desempenho zootécnico do *F. brasiliensis* não apresentaram diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) (Tab. III).

Tabela III – Valores de peso médio final, taxa de crescimento específico (TCE) e sobrevivência nos diferentes tratamentos durante os 30 dias do experimento. Os dados correspondem à média  $\pm$  desvio padrão.

Tratamento	[ ] (mg/L)	Peso final	TCE(%)	Sobrevivência (%)
Controle	-	1,12 $\pm$ 0,32	2,34 $\pm$ 0,79	100
A	0,49 $\pm$ 0,12	1,30 $\pm$ 0,37	2,70 $\pm$ 1,07	100
B	0,91 $\pm$ 0,07	1,29 $\pm$ 0,49	2,87 $\pm$ 1,09	100
C	1,74 $\pm$ 0,08	1,15 $\pm$ 0,28	2,72 $\pm$ 0,49	92,3
D	5,36 $\pm$ 0,10	1,05 $\pm$ 0,23	2,22 $\pm$ 0,65	92,3
E	10,64 $\pm$ 0,11	1,15 $\pm$ 0,24	2,46 $\pm$ 0,65	92,3
F	21,21 $\pm$ 0,26	0,94 $\pm$ 0,28	2,12 $\pm$ 0,45	84,6
G	45,69 $\pm$ 0,05	1,06 $\pm$ 0,25	2,39 $\pm$ 0,44	100
H	91,28 $\pm$ 0,23	1,26 $\pm$ 0,24	2,78 $\pm$ 0,62	100
I	182,56 $\pm$ 0,17	0,97 $\pm$ 0,24	2,10 $\pm$ 0,69	92,3

O consumo médio de oxigênio de *F. brasiliensis* no tratamento controle foi de 2,01 mg O<sub>2</sub>/g/h. Quando comparado com o tratamento A, B e C, não ocorreram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos testados (Fig. 1a).

Para os tratamentos com nitrito, o consumo médio de oxigênio variou de 1,89 a 2,46 mg O<sub>2</sub>/g/h. O consumo foi afetado significativamente pelo nitrito ( $p < 0,05$ ) no tratamento F. Os demais tratamentos não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) entre si (Fig. 1b).

O consumo médio de oxigênio, nos tratamentos com nitrato, variou de 2,14 a 2,89 mg O<sub>2</sub>/g/h. O consumo foi afetado significativamente pelo nitrato ( $p < 0,05$ ) no tratamento I. Os demais tratamentos não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) entre si (Fig. 1c).

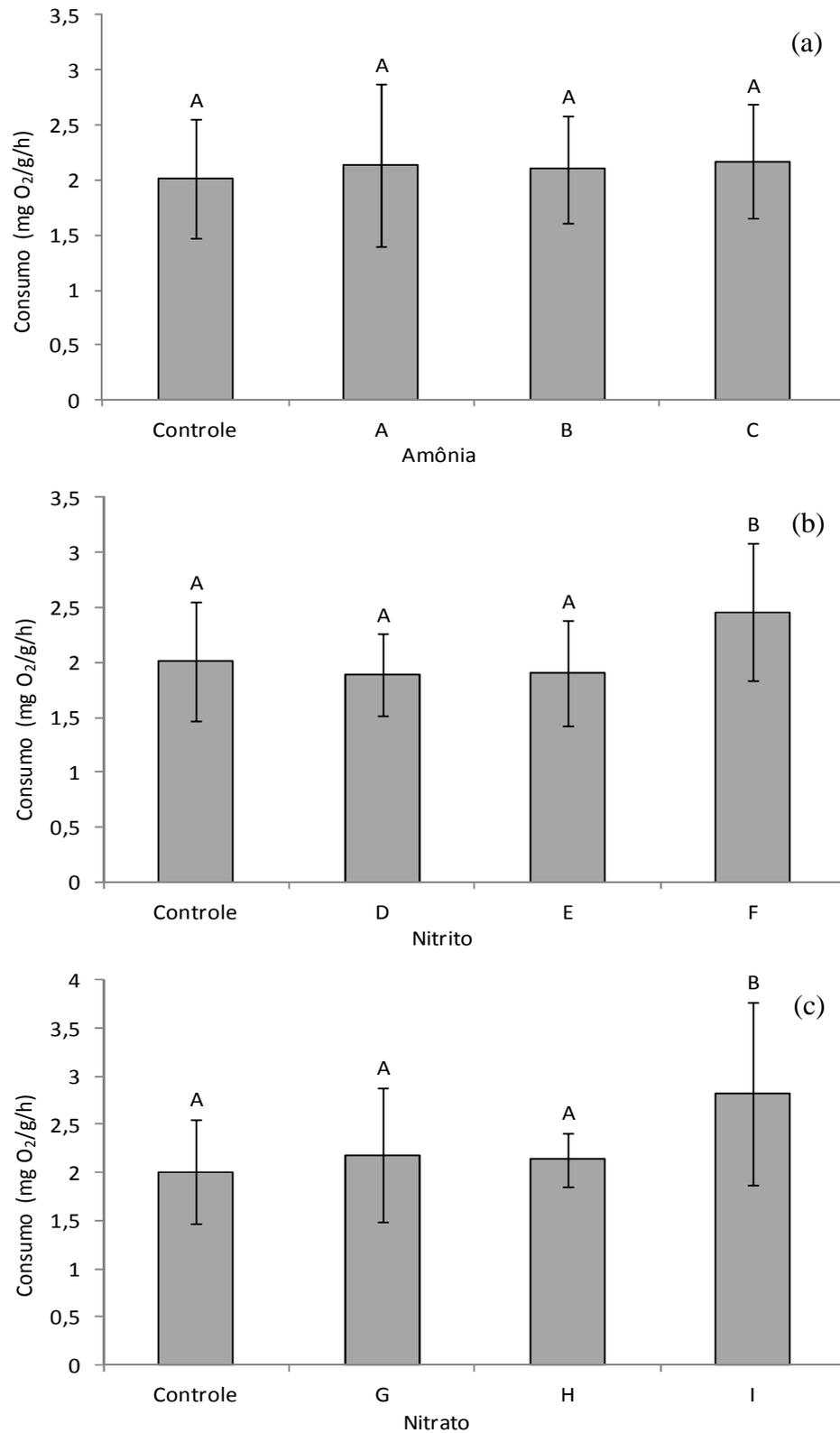


Fig. 1 – Consumo médio de oxigênio de juvenis de *Farfantepenaeus brasiliensis* em diferentes concentrações de amônia total (A, B e C), nitrito (D, E e F) e nitrato (G, H e I). Os dados são as médias  $\pm$  Erro Padrão. Letras iguais indicam médias estatisticamente iguais entre si ( $p > 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

A manutenção dos parâmetros de qualidade da água nos níveis requeridos pela espécie alvo a ser cultivada é importante, já que os fatores físicos e químicos do sistema de cultivo podem interferir diretamente no desempenho dos organismos aquáticos. Os compostos nitrogenados, de forma geral, causam efeitos significativos nos camarões marinhos (Wasielesky *et al.* 2003).

Os valores médios de pH mensurados nos diferentes tratamentos ao longo dos 30 dias de estudo estão na faixa considerada adequada para o cultivo de camarões marinhos (Van Wyk & Scarpa 1999). Conforme os mesmos autores, em águas ácidas com pH inferior a 6,5 ou básicas com pH superior a 9,5 podem causar danos nas brânquias e reduzir as taxas de crescimento dos camarões. Apesar de ocorrer um aumento da fração não ionizada ( $\text{NH}_3$ ), considerada mais tóxica aos camarões, em águas com pH superior a 8, não se verificou efeito significativo na redução da sobrevivência nos tratamentos com amônia. Segundo Van Wyk & Scarpa (1999), as concentrações ideais de oxigênio dissolvido devem ser superiores a 5,0 mg/L, de modo que as concentrações de oxigênio dissolvido mensuradas ao longo do estudo foram ideais para a espécie. A temperatura média de 25°C e salinidade média de 28‰ estiveram dentro da faixa considerada adequada para o crescimento dos camarões (Van Wyk & Scarpa 1999). No presente estudo, os valores mensurados de pH, oxigênio dissolvido, temperatura e salinidade não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ).

