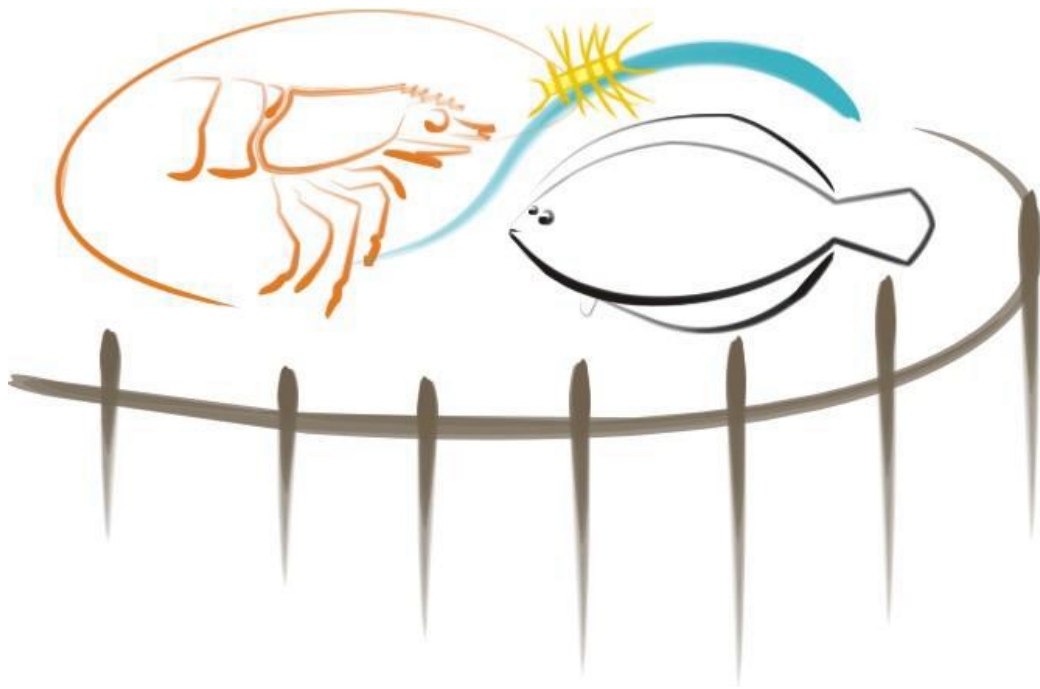


**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG**  
**INSTITUTO DE OCEONAGRAFIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**



**INFLUÊNCIA DO pH NOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS, IÔNICOS E  
DE DESEMPENHO ZOOTÉCNICO EM JUVENIS DE PACU *Piaractus  
mesopotamicus* (HOLMBERG 1887)**

**Aluno:** Lucas Pellegrin

**Orientador:** Prof. Dr. Luciano de Oliveira Garcia

**RIO GRANDE**  
**JULHO DE 2016**

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

**INFLUÊNCIA DO pH NOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS, IÔNICOS E  
DE DESEMPENHO ZOOTÉCNICO EM JUVENIS DE PACU *Piaractus*  
*mesopotamicus* (HOLMBERG 1887)**

**LUCAS PELLEGRIN**

**ORIENTADOR: PROF. DR. LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA**

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

**RIO GRANDE, RS**

## Sumário

Agradecimentos.....	v
Resumo Geral.....	vi
Abstract.....	vii
Introdução Geral.....	8
Objetivos.....	13
Referências Bibliográficas.....	14
Capítulo I: Influência do pH nos parâmetros hematológicos, iônicos e de desempenho zootécnico em juvenis de pacu <i>Piaractus mesopotamicus</i> (HOLMBERG 1887) .....	20
Conclusões Gerais.....	44

## Dedicatória

*DEDICO a minha família Odila e Luis*

*Tiago e Taisa,*

*em especial a minha noiva Lilian!*

## **Agradecimentos**

Gostaria de agradecer a todos que diretamente ou indiretamente ajudaram para que este momento fosse possível.

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me dado forças durante esta jornada, pois NELE sei que posso confiar.

A minha amada noiva Lilian Fiori Nitz, por ter acreditado em mim e mostrado que eu podia mais. Por entender minha ausência, falta de tempo. Você sabe que é a minha motivação. Te amo!

A minha família, em especial para minha mãe Odila, meu pai Luis, meu irmão Tiago e minha irmã Taisa que souberam ter paciência e me dar força quando mais tive dúvidas de que caminho seguir.

Aos meus colegas e principalmente amigos, Lucas, Mari, Mário, Liliane, Daniel, Giovanna, Gabriel, Denis e Manoel pelas diversas parcerias em trabalhos e acima de tudo na vida.

Em especial ao meu orientador professor Luciano, que antes mesmo de eu ser um aluno, ele já era meu professor, dando forças e mostrando o melhor caminho a seguir para eu alcançar meus objetivos.

À FURG e ao Programa de Pós Graduação em Aquicultura pela oportunidade.

A CAPES pelo apoio financeiro.

## **Resumo geral**

O pH da água pode ser influenciado de diversas maneiras nos sistemas de cultivo e a sua alteração pode desencadear mudanças fisiológicas, bioquímicas e comportamentais nos peixes, interferindo no desenvolvimento e cultivo destes. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos da exposição a diferentes níveis de pH da água sobre os parâmetros hematológicos, iônicos e de desempenho zootécnico de juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus*. Para o desenvolvimento deste estudo foram utilizados 300 juvenis de *P. mesopotamicus* ( $33 \pm 1$ g), os quais foram expostos a quatro diferentes níveis de pH (5,5; 6,5; 7,5 e 8,5), em triplicata, por um período de 45 dias em sistema de recirculação de água. Para as análises hematológicas foram coletadas amostras de sangue, nos dias 1, 2, 5, 15, 30 e 45 após o início do experimento, para quantificar os níveis de glicose, pH sanguíneo, hematócrito e íons no plasma ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{K}^+$ , apenas nos dias 1 e 45). Também foram realizadas análises dos parâmetros de desempenho zootécnico (0 e 45 dias) de todos os animais e foi verificado o consumo de ração, o índice hepatossomático e a taxa de sobrevivência durante o experimento. Os diferentes níveis de pH da água não influenciaram nos níveis da glicose sanguínea. Com relação ao hematócrito os valores encontrados para todos os tratamentos permaneceram dentro dos descritos para esta espécie (70 a 98 mg.dL<sup>-1</sup>). As concentrações iônicas de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  foram significativamente menores no tratamento de pH 8,5 em relação aos demais, e o desempenho zootécnico foi maior para o tratamento exposto ao pH 8,5, apresentando maior peso e melhor taxa de crescimento específico, além de apresentar o maior consumo de ração e índice hepatossomático. Conclui-se que a faixa de pH de 5,5 a 8,5 pode causar alterações nos índices hematológicos. Entretanto, pacus criados em pH 8,5 apresentaram melhores índices de desempenho zootécnico, sendo dessa forma o valor de pH mais indicado para o cultivo de juvenis de pacu.

**Palavras chave:** pH sanguíneo, estresse crônico, consumo de ração, crescimento dos peixes, sobrevivência.

## **Abstract**

The water pH is influenced by several factors in farming systems and their alteration can trigger physiological, biochemical and behavioral changes in fish, affecting the growth and survival. Thus, the aim of this study was to determine the effects of exposure to different water pH levels on hematological and ionic parameters, and growth performance of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus*. A total of 300 fish ( $33 \pm 1$  g) were exposed to four pH levels (5.5; 6.5; 7.5 and 8.5) in triplicate for 45 days. The experiment was performed in water recirculation systems equipped with an automatic system for monitoring and control of pH levels. Blood samples from nine fish from each treatment were collected and glucose, hematocrit, blood pH measured at 1, 2, 5, 15, 30 and 45 days of experiment whereas the plasma ions concentrations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) were determined on days 1 and 45. The zootechnical parameters, survival rate and feed intake were also measured during the experiment. The different water pH levels did not affect blood glucose levels and hematocrit values were within reported for this species (70 to 98  $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ ). The plasma  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  concentrations were significantly lower in the treatment 8.5 in relation to other treatments. Fish exposed to pH 8.5 showed higher final weight, specific growth rate and condition factor. In addition, this treatment showed a higher feed intake and hepatosomatic index values. In conclusion, exposure to a pH values between 5.5 and 8.5 can cause changes in some hematological parameters, however no mortality and satisfactory growth was recorded in juvenile pacu during the 45 days of exposure, indicating that the species can be reared in these conditions. However, to provide better growth performance is recommended the cultivation of the species in water with pH values around 8.5.

**Keywords:** Blood pH, chronic stress, feed intake, fish growth, survival.

## **Introdução**

A aquicultura é definida como a criação ou cultivo de organismos aquáticos, tais como peixes, crustáceos, moluscos e organismos fotossintéticos (Conte 2004; FAO 2012). Esta é considerada como a atividade que contribuirá com a segurança alimentar para a população, garantindo que o crescimento populacional tenha uma fonte de alimento capaz de suprir a demanda por proteína de origem animal (HLPE 2014; Bené *et al* 2015). O aumento do consumo de pescado, em nível mundial, tem impulsionado cada vez mais este setor, e contribuído com a economia da maioria dos países (Bené *et al* 2015). Em 2012, foi atingido um recorde histórico de 158 milhões de toneladas de pescado, sendo destinados 136,2 milhões de toneladas ao consumo humano, onde China, Indonésia e Índia se destacam; e neste contexto o Brasil tem ocupado a décima quarta posição (FAO 2016).

No Brasil, a piscicultura continental em 2014 produziu 474 mil toneladas (FAO 2016). Esta produção está ligada ao fato do país apresentar grande extensão de terra, bom volume hídrico (lagos, barragens, tanques, açudes) e clima favorável para a criação de diferentes espécies de peixes (Valente 2000; Camargo & Pouey 2005; Rocha *et al* 2013), além de apresentar uma grande biodiversidade de peixes de água doce (2.587 espécies) (Buckup *et al* 2007). Dentre as espécies nativas produzidas no cenário nacional algumas tem se destacado, como é o caso do pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

O pacu é um peixe teleósteo representante da família Characidae, subfamília Myleinae. Sua distribuição ocorre no Pantanal, na Amazônia e na Bacia do Prata (Godoy 1975), na qual se encontram as bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai, as quais estendem-se pelo Brasil, Uruguai, Bolívia, Paraguai e Argentina. Esta espécie apresenta hábito alimentar onívoro (Urbinati *et al* 2010), quando criada em cativeiro adapta-se facilmente ao consumo de ração. Além disso, apresenta uma alta taxa de crescimento, fecundidade, rusticidade e adaptação ao manejo (Queiroz *et al* 2005; Povh *et al* 2009;). Apresenta boa adaptação ao clima das regiões Sul e Sudeste do Brasil e destaca-se pela sua capacidade de resistir baixas concentrações de oxigênio dissolvido (Urbinati *et al* 2010; Drumond 2012). Além disso, o pacu apresenta boa aceitação no mercado consumidor devido à excelente qualidade da sua carne, quanto à cor, textura e sabor (Jomori *et al* 2003; Borges *et al* 2013). A soma destes fatores torna o pacu à



quinta espécie mais produzida no Brasil, e a terceira em relação às espécies nativas, atingindo no ano de 2014 uma produção de 14.553.069 toneladas (IBGE 2015).

