

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Escola de Veterinária**

**Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

Milena Costa Silva Sales

**EFEITO AGUDO DOS COMPOSTOS NITROGENADOS, AMÔNIA E NITRITO, NA  
FASE LARVAL DE DESENVOLVIMENTO DA COLISA LALIA (*Trichogaster lalius*)**

BELO HORIZONTE

2025

Milena Costa Silva Sales

**EFEITO AGUDO DOS COMPOSTOS NITROGENADOS, AMÔNIA E NITRITO, NA  
FASE LARVAL DE DESENVOLVIMENTO DA COLISA LALIA (*Trichogaster lalius*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Kleber Campos Miranda Filho

Coorientadora: Érika Ramos de Alvarenga

BELO HORIZONTE

2025

## FICHA CATALOGRÁFICA

Sales, Milena Costa Silva, 2000 -  
S163e Efeito agudo dos compostos nitrogenados , Amônia e Nitrito, na fase larval de desenvolvimento da Colisa Lalia (Trichogaster lalius)/Milena Costa Silva Sales. -2025.  
60 f. il.

Orientador: Kleber Campos Miranda Filho

Coorientadora: Érika Ramos de Alvarenga

Tese (Doutorado) apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da UFMG, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal

Bibliografia: 57-60.

1. Peixes - Teses – 2. Zootecnia – Teses – 3. Criação - Teses – I. Filho, Kleber Campos Miranda - II. Alvarenga, Erika Ramos de.- III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – IV. Título.

CDD – 639.31

Bibliotecário responsável Marcio Alves dos santos CRB 3589  
Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG.



ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG  
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA  
Av. Antônio Carlos 6627 - CP 567 - CEP 30123-970 - Belo Horizonte- MG  
TELEFONE (31)-3409-2173

[www.vet.ufmg.br/academicos/pos-graduacao](http://www.vet.ufmg.br/academicos/pos-graduacao)  
E-mail [cpgzootec@vet.ufmg.br](mailto:cpgzootec@vet.ufmg.br)

### **ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MILENA COSTA SILVA SALES**

Às 09:00 horas do dia 31 de julho de 2025, reuniu-se, a Comissão Examinadora de dissertação, aprovada por ad referendum no dia 23/07/2025, para julgar, em exame final, a defesa da dissertação intitulada: **Efeito agudo dos compostos nitrogenados, amônia e nitrito, na fase inicial de desenvolvimento da colisa lalia (*Trichogaster lalius*)**, como requisito final para a obtenção do Grau de Mestre em Zootecnia, área de concentração **Produção Animal**

Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Kleber Campos Miranda Filho, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa de dissertação, passou a palavra ao (a) candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato (a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do candidato e do público, para julgamento da dissertação, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

	Aprovada	Reprovada
Prof.(a)/Dr.(a) Maria Clara Vieira Martins Starling	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) Gisele Cristina Favero	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) Kleber Campos Miranda Filho (orientador)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Pelas indicações, o (a) candidato (a) foi considerado (a):  Aprovada  
 Reprovado (a)

Para concluir o Mestrado, o(a) candidato(a) deverá entregar 03 volumes encadernados da versão final da dissertação acatando, se houver, as modificações sugeridas pela banca, e a comprovação de submissão de pelo menos um artigo científico em periódico recomendado pelo Colegiado dos Cursos. Para tanto terá o prazo máximo de 60 dias a contar da data defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao (a) candidato (a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora e encaminhada juntamente com um exemplar da dissertação apresentada para defesa.

Belo Horizonte, 31 de julho de 2025.

Assinatura dos membros da banca:

Documento assinado digitalmente  
**MARIA CLARA VIEIRA MARTINS STARLING**  
Data: 07/10/2025 12:20:33-0300  
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Documento assinado digitalmente  
**GISELE CRISTINA FAVERO**  
Data: 13/08/2025 15:43:26-0300  
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Documento assinado digitalmente  
**KLEBER CAMPOS MIRANDA FILHO**  
Data: 13/08/2025 16:33:53-0300  
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

## **Agradecimentos**

Agradeço profundamente ao meu orientador, Kleber Campos Miranda Filho, pela sua orientação e apoio incondicionais ao longo de minha jornada acadêmica. Sua vasta experiência e conhecimento foram fundamentais para o desenvolvimento desta dissertação. Sua dedicação em me guiar sempre foi uma fonte de inspiração.

Gostaria de expressar minha sincera gratidão à minha coorientadora, Érika Ramos de Alvarenga, por sua valiosa contribuição e apoio ao longo de minha pesquisa. Sua orientação foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho, e sua expertise nas áreas que abordei me ajudou a aprofundar meu entendimento.

Quero dedicar um agradecimento especial ao meu amigo e colega de trabalho, Matheus Anchieta Ramirez. Sua amizade e colaboração ao longo desta jornada foram fundamentais para o meu crescimento pessoal e acadêmico.

Neste momento especial, sinto a necessidade de expressar minha profunda gratidão à minha família, que sempre foi meu pilar de apoio incondicional. Desde o início da minha jornada acadêmica, vocês estiveram ao meu lado, oferecendo amor, encorajamento e compreensão.

Agradeço aos meus pais, que sempre acreditaram em mim e em meus sonhos. Vocês sacrificaram tanto para que eu tivesse a oportunidade de buscar meu conhecimento e crescer como pessoa.

## Resumo

A piscicultura ornamental desempenha um papel significativo no setor aquícola do Brasil. Dentre as espécies cultivadas, o colisa lalia, *Trichogaster lalius*, se destaca pelo valor econômico e pela popularidade entre os aquaristas. No entanto, a deterioração da qualidade da água, particularmente o acúmulo de compostos nitrogenados como a amônia e o nitrito, representa uma ameaça importante à saúde dos peixes. Este estudo teve como objetivo avaliar a tolerância, por meio de testes de toxicidade aguda à amônia e ao nitrito, na fase larval de *T. lalius*, utilizando os dados de mortalidade para estimativa da concentração letal mediana em 96 horas ( $CL_{50-96h}$ ) e analisar alterações histopatológicas nos tecidos branquiais. Os testes de toxicidade aguda foram realizados em sistema semi-estático, sob condições laboratoriais controladas. Foram utilizados 240 animais (peso médio de 0,0542 g) divididos em 24 recipientes de 1,5 L, em duplicata. Os valores de  $CL_{50}$  foram estimados a partir das mortalidade registradas ao longo das 96 h de exposição por meio do aplicativo Trimmed Spearman-Kärber. Os resultados mostraram um aumento progressivo da mortalidade com o aumento nas concentrações testadas de ambos os compostos nitrogenados. As  $CL_{50}$  obtidas em 96 horas foram de 3,04 N-AT e 0,30 mg/L N-NH<sub>3</sub> e 2,35 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, com níveis de segurança estimados em 0,030 mg/L N-NH<sub>3</sub> e 0,23 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, respectivamente. As análises histológicas revelaram alterações significativas nas brânquias, como fusão lamelar, hiperplasia e hipertrofia epitelial, descolamento epitelial e dilatação do seio sanguíneo. Essas lesões foram mais severas e frequentes nas concentrações mais elevadas dos compostos. Os resultados reforçam a importância do controle rigoroso da qualidade da água na aquicultura ornamental, especialmente no que se refere aos compostos nitrogenados, que podem comprometer severamente a sobrevivência e o bem-estar dos peixes em estágios iniciais de desenvolvimento.