Pesquisas avaliando taxas de consumo de oxigênio de camarões marinhos expostos a diferentes condições de cultivo têm sido realizadas, principalmente em diferentes níveis de salinidade e temperatura. A salinidade provoca alterações em vários processos fisiológicos envolvidos na respiração de crustáceos, tais como o transporte de oxigênio pelos pigmentos respiratórios e trocas gasosas (Wheatly 1988). Conforme Brito *et al.* (2000), o crescimento de juvenis de *F. brasiliensis* é maior em salinidades superiores ao seu ponto isosmótico (25‰, 794 mOsm/kg), o qual é semelhante ao do camarão branco do pacífico *Litopenaeus vannamei* (24,7‰) (Castille & Lawrence 1981). Com relação ao efeito da temperatura no consumo de oxigênio, as taxas metabólicas, dentro dos limites de tolerância dos camarões, apresentam uma relação

direta com o aumento da temperatura, aumentando o consumo de oxigênio dos organismos (Schmidt-Nielsen 1997).

Durante o período de 30 dias de exposição dos animais, o desempenho zootécnico não apresentou diferenças significativas quanto à sobrevivência e taxa de crescimento específico. As taxas de sobrevivência ao final dos 30 dias de experimento foram elevadas visto que a densidade nas unidades eram superiores a 70 juvenis/m<sup>2</sup>. Lopes *et al.* (2009) obtiveram sobrevivências semelhantes as obtidas nesse estudo, porém trabalhando com 20 juvenis/m<sup>2</sup> em gaiolas ao longo de 65 dias. A taxa de crescimento específico dos camarões foi semelhante à obtida por Lopes *et al.* (2009), que foi de 2,98%.

Com relação aos efeitos da amônia, não foram detectadas alterações significativas no consumo de oxigênio após 30 dias de exposição. Entretanto, Racotta & Hernández-Herrera (2000) mostram um aumento gradual no consumo de oxigênio de juvenis de *L. vannamei* de acordo com o aumento do nível de amônia. Os mesmos autores mostraram que os camarões expostos a 38,52 mg/L amônia total apresentaram valores significativamente mais elevados de consumo quando comparado com camarões expostos a concentrações mais baixas (0,126; 6,48; 19,26 mg/L).

Nos tratamentos com nitrito, não se observaram diferenças significativas nas taxas de consumo de oxigênio entre os tratamentos, com exceção ao tratamento referente ao dobro do nível de segurança. Em estudos com o camarão-rosa *F. paulensis*, Wasielesky *et al.* (1998, 2003) observaram relação negativa entre concentrações de nitrito e consumo alimentar. Segundo os autores, a ação do nitrito sobre os pigmentos respiratórios e a capacidade de captação e transporte de oxigênio na hemolinfa, poderiam ser os responsáveis por causar a diminuição nas taxas de consumo alimentar, uma vez que causariam a redução do metabolismo aeróbico dos camarões.

Considerando que em condições normais as moléculas de oxigênio se ligam ao cobre em sítios ativos da hemocianina, na presença de concentrações elevadas de nitrito este se liga à hemocianina, ocupando o sítio ativo no qual o oxigênio deveria ligar-se, transformando a hemocianina em metahemocianina, a qual é incapaz de transferir oxigênio para os tecidos. Com isto, diminui a quantidade de oxigênio disponível para o metabolismo (Tahon *et al.* 1988).

De maneira geral, a ação tóxica do nitrato em animais aquáticos ocorre devido à conversão de pigmentos que transportam oxigênio (hemoglobina, hemocianina) para formas que não são capazes de transportar oxigênio (metahemoglobina) (Cheng & Chen 2002; Camargo *et al.* 2005). No entanto, devido à baixa permeabilidade das brânquias em relação ao nitrato, a captação de  $\text{NO}_3^-$  em animais aquáticos parece ser mais limitada do que a captação de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_2^-$ , contribuindo para a toxicidade relativamente baixa de nitrato (Cheng & Chen 2002; Alonso & Camargo 2003).

Meade & Watts (1995) examinaram os efeitos tóxicos de nitrato no consumo de oxigênio em juvenis de lagostas de água-doce *Cherax quadricarinatus*, durante 5 dias e não foi observada diferença significativa no consumo de oxigênio entre o controle (0 mg N- $\text{NO}_3/\text{L}$ ) e o tratamento com adição de 1000 mg N- $\text{NO}_3/\text{L}$ . Cheng & Chen (2002) descobriram que uma concentração de nitrato de 105 mg N- $\text{NO}_3/\text{L}$  causou redução de oxihemocianina e proteína no camarão *Marsupenaeus japonicus*. No presente estudo, não se observaram diferenças significativas nas taxas de consumo de oxigênio entre os tratamentos com nitrato, com exceção ao tratamento referente ao dobro do nível de segurança.

O consumo de oxigênio dos juvenis de *F. brasiliensis* expostos a diferentes concentrações de compostos nitrogenados foram semelhantes ao tratamento controle, mostrando uma alta tolerância desses organismos, uma vez que os valores utilizados nesse estudo foram elevados e dificilmente são atingidos em sistemas de cultivo. Apesar dessa tolerância quanto ao consumo de oxigênio, as concentrações de amônia, nitrito e nitrato devem ser monitoradas periodicamente, pois concentrações próximas aos “níveis de segurança” (N.S.) da espécie (Campos *et al.* 2012) podem eventualmente ser encontradas em tanques de cultivo.

O incremento das concentrações de nitrogenados acima dos níveis de segurança produz um estresse nos camarões, visualizado no aumento do consumo de oxigênio nos tratamentos referentes ao dobro do nível de segurança. Os níveis de segurança de amônia (0,88mg/L), nitrito (10,60mg/L) e nitrato (91,21mg/L) propostos experimentalmente para juvenis de camarão rosa *F. brasiliensis* são adequados para o desenvolvimento da espécie em estruturas de cultivo intensivo.

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que o nitrito e o nitrato foram fatores que afetaram, em longo prazo, as taxas de consumo de

oxigênio de *F. brasiliensis*. Assim, cuidados especiais referentes ao controle das concentrações destes produtos nitrogenados em cultivos de *F. brasiliensis* devem ser tomados, pois podem afetar a produção final desta espécie em cativeiro.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, A & JA CAMARGO. 2003. Short-term toxicity of ammonia, nitrite, and nitrate to the aquatic snail *Potamopyrgus antipodarum* (Hydrobiidae, Mollusca). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 70: 1006–1012.
- BOYD, CE & CS TUCKER. 1998. Pond aquaculture water quality management. Massachusetts. *Kluwer Academic Publisher*. P. 700.
- BRITO, R, ME CHIMAL & C ROSAS. 2000. Effect of salinity in survival, growth, and osmotic capacity of early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (Decapoda: Penaeidae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 244: 253 –263
- BETT, C & L VINATEA. 2009. Combined effect of body weight, temperature and salinity on shrimp *Litopenaeus vannamei* oxygen consumption rate. *Braz. J. Ocean..* 57(4): 305-314.
- CAMARGO, JA, A ALONSO & A SALAMANCA. 2005. Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. *Chemosphere.* 58: 1255–1267.
- CAMPOS BR, K MIRANDA-FILHO, F D'INCAO, LH POERSCH & W WASIELESKY. 2012. Toxicidade aguda da amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda). *Atlântica*. No prelo 2012.
- CASTILLE, FL & AL LAWRENCE. 1981. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimps of the genus *Penaeus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 68A: 75–80.
- CHENG, SY & JC CHEN. 2002. Study on the oxyhemocyanin, deoxyhemocyanin, oxygen affinity and acid–base balance of *Marsupenaeus japonicus* following exposure to combined elevated nitrite and nitrate. *Aquatic Toxicol.* 61: 181–193.