Diversos sistemas de criação vêm sendo empregados na criação do pacu, tanto em nível experimental quanto de produção. É possível encontrar na literatura trabalhos em sistemas extensivos, semi-intensivos, intensivos, em tanques-rede, viveiros e barragens (Bombardelli *et al* 2007; Bittencourt *et al* 2009; Bittencourt *et al* 2010; Dallagnol *et al* 2014). Dentro dos sistemas citados anteriormente, os intensivos podem proporcionar um aumento da produção por área (Bittencourt *et al* 2009). Porém, nesse tipo de sistema é necessário um maior controle sobre os parâmetros de qualidade de água para garantir uma melhor produção.

A qualidade da água é um dos fatores mais importantes no cultivo de organismos aquáticos, devendo ser constantemente monitorada a fim de manter as características desejáveis para a criação de peixes (Tavares 1994; Zweig 1999; Copatti & Amaral 2009). Dentre os parâmetros de qualidade da água, citam-se: temperatura, oxigênio dissolvido, alcalinidade, dureza, compostos nitrogenados (amônia, nitrito e nitrato) e pH (Martinez *et al* 2006).

A concentração de íons de hidrogênio ( $H^+$ ) é um fator abiótico indicador do pH da água, sendo capaz de afetar sobrevivência, crescimento e reprodução. Portanto pode limitar o cultivo de organismos aquáticos (Uzoka *et al* 2015; Reynalte-Tataje *et al* 2015). Normalmente o pH da água é regulado pelo sistema gás carbônico-bicarbonato-carbonato, ficando com valores na faixa de 6,0 a 9,0 (Baldisserotto 2013). Porém, a acidificação da água é determinada principalmente pela quantidade de íons  $H^+$  presentes, e a alteração do pH pode ocorrer devido a situações adversas (Copatti & Amaral 2009). Fatores naturais como a composição do solo, presença de alumínio ( $Al^+$ ), ácidos fúlvicos e húmicos podem levar a acidificação da água (Zweig *et al* 1999). Outro fator que ocasiona alterações no pH da água de criação é a presença de algas e plantas aquáticas responsáveis pela produção de oxigênio e consumo de  $CO_2$  durante a fotossíntese (Wood 2001; Von Sperling 2005; Baldisserotto 2013). A respiração dos peixes e a decomposição de restos de ração e fezes é outro fator capaz de influenciar o pH da água, principalmente em sistemas intensivos de criação. Estes, ao se depositarem no fundo dos sistemas de criação passam pelo processo de decomposição de matéria orgânica, a qual necessita do consumo de  $O_2$  pelas bactérias decompositoras que

liberam CO<sub>2</sub>, que está diretamente ligado aos valores de pH da água (Baldisserotto 2013).

A maioria das espécies de peixes é afetada quando exposta a um pH inferior a 6,0 ou superior a 9,0 (Baldisserotto 2011). Porém, a influência do pH da água sobre os peixes é espécie-específica, em função da existência de espécies que podem ser encontradas em uma ampla faixa de pH (Zaniboni Filho 2000). Espécies como o pacu e o tambaqui (*Colossoma macropomum*) (Gonzalez 1996; Baldisserotto 2010) podem ser encontradas em rios de águas escuras da Amazônia onde o pH pode chegar a 3,5 (Matsuo & Val 2003). Da mesma forma, outras espécies como a truta (*Oncorhynchus clarki henshawi*) e carpa-sem-escamas (*Gymnocypris przewalskii*) vivem em condições de pH alcalino, podendo ser encontradas em lagos com pH na faixa de 9,4 a 9,8 (Baldisserotto 2013). Portanto, o pH da água tem relevante papel na aquicultura, uma vez que está diretamente relacionado as respostas fisiológicas, bioquímicas e comportamentais dos peixes. Quando os valores de pH se encontram fora dos desejáveis para a espécie, pode ser desencadeada uma situação de estresse que pode levar a queda da imunidade, supressão do crescimento e em casos extremos, levar a morte (Freda & McDonald 1988; Wurts & Durborow 1992; Sampath *et al* 1993; Copatti & Amaral 2009; Baldisserotto 2011).

O estresse pode estar relacionado a qualquer condição que afete o bem-estar e a homeostase dos animais, podendo ser causado por agentes físicos, químicos e/ou biológicos, que resultam na liberação de hormônios relacionados ao estresse, causando alterações fisiológicas (Sabioni 2014; Zahangir *et al* 2015). Selye (1950) descreveu o estresse com o modelo da síndrome de adaptação geral, onde este pode ser caracterizado por respostas primárias, secundárias e terciárias (Goos & Costen 2002). A resposta primária está ligada ao sistema neuroendócrino que libera as catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) na corrente sanguínea. Esta liberação, ativa a resposta secundária, que por sua vez é responsável por causar alterações fisiológicas para o ajuste da condição corporal e adaptação a homeostase, podendo vir a interferir sobre os parâmetros hematológicos (Barcellos 2000). Estas alterações hematológicas são utilizadas como possíveis indicadores na avaliação do estado nutricional e sanitário dos animais e a sua relação com o meio ambiente (Bolner 2007; Popovic *et al* 2008; Kandeepan 2014). Alguns parâmetros sanguíneos são comumente utilizados nessa avaliação, como a

glicose, o hematócrito e o pH sanguíneo, além da avaliação do efeito nos íons plasmáticos (Barcellos *et al* 2000; Abreu *et al* 2012; Santos *et al* 2016).

A alteração dos parâmetros sanguíneos pode estar ligada a respostas relacionadas ao estresse propriamente dito e a outras alterações fisiológicas. A exposição ao pH ácido tem como primeira resposta o aumento da secreção de muco pelas brânquias, ocorrendo fusões lamelares, diminuindo a capacidade respiratória e de trocas de íons (Munshi & Singh 1992). Na tentativa de manter o aporte de oxigênio necessário para manutenção das funções vitais, o animal aumenta a frequência respiratória, porém este comportamento pode resultar no desequilíbrio das concentrações de CO<sub>2</sub> e HCO<sub>3</sub> sanguíneos, levando a uma alcalose respiratória (Wendelaar Bonga *et al* 1990).

Outro efeito da exposição ao pH ácido é o aumento das perdas passivas de Na<sup>+</sup> e a inibição da captação do mesmo, diminuindo a sua concentração no sangue. Isto ocorre porque a captação de Na<sup>+</sup> está diretamente ligada a liberação de H<sup>+</sup> (Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>) e da bomba Na<sup>+</sup> ATPase nos peixes (Evans 2005; Kwong & Perry 2014) demonstrado em zebrafish (*Danio rerio*) exposto ao pH 4,0 (Kwong & Perry 2013). A dificuldade em manter a homeostase interna pode levar a uma diminuição nos íons do plasma, elevando a taxa de hematócrito (Baldisserotto 2013). Kwong & Perry (2014) sugerem que esta perda de Na<sup>+</sup> durante a exposição ácida esteja em parte ligada ao aumento da permeabilidade paracelular. No pH ácido, a elevada concentração de H<sup>+</sup> apresenta influência sobre as junções paracelulares presentes no epitélio branquial, afrouxando-as e assim, aumentando a perda de íons por esta via (Wood 2001). Além disso, o aumento da permeabilidade paracelular pode influenciar no balanço de outros íons como Ca<sup>2+</sup> e o Cl<sup>-</sup> (Kwong & Perry 2014), também sendo encontrado uma redução nos níveis de K<sup>+</sup> do plasma de peixes expostos ao pH ácido (Aride *et al* 2007). Gonzalez *et al* (1996) relatam que algumas espécies que sobrevivem no pH ácido, podem ter uma adaptação que evita a perda desses íons. Sabe-se que a redução do pH da água levaria a diminuição do pH sanguíneo, devido a inibição dos antiportes Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub> e da V-ATPase nas brânquias (Wood 2001). Porém, a diminuição do pH sanguíneo desencadeia em algumas espécies de peixes o aumento da excreção urinária de H<sup>+</sup> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> reduzindo o pH da urina para compensar este problema (Bolner 2007). Em relação à exposição ao pH básico, os peixes podem sofrer distúrbios no fluxo interno de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> causado pela

inibição do transporte de íons pelas brânquias (Wilkii & Wood 1994), devido a inibição nas trocas de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ ,  $\text{Na}^+/\text{NH}_4$  e  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3$  (Wood 2001). Além disso, a menor concentração de  $\text{CO}_2$  na água básica cria um gradiente favorável de eliminação deste pelas brânquias, que quando em excesso pode causar uma alcalose respiratória, que por sua vez pode elevar o pH sanguíneo sendo letal (Baldisserotto 2013). Porém, diversas espécies de peixes conseguem desenvolver adaptações fisiológicas, capazes de auxiliar na manutenção da homeostase respiratória quando expostos ao pH alcalino (Das *et al* 2006).

Devido às alterações hematológicas citadas anteriormente, longos períodos de estresse, podem afetar o crescimento, ganho de peso e a reprodução dos animais, sendo dessa forma caracterizado como o estágio terciário do estresse (Goos & Costen 2002; Das *et al* 2006; Copatti & Amaral 2009). Durante o processo de adaptação a situação de estresse para recuperação da homeostase, ocorre um maior direcionamento da energia para órgãos e funções prioritárias, envolvidos em processos vitais, tais como respiração, natação, osmorregulação e reparo tecidual, diminuindo o aporte para atividades anabólicas de longo prazo como o crescimento e reprodução dos animais (Barcellos *et al* 2000). Peixes estressados apresentam supressão do consumo de ração, além de um maior gasto energético, causando quedas no desempenho zootécnico (Abbink *et al* 2011).

Dessa forma, o constante monitoramento dos parâmetros de qualidade da água, se faz necessário a fim de evitar situações que causem estresse nos peixes, preservando-os de alterações fisiológicas e bioquímicas que possam levar a diminuição do desempenho zootécnico, ou até mesmo a morte. Estudos do efeito do pH da água sobre os parâmetros hematológicos do pacu já foram realizados por Costa *et al* (2015), porém, estudos avaliando o crescimento e desenvolvimento do pacu em diferentes níveis de pH são inexistentes, entretanto são necessários para garantir o maior conhecimento dos efeitos deste fator sobre esta espécie, a fim de proporcionar maior qualidade na produção e bem-estar aos animais durante a criação.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo Geral**

Avaliar as possíveis alterações nos parâmetros hematológicos, iônicos e no desempenho zootécnico de juvenis de pacu mantidos em diferentes níveis de pH da água.

### **Objetivos Específicos**

- Verificar a influência de diferentes níveis de pH da água sobre os parâmetros hematológicos (glicose, hematócrito e pH sanguíneo) de juvenis de pacu;

- Avaliar a influência do pH da água sobre as concentrações de íons ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{K}^+$ ) do plasma;

- Analisar os efeitos dos diferentes níveis de pH da água sobre o consumo de ração e índice hepatossomático dos juvenis de pacu;

- Avaliar a influência de diferentes níveis de pH sobre os parâmetros zootécnicos de juvenis de pacu;

- Avaliar os efeitos dos diferentes níveis de pH da água sobre a taxa de sobrevivência de juvenis de pacu.