Palavras-chave: qualidade da água; histopatologia; peixes ornamentais;  $cl_{50}$ ; estágio larval; brânquia.

## Abstract

Ornamental aquaculture plays a significant role in Brazil's aquaculture sector. Among the species cultured, the dwarf gourami, *Trichogaster lalius*, stands out for its economic value and popularity among aquarists. However, the deterioration of water quality, particularly the accumulation of nitrogenous compounds such as total and un-ionized ammonia and nitrite, represents a major threat to fish health. This study aimed to evaluate tolerance through acute toxicity tests with ammonia and nitrite during the larval stages of *T. lalius*, using mortality rates to determine the 96-hour median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) and to analyze histopathological alterations in gill tissues. The tests were conducted in duplicate under controlled laboratory conditions, using 240 animals (average weight 0.0542 g) distributed across 24 containers of 1.5 L. LC<sub>50</sub> values were estimated using the Trimmed Spearman-Kärber method. The results showed a progressive increase in mortality with higher tested concentrations of both nitrogenous compounds. The 96-hour LC<sub>50</sub> values were 3.04 mg/L N-AT and 0.30 mg/L N-NH<sub>3</sub> for ammonia, and 2.35 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> for nitrite, with estimated safe levels of 0.030 mg/L N-NH<sub>3</sub> and 0.23 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, respectively. Histological analyses revealed significant gill alterations, including lamellar fusion, epithelial hyperplasia and hypertrophy, epithelial detachment, and dilation of the blood sinus. These lesions were more severe and frequent at higher compound concentrations. The results reinforce the importance of rigorous water quality management in ornamental aquaculture, particularly regarding nitrogenous compounds, which can severely compromise survival and welfare during the early developmental stages of fish.

Keywords: water quality; histopathology; ornamental fish; lc<sub>50</sub>; larval stage; gill.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplos juvenis de <i>Trichogaster lalius</i> . (Fonte: Milena Sales)	15
Figura 2. Ninho de bolhas de <i>Trichogaster lalius</i> . (Fonte: Milena Sales)	15
Figura 3. Larvas de <i>Trichogaster lalius</i> . (Fonte: Milena Sales)	16
Figura 4. Procedimento de infiltração do material biológico em parafina (Fonte: Milena Sales).	39
Figura 5. Procedimento para fixar o material em bloco de parafina (Fonte: Milena Sales).	39
Figura 6. Bloco de parafina finalizado com material biológico (Fonte: Milena Sales).	40
Figura 7. Montagem das lâminas histológicas após coloração com hematoxilina e eosina (Fonte: Milena Sales).	40
Figura 8. Alterações histológicas de brânquias de colisa lalia expostas às concentrações de amônia.	47
Figura 9. Alterações histológicas de brânquias de colisa lalia expostas às concentrações de nitrito.	44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Média ( $\pm$ desvio padrão) e mediana (percentis 25 e 75) das variáveis da qualidade de água e concentração real para a amônia total (AT) durante 96 h de experimento de toxicidade aguda com <i>Trichogaster lalius</i> . ....	42
Tabela 2. Média ( $\pm$ desvio padrão) e mediana (percentis 25 e 75) das variáveis da qualidade de água e concentração real para a nitrito (N-NO <sub>2</sub> -) durante 96 h de experimento de toxicidade aguda com <i>Trichogaster lalius</i> . ....	43
Tabela 3. Valores estimados de CL <sub>50</sub> de amônia total (N-AT) e não-ionizada (N-NH <sub>3</sub> ) (mg/L) e o nível de segurança (N-NH <sub>3</sub> ) para <i>Trichogaster lalius</i> em 96 horas de exposição aguda. ....	44
Tabela 4. Valores estimados de CL <sub>50</sub> de nitrito (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) e o nível de segurança para <i>Trichogaster lalius</i> em 96 horas de exposição aguda. ....	44
Tabela 5. Valores estimados de CL <sub>50</sub> de amônia não-ionizada (NH <sub>3</sub> ) de diferentes espécies de peixes. ....	45
Tabela 6. Valores estimados de CL <sub>50</sub> de nitrito (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) de diferentes espécies de peixes. ....	45
Tabela 7. Alterações histológicas encontradas nas brânquias de <i>Trichogaster lalius</i> expostas às crescentes concentrações de amônia (N-AT). ....	49
Tabela 8. Alterações histológicas encontradas nas brânquias de <i>Trichogaster lalius</i> expostas às crescentes concentrações de Nitrito (N-NO <sub>2</sub> -). ....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de Variância
AT	Amônia Total
°C	Graus Celsius
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CL50	Concentração letal mediana
et al.	Et alii, expressão em latim que significa "e outros"
H&E	Hematoxilina-eosina (técnica de coloração histológica)
LAQUA	Laboratório de Aquacultura
mg/L	Miligrama por litro (unidade de concentração química)
µm	Micrômetro (unidade de medida para espessura dos cortes histológicos)
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Íon nitrito
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Íon nitrato
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Íon amônio
NH <sub>3</sub>	Amônia não-ionizada (forma química)
OD	Oxigênio Dissolvido
OCDE	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development
P.A.	Para Análise
pH	Potencial hidrogeniônico, indicador de acidez ou alcalinidade da água
R\$	Real (moeda oficial do Brasil)
SD	Standard Deviation (Desvio padrão – em português)
TPA	Troca parcial de água
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
US\$	Dólar americano (moeda oficial dos Estados Unidos)
%	Porcentagem