- DALL, W & DR SMITH. 1986. Oxygen consumption and ammonia-n excretion in fed and starved tiger prawns *Penaeus esculentus* Hasweell. *Aquaculture.*, 55:23-33.
- D'INCAO, F. 1999. Subordem DENDROBRANCHIATA (camarões marinhos). In: BUCKUP, L & G BOND-BUCKUP. (Ed. Universidade/ UFRGS). "O Crustáceos do Rio Grande do Sul", Porto Alegre. 275-299.
- FAST, AW & CE BOYD. 1992. Water circulation, aeration and other management practices. In: FAST, AW & LJ LESTER (eds.). Marine shrimp culture: Principles and practices. *Elsevier Science Publishers*. Amsterdam, PP. 457-495.
- GAUDY, R & L SLOANE. 1981. Effect of salinity on oxygen consumption in postlarvae of the penaeids shrimps *Penaeus monodon* and *Penaeus stylirostris* without and with acclimation. *Mar. Biol.* 65(3): 297-301.
- GROSS, A, CE BOYD & CW WOOD. 2000. Nitrogen budget and transformations in channel catfish ponds. *Aquacult. Eng.* 24: 113-132.
- JIANG, LX, LQ PAN & BO FANG. 2005. Effect of dissolved oxygen on immune parameters of the white-shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol.* 18 (2): 185-188.
- KRAMER, DL. 1987. Dissolved oxigen and fish behaviour. *Env. Bull. Fish.* 18: 81 92.
- LICOP, MS. 1985. The influence of temperature and salinity on oxygen consumption of *Penaeus monodon* postlarvae. Proceedings of the first international conference on the culture of penaeid prawns and shrimps. Iloilo, Philippines, 178pp.
- LOMHOLT, JP & K JOHANSEN. 1979. Hypoxia acclimation in carp - how it affects O<sub>2</sub> uptake, ventilation, and O<sub>2</sub> extraction from water. *Physiol. Zool.* 52: 38-49.
- LOPES, DA, SRM PEIXOTO, W WASIELESKY & ELC BALLESTER. 2009. Análise comparativa da criação dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis* criados em gaiolas em ambiente estuarino. *Ciência Rural (UFSM. Impresso)*. 39: 1540-1546.

- MARTINEZ-PALACIOS, CA, LG ROSS & L JIMENEZ-VALENZUELA. 1996. The effects of temperature and body weight on the oxygen consumption of *Penaeus vannamei*, Bonne, 1931. *J. Aquac. Trop.* 11(1): 59-65.
- MARTÍNEZ, E, M AGUILAR, L TREJO, I HERNÁNDEZ, E DÍAS-IGLESIA, L SOTO, A SANCHEZ & C ROSAS. 1998. Lethal low dissolved oxygen concentrations for postlarvae and early juvenile *Penaeus setiferus* at different salinities and ph. *J. World Aquacult. Soc.* 29 (2): 221-229.
- MEADE, ME & SA WATTS. 1995. Toxicity of ammonia, nitrite, and nitrate to juvenile australian crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *J. Shellfish Res.* 14: 341-346.
- NAN, FH, SS SHEEN, YT CHENG & SN CHEN. 1995. The effect of eyestalk ablation on oxygen consumption and ammonia-n excretion of juvenile shrimp *Penaeus monodon*. *Zool. Stud.* 34(4): 265-269.
- RACOTTA, IS & R HERNÁNDEZ-HERRERA. 2000. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei* to ambient ammonia. *Comp. Biochem. Physiol., A.* 125: 437-443.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. 1997. Animal physiology. Fifth edition. Cambridge University Press, UK, 611pp.
- TAHON, JP, D VAN HOOFF, C VINCKIER, R WITTERS, M DE LEY & R LONHE. 1988. The reaction of nitrite with the haemocyanin of *Astacus leptodactylus*. *Biochem. J.* 249: 891-896.
- TSUZUKI, MY. 1995. Efeitos da temperatura e da salinidade na sobrevivência e crescimento de pós-larvas do camarão-rosa *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967) (Decapoda - Penaeidae). Tese de mestrado. Universidade do Rio Grande. Rio Grande, RS. Brasil. 125 pp.
- VAN WYK P & J SCARPA. 1999. Water quality requirements and management. In: Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems (Ed. By p.van wyk). Florida department of agriculture and consumer services, Tallahassee, FL, 128-138.
- VINATEA, L. 2004. Princípios químicos de qualidade da água em aqüicultura. Segunda edição revisada e ampliada. Ed. Florianópolis: Editora da UFSC, V(1). 345 p.

- WASIELESKY, W, CS CASTAÑO, LH POERSCH & A BIANCHINI. 1998. Efeito do nitrito sobre o consumo de oxigênio de juvenis do camarão-rosa *Penaeus paulensis*. In: XI Semana Nacional de Oceanografia, realizada de 18 a 24/10/98 em Rio Grande, RS, Brasil.
- WASIELESKY, W. 2000. Cultivo de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda, Penaeidae) no estuário da Lagoa dos Patos: Efeitos dos parâmetros ambientais. Tese de doutorado. Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, RS, 199pp.
- WASIELESKY, W, A BIANCHINI, C SANCHEZ & L POERSCH. 2003. The effect of temperature, salinity and nitrogen products on food consumption of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 46: 135– 141.
- WASIELESKY, W, S PEIXOTO, L JENSEN, LH POERSCH & A BIANCHINI. 2004. Estudo preliminar do cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* em cercados no estuário da Lagoa dos Patos. *Bol. Inst. Pesca Sao Paulo.* 30(1): 63 – 70.
- WHEATLY, MG 1988. Integrated responses to salinity fluctuations. *Am. Zool.* 28: 65-77.

## Capítulo IV

EFEITOS DA AMÔNIA, NITRITO E NITRATO NO CONSUMO ALIMENTAR DE  
JUVENIS DE CAMARÃO-ROSA *Farfantepenaeus brasiliensis* (LATREILLE, 1817)  
(CRUSTACEA: DECAPODA).

**Resumo**

Os experimentos foram realizados para investigar os efeitos da amônia, nitrito e nitrato no consumo alimentar de juvenis de *F. brasiliensis*. Os camarões foram aclimatados durante 30 dias em diferentes concentrações de amônia, nitrito e nitrato. Após o período de aclimação, 20 camarões por tratamento foram individualizados, a fim de ser analisado o consumo de ração através da quantidade de alimento oferecido e a sobra durante um período de 24 horas. O consumo alimentar apresentou alterações significativas ( $p < 0,05$ ) para as concentrações de nitrito e nitrato testadas, enquanto para o tratamento com amônia, o camarão não apresentou alteração no consumo alimentar ( $p > 0,05$ ). De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, o nitrito e o nitrato afetam o consumo alimentar de *F. brasiliensis*. No entanto, a possibilidade de que isso aconteça durante longos períodos, prejudicando o cultivo de espécies em cativeiro, reforçam a necessidade de gestão da qualidade de água.

**PALAVRAS-CHAVE:** Compostos nitrogenados, Toxicidade, Alimentação.

**Abstract**

The experiments were carried out to investigate the effects of ammonia, nitrite and nitrate on food consumption of juvenile *F. brasiliensis*. The juvenile shrimp were acclimated for 30 days with different concentrations of ammonia, nitrite and nitrate. After the acclimation period, 20 shrimps per treatment were individualized in order to have their ration intake analyzed through the amount of ration offered and left for a period of 24 hours. The food consumption presented significant alteration ( $p < 0.05$ ) for the nitrite and nitrate concentrations tested, meanwhile on ammonia treatment, shrimp presented no alteration on food intake ( $P > 0.05$ ). According to the results obtained, nitrite and nitrate affected *F. brasiliensis* food consumption. However, the possibility of this to happen over long periods, prejudicing the species culture in captivity, reinforced the necessity of regular water quality management.

**KEYWORDS:** Nitrogen compounds, toxicity, Feeding.

## INTRODUÇÃO

O camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* distribui-se da Carolina do Norte (EUA) à costa do Rio Grande do Sul (D’Incao 1999), e por ser uma espécie nativa de camarão marinho demonstra potencial para ser cultivada no sul do Brasil (Lopes *et al.* 2009). O desenvolvimento do cultivo de espécies de camarão nativo permite a realização desta atividade em estruturas de baixo custo, como gaiolas e/ou cercados, os quais podem ser instalados em corpos de água naturais, possibilitando a inserção de comunidades de baixa renda nesta atividade (Wasielesky *et al.* 2004).