## Referências Bibliográficas

- ABBINK, W, GARCIA, AB, ROQUES, JAC, PARTRIDGE, GJ, KLOET, K, SCHNEIDER, O. 2011. The effect of temperature and ph on the growth and physiological response of juvenile yellowtail kingfish *Seriola lalandi* in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 330–333 130–135.
- ABREU, JS, ESTEVES, FR, URBINATI, EC. 2012. Stress in pacu exposed to ammonia in water. *R. Bras. Zootec.*, 41, (7):1555-1560.
- ARIDE, PHR, ROUBACH, R, VAL, AL. 2007. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. *Aquacult. Res.*, 38: 588-594.
- BALDISSEROTO, B. 2010. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2ed., *Editora UFSC, Santa Maria.*, RS.608p.
- BALDISSEROTO, B. 2011. Water pH and hardness affect growth of freshwater teleosts. *R. Bras. Zootec.*, 40: 138-144. (supl. especial).
- BALDISSEROTTO, B. 2013. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 3ed., *Editora UFSC, Santa Maria.*, RS.349p.
- BARCELLOS, LJG, SOUZA, SMG, WOEHL, VM. 2000. Estresse em peixes: Fisiologia da Resposta ao Estresse, Causas e Consequências (Revisão). *Bol. Inst. Pesca.*, 26 (1): 99-111.
- BENÈ, C, ARTHUR, R, NORBURY, H, ALLISON, EH, BEVERIDGE, M, BUSH, S, CAMPLING, L, LESCHEN, W, LITTLE, D, SQUIRES, D, THILSTED, SH, TROELL, M, WILLIAMS, M. 2015. Contribution of Fisheries and Aquaculture to Food Security and Poverty Reduction: Assessing the Current Evidence. *World Development.*, 79: 177–196.
- BITTENCOURT, F, FEIDEN, A, SIGNOR, AA, BOSCOLO, WR, LORENZ, EK. 2009. Cultivo de pacu *Piaractus mesopotamicus* sob diferentes densidades em tanque-rede no reservatório de Itaipu. *Anais do I Seminário Internacional de Ciência, Tecnologia e Ambiente*, 28 a 30 de abril de 2009. UNIOESTE, Cascavel – Paraná – Brasil.
- BITTENCOURT, F, FEIDEN, A, SIGNOR, AA, BOSCOLO, WR, LORENZ, EK, MALUF, MLF. 2010. Densidade de estocagem e parâmetros eritrocitários de pacus criados em tanques-rede. *R. Bras. Zootec.*, 39 (11): 2323-2329.

- BOLNER, KCS. 2007. Parâmetros metabólicos e íons plasmáticos de piavas (*Leporinus obtusidens*) expostas a diferentes níveis de oxigênio dissolvido e amônia. Dissertação. (Mestrado em Biologia). Universidade Federal de Santa Maria. 59f.
- BOMBARDELLI, RA, BENKE, BC, SANCHES, EA. 2007. Processamento da carne do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) cultivado em tanques-rede no reservatório de Itaipu. *Acta Sci. Anim. Sci. Maringá.*, 29(4): 457-463.
- BORGES, A, CONTE-JUNIOR, CA, FRANCO, RM, FREITA, MQ. 2013. Quality Index Method (QIM) developed for pacu *Piaractus mesopotamicus* and determination of its shelf life. *Food Res. Int.*, 54 311–317.
- BUCKUP, PA, MENEZES, NA, GHAZZI, MS, In: BUCKUP, PA, MENEZES, NA, GHAZZI, MS. 2007 (Eds). Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil. Série livros 23. Rio de Janeiro: Museu Nacional. 11-14.
- CAMARGO, SG, POUHEY, JL. 2005. Aquicultura um mercado em expansão. *Rev. Bras. Agrociência. Pelotas.* 11(4): 393- 396.
- CONTE, FS. 2004. Stress and the welfare of cultured fish., *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 86: 205–223.
- COPATTI, CE, AMARAL, R. 2009. Osmorregulação em juvenis de piava, *Leporinus obtusidens* (Characiformes: Anostomidae), durante trocas do pH da água. *Biodiversidade Pampeana, PUCRS, Uruguaiana*, 7(1): 1-6, fev.
- DALLAGNOL, JM, HIGUCHI, LH, MALUF, MLF, FEIDEN, A, BOSCOLO, WR. 2014. Avaliação sérica de pacus submetidos a dietas com diferentes níveis de proteína e energia cultivados em tanques-rede. *Acta Iguazu, Cascavel.* 3(2): 97-108.
- DAS, PC, AYYAPPAN, S, JENA, JK. 2006. Haematological changes in the three Indian major carps, *Catla catla* (Hamilton), *Labeo rohita* (Hamilton) and *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) exposed to acidic and alkaline water pH. *Aquaculture* 256 80–87.
- DRUMOND, MM. 2012. Ractopamina para pacu (*Piaractus mesopotamicus*) em fase de terminação. Tese. (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Lavras. 76f.

- EVANS, DH, PIERMARINI, PM, CHOE, KP. 2005. The Multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiol. Rev.*, 85: 97–177.
- FAO. 2012. Food And Agriculture Organization Of The United Nations. The state of world fisheries and aquaculture. 203f. Rome.
- FAO. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture. 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp.
- FREDA, J, McDONALD, DG, 1988. Physiological correlates of interspecific variation in acid tolerance in fish. *J. Exp. Biol.*, 136, 243-258.
- GODOY, M.P. 1975. Peixes do Brasil. *Piracicaba: Franciscana*.
- GONZALEZ, R.J. 1996. Ion regulation in ion poor waters of low pH. In: VAL, A.L.; ALMEIDA-VAL, V.M.F.; RANDALL, D.J. (Eds.) *Physiology and biochemistry of the fishes of the Amazon*. Manaus: *INPA*. p.111-121.
- GOOS, HJT, CONSTEN, D. 2002. Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp, *Cyprinus carpio*. *Mol. Cell. Endocrinol.* 197, 105–116.
- HLPE, 2014. Sustainable fisheries and aquaculture for food security and nutrition. A report by the High Level Panel of Experts on Food Security and Nutrition of the Committee on World Food Security, Rome, 119 p.
- IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística, 2015. *Produção da pecuária municipal*. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. 41:34-94.
- JOMORI, RK, CARNEIRO, DJ, MALHEIROS, EB, PORTELLA, MC. 2003. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. *Aquaculture* 221 277–287.
- KANDEEPAN, C. 2014. Effect of Stress on Haematological Parameters of Air Breathing Loach *Lepidocephalus thermalis* (Cuv&Val). *Int. J. Curr. Res. Ac. Rev.*, 2(8):309-322.
- KWONG, RWM & PERRY, SF. 2013. Cortisol regulates epithelial permeability and sodium losses in zebrafish exposed to acidic water. *J. Endocrinol.* 217, 253-264.
- KWONG, RWM & PERRY, SF. 2014. The physiology of fish at low pH: the zebrafish as a model system. *J. Exp. Biol.*, 217, 651-662.



- MATSUO, AYO, VAL, AL. 2003. Fish adaptations to Amazonian blackwaters. In: VAL, AL; KAPOOR, BG. (Eds.) Fish adaptations. Enfield: *Sci. Publishers*. 1-36.
- MARTINEZ, CBR, AZEVEDO, F, WINKALER EU. 2006. Toxicidade e efeitos da amônia em peixes neotropicais. In: Syrino JEP; Urbinatti EC.(Org.). Tópicos especiais em toxicologia aquática e aquicultura. *Soc. Bras. Aquic. Biol. Aquátic.*, 81-95.
- POVH, JA, RIBEIRO, RP, LOPERA-BARRERO, NM, GOMES, PC, BLANCK, DV, VARGAS, L, JACOMETO, CB, LOPES, TS. 2009. Monitoramento da variabilidade genética do pacu, *Piaractus mesopotamicus*, do programa de aumento do estoque do rio Paranapanema. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 61 (5): 1191-1195.
- POPOVIC, N.E. SREBOCAN, R. COZ-RAKOVAC, M. HACMANJEK, I STRUNJAK-PEROVIC & M JADAN. 2008. Blood biochemistry of captive Atlantic bluefin tuna *Thunnus thynnus* farmed in the Adriatic Sea. *J. Appl. Ichthyol.*, 24: 614–616.
- QUEIROZ, JF, LOURENÇO, JNP, KITAMURA, PC, SCORVO FILHO, JD, CYRINO, JEP, CASTAGNOLLI, N, VALENTI, WC, BERNARDINO, G. 2005. Aquaculture in Brazil: research priorities and potential for further international collaboration. *World Aquacult. Magazine*, 36: 45-50.
- REYNALTE-TATAJE, DA, BALDISSEROTTO, B, ZANIBONI-FILHO, E. 2015. The effect of water pH on the incubation and larviculture of curimatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) (Characiformes: Prochilodontidae). *Neotrop. Ichthyol.*, 13(1): 179-186.
- ROCHA, CMC, RESENDE, EK, ROUTLEDGE, EAB, LUNDSTEDT, LM. 2013. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. *Pesq. Agropec. Bras.*, 48(8), iv.
- SABIONI, RE. 2014. Estresse e Imuno Modulação por Beta-Glucano em Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP. 102p.
- SAMPATH, TK, RASHKA, KE, DOCTOR, JS, TUCKER, RF, HOFFMANN, FM. 1993. Drosophila transforming growth factor superfamily proteins induce

- endochondral bone formation in mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90(13):6004-6008.
- SANTOS, CR, CAVALCANTE, ALM, HAUSER-DAVIS, RA, LOPES, RM, MATOS, RCO. 2016. Effects of sub-lethal and chronic lead concentrations on blood and liver ALA-D activity and hematological parameters in Nile tilapia. *Ecotox. Environ, Safe.*, 129 250–256.
- SELYE, H. 1950. Stress and the general adaptation syndrome. *J British Medical*, 1: 1383-1392.
- TAVARES, LHS. Limnologia aplicada à piscicultura. Jaboticabal: FUNEP, 1994.74p.
- URBINATI, EC, GONCALVES, FD, TAKAHASHI, LS. Pacu *Piaractus mesopotamicus*. In: Baldisseroto, B, Gomes, LC. (Org.). 2010. Espécies Nativas para piscicultura no Brasil. 2 edição revista e ampliada. Santa Maria: *Editora UFSM*, capítulo 8, p. 1-606.
- UZOKA, CN, ANYANWU, JC, UCHE, CC, IBE, CC, UZOMA, A. 2015. Effect of pH on the growth performance and survival rate of *Clarias gariepinus* fry. *Int. J. Res. Biosciences*, 4(3), 14-20.
- VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3.ed. Belo Horizonte: UFMG/ Departamento de Engenharia Sanitária, 2005. 1, 452p.
- VALENTE, WC. 2000. Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília: CNPq/ Ministério da Ciência e tecnologia, 399p.
- WENDELAAR BONGA, SE, FLIK, G, BALM, PHM, VAN DER MEIJ, JCA. 1990. The ultrastructure of chloride cells in the gills of the teleost *Oreochromis mossnmbicus* during exposure to acidified water. *Cell and tissue research*.
- WILKIE, MP, LAURENT, P, CHEVALIER, C, WOOD, CM. 1996. The dynamic role of the fish gill in extremely alkaline environments. *Comp. Biochem. Physiol.*, 113B, (4): 665-673.
- WOOD, CM. 2001. Toxic response of the gill. In: SCHLENK, D, BENSON, WH. (Org). Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts. London: *Taylor and Francis*, 2001. 1-89.
- WURTS, WA, DURBOROW, RM. 1992. Interactions of pH, carbon dioxide, alkalinity and hardness in fish ponds. *Aquaculture program*. SRAC-public 464. 4p.