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	12
<b>2- REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	14
2.1 - A espécie alvo <i>Trichogaster lalius</i> .....	14
2.2 - Qualidade da água.....	16
2.2.1 - Amônia .....	17
2.2.2 - Nitrito .....	19
2.2.3 - Fatores que influenciam na toxicidade dos compostos nitrogenados ...	21
2.3 - Teste de toxicidade aguda .....	22
2.4 - Estudo Histológico.....	23
2.5 - Nível de Segurança .....	24
<b>3. REFERÊNCIAS</b> .....	25
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	29
4.1 Objetivos gerais .....	29
4.2 Objetivos específicos.....	29
<b>ARTIGO</b> .....	30
Efeito agudo dos compostos nitrogenados, amônia e nitrito, na fase larval de colisa lalia ( <i>Trichogaster lalius</i> ) .....	30
Acute effects of nitrogen compounds, ammonia and nitrite, on larval stage of colisa lalia ( <i>Trichogaster lalius</i> ) .....	30
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	33
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	36
2.1. Manutenção dos animais pré-experimento .....	36
2.2. Teste de toxicidade aguda.....	36
2.3. Qualidade de água .....	38
2.4 Amônia não ionizada (NH <sub>3</sub> ) .....	38

2.5. Histologia.....	38
2.6 Análise estatística.....	41
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>42</b>
3.1. Qualidade de água.....	42
3.2. CL <sub>50</sub> e Nível de segurança .....	44
3.3. Histopatologia.....	46
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>56</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>56</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>57</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Em Minas Gerais, com ênfase na região de Muriaé, a atividade de criação de peixes ornamentais assume uma importância central na economia do país, representando aproximadamente 70% da produção nacional. Esse núcleo produtivo engloba os municípios de Patrocínio do Muriaé, Vieiras, Eugenópolis, Miradouro, Barão do Monte Alto, Muriaé, Rosário da Limeira e São Francisco do Glória. Nessa área de destaque, cerca de 400 famílias estão diretamente envolvidas com a criação desses organismos aquáticos, caracterizando um modelo típico de agricultura familiar. O setor movimenta mais de R\$ 10 milhões por ano, sobressaindo-se frente a cadeias produtivas tradicionais como a agricultura e a pecuária. As espécies mais cultivadas na região incluem o betta ou peixe de briga, acará, guppy ou lebiste e colisa. No ano de 2021, a receita mensal por hectare atingiu aproximadamente R\$ 9 mil, e, mesmo diante de limitações relacionadas à assistência técnica especializada e à ausência de políticas públicas específicas, o potencial de produção continua bastante promissor (Agência Minas, 2024).

Os colisas, largamente reconhecidos e valorizados internacionalmente no universo da aquariofilia, distinguem-se por atributos marcantes como resistência e tolerância às variáveis físico-químicas da água, adaptação à respiração aérea acessória, comportamento territorial e versatilidade quanto às condições dos aquários. A construção de complexos ninhos de bolhas e o cuidado parental evidenciado pelos machos são especialmente admirados entre os entusiastas desse hobby. Com um valor de mercado - variando entre U\$ 0,25 e U\$ 1,10 por casal, dependendo da linhagem - sua produção é comumente realizada em viveiros escavados, dotados de redes de proteção contra aves predadoras. O tempo necessário para completar o ciclo de cultivo varia entre 120 e 180 dias, sendo que os exemplares de maior porte alcançam preços mais altos devido à demanda significativa (Lima et al., 2013).

Uma das principais causas associadas ao surgimento de enfermidades e à mortalidade em sistemas de produção de peixes ornamentais está relacionada ao estresse provocado pelas condições da água. Estudos apontam que muitos sistemas empregados no Brasil possuem uma baixa taxa de renovação hídrica, o que, quando não é adequadamente monitorado, pode gerar oscilações abruptas nos parâmetros da água. Essas alterações criam um ambiente desfavorável e estressante para os peixes, tornando-os mais suscetíveis à enfermidades e agentes infecciosos (Santos e Costa, 2019).

Adicionalmente, a escassez de trocas frequentes pode resultar no acúmulo de substâncias tóxicas e na deterioração progressiva da qualidade de água, agravando ainda mais o estresse nos animais. Assim, o controle constante e a manutenção dos parâmetros físico-químicos da água são essenciais para preservar um ambiente equilibrado e reduzir os impactos negativos sobre a saúde dos peixes ornamentais (Yavuzcan et al., 2017).

Os produtores frequentemente recorrem à troca parcial da água para mitigar problemas de acúmulo de amônia e outros resíduos, no entanto, essa prática isolada apresenta limitações em termos de sustentabilidade e controle contínuo dos parâmetros da água. A adoção de Sistemas de Recirculação Aquícola (RAS) é a alternativa mais sustentável e eficiente. Esses sistemas minimizam a necessidade de reposição hídrica ao integrar biofiltros, remoção de sólidos e tratamento biológico e químico avançado, mantendo a qualidade da água de forma estável e reduzindo o estresse nos peixes ornamentais. Além disso, os RAS oferecem vantagens ambientais significativas e possibilitam maior biossegurança e localização próxima ao mercado consumidor, diminuindo custos de transporte e impacto ambiental. Embora o investimento inicial e os custos operacionais sejam mais elevados, como consumo energético e manutenção da infraestrutura técnica, a longo prazo o RAS se mostra superior ao sistema de apenas troca de água, tanto do ponto de vista ambiental quanto da saúde e produtividade dos peixes (Zhang et al., 2024).

A análise detalhada dos compostos nitrogenados, especialmente amônia, nitrito e nitrato, é crucial devido à sua elevada toxicidade e efeitos fisiológicos adversos em organismos aquáticos. A amônia não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) representa o maior risco, provocando stress oxidativo, supressão do sistema imunológico e danos às brânquias, o que pode culminar em mortalidade e redução no desempenho de espécies de interesse comercial. Sensores químicos e bióticos têm sido empregados para monitorar de forma precisa variações de concentrações de amônia, uma vez que fatores como pH, temperatura e salinidade alteram a proporção da sua forma mais tóxica e, conseqüentemente, seu impacto. Adicionalmente, o nitrito, intermediário no processo de nitrificação, pode interagir sinergicamente com a amônia, potencializando efeitos negativos sobre o desenvolvimento dos animais aquáticos, afetando taxas de crescimento e sobrevivência. Embora o nitrato seja menos tóxico, em concentrações elevadas pode causar efeitos crônicos nos animais e contribuir para eutrofização do ambiente aquático, destacando a importância de acompanhar todo o ciclo nitrogênio para garantir a saúde do sistema aquícola (Edwards et al., 2024).

A sensibilidade aos contaminantes presentes nos ambientes aquáticos varia amplamente entre diferentes espécies de peixes, bem como ao longo das distintas fases do ciclo de vida de cada organismo. Essa diferença de resposta está associada a fatores como a fisiologia da espécie, o ecossistema em que se desenvolve e suas adaptações evolutivas (Gauthier et al., 2021).