Em criações de organismos aquáticos, os resíduos nitrogenados são degradantes comuns do meio (Tomasso 1994), sendo a excreção destes organismos e a degradação dos restos alimentares as principais fontes dessas substâncias (Gross *et al.* 2000). As formas nitrogenadas mais abundantes nos viveiros de cultivo e que podem provocar danos significativos aos organismos cultivados são amônia, nitrito e nitrato (Wasielesky *et al.* 2003).

As concentrações dos compostos nitrogenados podem afetar o consumo alimentar dos organismos cultivados (Nunes 1995) e/ou causar mortalidade (Thurston 1980). Assim, as taxas de crescimento, biomassa final e consumo alimentar podem piorar em razão da diminuição da qualidade da água (Wasielesky *et al.* 2003).

O conhecimento do consumo alimentar é fundamental para o seu correto manejo, a fim de evitar a administração excessiva de alimento que compromete a qualidade da água, assim como um fornecimento insuficiente de alimento que afete o crescimento (Soares *et al.* 2005). O manejo alimentar é fundamental para atingir o crescimento máximo, além disso, práticas de manejo inadequadas têm sido associadas a doenças e redução na qualidade da água, resultando em problemas de produção (Jory *et al.* 2001).

Em camarões peneídeos, o consumo alimentar varia entre as espécies, sendo influenciado por muitos fatores, entre eles a temperatura, muda e qualidade da água (Wasielesky *et al.* 2003). As taxas de alimentação de camarões também podem ser afetadas pelo tempo de depuração do estômago, sendo que a sua medida é útil na avaliação de estimativas de taxas de alimentação diária. No entanto, o tempo de digestão em crustáceos tem sido relatado como sendo afetado por diversos fatores,

como disponibilidade de alimentos, tamanho corporal e composição da dieta (Soares *et al.* 2005).

Embora estudos demonstrem que o consumo alimentar varia em função do peso dos camarões, diferentes resultados entre espécies e condições experimentais têm sido descritos, como a diminuição ou aumento da taxa alimentar com o crescimento (Hunter *et al.* 1987; Nunes & Parsons 2000; González-Peña *et al.* 2002; Miranda-Filho *et al.* 2009).

Como forma de reduzir o gasto com rações, despesas e manter a qualidade da água, muitas fazendas de camarão têm usado bandejas de alimentação, ao invés de alimentar todo o viveiro guiado por tabelas de alimentação. No entanto, em ambos os casos é fundamental ter conhecimento de como a qualidade da água influencia o consumo alimentar (Wasielesky *et al.* 2003).

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos dos compostos nitrogenados no consumo alimentar dos juvenis de *F. brasiliensis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Estação Marinha de Aquicultura (EMA) do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e os juvenis de *F. brasiliensis* foram oriundos do processo de larvicultura realizado no próprio laboratório.

Para determinar o percentual de matéria seca da ração, foram utilizadas 5 amostras de peso conhecido em estufa a 60°C, até atingir peso constante. As amostras foram pesadas novamente e a umidade foi determinada pela diferença entre o peso da ração antes e depois da secagem na estufa. Para a determinação da lixiviação, o teste branco foi realizado com 5 amostras, sem camarões e com aeração constante. Foi utilizado um peso conhecido de ração e após 24 h os meios experimentais foram sifonados e filtrados através de malha de 30 µm. Os restos de ração foram raspados e colocados em papel laminado e depois em estufa a 60°C, até atingir peso constante.

Os testes foram realizados com tratamento controle e concentrações de amônia, nitrito e nitrato (Tab. I). As concentrações utilizadas correspondem aos “níveis de segurança” (N.S.) da espécie (Campos *et al.* 2012), à metade do N.S. e ao dobro N.S.. A temperatura da água foi de 25°C e salinidade de 28.

Tabela I – Tratamentos aplicados aos juvenis de camarão-rosa, para analisar o consumo de ração em função das concentrações de amônia (A, B e C), nitrito (D, E e F) e nitrato (G, H e I) utilizadas nos experimentos.

Nitrogenado	Réplicas	Concentrações (mg/L)
	-	-
Controle	-	-
	-	-
	A	0,44
Amônia	B	0,88
	C	1,76
	D	5,30
Nitrito	E	10,59
	F	21,18
	G	45,60
Nitrato	H	91,20
	I	182,4

Os valores das concentrações desejadas foram obtidos por meio de soluções estoque, feitas com cloreto de amônia P.A., nitrito de sódio P.A. e nitrato de sódio P.A..

Os camarões foram aclimatados durante 30 dias em recipientes com volume de 100 litros, onde os juvenis (n = 30) foram submetidos a diferentes compostos nitrogenados e avaliados o consumo alimentar. Durante a aclimação, a água foi totalmente renovada a cada 48h e as soluções adicionadas novamente, para manutenção das respectivas concentrações. Diariamente foi feita sifonagem para retirada de excretas e a aeração foi provida constantemente.

Amostras de água foram retiradas diariamente das unidades experimentais para medição da salinidade e pH, com auxílio de refratômetro ótico e pH-metro digital (DMpH-1, Digimed, precisão 0,01), respectivamente. Também foram determinadas as concentrações dos nitrogenados testados na água. Os camarões foram alimentados duas vezes por dia com ração comercial (38% de proteína bruta), em uma proporção de 10% da biomassa total de cada unidade experimental.

Após o período de aclimação, analisou-se o consumo individual de 20 camarões, selecionados aleatoriamente de cada tratamento, e que não se encontravam em fase de muda. Para a determinação do consumo alimentar, os juvenis de *F. brasiliensis* foram colocados individualmente em recipientes de 1 litro. Neste local os camarões foram mantidos por 24 h sem alimentação. Após esse período, os meios foram totalmente renovados com as respectivas soluções de compostos nitrogenados e iniciou-se a alimentação com ração previamente pesada. Depois de 24 h, os meios experimentais foram sifonados e filtrados em malha de 30 µm, que foi lavada posteriormente para eliminação das fezes. Os restos de ração foram raspados e colocados em papel laminado e depois em estufa a 60°C, até atingir peso constante. O consumo de matéria seca de cada camarão foi baseado na diferença entre o que foi fornecido de ração e as sobras, levando em consideração o percentual de umidade inicial, lixiviação da ração e perdas no processo de sifonagem e lavagem. O consumo de matéria seca foi calculado usando a seguinte fórmula:

$$\text{CMS} = ((R_{\text{fornecida}} \times 0,948) - R_{\text{seca}}) \times 0,611 / \text{peso do camarão}$$

CMS = consumo de matéria seca (g de ração/g de camarão/dia)

R<sub>fornecida</sub> = quantidade de ração fornecida

0,948 = 94,8% = percentual inicial de matéria seca da ração

R<sub>seca</sub> = quantidade de ração após secagem

0,611 = 61,1% = percentual de material seco após o teste branco (sem camarões), referente às perdas com solubilidade da ração e com a metodologia empregada (sifonagem e lavagem).

Os consumos médios de ração obtidos nos diferentes tratamentos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) levando-se em consideração as premissas necessárias. Quando detectadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) aplicou-se teste de Tukey.

## RESULTADOS

A temperatura, pH e compostos nitrogenados foram monitorados diariamente, mantendo-se dentro dos padrões desejados para a realização do experimento (Tab. II).

Tabela II – Concentrações médias de amônia (A, B e C), nitrito (D, E e F), nitrato (G, H e I), temperatura (°C) e pH nos diferentes tratamentos, durante os 30 dias do experimento. Os dados correspondem à média  $\pm$  desvio padrão dos parâmetros físico-químicos da água.