- ZAHANGIR, MD, HAQUE, F, MOSTAKIM, GM, SADIQUL ISLAM, M. 2015. Secondary stress responses of zebrafish to different pH: Evaluation in a seasonal manner. *Aquaculture Reports* 2 91–96.
- ZANIBONI FILHO, E. 2000. Larvicultura de peixes de água doce. *Informe Agropecuário*. 21(203): 69-77.
- ZWEIG, RD, MORTON, JD, STEWART, MM. 1999. Source Water Quality for Aquaculture: A Guide for Assessment. *The World Bank. Washington D.C.*

## Capítulo I

# **INFLUÊNCIA DO pH NOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS, IÔNICOS E DE DESEMPENHO ZOOTÉCNICO EM JUVENIS DE PACU *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG 1887)**

Lucas Pellegrin<sup>1</sup>, Lucas Campos Maltez<sup>1</sup>, Lilian Fiori Nitz<sup>1</sup>, Luciano de Oliveira Garcia<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Oceanografia, Laboratório de Aquacultura Continental, Universidade Federal do Rio Grande, FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

\*Autor correspondente: Luciano O Garcia, Laboratório de Aquacultura Continental, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, 96203-900, Rio Grande, RS, Brazil. Phone: +55 53 3237 3003; E-mail: [garcia\\_log@hotmail.com](mailto:garcia_log@hotmail.com)

## **Resumo**

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da exposição a diferentes níveis de pH da água sobre os parâmetros hematológicos, iônicos e de desempenho zootécnico de juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus*. Peixes ( $33 \pm 1$ g) foram expostos a quatro níveis de pH (5,5; 6,5; 7,5 e 8,5) em triplicata por 45 dias. Amostras de sangue foram coletadas de 9 peixes por tratamento e glicose, hematócrito e pH sanguíneo foram analisadas nos dias 1, 2, 5, 15, 30 e 45 de experimento, enquanto que as concentrações de íons do plasma ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) foram determinadas nos dias 1 e 45. Os parâmetros zootécnicos, taxa de sobrevivência e consumo de ração foram verificados ao longo do experimento. Não houve mortalidade durante o período experimental. Foram observadas alterações no hematócrito, pH sanguíneo e íons durante o experimento, devido a exposição a diferentes níveis de pH da água. Peixes expostos ao pH 8,5 apresentaram maior peso final, taxa de crescimento específico e fator de condição corporal. Este mesmo tratamento apresentou um maior consumo de ração e valores de índice hepatossomático. Em conclusão, a exposição a valores de pH entre 5,5 e 8,5 pode causar alterações em alguns parâmetros hematológicos, entretanto, todos os tratamentos apresentaram 100% de sobrevivência e crescimento satisfatório, mostrando que podem ser cultivados nesta faixa de pH. No entanto, para proporcionar um melhor desempenho zootécnico é recomendado o cultivo de pacu em água com valores de pH próximos a 8,5.

**Palavras chave:** pH do sangue, estresse crônico, consumo de ração, crescimento dos peixes, sobrevivência.

## **Abstract**

The aim of this study was to evaluate the effects of exposure to different water pH levels on hematological and ionic parameters, and growth performance of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus*. Fish ( $33 \pm 1$ g) were exposed to four pH levels (5.5; 6.5; 7.5 and 8.5) in triplicate for 45 days. Blood samples from nine fish from each treatment were collected and glucose, hematocrit, blood pH measured at 1, 2, 5, 15, 30 and 45 days of experiment whereas the plasma ions concentrations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) were determined on days 1 and 45. The zootechnical parameters, survival rate and feed intake were also measured during the experiment. There was no mortality during the experiment. Some changes were observed in blood pH, hematocrit and concentration of ions throughout the experiment due to exposure to different water pH levels. Fish exposed to pH 8.5 showed higher final weight, specific growth rate and condition factor. This same treatment showed a higher feed intake and hepatosomatic index values. In conclusion, exposure to a pH values between 5.5 and 8.5 can cause changes in some hematological parameters, however, the 100% of survival and satisfactory growth in all treatments showed that the species can be grown in this pH range. However, to provide better growth performance is recommended the cultivation of pacu in water with pH values around 8.5.

**Keywords:** Blood pH, chronic stress, feed intake, fish growth, survival.

## **Introdução**

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é um teleósteo nativo da Bacia do Prata (Godoy, 1975), que apresenta hábito alimentar onívoro (Urbinati *et al.*, 2010). Esta espécie apresenta alta taxa de crescimento, fecundidade e adaptação ao manejo. Destaca-se ainda pela capacidade de resistir a baixas concentrações de oxigênio dissolvido e uma ampla faixa de temperatura (Urbinati *et al.*, 2010; Drumond, 2012). Para o mercado consumidor, destaca-se por apresentar excelente qualidade da sua carne, quanto à cor, textura e sabor (Jomori *et al.*, 2003; Borges *et al.*, 2013).

A criação desta espécie tem se destacado dentro do cenário brasileiro, sendo a 5ª espécie mais produzida (IBGE 2015). Entretanto, para o melhor desenvolvimento da criação desta espécie é necessário estudar a influência dos parâmetros de qualidade da água, os quais são um dos fatores mais importantes para o cultivo de organismos aquáticos (Zweig, 1999; Copatti & Amaral, 2009). Nos sistemas intensivos de criação, o monitoramento destes parâmetros é ainda mais importante, pois nestes é utilizado uma maior densidade de peixes, que exercem uma pressão maior sobre a qualidade da água, devendo esta ser constantemente monitorada para manter as suas características ideais para a criação de diferentes espécies. O pH da água por exemplo, é um fator que pode exercer grande influência sobre a vida aquática, devendo ser constantemente monitorado.

O pH da água é regulado pelo sistema gás carbônico-bicarbonato-carbonato, permanecendo em valores na faixa de 6,0 a 9,0 (Baldisserotto, 2013), os quais são considerados ideais para a maioria das espécies de peixes. Entretanto, alterações no pH da água de criação podem ocorrer devido a diferentes situações como a composição do solo e processos biológicos como respiração, fotossíntese, decomposição de matéria orgânica e nitrificação (Zweig *et al.*, 1999; Wood, 2001; Von Sperling, 2005; Baldisserotto, 2013). Em sistemas de recirculação de água o processo de oxidação dos compostos nitrogenados pela atividade das bactérias nitrificantes, é um potencial acidificante da água, pelo fato de que as bactérias envolvidas neste processo consomem a alcalinidade da água, além de liberar CO<sub>2</sub> nesse processo (Loyless & Malone, 1997; Davidson *et al.*, 2011).

O efeito do pH sobre os organismos aquáticos é espécie-específico (Baldisserotto, 2011), e quando fora dos valores ideais para a espécie de interesse, pode

desencadear uma situação de estresse, causando a queda da imunidade, supressão do crescimento, problemas reprodutivos e afetar a sobrevivência de animais aquáticos (Freda & McDonald, 1988; Wurts & Durborow, 1992; Sampath *et al.*, 1993; Baldisserotto, 2011; Uzoka *et al.*, 2015; Reynalte-Tataje *et al.*, 2015).

O estresse pode estar relacionado a qualquer condição que cause desequilíbrio na homeostase de um organismo. Este pode ser causado por agentes físicos, químicos e/ou biológicos que resultam na liberação de hormônios (adrenalina e noradrenalina), causando alterações fisiológicas nos peixes (Sabioni, 2014; Zahangir *et al.*, 2015). As alterações fisiológicas acontecem na tentativa de ajuste da condição corporal e adaptação a homeostase influenciando nos parâmetros hematológicos (Barcellos, 2000). Alguns parâmetros sanguíneos são comumente utilizados como indicadores do estado nutricional e sanitário dos animais e sua relação com o meio, dentre eles estão a glicose, o hematócrito e o pH sanguíneo, além da avaliação do efeito nos íons plasmáticos (Barcellos *et al.*, 2000; Bolner, 2007; Popovic *et al.*, 2008; Abreu *et al.*, 2012; Kandeepan, 2014; Santos *et al.*, 2016).

A exposição aos diferentes níveis de pH pode alterar a regulação ácido-base dos peixes, causando um desequilíbrio iônico que por sua vez está relacionado principalmente a permeabilidade branquial (Wood, 2001; Kwong & Perry, 2014). Peixes expostos em ambientes de pH ácido tem apresentado diminuições principalmente nas concentrações de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  do sangue, estando relacionado as altas concentrações de íons  $\text{H}^+$  presentes na água, inibindo a liberação de  $\text{H}^+$  ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$ ) e da bomba  $\text{Na}^+$  ATPase nos peixes (Evans, 2005; Kwong & Perry, 2013; Kwong & Perry, 2014). Enquanto que, peixes expostos em ambientes de pH alcalino, podem sofrer distúrbios no fluxo interno de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , devido a inibição nas trocas de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ ,  $\text{Na}^+/\text{NH}_4$  e  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3$  nas brânquias (Wilkii & Wood, 1996; Wood, 2001).

Durante a recuperação da homeostase frente à exposição a um pH fora do ideal ocorre um maior direcionamento da energia para órgãos e funções prioritárias, envolvidos em atividade de sobrevivência tais como respiração, natação, osmorregulação e reparo tecidual, diminuindo o aporte para atividades anabólicas de longo prazo como o crescimento (Barcellos *et al.*, 2000). As alterações no crescimento, desenvolvimento e reprodução dos peixes pode ser caracterizada como estágio terciário do estresse (Goos & Costen, 2002). Dessa forma o objetivo deste trabalho foi avaliar os



efeitos dos diferentes níveis de pH da água sobre os parâmetros hematológicos, iônicos e de desempenho zootécnico de juvenis de pacu.

## Material e Métodos

### Animais e condições experimentais

Foram utilizados 300 juvenis de pacu *P. mesopotamicus* ( $33 \pm 1$ g), oriundos de uma piscicultura comercial (Ajuricaba, RS, Brasil). Os animais foram acondicionados, no Laboratório de Aquicultura Continental (LAC), da Universidade Federal do Rio Grande - FURG, sendo distribuídos em 12 caixas de polietileno com volume útil de 210L (25 animais por caixa) em sistema de recirculação. Foram utilizados quatro sistemas de recirculação, onde cada sistema era composto de três caixas interligadas a um “*sump*”, composto por filtro mecânico e biológico para remoção dos sólidos em suspensão e compostos nitrogenados, respectivamente.