O propósito deste estudo foi avaliar o efeito de distintas concentrações de amônia e nitrito na taxa de sobrevivência do peixe colisa lalia (*Trichogaster lalius*), além de examinar possíveis alterações morfológicas nos tecidos branquiais dos exemplares utilizados. A pesquisa visa demonstrar como esses compostos químicos influenciam tanto o cultivo quanto o bem-estar desta espécie ornamental, ressaltando a relevância da qualidade da água para a manutenção da saúde em sistemas de aquicultura.

## **2- REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 - A espécie alvo *Trichogaster lalius***

O termo *Trichogaster* tem origem na língua grega, em que "tricho" significa "cabelo" e "gaster" quer dizer "estômago", fazendo alusão às suas nadadeiras peitorais longas e filiformes, que lembram fios. A espécie, *Trichogaster lalius*, pertence à família *Osphronemidae*, à ordem *Anabantoidei*, reconhecida pela capacidade de respirar oxigênio atmosférico, graças à presença de um órgão especializado denominado labirinto. Essa estrutura respiratória possibilita que esses peixes habitem ambientes de água doce com baixos níveis de oxigênio dissolvido. *T. lalius*, popularmente chamado de colisa lalia (Fig. 1), atinge um comprimento médio entre 5 e 7 cm, sendo considerado ideal para aquários de pequeno porte ou comunitários. Seu tamanho reduzido facilita o manejo e permite boa convivência com outras espécies. Embora sejam pequenos, esses peixes apresentam comportamento ativo e sociável, agregando dinamismo visual ao aquário. Seu corpo possui formato oval e levemente achatado lateralmente, o que favorece sua movimentação por entre plantas aquáticas e sua ascensão à superfície para captar oxigênio do ar. As nadadeiras do *T. lalius* constituem um dos traços mais distintivos dessa espécie. As nadadeiras peitorais, longas e semelhantes a filamentos, proporcionam ao peixe uma aparência graciosa e possibilitam movimentos suaves na água. A nadadeira dorsal, por sua vez, é alta e se prolonga ao longo do dorso, contribuindo para a estabilidade na natação, especialmente em momentos de cortejo e em interações sociais (Tate et al., 2017).



**Figura 1.** Exemplos juvenis de *Trichogaster lalius*. (Fonte: Milena Sales)

Essa espécie apresenta hábito alimentar onívoro, consumindo tanto alimentos de origem vegetal quanto animal. Sua alimentação pode incluir ração comercial, que representa uma alternativa prática e balanceada para peixes de clima tropical. Além disso, os colisas demonstram preferência por alimentos vivos, como artêmias, especialmente durante as fases iniciais da vida, pois esses organismos oferecem nutrientes fundamentais e incentivam comportamentos naturais de busca por alimento (Lima e Ferreira, 2015).

O processo reprodutivo do *T. lalius* é caracterizado por comportamentos de cortejo e cuidados com a prole. O macho é responsável pela elaboração de um ninho de bolhas na superfície da água, composto por pequenas bolhas de ar, como parte do ritual reprodutivo (Fig. 2).



**Figura 2.** Ninho de bolhas de *Trichogaster lalius*. (Fonte: Milena Sales)

Esses peixes preferem locais calmos, geralmente com presença abundante de vegetação aquática, para garantir a proteção dos ovos. Em ambientes controlados, é possível reproduzir

essas condições naturais utilizando plantas aquáticas reais, que oferecem refúgio e segurança, ou até mesmo elementos artificiais, como fitilhos, que funcionam como substitutos das bolhas. Essa recriação do habitat é fundamental tanto para o êxito do processo reprodutivo quanto para o bem-estar dos exemplares, permitindo que *T. lalius* manifeste comportamentos típicos da espécie. Quando a fêmea está pronta para liberar os ovos, pode depositar entre 100 e 500 unidades no ninho construído previamente. Após esse processo, o macho realiza a fertilização e passa a proteger o ninho até o momento da eclosão. Os ovos se desenvolvem e eclodem entre 24 e 48 horas, e os recém-nascidos, ainda em estágio larval (Fig. 3), permanecem no interior do ninho por alguns dias, enquanto absorvem os nutrientes do saco vitelino. O macho continua zelando pelos alevinos até que estejam aptos a nadar de forma independente (Lima e Ferreira, 2015).



**Figura 3.** Exemplares da fase inicial de *Trichogaster lalius* (Fonte: Milena Sales)

## 2.2 - Qualidade da água

A condição da água está diretamente relacionada ao bem-estar dos peixes, sendo fatores como oxigênio dissolvido, pH, temperatura e concentrações de amônia e nitrito de importância fundamental. Níveis reduzidos de oxigênio dissolvido podem provocar hipóxia, o que gera estresse significativo e pode levar à mortalidade dos peixes (Brett, 1979). Além disso, o acúmulo de amônia e nitrito - subprodutos da decomposição de resíduos orgânicos e excreção dos animais - compromete funções fisiológicas essenciais, impactando negativamente o crescimento e a taxa de sobrevivência dos organismos aquáticos (Edwards et al., 2024).

### 2.2.1 - Amônia

A prática da aquicultura, seja para fins comerciais em grande escala ou para criação ornamental, demanda o controle da qualidade da água, sendo a amônia um dos compostos que mais exige atenção contínua, por ser gerada naturalmente a partir do metabolismo dos peixes e da decomposição de resíduos orgânicos dos peixes e da adubação do meio de cultivo. Quando acumulada em excesso, pode apresentar elevada toxicidade a depender de fatores como pH e temperatura, afetando negativamente a saúde dos organismos aquáticos mantidos em cativeiro (Randall e Tsui, 2002; Pereira e Marcante, 2005).

A amônia total ( $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ) é o principal resíduo que se acumula em sistemas aquícolas, representando um desafio crítico para o equilíbrio da água. Sua forma não-ionizada ( $\text{NH}_3$ ) é extremamente tóxica aos organismos aquáticos, podendo causar mortalidade aguda ou quadros crônicos que limitam o crescimento e afetam a saúde geral dos animais mesmo em concentrações em partes por bilhão ( $\mu\text{g/L}$ ). Já o íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) não apresenta elevada toxicidade e isso se dá, pois as membranas branquiais não têm transportadores dedicados para o  $\text{NH}_4^+$ , assim os íons não possuem a capacidade de penetração nas células, ao contrário do  $\text{NH}_3$ , que é lipofílico e se difunde livremente pelas membranas celulares e ao nitrito que possui trocador específico  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  (Boyd, 2017; Edwards et al., 2024).