	[ ] (mg/L)	pH	T°C	Sal
Controle	-	8,31 $\pm$ 0,13	25 $\pm$ 0,21	28 $\pm$ 0,25
A	0,49	8,27 $\pm$ 0,11	25 $\pm$ 0,23	28 $\pm$ 0,35
B	0,91	8,32 $\pm$ 0,15	25 $\pm$ 0,26	28 $\pm$ 0,31
C	1,74	8,30 $\pm$ 0,15	25 $\pm$ 0,22	28 $\pm$ 0,34
D	5,36	8,27 $\pm$ 0,13	25 $\pm$ 0,27	28 $\pm$ 0,40
E	10,64	8,31 $\pm$ 0,16	25 $\pm$ 0,22	28 $\pm$ 0,26
F	21,21	8,29 $\pm$ 0,16	25 $\pm$ 0,25	28 $\pm$ 0,33
G	45,69	8,30 $\pm$ 0,15	25 $\pm$ 0,24	28 $\pm$ 0,24
H	91,28	8,27 $\pm$ 0,16	25 $\pm$ 0,23	28 $\pm$ 0,30
I	182,56	8,28 $\pm$ 0,16	25 $\pm$ 0,24	28 $\pm$ 0,27

A ração consumida pelos juvenis de *F. brasiliensis* não foi afetado significativamente pela amônia ( $p > 0,05$ ) nos tratamentos A e B. Entretanto, o tratamento C diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) dos demais. O consumo variou entre 0,044 e 0,059 g/g/dia (Fig. 1a).

Para os tratamentos com nitrito, o consumo de ração variou de 0,026 a 0,059 g/g/dia. O consumo foi afetado significativamente pelo nitrito ( $p < 0,05$ ) nos tratamentos D, E e F. Os tratamentos diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) entre si, com exceção dos tratamentos E e F (Fig. 1b). O nitrato afetou significativamente ( $p < 0,05$ ) os tratamentos G, H e I em relação ao tratamento controle, entretanto, os tratamentos não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) entre si. O consumo de ração para os tratamentos contendo nitrato variou de 0,030 a 0,059g/g/dia (Fig. 1c).

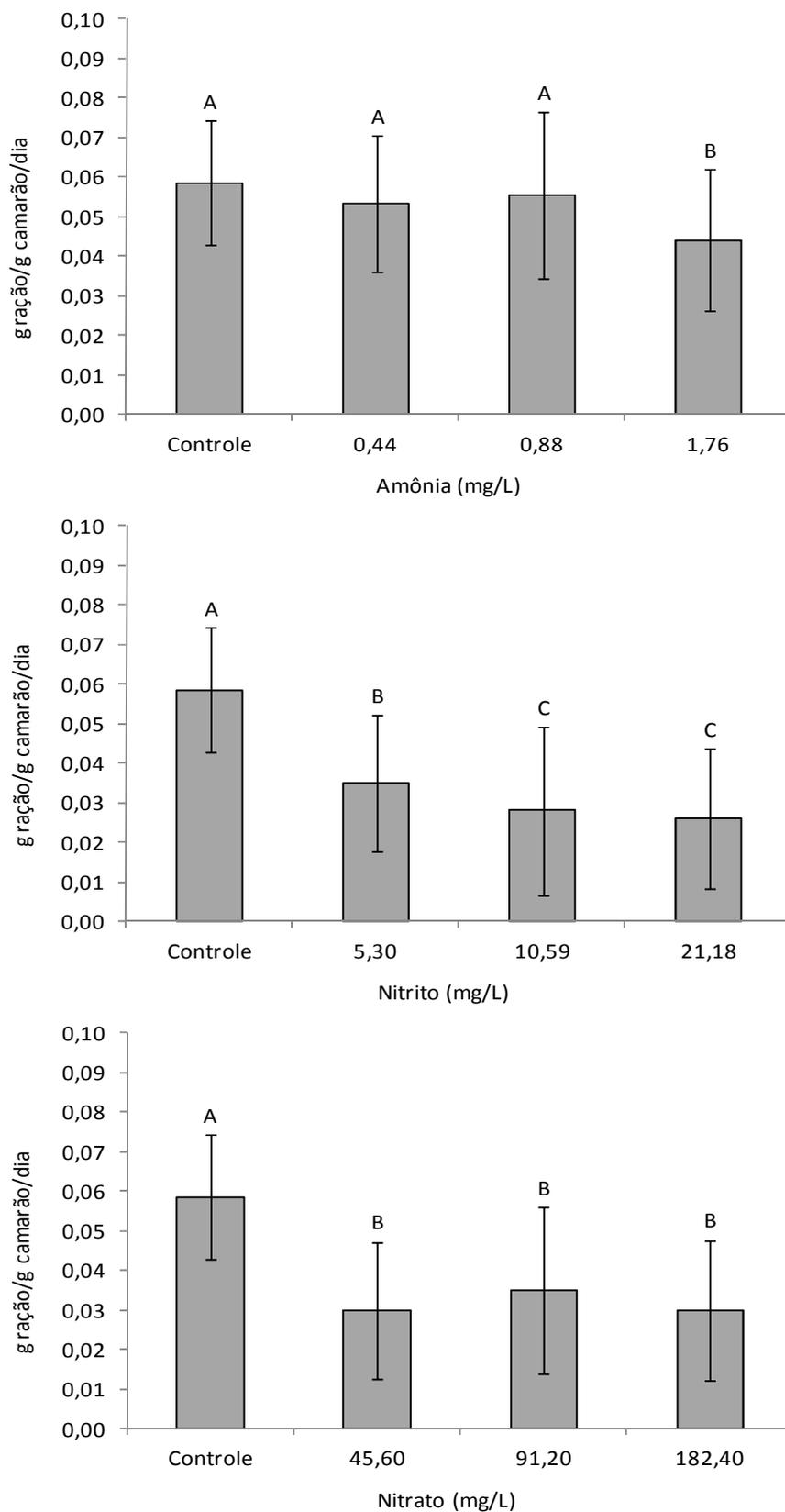


Fig. 1 – Consumo de ração por juvenis de *F. brasiliensis* em diferentes concentrações de amônia (a), nitrito (b) e nitrato (c). Os dados estão descritos como médias  $\pm$  EP. Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre si ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

O aumento das concentrações dos compostos nitrogenados dissolvidos na água, de forma geral, causa efeitos negativos sobre o crescimento e sobrevivência dos camarões cultivados (Wasielesky *et al.* 2003). No período de mudas, os camarões podem estar mais sensíveis às diferentes ações dos compostos nitrogenados, sendo a ação da amônia, nitrito e nitrato mais efetiva durante esse período. Por essa razão, os animais que sofreram mudas e/ou morreram foram desconsiderados no presente estudo.

Efeitos adversos somente foram verificados com concentrações referentes ao dobro do nível de segurança da espécie *F. brasiliensis*. Entretanto, Wasielesky *et al.* (2003) em estudos com *F. paulensis*, não encontraram efeitos adversos sobre consumo de alimento, expondo os camarões por um período de 15 dias à amônia em concentrações de 0,91, 3,65 e 7,3 mg/L. Tal fato pode estar relacionado ao tempo de exposição dos camarões. Em outro estudo, Miranda-Filho *et al.* (2009), analisando o efeito da amônia em juvenis de *F. paulensis*, registrou redução de até 12,0% no consumo de alimento vivo (náuplios de artêmia) oferecido aos animais, em concentrações de 0,047 a 0,287 mg/L, porém o tempo de exposição adotado pelo autor foi de 75 dias e a temperatura foi mantida em 20°C. Tal fato corrobora o presente trabalho, uma vez que, em temperatura de 25°C, se observou redução no consumo de ração pelos camarões conforme o aumento da concentração de amônia total.

Segundo Wyban *et al.* (1995) o consumo alimentar é diretamente proporcional à temperatura. Trabalhando com *L. vannamei*, os autores verificaram aumento no consumo em temperaturas de 23, 27 e 30°C. Wasielesky (2000) mostra que em temperaturas de 32°C o consumo alimentar de *F. paulensis* estabilizou-se nos mesmos níveis obtidos em temperaturas de 26 e 29°C, representando um aumento de até 100% em relação ao consumo obtido em temperatura de 16°C. Cabe ressaltar que embora a temperatura seja um fator importante, o presente estudo focou-se exclusivamente nos efeitos dos compostos nitrogenados sobre o consumo alimentar de *F. brasiliensis*.

Nos tratamentos com nitrito, observaram-se diferenças significativas nas taxas de consumo alimentar entre os tratamentos controle e os demais, sendo que os tratamentos relativos ao nível de segurança e ao dobro do nível de segurança foram estatisticamente semelhantes.