Os animais passaram por um período de aclimação (20 dias) as condições laboratoriais. Durante o período de aclimação e experimental foi utilizado um foto período de 12 horas luz/12 horas escuro e os parâmetros de qualidade da água foram mantidos nas seguintes condições: temperatura de  $25,8 \pm 0,1^\circ\text{C}$  e concentração de oxigênio dissolvido de  $7,10 \pm 0,03 \text{ mg.L}^{-1}$  (oxímetro, EcoSense<sup>®</sup> DO 200A), alcalinidade ( $58,7 \pm 3,57 \text{ mg CaCO}_3.\text{L}^{-1}$ ) (Eaton *et al.*, 1995), amônia total ( $1,07 \pm 0,07 \text{ mg NA-T.L}^{-1}$ ) (UNESCO, 1983), amônia não-ionizada ( $0,01 \pm 0,00 \text{ mg NH}_3.\text{L}^{-1}$ ) (Colt, 2002) e nitrito ( $0,65 \pm 0,19 \text{ mg NO}_2.\text{L}^{-1}$ ) (Bendschneider & Robinson, 1952). Durante o período de aclimação os peixes foram mantidos em pH  $7,03 \pm 0,02$  (pHmetro Hanna Edge<sup>®</sup>) e durante o período experimental foram mantidos nas seguintes condições de pH: 5,5 ( $5,54 \pm 0,01$ ); 6,5 ( $6,49 \pm 0,01$ ); 7,5 ( $7,55 \pm 0,01$ ) e 8,5 ( $8,53 \pm 0,01$ ).

Também durante o período de aclimação e experimental, os peixes foram alimentados duas vezes ao dia com ração comercial extrusada (Presence Nutripiscis<sup>®</sup>) que continha na sua composição: 28% de proteína bruta (PB), umidade (10%), extrato etéreo (4,0%), cálcio ( $30 \text{ g.kg}^{-1}$ ), fósforo ( $6 \text{ g.kg}^{-1}$ ) e vitamina C ( $200 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). A ração foi pesada antes e após a alimentação para determinação do consumo e foi fornecida, *ad libitum*, sempre nos mesmos horários (9 e 16 horas). Após 30 minutos, a sobra e fezes

foram retiradas dos tanques através do processo de sifonagem (30% do volume total da água das caixas). A água retirada neste processo foi repostada nas mesmas condições em que se encontravam nas unidades experimentais.

Para a realização do experimento os animais foram expostos por um período de 45 dias a quatro diferentes níveis de pH da água (em triplicata): em sistema de recirculação de água. O aumento e/ou diminuição do pH da água ocorreu gradativamente durante o período de 24 horas em todos os tratamentos, antes do início do experimento. A manutenção dos valores de pH dentro dos níveis desejáveis para cada tratamento, ocorreu através da utilização de um sistema automático de monitoramento e manutenção do pH, o qual adicionava ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ou hidróxido de sódio (NaOH) previamente diluídos em água, quando necessário.

#### Coletas

Durante o período experimental foram realizadas coletas de sangue nos tempos 1, 2, 5, 15, 30 e 45 dias (9 peixes/tratamento/coleta) e as coletas de dados de desempenho zootécnico foram realizadas nos tempos 0 e 45 dias (todos os peixes).

Para a realização deste procedimento os animais foram anestesiados com uma solução de cloridrato de benzocaína (50 mg.L<sup>-1</sup>) e, logo após, foram coletados aproximadamente 0,5 mL de sangue com auxílio de seringa heparinizada, através da punção da veia caudal. Uma fração do sangue coletado foi utilizada para determinação da glicose (glicosímetro Accu-Chek Performa/Roche®), pH sanguíneo (pHmetro HANNA®, HI2210) e hematócrito.

Para a verificação do hematócrito, foi seguido a metodologia descrita por Goldenfarb et al (1971), onde 2/3 de um capilar foi completado com sangue e foi centrifugado em centrífuga de micro hematócrito (Quimis® 0222HM2) em 14.972 g, durante 10 minutos. A leitura foi realizada em cartão de leitura e o resultado foi expresso em porcentagem de células vermelhas em relação ao volume de sangue.

A quantidade de sangue restante coletada foi colocada em um microtubo de 1,5 mL, o qual foi centrifugado (NOVATECNICA® NT805) em 661 g por 5 minutos a 4°C. Após a centrifugação, foi retirado o plasma e congelado para posterior determinação dos íons plasmáticos (0 e 45 dias) de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> em um fotômetro de chama (DIGIMED®, DM-61). Também foi realizada a análise de Cl<sup>-</sup> utilizando kit de cloreto (Doles®), para

posterior leitura em um leitor ELISA (Synergy™ Multi-Mode Microplate Reader®) em comprimento de onda de 510 nm. Após a coleta de sangue os animais foram eutanasiados com uma solução de cloridrato de benzocaína (500 mg.L<sup>-1</sup>) para coleta e pesagem do fígado para determinação do índice hepatossomático (IHS).

Para verificação dos dados de desempenho zootécnico, todos os animais, nos diferentes tratamentos foram anestesiados com uma solução de cloridrato de benzocaína (50 mg.L<sup>-1</sup>) e posteriormente pesados utilizando balança de precisão (Bioprecisa® BS300A). Os animais também foram medidos com uma régua graduada para determinação do comprimento total e padrão. Os parâmetros zootécnicos analisados foram:

- Comprimento Total (CT): medida da porção anterior da cabeça até o final da nadadeira caudal (cm);

- Comprimento Padrão (CP) = medida da porção anterior da cabeça até o pedúnculo da nadadeira caudal (cm);

- Peso final (PF);

- Fator de Condição Corporal (FCC) = peso médio total (g) / (comprimento total<sup>3</sup>) x 100;

- Taxa de Crescimento Específico (TCE = %) = 100 x [ln (peso final) - ln (peso inicial)] / dias;

- Conversão Alimentar Aparente (CAA) = ração fornecida (g) / ganho de peso (g);

- Consumo de ração diário = (ração fornecida (g) / dias de consumo) / numero de animais;

- Taxa de Sobrevivência (S) = [(quantidade inicial de animais – indivíduos mortos) / (quantidade inicial dos animais)] x 100.

#### Análise estatística

Os experimentos foram realizados a partir de um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (pH 5,5; 6,5; 7,5 e 8,5) e três repetições, totalizando 12 unidades experimentais. Todos os resultados foram expressos como média ± erro padrão. Os pressupostos de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (teste de Levene) foram previamente testados. Os parâmetros

sanguíneos foram analisados utilizando ANOVA de duas vias (tempo x tratamento) e os resultados de íons plasmáticos, consumo de ração e índice hepatossomático (uma via) e desempenho zootécnico (uma e duas vias), foram analisados utilizando ANOVA. Em ambos os casos, o teste de Tukey foi aplicado para indicar as diferenças entre os tratamentos. O nível mínimo de significância foi de  $p < 0,05$  para todas as análises.

## **Resultados**

### Parâmetros hematológicos

#### Hematócrito

No primeiro dia os peixes expostos ao pH 5,5 apresentaram valores de hematócrito significativamente maiores dos expostos aos pH 6,5 e 7,5. No dia 15, os peixes expostos ao pH 8,5 apresentaram valores de hematócrito significativamente menores do que os expostos ao pH 6,5. No dia 30, os peixes do tratamento de pH 5,5 apresentaram valores de hematócrito significativamente maiores em relação aos expostos ao pH 8,5. Os peixes expostos ao pH 5,5 e 8,5 apresentaram valores de hematócrito significativamente maiores no dia 45 em relação ao dia 5 (Tabela 1).

#### pH sanguíneo

O pH sanguíneo dos juvenis de pacu expostos ao tratamento de pH 8,5 apresentou valores significativamente menores em relação aos encontrados para o tratamento de pH 5,5 (dia 2). No dia 15, os tratamentos de pH 5,5 e 8,5 apresentaram valores de pH sanguíneos significativamente menores que os encontrados nos tratamentos de pH 6,5 e 7,5. Ao longo do tempo, o tratamento de pH 5,5, apresentou valores de pH sanguíneo significativamente menores nos dias 5 e 15, em relação aos demais dias. Para este mesmo tratamento, também foram verificados valores de pH significativamente maiores, nos dias 1, 2 e 30, em relação aos dias 5 e 15, porém significativamente menores em relação ao dia 45. O tratamento de pH 6,5 apresentou valores menores de pH sanguíneo no dia 5, diferindo significativamente dos dias 15, 30 e 45. Já o tratamento de pH 7,5 apresentou menores valores de pH sanguíneo nos dias 2 e 5 diferindo significativamente dos demais tempos, além disso, no dia 45 apresentou valores de pH sanguíneo significativamente maiores que nos demais tempos. Os valores de pH sanguíneo do tratamento de pH 8,5 nos dias 2, 5 e 15 foram significativamente menores em relação aos demais tempos, porém ao final do período experimental, dia 45,

foi encontrado a maior média diferindo significativamente dos demais tempos (Tabela 1).

#### Íons plasmáticos

Os peixes expostos a valores de pH 8,5 apresentaram concentrações sanguíneas de  $\text{Na}^+$  significativamente menores que os peixes expostos ao pH 5,5 no início do experimento (dia 1). Ao final do período experimental (45 dias) as concentrações de  $\text{Na}^+$  foram significativamente menores para o tratamento de pH 8,5 em relação aos demais tratamentos. Já as concentrações de  $\text{Cl}^-$  dos peixes expostos ao pH 5,5 foram significativamente maiores que nos demais tratamentos no início do experimento. Em relação às concentrações sanguíneas de  $\text{K}^+$ , o tratamento exposto ao pH 8,5, apresentou concentrações significativamente menores que os demais tratamentos no final do experimento (Tabela 2).

#### Consumo de ração índice hepatossomático (IHS) e desempenho zootécnico

Os animais expostos ao tratamento de pH 8,5 apresentaram um consumo de ração significativamente maior que os demais tratamentos. Além disso, este tratamento (pH 8,5) apresentou o índice hepatossomático significativamente maior que o tratamento de pH 6,5 (Tabela 3).

Todos os tratamentos apresentaram aumento significativo no comprimento total, comprimento padrão e peso. Porém, os juvenis de pacu expostos ao pH 8,5 apresentaram peso e taxa de crescimento específico significativamente maiores ao final do experimento (45 dias), em relação aos demais tratamentos. O fator de condição corporal foi significativamente maior nos animais do tratamento exposto ao pH 8,5, em relação aos expostos ao pH 6,5 (Tabela 3).

### **Discussão**

#### Parâmetros hematológicos e iônicos

A utilização dos parâmetros hematológicos como indicadores de mudanças fisiológicas vem sendo empregado em estudos com peixes e pode detectar quadros de estresse (Sampaio *et al.*, 2008). No presente estudo, não houveram alterações significativas nos níveis de glicose sanguínea, permanecendo os valores na faixa de 71 a 93  $\text{mg.dL}^{-1}$ . Estes resultados foram semelhantes aos apresentados para pacus criados em pH 9,4 ( $74,8 \pm 12,1 \text{ mg.dL}^{-1}$ ) (Tavares-Dias *et al.*, 2002), pH 6,7 a 6,9 ( $78,1 \pm 33,2$

mg.dL) (Tavares-Dias & Moraes, 2010) e em pH 7,42 (93 a 98 mg.dL<sup>-1</sup>) (Dallagnol *et al.*, 2014). Das *et al.* (2006) sugerem que a alteração ou não da glicose sanguínea de um peixe exposto a diferentes níveis de pH da água, esteja relacionada à sua capacidade de adaptação a essa condição ambiental. Outras espécies também apresentaram resultados semelhantes ao do presente estudo. Das *et al.* (2006) expuseram juvenis de carpa *Labeo rohita* a valores de pH de 6,5 e 9,0 por um período de 21 dias e não observaram alterações nos níveis de glicose, sugerindo que esta espécie tenha um mecanismo adaptativo para sobreviver a diferentes níveis de pH da água.