Assim sendo, tanto na criação de peixes voltada para alimentação humana quanto ornamental, o monitoramento e o manejo adequado das concentrações de amônia são essenciais para preservar o bem-estar dos organismos e garantir a viabilidade do cultivo (Lalloo et al., 2007; Nathanailides et al., 2021).

As principais vias de liberação de amônia em ambientes de cultivo é a excreção de resíduos nitrogenados pelos peixes e da decomposição da matéria orgânica. A excreção ocorre predominantemente pelas brânquias como resultado final da digestão de proteínas. A quantidade de amônia liberada está diretamente relacionada ao tipo e à quantidade de ração ofertada, o que torna o manejo alimentar um dos principais fatores de controle (Zimmer, 2024).

Já matéria orgânica, advém principalmente dos restos de ração não consumida, fezes e organismos que vieram a perecer, os quais também contribuem de forma significativa para o aumento da concentração de amônia nos ambientes aquícolas. Em sistemas ornamentais, caracterizados por volumes reduzidos de água, essa decomposição pode rapidamente elevar os níveis de amônia, especialmente em ambientes mais adensados (Boyd, 2017).

A criação ornamental apresenta peculiaridades no que diz respeito à presença de amônia, uma vez que as espécies envolvidas costumam ser mais vulneráveis à deterioração da qualidade

da água do que aquelas destinadas ao consumo como alimento. Pequenas alterações nos parâmetros químicos, como a concentração de amônia, são capazes de causar efeitos adversos consideráveis sobre peixes ornamentais (Wilkie et al., 2011).

O ciclo do nitrogênio é o principal mecanismo de conversão da amônia em compostos menos tóxicos, como o nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), por meio do processo de nitrificação, realizado por bactérias quimioautotróficas. Os principais gêneros conhecidos são as *Nitrosomonas*, que oxidam amônia em nitrito, e as *Nitrobacter*, que convertem o nitrito em nitrato, completando o ciclo nitrificante (Ciji e Akhtar, 2020).

Contudo, manter o equilíbrio desse ciclo em sistemas ornamentais pode ser desafiador devido à menor dimensão dos tanques, o que exige controle preciso e contínuo. Para que a nitrificação ocorra corretamente, é fundamental que as colônias bacterianas estejam bem estabelecidas e em quantidade suficiente. O desequilíbrio nesse processo pode resultar no acúmulo não só de amônia, mas também de nitrito, igualmente tóxico. Já nos sistemas de maior escala, a diluição natural proporcionada pelo maior volume de água ajuda a reduzir os efeitos negativos, embora o uso de biofiltros ainda seja indispensável. Nos sistemas de recirculação, onde praticamente não há renovação de água, a dependência de filtros biológicos eficientes é ainda maior (Timmons e Ebeling, 2010).

Na aquicultura ornamental, os efeitos da amônia são ainda mais preocupantes devido à elevada sensibilidade de muitas espécies. A exposição contínua a concentrações subletais pode causar danos permanentes nas brânquias, prejudicando a respiração, o desenvolvimento e até mesmo levar à morte. Essa exposição crônica à amônia pode comprometer também o sistema imune dos peixes ornamentais, aumentando o risco de doenças e infecções. Além disso, animais ornamentais, valorizados por sua aparência colorida, podem apresentar perda de coloração, lesões na pele e nas brânquias ou nadadeiras comprometidas, o que deprecia seu valor e compromete sua saúde (Randall e Tsui, 2002).

As estratégias para controle da amônia em sistemas de cultivo ornamentais são similares às aplicadas na aquicultura comercial de corte, com adaptações para os pequenos volumes. Entre as principais técnicas destaca-se a recirculação de água (RAS) dependente da filtração mecânica, biofiltração, trocas parciais de água (TPA), uso de materiais adsorventes e inclusão de plantas aquáticas. A utilização de filtros biológicos é essencial para manter o equilíbrio do ambiente aquícola. Em aquários, esses filtros devem abrigar colônias saudáveis de bactérias nitrificantes, e sua eficiência depende da oxigenação constante e da eficácia das bombas de recirculação de água. Em sistemas RAS, as trocas parciais de água são frequentemente

empregadas para reduzir a concentração de poluentes que se acumulam no ambiente. No entanto, é necessário que essas substituições ocorram de forma gradual para evitar variações bruscas nos parâmetros da água, como temperatura e pH, que podem afetar os organismos aquáticos. Produtos como a zeólita, que tem a capacidade de adsorver amônia ionizada, são amplamente utilizados em aquários ornamentais, especialmente em situações de emergência. Esses materiais são eficazes principalmente em volumes reduzidos de água, como os encontrados em aquários (Timmons e Ebeling, 2010).

As plantas aquáticas emergentes têm demonstrado capacidade significativa de absorver diretamente compostos nitrogenados – como amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) e nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) - incorporando-os em compostos orgânicos através de enzimas de assimilação de nitrogênio, o que reduz efetivamente a concentração de amônia ionizada e nitrato na água, contribuindo para a melhoria da qualidade do ambiente aquático (Hong et al, 2025).

### **2.2.2 - Nitrito**

O nitrito é um composto intermediário do ciclo do nitrogênio, desempenhando papel essencial no tratamento biológico da água em sistemas de aquicultura. Esse ciclo compreende a conversão da amônia ( $\text{NH}_3$ ), em formas menos tóxicas, conforme descrito anteriormente (Ciji e Akhtar, 2020).

Entretanto, problemas surgem quando há desequilíbrio entre a produção de nitrito e sua conversão em nitrato, o que pode ser provocado por falhas na biofiltração, dimensionamento incorreto do sistema de recirculação ou excesso de matéria orgânica (Mnyoro et al., 2022). Esse descompasso pode levar ao acúmulo de nitrito na água, o que representa risco severo à saúde dos peixes ornamentais, dada a alta toxicidade dessa substância para a maioria das espécies mantidas em cativeiro (Colt, 2006).

Mesmo em concentrações reduzidas, o nitrito é extremamente prejudicial aos peixes, possui a capacidade de atravessar as membranas biológicas por transporte ativo nos sistemas de troca das brânquias, sendo transportado para a corrente sanguínea (Kajimura, 2023). Seu principal efeito tóxico está na capacidade de oxidar o ferro da hemoglobina, formando metahemoglobina, que é incapaz de realizar o transporte adequado de oxigênio. Esse quadro é denominado metahemoglobinemia, ou “doença do sangue marrom”, nome dado pela coloração amarronzada visível nas brânquias dos peixes afetados (Tomasso, 1981).