Em estudos com o camarão-rosa *F. paulensis*, Wasielesky *et al.* (1998, 2003) observaram relação negativa entre concentrações de nitrito e consumo alimentar, mesmo com apenas 15 dias de exposição. Segundo os autores, a ação do nitrito sobre os pigmentos respiratórios e a capacidade de captação e transporte de oxigênio na hemolinfa, poderiam ser os responsáveis por causar a diminuição nas taxas de consumo alimentar, uma vez que causariam a redução do metabolismo aeróbico dos camarões. Reduções significativas no consumo de oxigênio foram encontradas por Wasielesky *et al.* (1998) em camarões-rosa expostos ao nitrito.

Em condições adversas, grande parte da energia proveniente dos alimentos seria convertida para a manutenção do metabolismo e sobrevivência, sendo o consumo alimentar extremamente importante para sobrevivência e crescimento. Portanto, com menor consumo as taxas de crescimento podem ficar comprometidas (Wong *et al.* 1993).

No que diz respeito ao nitrato, Cheng & Chen (2002) descobriram que uma concentração de nitrato de 105 mg/L de N-NO<sub>3</sub> causou redução protéica no camarão *Marsupenaeus japonicus*. No presente estudo, comparando com o controle, houve relação inversa entre o consumo de alimento e a exposição ao composto nitrogenado, porém os efeitos não diferiram com relação às concentrações testadas.

Wasielesky *et al.* (2003), observaram que *F. paulensis* expostos à concentrações de 64,6, 323 e 646 mg/L de nitrato não apresentaram diferenças significativas no consumo alimentar. Provavelmente este resultado deve-se ao fato dos camarões terem sido expostos ao nitrogenado pelo período de 15 dias, enquanto no presente estudo a exposição foi de 30 dias.

O comportamento alimentar é de fundamental importância para a sobrevivência e crescimento, uma vez que em condições adversas, como é o caso de organismos submetidos aos compostos nitrogenados, a maior parte da energia originada da alimentação seria canalizada para a manutenção do metabolismo e sobrevivência, enquanto uma parte menor ficaria disponível para reprodução (Wong *et al.* 1993). Portanto, com menor consumo alimentar, as taxas de crescimento podem ficar comprometidas, principalmente em se tratando de produção comercial, pois isto pode afetar diretamente a produção final (Wasielesky *et al.* 2003).

Atualmente, uma alternativa seria o cultivo de organismos aquáticos sem renovação de água, conhecidos como ZEAH (Zero Exchange Aerobic Heterotrophic culture systems) ou mais recentemente chamados de tecnologia de bioflocos (BFT). Nesses sistemas, utilizam-se elevadas densidades de estocagem, forte aeração e biota predominantemente aeróbia e heterotrófica, formadora de agregados ou flocos microbianos (Avnimelech 2007).

Samocha *et al.* (2007), demonstraram que a adição de fontes de carbono orgânico, tais como o melão de cana de açúcar, pode ser empregada na prevenção ao aumento das concentrações de nitrogênio amoniacal total e de nitrito durante o cultivo de camarões em sistemas BFT. O balanço de carbono e nitrogênio (C:N) na proporção de aproximadamente 20:1 favorece a assimilação destes compostos pelas bactérias que possuem capacidade de síntese protéica a partir de carbono orgânico e amônia (Avnimelech 1999; Chamberlain *et al.* 2001).

Burford *et al.* (2004) cita que até 29% do consumo diário de ração de *L. vannamei* poderia ser microalgas bacterianas/flocos bacterianos oriundos do sistema BFT. Wasielesky *et al.* (2006) concluíram que o material particulado suspenso em sistemas de cultivo de *L. vannamei* com tecnologia BFT pode melhorar significativamente a conversão alimentar, reduzindo custos de produção.

Assim, de acordo com os resultados apresentados nesse trabalho, os compostos nitrogenados testados afetaram as taxas de consumo alimentar de *F. brasiliensis*. Com um menor consumo alimentar, as taxas de crescimento diminuem, afetando diretamente a produção final. Dessa forma fica evidenciada a importância da interação entre a produção de camarão e os compostos nitrogenados, uma vez que seria extremamente negativo para o cultivo dessa espécie que o consumo alimentar fosse afetado, bem como a qualidade da água.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVNIMELECH, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocos technology ponds. *Aquaculture*. 264: 140–147.
- AVNIMELECH, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*. 176: 227–235.

- BURFORD, MA, PJ THOMPSON, RP MCINTOSH, RH BAUMAN & DC PEARSON. 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero exchange system. *Aquaculture*. 232: 525–537.
- CAMPOS BR, K MIRANDA-FILHO, F D'INCAO, L POERSCH & W WASIELESKY. 2012. Toxicidade aguda da amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda). *Atlântica*. No prelo 2012.
- CHAMBERLAIN, G, Y AVNIMELECH, RP MCINTOSH & M VELASCO. 2001. Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C:N composition and nutritional value of organic detritus. *Global Aquacult. Advoc.* June: 22-24.
- CHENG, SY & JC CHEN. 2002. Study on the oxyhemocyanin, deoxyhemocyanin, oxygen affinity and acid–base balance of *Marsupenaeus japonicus* following exposure to combined elevated nitrite and nitrate. *Aquatic toxicol.* 61: 181–193.
- D'INCAO, F. 1999. Subordem DENDROBRANCHIATA (camarões marinhos). In: BUCKUP, L & G BOND-BUCKUP. (Ed. Universidade/ UFRGS). “O Crustáceos do Rio Grande do Sul”, Porto Alegre. 275-299.
- GONZÁLEZ-PEÑA, MC, SZ GOMES & GS MOREIRA. 2002. Effects of dietary fiber on growth and gastric emptying time of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). *J. World Aquac. Soc.* 33: 441– 447.
- GROSS, A, CE BOYD & CW WOOD. 2000. Nitrogen budget and transformations in channel catfish ponds. *Aquacult. Eng.* 24: 113-132.
- HUNTER, P, G PRUDER & J WYBAN. 1987. Biochemical composition of pond biota, shrimp ingesta, and relative growth of *Penaeus vannamei* in earthen ponds. *J. World Aquac. Soc.* 18: 162–174.
- JORY, DE, TR CABRERA, DM DUGGER, D FEGAN, PG LEE, AL LAWRENCE, CJ JACKSON, RP MCINTOSH & J CASTANEDA. 2001. A global review of shrimp feed management: status and perspectives. In: BROWDY, CL & DE JORY (Eds.) *The New Wave, Proceedings of the Special Session on*

- Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture. *The World Aquaculture Society*, Baton Rouge. LA. 104–152pp.
- LOPES, DA, SRM PEIXOTO, W WASIELESKY & ELC BALLESTER. 2009. Análise comparativa da criação dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis* criados em gaiolas em ambiente estuarino. *Ciência Rural* (UFSM. Impresso). 39: 1540-1546.
- MIRANDA-FILHO, KC, GLL PINHO, W WASIELESKY & A BIANCHINI. 2009. Long-term ammonia toxicity to the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 150: 377–382.
- NUNES, AJP. 1995. Feeding dynamics of Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* (Pérez-Farfante, 1967) (Crustacea, Penaeidae) under semi-intensive culture in NE Brazil. Tese de Mestrado em Aquicultura. Memorial University of Newfoundland, Newfoundland, Canadá, 166pp.
- NUNES, AJP & GJ PARSONS. 2000. Size related feeding and gastric evacuation measurements for the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis*. *Aquaculture* 187: 133–151.
- SAMOCHA, TM, S PATNAIK, M SPEED, AM ALI, JM BURGER, RV ALMEIDA, Z AYUB, M HARISANTO, A HOROWITZ & DL BROOK. 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult. Eng.* 36: 184–191.
- SOARES, R, W WASIELESKY, S PEIXOTO & F D'INCAO. 2005. Food consumption and gastric emptying of *Farfantepenaeus paulensis*. *Aquaculture* 250: 283 – 290.
- THURSTON, RV. 1980. Some factor affecting the toxicity of ammonia to fishes. EPA *Ecol. Res. Ser.*, EPA-600/9-80-034: 118-1 37.
- TOMASSO, JR. 1994. Toxicity of nitrogenous Wastes to Aquaculture Animals. *Reviews Fish. Sci.*, 2(4): 291-314.
- WASIELESKY, W. 2000. Cultivo de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda, Penaeidae) no estuário da Lagoa dos Patos: Efeitos dos

parâmetros ambientais. Tese de doutorado. Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, RS, 199pp.