Porém, algumas espécies não conseguem manter os níveis de glicose dentro dos normais frente à exposição a diferentes pH da água. As carpas *Catla catla* e *Cirrhinus mrigala* quando expostas a níveis de pH maiores ou menores do que 7,5, apresentam elevação nos níveis de glicose sanguínea (Das *et al.*, 2006). O mesmo acontece como a carpa comum *Cyprinus carpio* (Ghanbari *et al.*, 2012) exposta em diferentes níveis de pH (5,5; 6,5; 7,4; 8,0; 8,5 e 9,0), da mesma forma que o zebrafish *Danio rerio* após 72 horas de exposição ao pH 5,0 (Zahangir *et al.*, 2015) e o tambaqui *Colossoma macropomum* exposto por um período de 40 dias a níveis de pH ácido, neutro e alcalino (4,0; 6,0 e 8,0) (Aride *et al.*, 2007). Os resultados citados sugerem que estas espécies tem dificuldade em se adaptar quando expostas a valores de pH fora da neutralidade, possivelmente tendo que utilizar reservas energéticas provenientes do glicogênio hepático através da gliconeogênese (Blasco *et al.*, 1991), enquanto que os pacus do presente trabalho não sofreram alterações nos níveis de glicose.

As alterações nas características da água podem interferir negativamente na vida dos peixes, e as brânquias, órgão que está em contato direto com a água reage de imediato às condições desfavoráveis (Benli *et al.*, 2008). Uma forma de identificar estas reações nos peixes é avaliar os valores de hematócrito, o qual determina a proporção de eritrócitos no sangue em relação à quantidade de leucócitos, trombócitos e plasma sanguíneo (Ranzani-Paiva *et al.*, 2013), o qual pode ser influenciado pelo desequilíbrio iônico (Sinha *et al.*, 2012) e pela captação de oxigênio (Cardoso *et al.*, 1996; Lease *et al.*, 2003) com consequente alterações nas células sanguíneas.

Os valores de hematócritos encontrados no presente trabalho, nos diferentes pH, apresentaram-se na faixa de 26 a 34%. Estes valores estão de acordo com os encontrados para exemplares de pacus (27 a 31% de hematócrito) coletados em

pisciculturas do estado de São Paulo (Ranzani-Paiva *et al.*, 1999) e para pacus mantidos em pH 9,4 (26 a 31% de hematócrito) (Tavares-Dias *et al.*, 2002). Em outro estudo com juvenis de pacu, expostos ao pH ácido e neutro (3,5; 4,5; 5,5 e 7,0), os autores verificaram que valores de pH não interferem nas concentrações de hematócrito desta espécie (Costa *et al.*, 2015). Nossos resultados sugerem que a influência dos diferentes níveis de pH utilizados no presente estudo, assim como os demonstrados por Costa *et al.* (2015) foram incapazes de causar efeitos negativos que ocasionassem alterações nos valores de hematócrito dos juvenis de pacu.

O pH sanguíneo dos peixes pode ser influenciado pelo pH da água, pelo contato íntimo entre água de criação e sangue, que circula pelas brânquias (Wurts & Durborow, 1992). Além disso, o pH da água pode afetar diretamente as brânquias dos peixes, que através do acúmulo de muco tentam evitar perdas passivas de íons para o meio, porém, este mecanismo dificulta as trocas gasosas como captação de O<sub>2</sub> e liberação de CO<sub>2</sub>, causando acúmulo deste e uma possível acidose sanguínea (Boyd 1998; Das *et al.*, 2006; Zahangir *et al.*, 2015). No presente estudo o pH sanguíneo dos juvenis de pacu expostos ao pH 8,5 apresentou valores abaixo dos encontrados no tratamento exposto ao pH 5,5 no dia 2, vindo a acontecer novamente no dia 15 nos tratamentos de pH 5,5 e 8,5. Este resultado indica uma acidose sanguínea que possivelmente tenha sido ocasionada pelo acúmulo de muco nas brânquias, interferindo nas trocas gasosas, aumentando a concentração de CO<sub>2</sub> em relação ao HCO<sub>3</sub> no sangue. Entretanto, os valores de pH sanguíneo encontrados no presente estudo estiverem próximos aos valores encontrados para espécies de peixes no geral (Wurts & Durborow, 1992), o que sugere que a faixa de pH de 5,5 a 8,5 possa ser utilizada para o cultivo de juvenis de pacu, causando pequenas acidificações no sangue sem comprometer a criação da espécie.

O pH da água durante uma criação, pode exercer influência sobre as concentrações de íons plasmáticos dos peixes, reduzindo ou aumentando os mesmos (Wood *et al.* 1998; Zahangir *et al.*, 2015). No presente trabalho o tratamento exposto ao pH 8,5 apresentou concentrações de Na<sup>+</sup> significativamente menores que as encontradas no tratamento de pH 5,5 no início do experimento. Além disso, este mesmo tratamento apresentou concentrações de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> significativamente mais baixas que os demais tratamentos no final do período experimental. Alguns agentes estressores, tem

capacidade de causar alterações no balanço ácido-base e hidromineral dos peixes (Barton *et al.*, 1991), sendo normal peixes de água doce expostos a valores de pH fora dos ideais, apresentarem dificuldade em manter as concentrações de íons corporais dentro dos normais, perdendo estes para o meio (Wood *et al.*, 1998). Dessa forma, é possível sugerir que a exposição ao pH 8,5 causou disfunções iônicas, resultando em uma diminuição nas concentrações de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  do sangue, porém, nenhum tratamento testado sofreu interferência nas concentrações de  $\text{Cl}^-$  do sangue.

Consumo de ração, índice hepatossomático (IHS) e desempenho zootécnico

O índice hepatossomático representa a relação entre o peso do fígado e o peso dos animais, sendo utilizado como biomarcador na identificação de possíveis contaminantes ou do estado nutricional dos peixes (Narra *et al.*, 2015). No presente trabalho os juvenis de pacu expostos ao pH 8,5 apresentaram o índice hepatossomático significativamente maior em relação ao tratamento exposto ao pH 7,5. Este mesmo tratamento apresentou um consumo de ração significativamente maior em relação aos demais, podendo indicar que o maior IHS deste tratamento esteja possivelmente ligado ao estado nutricional dos animais (Ighwela *et al.*, 2014).

A avaliação da situação nutricional de um animal pode ser realizada através da coleta de dados biométricos para estimar o desempenho zootécnico, identificando ou não diferenças entre grupos de animais que podem ocorrer por motivos como, alterações na alimentação, qualidade da água ou situação de estresse, influenciando o crescimento e desenvolvimento dos animais (Lima *et al.*, 2015; Fuchs *et al.*, 2015).

A exposição aos níveis de pH testados não influenciou no comprimento padrão e total dos juvenis de pacu, mas foi encontrado diferenças significativas no peso dos animais expostos ao pH 8,5 o qual foi maior que nos demais tratamentos. O maior peso para este tratamento pode estar relacionado ao consumo de ração, o qual foi significativamente maior para este tratamento em relação aos demais. Além disso, o fator de condição corporal foi maior para este mesmo tratamento. O fator de condição corporal pode indicar quantitativamente o estado de hígidez e bem-estar dos animais, podendo explicar a influência que uma situação de estresse pode ter sobre o estado nutricional de um animal e indicar as interações entre os peixes e os fatores bióticos e abióticos (Gomiero & Braga, 2003; Froese, 2006; Tavares-dias *et al.*, 2008). Em estudo



com carpa comum (*Cyprinus carpio*) exposta a pH alcalino (7,5 e 8,0) também ficou demonstrado maior ganho de peso nestas condições (Heydarnejad, 2012). Copatti *et al.* (2005) em experimento com jundiás (*Rhandia quelen*) expostos a diferentes níveis de pH da água por um período de 30 dias, verificaram o maior ganho de peso para o tratamento exposto ao pH 7,5 em relação aos pH 5,5 e 9,0. Nossos resultados indicam que o pH 8,5 demonstrou ser melhor para o ganho de peso e desenvolvimento dos juvenis de pacu do presente trabalho.

### Sobrevivência

A taxa de sobrevivência dos juvenis de pacu foi de 100% para todos os tratamentos. Esse resultado demonstra que os juvenis de pacu podem ser criados em uma faixa de pH da água de 5,5 a 8,5. Resultados semelhantes foram encontrados por Costa *et al.* (2015), para esta mesma espécie durante exposição aguda ao pH ácido e neutro (3,5; 4,5; 5,5 e 7,0) por 96 horas. Resultados similares também foram encontrados para o tambaqui (*Colossoma macropomum*) exposto ao pH ácido e alcalino (4,0; 6,0 e 8,0) por um período de 40 dias (Aride *et al.*, 2007).

### Conclusão

A exposição a uma faixa de pH entre 5,5 e 8,5 não causou alterações bioquímicas nos parâmetros sanguíneos, nem mortalidade nos juvenis de pacu durante um período de exposição de 45 dias, o que indica que a espécie pode ser criada nestas condições. Entretanto, para a obtenção de um melhor desempenho zootécnico, recomenda-se a utilização do pH 8,5.

## REFERÊNCIAS

- Abreu, J.S. Esteves, F.R. Urbinati, E.C. 2012. Stress in pacu exposed to ammonia in water. R. Bras. Zootec. v.41, n.7, p.1555-1560.
- Aride, P.H.R. Roubach, R. Val, A.L. 2007. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. Aquaculture Research. 38, 588-594.
- Baldisseroto, B. 2011. Water pH and hardness affect growth of freshwater teleosts. Revista Brasileira de Zootecnia, 40, 138-144. (supl. especial).
- Baldisserotto, B. 2013. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. Editora UFSM, Santa Maria, RS.349p.
- Baldisserotto, B. Martos-Sitcha, J.A. Menezes, C.C. Toni, C. Prati, R.L. Garcia, L.O. Salbego, J. Mancera, J.M. Martínez-Rodríguez, G. 2014. The effects of ammonia and water hardness on the hormonal, osmoregulatory and metabolic responses of the freshwater silver catfish *Rhamdia quelen*. Aquatic Toxicology, 152:341–352.
- Barcellos, L.J.G. Souza, S.M.G. Woehl, V.M. 2000. Estresse em peixes: Fisiologia da Resposta ao Estresse, Causas e Consequências (Revisão). Boletim do Instituto de Pesca, 26 (1): 99-111.
- Barton, B.A. Iwama, G.K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the responses and effects of corticosteroids. Ann Rev Fish Dis, 1, 3-26.
- Bendschneider, K. & Robinson, R.J. 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. Journal of Marine Research, 11: 87-96.
- Benli, A.C.K. Köksal, G. Özkul, A. 2008. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Effects on gill, liver and kidney histology. Chemosphere. 72: 1355–1358.
- Borges, A. Conte-Junior, C.A. Franco, R.M. Freita, M.Q. 2013. Quality Index Method (QIM) developed for pacu *Piaractus mesopotamicus* and determination of its shelf life. Food Research International, 54 311–317.
- Blasco, J. Fernandez, J. Gutierrez, J. 1991. The effects of starvation and refeeding on plasma amino acid levels, *Cyprinus carpio* L. 1758. Journal of Fish Biology, 38: 587-598.