A deficiência no transporte de oxigênio leva ao desenvolvimento de hipóxia, situação na qual os tecidos corporais não recebem oxigênio suficiente. Os sinais clínicos típicos de

intoxicação por nitrito incluem dificuldade respiratória, comportamento letárgico, recusa alimentar, alterações no comportamento e, em casos mais graves, morte (Lewis e Morris, 1986).

Na aquicultura ornamental, os efeitos tóxicos do nitrito vão além dos prejuízos diretos à saúde dos peixes, acarretando perdas econômicas relevantes para criadores e comerciantes. O acúmulo dessa substância pode aumentar a taxa de mortalidade, prejudicar o crescimento dos peixes e afetar negativamente sua aparência, um critério essencial para a comercialização de espécies ornamentais. O estresse crônico causado pela exposição prolongada ao nitrito também favorece o surgimento de doenças e infestações parasitárias, elevando os custos com tratamento e reduzindo a rentabilidade do sistema (Hoseinifar, 2023).

Do ponto de vista ecológico, os impactos do nitrito em ambientes aquáticos artificiais, como tanques de criação e aquários, podem ser severos. Casos de mortalidade em massa podem ocorrer em ambientes fechados muito adensados ou mal dimensionados. O controle do nitrito é fundamental para manter um ambiente aquático saudável e seguro para os peixes. Entre as principais estratégias preventivas estão o uso eficiente de biofiltros, a ciclagem adequada do sistema, trocas parciais de água e a adição controlada de sal em sistemas fechados de cultivo respeitando a tolerância de cada espécie. O uso de sal proporciona a competição entre os íons cloreto e nitrito pelo mesmo sítio de transporte na célula, reduzindo assim a intoxicação do organismo pelo nitrito (Timmons e Ebeling, 2010).

Em sistemas de água doce, uma prática eficaz para mitigar a toxicidade do nitrito é a adição controlada de sal (cloreto de sódio, NaCl). O íon cloreto, presente no sal, compete com o nitrito pelos mecanismos de transporte iônico nas brânquias dos peixes, reduzindo significativamente os efeitos tóxicos desse composto. A suplementação cuidadosa de sal, em concentrações adequadas à espécie e às condições do sistema, aumenta a tolerância ao nitrito sem comprometer o bem-estar dos peixes (Tavares, 2021).

Antes da introdução dos peixes em um novo sistema RAS, é imprescindível que o ciclo do nitrogênio esteja completamente estabelecido, por meio da maturação do filtro biológico, em que a amônia e o nitrito estarão próximos de zero e o nitrato estará maior por ser um produto final na nitrificação. Essa etapa é essencial para o desenvolvimento e a estabilização das comunidades de microrganismos. Esse processo garante o equilíbrio biológico do sistema, prevenindo a acumulação de compostos nitrogenados nas primeiras semanas de operação e evitando distúrbios comuns como a "Síndrome do Novo Tanque", que pode comprometer a saúde dos peixes ornamentais (Godzieba, 2025).

Depois da maturação do filtro biológico, a troca regular de parte da água do sistema é uma solução prática para a diluição de concentrações elevadas de nitrito, fato que pode ocorrer em situações onde o biofiltro esteja sobrecarregado. No entanto, essas trocas devem ser realizadas com cuidado e parcimônia para não provocar alterações bruscas nos parâmetros da água, como pH e temperatura, que poderiam estressar ainda mais os peixes, assim como não respeitar a sustentabilidade ambiental (Boyd, 2017).

### **2.2.3 - Fatores que influenciam na toxicidade dos compostos nitrogenados**

O pH da água é um dos parâmetros mais relevantes para o manejo de sistemas aquícolas e aquários ornamentais, pois interfere diretamente na toxicidade de compostos nitrogenados como amônia, nitrito e nitrato. Esses elementos fazem parte do ciclo do nitrogênio, que é um processo indispensável para garantir a qualidade da água nesses ambientes. A seguir, são apresentados os efeitos do pH sobre a toxicidade desses compostos e suas implicações na saúde dos peixes (Boyd, 2017).

A amônia, presente na água, ocorre sob duas formas distintas: a amônia não-ionizada ( $\text{NH}_3$ ), extremamente tóxica, e o íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), consideravelmente menos prejudicial. A proporção entre essas formas depende diretamente do pH. Em ambientes com pH mais alto (alcalino), a maior parte da amônia assume a forma de  $\text{NH}_3$ , aumentando os riscos de toxicidade. Já em pH mais baixo (ácido), prevalece o  $\text{NH}_4^+$ , o que reduz os efeitos nocivos à fauna aquática (Erickson, 1985).

A utilização de  $\text{NaCl}$  ou  $\text{CaCl}_2$  em sistemas aquícolas é uma prática comum com o objetivo de reduzir os efeitos tóxicos do nitrito de forma paliativa até que os animais se recuperem ou alguma solução mais emergencial seja dada, como por exemplo a troca parcial de água. O cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) compete com esses compostos pelas vias de absorção nas brânquias, diminuindo a quantidade que entra na corrente sanguínea dos peixes e, conseqüentemente, a sua toxicidade (Yanbo et al., 2006).

Além de sua função na mitigação da toxicidade, o sal contribui para o equilíbrio osmótico dos peixes, ajudando-os a manter a homeostase em ambientes com condições desafiadoras. Em níveis controlados, este oferece uma proteção adicional contra os efeitos adversos provocados por compostos nitrogenados em excesso (Baker, 2015). Sua adição controlada em sistemas de cultivo denso pode aumentar a resistência dos animais a patógenos, um benefício importante em sistemas com alta densidade populacional, pois os peixes excretam mais muco fazendo uma proteção mais efetiva na pele (Wang et al., 2023).

### 2.3 - Teste de toxicidade aguda

Os testes de toxicidade aguda são ferramentas essenciais na avaliação dos impactos de substâncias químicas, poluentes e condições ambientais desfavoráveis sobre a saúde dos organismos aquáticos, especialmente durante fases iniciais de vida onde os organismos são mais sensíveis, como a fase larval (Adams et al., 2025).

A partir dos testes de toxicidade é possível estimar a concentração letal mediana ( $CL_{50}$ ), método mundialmente padronizado pelas agências ambientais e instituições de pesquisa para definição dos efeitos gerados por estressores à biota em condições laboratoriais controladas. Roy et al. (2022) trabalhando com larvas de colisa lalia expostas ao cloreto de cádmio (25, 50, 75, 100 e 125 mg/L), relataram sensibilidade significativamente maior do que exemplares adultos, com mortalidade ocorrendo em concentrações bem mais baixas. Os resultados destacam que diferentes fases de desenvolvimento possuem janelas de vulnerabilidade distintas, sendo crucial adaptar os limites de segurança à fase larval para prevenir impactos tóxicos nas fases mais sensíveis de vida.