WASIELESKY, W, CS CASTAÑO, LH POERSCH & A BIANCHINI. 1998. Efeito do nitrito sobre o consumo de oxigênio de juvenis do camarão-rosa *Penaeus paulensis*. In: XI Semana Nacional de Oceanografia, realizada de 18 a 24/10/98 em Rio Grande, RS, Brasil.

WASIELESKY, W, A BIANCHINI, C SANCHEZ & L POERSCH. 2003. The effect of temperature, salinity and nitrogen products on food consumption of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 46: 135– 141.

WASIELESKY, W, S PEIXOTO, L JENSEN, LH POERSCH & A BIANCHINI. 2004. Estudo preliminar do cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* em cercados no estuário da Lagoa dos Patos. *B. Inst. Pesca.* São Paulo. 30(1): 63– 70.

WASIELESKY, W, H ATWOOD, A STOKES & CL BROWDY. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258: 396–408.

WONG, CK, KH CHU, KW TANG, TW TAM & LJ WONG. 1993. Effects of chromium, copper and nickel on survival and feeding behaviour of *Metapenaeus ensis* larvae and postlarvae (Decapode:Penaeidae). *Mar. Environ. Res.*, 36:63-78.

WYBAN, J, WA WALSH & DM GODIN. 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*. 138(1-4): 267-279.

### 3. Discussão Geral

Esse estudo nos fornece informações de como os compostos nitrogenados atuam no crescimento, sobrevivência, consumo de oxigênio e alimentar de juvenis de camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis*. Nesse sentido, o conhecimento dos parâmetros analisados é de fundamental importância para estabelecer os limites a serem atingidos e controlados no ambiente de cultivo.

Na criação de organismos aquáticos, os resíduos de nitrogênio são degradantes comuns do meio (Tomasso 1994), sendo que a excreção dos organismos cultivados e a degradação dos restos alimentares, as principais fontes dessas substâncias (Gross *et al.* 2000). Os compostos nitrogenados ocorrem naturalmente no meio aquoso, entretanto, se as concentrações atingirem níveis elevados, podem afetar o crescimento ou provocar mortalidade dos organismos cultivados (Thurston 1980).

Apesar do grande número de trabalhos realizados, dados sobre camarão-rosa, *F. brasiliensis*, expostos aos efeitos dos produtos nitrogenados são escassos ou inexistentes. Portanto, no presente estudo, o objetivo do primeiro capítulo foi determinar as concentrações letais medianas (CL<sub>50</sub>) e os níveis de segurança, em 96h, de amônia, nitrito e nitrato para juvenis de *F. brasiliensis*, em laboratório.

Analisando os resultados, verificamos que *F. brasiliensis* é, entre as outras espécies de peneídeos comparadas, a espécie mais sensível à amônia total, seguido por *Penaeus semisulcatus*, *Fenneropenaeus chinensis*, *P. monodon*, *F. paulensis* e *Litopenaeus vannamei*. Colt & Armstrong (1981), o valor da CL<sub>50</sub> (96 h) para amônia não-ionizada, foi de 0,40 a 2,31 mg/L para crustáceos em geral, estando os valores apresentados no presente estudo (0,71mg/L) dentro do intervalo proposto. As análises de nitrito e nitrato, mostraram que o nível de segurança para juvenis de *F. brasiliensis* foram de 10,59 e 91,20 mg/L, respectivamente. Esse resultado é muito semelhante a outros resultados apresentados na bibliografia, para outras espécies de camarões peneídeos (Colt & Armstrong 1981; Chen *et al.* 1990a,b; Cavalli *et al.* 1996; Ostrensky 1997; Tsai & Chen 2002).

Em geral, o efeito adverso de um composto químico presente na água varia com a concentração do mesmo, o tempo de exposição ao composto, a natureza do agente químico, a idade dos organismos e a espécie exposta. Desta forma, os compostos nitrogenados não necessariamente causam efeitos adversos sobre camarões submetidos

a testes de toxicidade aguda, uma vez que esta pode vir a promover efeitos subletais quando expostos em longo prazo. Portanto, para o segundo capítulo, os juvenis de *F. brasiliensis* foram expostos a concentrações subletais de amônia, nitrito e nitrato correspondentes aos “níveis de segurança” da espécie, com o objetivo de analisar a sobrevivência e crescimento dos camarões expostos a estes tóxicos. Após 40 dias de teste de toxicidade todos os grupos diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) do grupo controle. De acordo com os resultados obtidos foi possível verificar que o camarão *F. brasiliensis* se mostrou susceptível aos compostos nitrogenados, em concentrações que equivalem aos níveis de segurança proposto para a espécie. Os resultados obtidos evidenciam que o nível de segurança proposto por esse método pode acarretar em erros de estimativa de concentrações, que sejam realmente crônicas para *F. brasiliensis*. Assim, faz-se necessário a realização de experimentos com exposições de longa duração, afim de realmente validar os níveis estimados, conforme Tomasso (1994).

Pesquisas avaliando taxas de consumo de oxigênio de camarões marinhos expostos a diferentes condições de cultivo têm sido realizadas, principalmente em diferentes níveis de salinidade e temperatura, entretanto, pouco se conhece sobre os efeitos dos compostos nitrogenados no consumo de oxigênio. Assim, no terceiro capítulo, foi analisado o consumo de oxigênio dos juvenis de *F. brasiliensis* expostos a diferentes concentrações de compostos nitrogenados as quais foram semelhantes ao tratamento controle, mostrando uma alta tolerância desses organismos, uma vez que os valores utilizados nesse estudo foram elevados e dificilmente são atingidos em sistemas de cultivo. Como pode ser observado, apesar da capacidade de *F. brasiliensis* em se adaptar a essa variação nas concentrações dos compostos nitrogenados, esses fatores são determinantes para o desempenho zootécnico em sistemas de cultivo. Portanto, considerações a respeito das necessidades fisiológicas dos animais devem ser feitas para cada condição testada (Tahon *et al.* 1988; Racotta & Hernández-Herrera 2000; Cheng & Chen 2002; Wasielesky *et al.* 2003).

Em camarões peneídeos, o consumo alimentar varia entre as espécies, sendo influenciado por muitos fatores, entre eles a temperatura, muda e qualidade da água. Como forma de reduzir a alimentação, despesas e manter a qualidade da água, muitas fazendas de camarão têm usado bandejas de alimentação; no entanto, é fundamental ter conhecimento de como a qualidade da água influencia o consumo alimentar

(Wasielesky *et al.* 2003). Embora alguns estudos tenham abordado alguns aspectos relacionados ao cultivo de *F. brasiliensis* (Chagas-Soares & Pereira 1991; Chagas-Soares *et al.* 1995; Lopes *et al.* 2009), o conhecimento sobre os mecanismos básicos que controlam o consumo de ração desta espécie ainda é muito limitado.

O quarto capítulo da presente tese, portanto, teve como objetivo analisar o efeito dos compostos nitrogenados sobre o consumo alimentar de *F. brasiliensis*. Verificaram-se resultados que podem ser importantes para o desenvolvimento tecnológico de cultivo dessa espécie. De acordo com os resultados apresentados nesse trabalho, os compostos nitrogenados testados afetaram as taxas de consumo alimentar de *F. brasiliensis*; um menor consumo alimentar há menores taxas de crescimento afetando diretamente a produção final. Fica evidenciada assim a importância da interação entre a produção de camarão e os compostos nitrogenados, uma vez que seria extremamente negativo para o cultivo dessa espécie que o consumo alimentar fosse afetado, bem como a qualidade da água.

Pelos resultados alcançados na presente tese, deve ser levado em consideração que os compostos nitrogenados podem causar problemas para os camarões, com relação ao crescimento, sobrevivência, consumo de oxigênio e consumo alimentar quando em concentrações relativas ao nível de segurança ou muito acima deste, sendo estimados através de testes de curta duração. A interação entre a produção dos compostos nitrogenados e produção de camarão é uma consideração importante para os aquicultores (Frías-Espéricueta *et al.* 1999). Os níveis de segurança obtidos aqui têm implicações importantes para o manejo de criação de camarões, uma vez que as comparações mostram que os juvenis de camarão-rosa *F. brasiliensis* apresentam baixa tolerância aos compostos nitrogenados testados nesse estudo, evidenciando assim, a necessidade de cuidados no manejo de cultivos de camarões para evitar o acúmulo destes compostos nos sistemas de produção.