- Bolner, K.C.S. 2007. Parâmetros metabólicos e íons plasmáticos de piavas (*Leporinus obtusidens*) expostas a diferentes níveis de oxigênio dissolvido e amônia. Dissertação. (Mestrado em Biologia) Universidade Federal de Santa Maria. 59f.
- Boyd, C.E. 1998. Water Quality Management for Pond Fish Culture: Research and Development, vol. 43. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, pp. 1–37.
- Cardoso, E.L. Chiarini-Garcia, H. Ferreira, R.M.A. Poli, C.R. 1996. Morphological changes in the gills of *Lophiosilurus alexandri* exposed to un-ionized ammonia. *Journal Fish Biology*, 49: 778–787.
- Colt, J. 2002. List of spreadsheets prepared as a complement. In: Wedemeyer GA (ed) *Fish hatchery management*. American Fisheries Society, Bethesda, 91–186.
- Copatti, C.E. Amaral, R. 2009. Osmorregulação em juvenis de piava, *leporinus obtusidens* (characiformes: anastomidae), durante trocas do pH da água. *Biodiversidade Pampeana*, 7(1): 1-6.
- Copatti, C.E. Coldebella, I.J. Radunz Neto, J. Garcia, L.O Rocha, M.C. Baldisserotto, B. 2005. Effect of dietary calcium on growth and survival of silver catfish fingerlings, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae), exposed to different water pH. *Aquaculture Nutrition*. 11; 345–350.
- Costa, S.T. Korsack, F.G. Uczay, J. Peixoto, N.C. Campos, F.M. Durigon, E. Schneider, T.L.S. Lazzari, R. 2015. Sobrevivência e parâmetros eritrocitários de *Piaractus mesopotamicus* em pH ácido. XXV Congresso Brasileiro de Zootecnia Zootec 2015 Dimensões Tecnológicas e Sociais da Zootecnia Fortaleza – CE.
- Dallagnol, J.M. Higuchi, L.H. Maluf, M.L.F. Feiden, A. Boscolo, W.R. 2014. Avaliação sérica de pacus submetidos a dietas com diferentes níveis de proteína e energia cultivados em tanques-rede. *Acta Iguazu, Cascavel*, 3(2): 97-108.
- Das, P.C. Ayyappan, S. Jena, J.K. 2006. Haematological changes in the three Indian major carps, *Catla catla* (Hamilton), *Labeo rohita* (Hamilton) and *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) exposed to acidic and alkaline water pH. *Aquaculture* 256 80–87.
- Davidson, J. Good, C. Welsh, C. Summerrfelt, S. 2011. The effects of ozone and water exchange rates on water quality and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*

- performance in replicated water recirculating systems. *Aquacultural Engineering*, 44: 80-96.
- Drumond, M.M. 2012. Ractopamina para pacu (*Piaractus mesopotamicus*) em fase de terminação. Tese. (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Lavras. 76f.
- Eaton, A.D. Clesceri, L.S. Greenberg, A.E. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19. ed. Baltimore: United Book Press, Inc., 1995.
- Freda, J. McDonald, D.G. 1988. Physiological correlates of interspecific variation in acid tolerance in fish. *Journal of Experimental Biology*, 136, 243-258.
- Froese, R. 2006. Cube law, condition factor and weight-length relationship: history, meta-analysis and recommendations. *Journal Applied of Ichthyology*, Berlin, 22: 241-253.
- Fuchs, V.I. Schmidt, J. Slater, M.J. Zentek, J. Buck, B.H. Steinhagen, D. 2015. The effect of supplementation with polysaccharides, nucleotides, acidifiers and *Bacillus* strains in fish meal and soy bean based diets on growth performance in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 437 (2015) 243–251.
- Ghanbari, M. Jami, M. Doming, K.J. Kneifel, W. 2012. Long-term effects of water pH changes on hematological parameters in the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *African Journal of Biotechnology* Vol. 11(13), 3153-3159.
- Godoy, M.P. 1975. Peixes do Brasil. Piracicaba: Franciscana.
- Goos, H.J.T. Consten, D. 2002. Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp, *Cyprinus carpio*. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 197: 105–116.
- Goldenfarb P.B. Bowyer F.P. Hall E. Brosious E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*, 56:35–39.
- Gomiero, L. M. & Braga, F.M.S. 2003 Relação peso comprimento e fator de condição para *Cichla* cf. *ocellaris* e *Cichla monoculus* (Perciformes, Cichlidae) no reservatório de Volta Grande, Rio Grande- MG/ SP. *Acta Scientiarum*, Maringá, 25: 79-86.

- Gonzalez, R.J. 1996. Ion regulation in ion poor waters of low pH. In: VAL, A.L.; ALMEIDA-VAL, V.M.F.; RANDALL, D.J. (Eds.) Physiology and biochemistry of the fishes of the Amazon. Manaus: INPA. p.111-121.
- Heydarnejad, M.S. 2012. Survival and growth of common carp (*Cyprinus carpio* L.) exposed to different water pH levels. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 2012; 36(3): 245-249.
- Ighwela, K.A. Ahmad, A.B. Abol-Munafi, A.B. 2014. The selection of viscerosomatic and hepatosomatic indices for the measurement and analysis of *Oreochromis niloticus* condition fed with varying dietary maltose levels. International Journal of Fauna and Biological Studies. 1 (3): 18-20.
- Jomori, R.K. Carneiro, D.J. Malheiros, E.B. Portella, M.C. 2003. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. Aquaculture 221(1-4): 277-287.
- Kandeepan, C. 2014. Effect of Stress on Haematological Parameters of Air Breathing Loach *Lepidocephalus thermalis* (Cuv&Val). Int. J. Curr. Res. Ac. Rev., 2(8):309-322.
- Kwong, R.W.M. & Perry, S.F. 2013. Cortisol regulates epithelial permeability and sodium losses in zebrafish exposed to acidic water. Journal Endocrinology, 217, 253-264.
- Kwong, R.W.M. & Perry, S.F. 2014. The physiology of fish at low pH: the zebrafish as a model system. The Journal of Experimental Biology, 217, 651-662.
- Lease, HM, Hansen, JA, Bergman, HL, Meyer, JS. 2003. Structural changes in gills of Lost River suckers exposed to elevated pH and ammonia concentrations. Comparative Biochemistry and Physiology C 134, 491-500.
- Lima, E.C.R. Souza, R.L. Wambach, X.F. Silva, U.L. Correia, E.S. 2015. Cultivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em sistema de bioflocos com diferentes densidades de estocagem. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, 16, (4): 948-957.
- Loyless, J. C. Malone, R. F. 1997. A sodium bicarbonate dosing methodology for pH management in freshwater recirculating aquaculture systems. The Progressive Fish-Culturist, 59:198-205.

- Narra, M.R. Rajender, K. Reddy, R.R. Rao, J.V. Begum, G. 2015. The role of vitamin C as antioxidant in protection of biochemical and haematological stress induced by chlorpyrifos in freshwater fish *Clarias batrachus*. *Chemosphere* 132, 172–178.
- Popovic, N.E. Srebocan, R. Coz-Rakovac, M. Hacmanjek, I. strunjak-Perovic & Mjadan. 2008. Blood biochemistry of captive Atlantic bluefin tuna *Thunnus thynnus* farmed in the Adriatic Sea. *Journal of Applied. Ichthyology*. 24: 614–616.
- Ranzani-Paiva, M.J.T. Salles, F.E. Eiras, J.C. Eiras, A.C. Ishikawa, C.M. Alexandrio, A.C. 1999. Análises hematológicas de curimatá (*Prochilodus scrofa*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) das estações de piscicultura do instituto de pesca, estado de São Paulo. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, 25 (único): 77 – 83.
- Reynalte-Tataje, D.A. Baldisserotto, B. Zaniboni-Filho, E. 2015. The effect of water pH on the incubation and larviculture of curimatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) (Characiformes: Prochilodontidae). *Neotropical Ichthyology*. 13(1): 179-186.
- Sabioni, R.E. 2014. Estresse e imuno modulação por Beta-Glucano em Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP. 102p.
- Sampaio, F.G. Boijink, C.L. Oba, E. T. Santos, L.R. B. Kalinin, A.L. Rantin, F.R. 2008. Antioxidant defenses and biochemical changes in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) in response to single and combined copper and hypoxia exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 147 43–51.
- Sampath, T.K. Rashka, K.E. Doctor, J.S. Tucker, R.F. Hoffmann, F.M. 1993. Drosophila transforming growth factor superfamily proteins induce endochondral bone formation in mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.* 90(13): 6004-6008. (Export to RIS).
- Santos, C.R. Cavalcante, A.L.M. Hauser-Davis, R.A. Lopes, R.M. Matos, R.C.O. 2016. Effects of sub-lethal and chronic lead concentrations on blood and liver ALA-D activity and hematological parameters in Nile tilapia. *Ecotoxicology and Environmental. Safety* 129 250–256.

- Sinha, A.K. Liew, H.J. Diricxa, M. Blusta, R. Boeck, G. 2012. The interactive effects of ammonia exposure, nutritional status and exercise on metabolic and physiological responses in gold fish (*Carassius auratus* L.). *Aquatic Toxicology*, 109: 33– 46.
- Tavares-Dias, M. Martins, M.L. Schalch, S.H.C. Onaka, E.M. Quintanal, C.I.F. Moraes, J.R.E. Moraes, F.R. 2002. Alterações hematológicas e histopatológicas em pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (*Osteichthyes, Characidae*), tratado com sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>). *Acta Scientiarum*, 24(2): 547-554.
- Tavares-Dias, M. Marcon, J.L. Lemos, J.R.G. Fim, J.D.I. Affonso, E.G. Ono, E.A. 2008. Índices de condição corporal em juvenis de *Brycon amazonicus* (SPIX & AGASSIZ, 1829) e *Colossomoma macropomum* (CUVIER, 1818) na Amazônia. *Boletim do Instituto da Pesca*, 34(2): 197 – 204.
- Tavares-Dias, M. Moraes, F.R. 2010. Biochemical parameters for *Piaractus mesopotamicus*, *Colossoma macropomum* (*Characidae*) and hybrid tambacu (*P. mesopotamicus* X *C. macropomum*). *Ciência Animal Brasileira*, 11(2): 363-368.
- UNESCO. 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides 12, Intergovernmental Oceanographic Commission. Paris, France.
- Urbinati, E.C. Goncalves, F.D. Takahashi, L.S. 2010. Pacu *Piaractus mesopotamicus*. In: Baldisseroto, B, Gomes, LC. (Org.). 2010. Espécies Nativas para piscicultura no Brasil. 2 edição revista e ampliada. Santa Maria: Editora UFSM, capítulo 8, 1-606.
- Uzoka, C.N. Anyanwu, J.C. Uche, C.C. Ibe, C.C. Uzoma, A. 2015. Effect of pH on the growth performance and survival rate of *Clarias gariepinus* fry. *International Journal of Research studies in Biosciences*, 4(3), 14-20.
- Von Sperling, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3.ed. Belo Horizonte: UFMG/ Departamento de Engenharia Sanitária, 2005. 1, 452.
- Wilkie, M.P. Laurent, P. Chevalier, C. Wood, C.M. 1996. The dynamic role of the fish gill in extremely alkaline environments. *Comp. Biochem. Physiol.*, 113B, (4): 665-673.
- Wood, C.M. Playle, R.C. Simons, B.P. Goss, G.G. McDonald, D.G. 1988. Blood bases, acid-base status, ions and hematology in adult brook trout (*Salvelinus fontinalis*)

- under acid/aluminum exposure. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 45, 1575-1586.
- Wood, C. M. 2001. Toxic response of the gill. In: SCHLENK, D.; BENSON, W. H. (Org.). *Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts*. London: Taylor and Francis, 2001, 1-89.
- Wurts, W.A. Durborow, R.M. 1992. Interactions of pH, carbon dioxide, alkalinity and hardness in fish ponds. *Aquaculture program. SRAC-public 464*, 4.
- Zaniboni Filho, E. 2000. Larvicultura de peixes de água doce. *Informe Agropecuário*, 21(203): 69-77.
- Zahangir, M. Haque, F. Mostakim, G.M. Sadiqul Islam, M. 2015. Secondary stress responses of zebrafish to different pH: Evaluation in a seasonal manner. *Aquaculture Reports* 2. 91–96.
- Zwieg, R.D. Morton, J.D. and Stewart, M.M. (1999). *Source Water Quality for Aquaculture: A Guide for Assessment*. The World Bank. Washington D.C.