Os testes de toxicidade também desempenham um papel central na ecologia, pois fornecem dados cruciais sobre a segurança de compostos químicos, a eficácia do tratamento de efluentes e o estado geral dos ecossistemas aquáticos. A relevância desses testes se justifica por diversos fatores: os peixes atuam como importantes bioindicadores da qualidade da água e da integridade ambiental, ocupando posições estratégicas nas redes tróficas e contribuindo para o equilíbrio ecológico. Assim, entender os efeitos de diferentes substâncias sobre esses organismos é fundamental para a análise de riscos ambientais, o estabelecimento de normas regulatórias e o desenvolvimento de produtos com menor impacto ambiental (Schnick, 2010).

Os procedimentos utilizados nos testes de toxicidade aguda podem variar, sendo os mais comuns os testes por imersão, exposição em água estática, semi-estática, fluxo contínuo e bioindicadores. No teste por imersão, os peixes são colocados em contato com concentrações conhecidas da substância a ser testada, e a mortalidade é monitorada ao longo de um período que geralmente varia entre 24 e 96 horas. O teste de 96 horas é o padrão mais utilizado e permite determinar  $CL_{50}$ , definida como a concentração responsável por causar a morte de 50% dos animais expostos. No teste de toxicidade aguda empregando o sistema estático, os peixes permanecem em aquários com a substância dissolvida sem renovação da água, possibilitando a observação de efeitos cumulativos. Nos testes semi-estáticos, os organismos são expostos a diferentes concentrações do composto em meio aquoso por um período determinado

(geralmente 24, 48, 72 ou 96 horas), com renovação periódica da água de normalmente a cada 24 horas. Já o teste em fluxo contínuo os meios são renovados constantemente, mantendo a exposição aos agentes tóxicos ao longo dos testes. Por fim, os testes com bioindicadores utilizam espécies de peixes reconhecidamente sensíveis a poluentes, selecionadas por sua relevância ecológica e facilidade de manutenção em laboratório (Schnick, 2010).

As espécies de peixe mais frequentemente empregadas nesses testes incluem o peixe-zebra (*Danio rerio*), “fathead minnow” (*Pimephales promelas*), o lebiste (*Poecilia reticulata*) e medaka (*Oryzias* spp.) (Padilha et al., 2009; ABNT, 2016; Gao et al., 2017; OECD, 2025). Os peixes citados são muito utilizados devido à sua facilidade de reprodução, ciclo de vida curto e ao conhecimento detalhado da sua fisiologia (OECD, 2025). A tilápia (*Oreochromis niloticus*), por sua vez, é amplamente usada em experimentos voltados para a aquicultura, dada sua importância econômica e facilidade de cultivo (Bona, 2021; Ortiz et al., 2022). Lembrando que os testes de toxicidade voltados para a aquicultura deverão ser realizados com a espécie que desejamos introduzir na atividade. As diferentes fases de desenvolvimento também deveriam ser testadas, pois a tolerância pode variar de acordo com o desenvolvimento do organismo. A tolerância às variáveis físico-químicas da água é espécie-específica.

Segundo a NBR 14725 (ABNT, 2023), que versa sobre critérios de classificação de substâncias perigosas ao meio ambiente aquático, a análise dos resultados obtidos em testes de toxicidade aguda se baseia em métodos estatísticos aplicados às mortalidades observadas em diferentes concentrações do agente testado.

Apesar de sua importância científica, os testes de toxicidade aguda com peixes suscitam preocupações éticas quanto ao bem-estar animal. Por esse motivo, é essencial que laboratórios e instituições sigam protocolos éticos rigorosos, como os definidos pela Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) e outras diretrizes de proteção aos animais usados em experimentação (e.g. USEPA, ABNT, CEUA). Isso envolve a adoção de práticas que minimizem o sofrimento dos animais, assegurando sua utilização de maneira ética e responsável (Pérez e Ortega, 2019).

## **2.4 - Estudo Histológico**

A histologia é a ciência que estuda tecidos biológicos em nível microscópico. Essa área do conhecimento dedica-se à observação detalhada da estrutura e organização celular dos tecidos, permitindo a compreensão das interações entre células e suas funções dentro dos órgãos e sistemas. Os estudos histológicos são fundamentais em áreas como biologia, medicina,

medicina veterinária e ciências biomédicas, oferecendo suporte tanto para o diagnóstico de doenças quanto para o entendimento de processos fisiológicos e o desenvolvimento de terapias (Lowe e Anderson, 2023).

No contexto dos testes de toxicidade aguda em peixes, a histologia é uma ferramenta indispensável para identificar alterações microscópicas em tecidos e órgãos expostos a agentes tóxicos. Essa técnica permite analisar com precisão os efeitos que as substâncias exercem sobre as estruturas celulares, possibilitando uma melhor compreensão da resposta dos organismos a poluentes ambientais e compostos químicos (Khafaga, 2024).

Após os ensaios de toxicidade aguda, que visam avaliar os efeitos imediatos da exposição a substâncias tóxicas, a análise histológica permite identificar lesões em órgãos vitais, sendo um marcador muito empregado em testes de toxicidade. A histologia também tem papel importante na detecção de efeitos subletais. Mesmo que os peixes não apresentem mortalidade visível após a exposição, é possível identificar, por meio da análise histológica, danos subclínicos que afetam funções vitais, como a respiração efetuada pelas brânquias. As lesões teciduais, embora invisíveis externamente, podem comprometer a saúde dos animais ao longo do tempo, sendo a histologia um recurso valioso para detectar precocemente esses impactos (Arellano et al., 1999).

A análise comparativa de tecidos também permite avaliar os efeitos de diferentes substâncias sobre os peixes. Ao examinar em detalhe as lesões causadas por diversos agentes tóxicos, os pesquisadores podem determinar quais compostos são mais agressivos, bem como as concentrações associadas aos danos. Essas informações também são essenciais para a formulação de normas regulatórias e para pesquisas em ecotoxicologia (Mudliar et al., 2025).