Em termos de sobrevivência e/ou crescimento, os camarões se mostraram susceptíveis aos compostos nitrogenados, assim cuidados especiais referentes ao controle das concentrações de produtos nitrogenados em cultivos de *F. brasiliensis* devem ser tomados, pois os três tóxicos mostraram que podem afetar significativamente a produção final desta espécie em cativeiro. O consumo de oxigênio dos juvenis de *F. brasiliensis* expostos a diferentes concentrações de compostos nitrogenados foram

semelhantes ao tratamento controle, mostrando uma alta tolerância desses organismos, uma vez que os valores utilizados nesse estudo foram elevados e dificilmente são atingidos em sistemas de cultivo. Apesar dessa tolerância quanto ao consumo de oxigênio, as concentrações de amônia, nitrito e nitrato devem ser monitoradas periodicamente, pois concentrações próximas aos “níveis de segurança” (N.S.) da espécie (Campos *et al.* 2012) podem eventualmente ser encontradas em tanques de cultivo.

O incremento das concentrações de nitrogenados acima dos níveis de segurança produz um estresse nos camarões, visualizado pelos resultados obtidos. Assim, os níveis de segurança para amônia (0,88 mg/L), nitrito (10,60 mg/L) e nitrato (91,21 mg/L) propostos experimentalmente para juvenis de camarão-rosa *F. brasiliensis* são adequados para o desenvolvimento da espécie em estruturas de cultivo.

#### 4. Referências Bibliográficas

- CAMPOS BR, K MIRANDA-FILHO, F D'INCAO, L POERSCH & W WASIELESKY. 2012. Toxicidade aguda da amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda). *Atlântica*. No prelo 2012.
- CAVALLI, RO, W WASIELESKY, CS FRANCO & K MIRANDA FILHO. 1996. Evaluation of the short-term toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to *Penaeus paulensis* (Crustacea, Decapoda) broodstock. *Arq. Biol. Tecnol.* 39: 567-575.
- CHAGAS-SOARES, F & OM PEREIRA. 1991. Repovoamento da região lagunar-estuarina de Cananéia (SP) com Camarão Rosa *Penaeus brasiliensis*. Informações preliminares. *Controle nacional de pesca e aquíicultura*. Santos (SP). 22-26.
- CHAGAS-SOARES, F, OM PEREIRA & EP SANTOS. 1995. Contribuição ao ciclo biológico de *Penaeus schimitti* (Burkenroad, 1936), *Penaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) e *Penaeus paulensis* (Pèrez Farfante, 1967), na região lagunar-estuarina de Cananéia, São Paulo, Brasil. *Bol. Inst. Pesca Sao Paulo*. 22: 49-59.

- CHEN JC, PC LIU, SC LEI. 1990. Toxicity of ammonia and nitrite to *Penaeus mondon* adolescents. *Aquaculture*, 89: 127-137.
- CHEN, JC; YY TING, JN LIN & MN LIN. 1990. Lethal effects of ammonia and nitrite on *Penaeus chinensis* juveniles. *Mar. Biol.* 107(3): 427-431.
- CHENG, SY & JC CHEN. 2002. Study on the oxyhemocyanin, deoxyhemocyanin, oxygen affinity and acid-base balance of *Marsupenaeus japonicus* following exposure to combined elevated nitrite and nitrate. *Aquatic Toxicol.* 61: 181-193.
- COLT, JE & DA ARMSTRONG. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. In: ALLEN, LJ & EC KINNEY (eds.) Proceedings of the Bioengineering Symposium for Fish Culture Section, *American Fisheries Society*, Bethesda, Maryland, 34-47.
- FRIAS-ESPERICUETA MG, M HARFUSH-MELENDZ, JI OSUNA-LSPEZ, F PAEZ-OSUNA. 1999. Acute toxicity of ammonia to juvenile shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Bull Environ Contam Toxicol.* 62: 646-652
- GROSS, A, CE BOYD & CW WOOD. 2000. Nitrogen budget and transformations in channel catfish ponds. *Aquacult. Eng.* 24: 113-132.
- LOPES, DA, SRM PEIXOTO, W WASIELESKY & ELC BALLESTER. 2009. Análise comparativa da criação dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis* criados em gaiolas em ambiente estuarino. *Ciência Rural* (UFSC. Impresso). 39: 1540-1546.
- OSTRENSKY, A. 1997. Estudos para viabilização tecnológica dos cultivos de camarões marinhos no litoral do Estado do Paraná, Brasil. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. Brasil. 126.
- RACOTTA, IS & R HERNÁNDEZ-HERRERA. 2000. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei* to ambient ammonia. *Comp. Biochem. Physiol., A.* 125: 437-443.
- TAHON, JP, D van HOOF, C VINCKIER, R WITTERS, M de LEY & R LONHE. 1988. The reaction of nitrite with the haemocyanin of *Astacus leptodactylus*. *Biochem. J.* 249: 233-242.

- THURSTON, RV. 1980. Some factor affecting the toxicity of ammonia to fishes. EPA *Ecol. Res. Ser.*, EPA-600/9-80-034: 118-137.
- TOMASSO, JR. 1994. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. *Rev. Fish Sci.* 2: 291-314.
- TSAI SJ & JC CHEN. 2002. Acute toxicity of nitrate on *Penaeus monodon* juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 89: 127-137
- WASIELESKY, W, A BIANCHINI, C SANCHEZ, L POERSCH. 2003. The effect of temperature, salinity and nitrogen products on food consumption of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 46, 135– 141.

## 5. Conclusão geral

A presente tese teve como objetivo principal aprimorar as técnicas de manejo do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis*, visando o desenvolvimento de um pacote tecnológico de produção para a espécie, diminuindo assim os riscos ambientais causados com a utilização de espécies exóticas em ambientes costeiros.

Considerando o volume de informações disponíveis sobre *F. brasiliensis* e os resultados encontrados neste trabalho, pode-se dizer que os compostos nitrogenados são um fator determinante em diversos aspectos relacionados ao cultivo dessa espécie, sendo assim, a manutenção da qualidade da água é fundamental, uma vez que os resultados apresentados nessa tese mostram que o incremento das concentrações de nitrogenados acima dos níveis de segurança produz um estresse nos camarões, visualizado nos experimentos realizados.

A interação entre a produção dos compostos nitrogenados e produção de camarão é uma consideração fundamental para os aquicultores. Os níveis de segurança obtidos aqui têm implicações importantes para o manejo de criação de camarões, uma vez que as comparações mostram que os juvenis de camarão-rosa *F. brasiliensis* apresentam baixa tolerância aos compostos nitrogenados testados nesse estudo. Em longo prazo, os três tóxicos mostraram que podem afetar significativamente o consumo de oxigênio e o consumo alimentar, afetando assim a produção final desta espécie em cativeiro.

Assim, cuidados especiais referentes ao controle das concentrações de produtos nitrogenados em cultivos de *F. brasiliensis* devem ser tomados para evitar o acúmulo destes compostos nos sistemas de produção. Os níveis de segurança de amônia (0,88 mg/L), nitrito (10,60 mg/L) e nitrato (91,21 mg/L) propostos experimentalmente para juvenis de *F. brasiliensis* são adequados para o desenvolvimento da espécie em estruturas de cultivo intensivo.

Os resultados obtidos neste trabalho podem auxiliar no planejamento de um pacote tecnológico de produção para a espécie, visando potencializar a produção através do melhorando das técnicas de manejo e diminuindo os problemas relativos à qualidade da água. Assim, espera-se que nos próximos anos, ocorra um esforço em pesquisas que venham a complementar as informações obtidas nessa tese, viabilizando o cultivo dessa

espécie e disponibilizando tecnologia para a comunidade pesqueira que vive junto ao estuário da Lagoa dos Patos.