**Tabela 1.** Parâmetros hematológicos de juvenis de pacu mantidos, por um período de 45 dias, em diferentes níveis de pH da água.

Parâmetros sanguíneos				
Tempo (dias)	Trat.	Glicose (mg dL)	Hematócrito (%)	pH
1	5,5	72,88±6,65 <sup>aA</sup>	34,11±0,77 <sup>aA</sup>	7,22±0,01 <sup>aBC</sup>
	6,5	78,88±3,49 <sup>aA</sup>	29,77±0,81 <sup>bA</sup>	7,21±0,01 <sup>aCD</sup>
	7,5	84,33±8,56 <sup>aA</sup>	28,00±1,29 <sup>bA</sup>	7,24±0,01 <sup>aB</sup>
	8,5	83,33±5,79 <sup>aA</sup>	30,11±1,14 <sup>abAB</sup>	7,21±0,01 <sup>aC</sup>
2	5,5	84,88±5,84 <sup>aA</sup>	31,66±1,45 <sup>aAB</sup>	7,18±0,01 <sup>aBC</sup>
	6,5	75,22±5,01 <sup>aA</sup>	28,22±1,63 <sup>aA</sup>	7,16±0,01 <sup>abCD</sup>
	7,5	74,00±4,66 <sup>aA</sup>	27,44±1,44 <sup>aA</sup>	7,12±0,01 <sup>abC</sup>
	8,5	82,22±4,89 <sup>aA</sup>	29,00±1,20 <sup>aB</sup>	7,10±0,01 <sup>bD</sup>
5	5,5	81,11±6,77 <sup>aA</sup>	27,66±1,33 <sup>aB</sup>	7,07±0,03 <sup>aD</sup>
	6,5	81,11±3,46 <sup>aA</sup>	29,44±1,00 <sup>aA</sup>	7,15±0,01 <sup>aD</sup>
	7,5	77,75±5,20 <sup>aA</sup>	30,33±1,46 <sup>aA</sup>	7,11±0,03 <sup>aC</sup>
	8,5	71,22±5,60 <sup>aA</sup>	28,11±0,67 <sup>aB</sup>	7,10±0,01 <sup>aD</sup>
15	5,5	83,77±4,79 <sup>aA</sup>	29,00±1,59 <sup>abAB</sup>	7,14±0,03 <sup>bCD</sup>
	6,5	81,77±4,32 <sup>aA</sup>	31,11±0,71 <sup>aA</sup>	7,22±0,01 <sup>aBC</sup>
	7,5	78,88±2,21 <sup>aA</sup>	27,77±0,59 <sup>abA</sup>	7,23±0,02 <sup>aB</sup>
	8,5	85,00±2,30 <sup>aA</sup>	26,88±0,61 <sup>bB</sup>	7,15±0,02 <sup>bD</sup>
30	5,5	75,00±5,57 <sup>aA</sup>	32,77±1,17 <sup>aAB</sup>	7,26±0,01 <sup>aB</sup>
	6,5	81,77±5,79 <sup>aA</sup>	31,22±1,10 <sup>abA</sup>	7,28±0,01 <sup>aB</sup>
	7,5	92,33±4,28 <sup>aA</sup>	30,66±0,60 <sup>abA</sup>	7,30±0,01 <sup>aB</sup>
	8,5	83,88±5,53 <sup>aA</sup>	27,22±1,03 <sup>bB</sup>	7,28±0,01 <sup>aB</sup>
45	5,5	93,22±7,19 <sup>aA</sup>	33,22±1,40 <sup>aA</sup>	7,37±0,01 <sup>aA</sup>
	6,5	86,33±6,02 <sup>aA</sup>	32,66±1,69 <sup>aA</sup>	7,40±0,01 <sup>aA</sup>
	7,5	88,44±8,12 <sup>aA</sup>	30,77±0,86 <sup>aA</sup>	7,37±0,01 <sup>aA</sup>
	8,5	84,44±4,75 <sup>aA</sup>	33,66±0,52 <sup>aA</sup>	7,39±0,01 <sup>aA</sup>

Trat.: tratamentos (pH 5,5; 6,5; 7,5 e 8,5).

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no mesmo tempo, entre os tratamentos e letras maiúsculas indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos ao longo do tempo pelo teste de Anova de duas vias e Tukey.

**Tabela 2.** Concentrações de íons no plasma de juvenis de pacu mantidos por um período de 45 dias, em diferentes níveis de pH da água.

Tempo (dias)	Tratamento	Íons plasmáticos		
		Na <sup>+</sup> (mmol L <sup>-1</sup> )	Cl <sup>-</sup> (mmol L <sup>-1</sup> )	K <sup>+</sup> (mmol L <sup>-1</sup> )
1	5,5	129,22±11,03 <sup>a</sup>	187,35±2,41 <sup>a</sup>	3,43±0,28 <sup>a</sup>
	6,5	116,01±4,59 <sup>ab</sup>	141,32±1,26 <sup>b</sup>	3,39±4,0,31 <sup>a</sup>
	7,5	118,37±7,01 <sup>ab</sup>	135,99± 5,14 <sup>b</sup>	3,20±0,12 <sup>a</sup>
	8,5	103,27±3,54 <sup>b</sup>	125,17±1,09 <sup>b</sup>	3,18±0,25 <sup>a</sup>
45	5,5	179,71±9,45 <sup>a</sup>	138,92±0,85 <sup>a</sup>	6,80±0,25 <sup>a</sup>
	6,5	174,01±5,70 <sup>a</sup>	151,83±1,05 <sup>a</sup>	6,70±0,49 <sup>ab</sup>
	7,5	187,66±11,98 <sup>a</sup>	153,03±1,02 <sup>a</sup>	7,85±0,56 <sup>a</sup>
	8,5	145,49±13,96 <sup>b</sup>	147,76±1,53 <sup>a</sup>	5,40±0,40 <sup>b</sup>

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos dentro do mesmo tempo, pelo teste de Tukey.

**Tabela 3.** Parâmetros zootécnicos de juvenis de pacu mantidos, por um período de 45 dias, em diferentes níveis de pH da água.

Parâmetros	pH			
	5,5	6,5	7,5	8,5
<b>CTI</b> (cm)	12,32±0,13 <sup>ab</sup>	12,38±0,03 <sup>ab</sup>	12,05±0,04 <sup>ab</sup>	12,43±0,09 <sup>ab</sup>
<b>CTF</b> (cm)	15,75±0,29 <sup>aA</sup>	15,23±0,39 <sup>aA</sup>	15,46±0,14 <sup>aA</sup>	15,73±0,45 <sup>aA</sup>
<b>CPI</b> (cm)	9,50±0,07 <sup>ab</sup>	9,59±0,06 <sup>ab</sup>	9,42±0,03 <sup>ab</sup>	9,68±0,06 <sup>ab</sup>
<b>CPF</b> (cm)	12,38±0,20 <sup>aA</sup>	12,36±0,18 <sup>aA</sup>	12,56±0,18 <sup>aA</sup>	13,02±0,25 <sup>aA</sup>
<b>PI</b> (g)	33,82±0,78 <sup>ab</sup>	34,28±0,65 <sup>ab</sup>	33,37±0,64 <sup>ab</sup>	31,72±0,93 <sup>ab</sup>
<b>PF</b> (g)	73,79±3,62 <sup>bA</sup>	71,94±3,27 <sup>bA</sup>	76,44±2,79 <sup>bA</sup>	95,32±4,26 <sup>aA</sup>
<b>TCE</b> (%/dia)	1,73±0,04 <sup>b</sup>	1,63±0,15 <sup>b</sup>	1,85±0,09 <sup>b</sup>	2,38±0,07 <sup>a</sup>
<b>CAA</b>	1,29±0,07 <sup>a</sup>	1,23±0,12 <sup>a</sup>	1,23±0,07 <sup>a</sup>	1,05±0,14 <sup>a</sup>
<b>FCC</b> (%)	2,03±0,02 <sup>ab</sup>	2,01±0,01 <sup>b</sup>	2,02±0,02 <sup>ab</sup>	2,10±0,01 <sup>a</sup>
<b>IHS</b>	1,70±0,05 <sup>ab</sup>	1,70±0,05 <sup>ab</sup>	1,53±0,06 <sup>b</sup>	1,83±0,07 <sup>a</sup>
<b>CR</b> (g)	1,443±0,02 <sup>b</sup>	1,437±0,12 <sup>b</sup>	1,660±0,06 <sup>b</sup>	2,036±0,02 <sup>a</sup>

**CTI:** comprimento total inicial; **CTF:** comprimento total final; **CPI:** comprimento padrão inicial; **CPF:** comprimento padrão final; **PI:** peso inicial; **PF:** peso final; **TCA:** taxa de crescimento específico; **CAA:** conversão alimentar aparente; **FCC:** fator de condição corporal; **IHS:** índice hepatossomático; **CR:** consumo de ração.

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos dentro do mesmo tempo. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos ao longo do tempo.

Para **CTI; CTF; CPI; CPF; PI; PF** foi utilizado ANOVA de duas vias e para **TCA; CAA; FCC; IHS; CR** foi utilizado Anova de uma via, seguido do teste de Tukey.

### **Conclusões gerais**

A exposição a diferentes níveis de pH da água altera os parâmetros hematológicos e iônicos dos juvenis de pacu.

A exposição ao pH 8,5 da água interfere no ganho de peso e no fator de condição corporal e taxa de crescimento específico dos juvenis de pacu.

O consumo de ração e o índice hepatossomático é maior nos juvenis de pacu expostos ao pH 8,5.

Os níveis de pH da água, na faixa de 5,5 a 8,5, não exerceram influência sobre a sobrevivência dos juvenis de pacu no presente estudo.

Para um melhor desempenho zootécnico dos juvenis de pacu recomendasse o pH 8,5.