## **2.5 - Nível de Segurança**

Os testes de toxicidade aguda têm como objetivo principal determinar limites seguros de exposição a substâncias químicas, utilizando indicadores como a  $CL_{50}$  durante um período específico (normalmente 96 h) (OECD, 2025). Após a obtenção da  $CL_{50}$ , aplica-se um fator de segurança para calcular a concentração considerada segura para o ambiente (PNEC), garantindo a proteção de organismos sensíveis. Comumente, utiliza-se um fator de 0,1 (ou 1/10 da  $CL_{50}$ ) para organismos aquáticos, embora valores mais restritivos possam ser aplicados em casos de alta toxicidade ou presença de compostos persistentes. Assim, o nível de segurança é determinado pela fórmula  $NS = CL_{50} \times F$ , onde F representa o fator de segurança adotado. Esse

método assegura que o nível admitido esteja bem abaixo da toxicidade observada em laboratório (Sprague, 1971).

Em sistemas de aquicultura, observar o nível de segurança com base  $CL_{50}$  e no fator de aplicação é fundamental para evitar eventos tóxicos acidentais. Por isso, é essencial que laboratórios sigam protocolos padronizados (como os da OECD, EPA, ABNT), além de registrar condições ambientais detalhadas durante o ensaio, garantindo a reprodutibilidade e a relevância dos resultados (OECD, 2025).

## 2. REFERÊNCIAS

- ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 14725:2023 - Produtos químicos - Informações sobre segurança, saúde e meio ambiente. Rio de Janeiro: ABNT, 2023.
- ADAMS, E.; HARTMANN, S.; FABER, D.; WOLF, Y.; EBELING, M.; BRUNS, E. Acute fish toxicity testing in pesticide risk assessment: still a necessary requirement for the future? *Environmental Sciences Europe*, v. 37, n. 123, 2025. DOI: 10.1186/s12302-025-01170-1.
- AGÊNCIA MINAS. Peixes ornamentais movimentam mais de R\$10 milhões por ano em Minas Gerais. SECOM – Secretaria de Estado de Comunicação Social. Cidade Administrativa Presidente Tancredo Neves, 17 mar. 2024. Acesso em: 19 nov. 2024.
- ARELLANO, J. M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C. Histological alterations and induction of micronuclei in gill and kidney of the fish *Sparus aurata* exposed to copper. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 44, n. 1, p. 62-72, 1999.
- BAKER, D. W. Use of salt in aquaculture: Review of its benefits and risks. *Aquaculture*, v. 435, p. 108-116, 2015.
- BONA, A. M. Mitigando a toxicidade do óleo de cravo-da-índia durante a anestesia de tilápias (*Oreochromis niloticus*). 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Vila Velha, Vila Velha-ES, 2021.
- BOYD, C. E. *Water quality: an introduction*. Springer, 2017.
- BRETT, J. R. Environmental Factors and Growth. In: *Fish Physiology*. v. 8, p. 599-675. Academic Press, 1979.
- CIJI, A.; AKHTAR, M. S. Nitrite implications and its management strategies in aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, v. 12, p. 878-908, 2020. DOI: 10.1111/raq.12354.
- COLT, J. Water quality requirements for reuse systems. *Aquacultural Engineering*, v. 34, n. 3, p. 143-156, 2006.
- EDWARDS, T. M.; PUGLIS, H. J.; KENT, D. B.; LÓPEZ DURÁN, J.; BRADSHAW, L. M.; FARAG, A. M. Ammonia and aquatic ecosystems – A review of global sources, biogeochemical cycling, and effects on fish. *Science of the Total Environment*, v. 907, p. 167911, 2024. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.167911.

- ERICKSON, R. J. An evaluation of mathematical models for the effects of pH and temperature on ammonia toxicity to aquatic organisms. *Water Research*, n. 19, p. 1047-1058, 1985.
- GAO, N.; ZHU, L. Z.; GUO, Z.; YI, M.; ZHANG, L. Effects of chronic ammonia exposure on ammonia metabolism and excretion in marine medaka *Oryzias melastigma*. *Fish and Shellfish Immunology*, v. 65, p. 226-234. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.04.010.
- GAUTHIER, J. M.; BOUFFARÉ, P.; COLLINS, C. D.; FILSON, G. M.; HORTON, A. L.; KOHLER, H-P. E.; MAJERUS, B.; MARTIN, J. W.; MATTHAEI, C. D.; MCMILLAN, J. R.; PÉPIN, M-C.; SCHULZE, T.; VAN DER PLOEG, M.; VOUTCHKOVA, A. M.; WHEELER, J. R. Sensitivity of fish early life stages to chemical exposure: The role of parental effects. *Environmental Pollution*, v. 274, p. 116483, 2021. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.116483.
- GODZIEBA, M.; HLIWA, P.; CIESIELSKI, S. Network of nitrifying bacteria in aquarium biofilters: An unfaltering cooperation between comammox *Nitrospira* and ammonia-oxidizing *Archaea*. *Water*, v. 17, n. 1, 2025. DOI: 10.3390/w17010052.
- HONG, Y.; LIU, R.; XIANG, W.; LEI, P.; FANG, X. Emergent plants improve nitrogen uptake rates by regulating the activity of nitrogen assimilation enzymes. *Plants*, v. 14, n. 10, p. 1484. DOI: 10.3390/plants14101484.
- HOSEINIFAR, S. H.; MARADONNA, F.; FAHEEM, M.; HARIKRISHNAN, R.; DEVI, G.; RINGO, E.; VAN DOAN, H.; ASHOURI, G.; GIOACCHINI, G.; CARNEVALI, O. Sustainable ornamental fish aquaculture: The implication of microbial feed additives. *Animals*, v. 13, n. 10, 2023. DOI: 10.3390/ani13101583.
- KAJIMURA, M.; TAKIMOTO, K.; TAKIMOTO, A. Acute toxicity of ammonia and nitrite to Siamese fighting fish (*Betta splendens*). *BMC Zoology*, v. 8, 2023. DOI: 10.1186/s40850-023-00188-3.
- KHAFAGA, A. F.; LOGANATHAN, K.; TENNYSON, S.; ARIVOLI, S. Triazophos toxicity induced histological abnormalities in gill, liver, intestine, kidney, brain and muscle of *Heteropneustes fossilis*: Recovery response. *Basic and Applied Zoology*, v. 86, p. 1-13, 2024. DOI: 10.1186/s41936-024-00373-x.
- KHAN, A. S.; AHMED, M. Effect of pH on the toxicity of ammonia and nitrite to fish: A review. *Aquatic Toxicology*, v. 220, 2020.
- KIM, J. H.; KANG, Y. J.; LEE, K. M. Effects of nitrite exposure on the hematological properties, antioxidant and stress responses of juvenile hybrid groupers, *Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀. *Antioxidants*, v. 11, n. 3, p. 545, 2022. DOI: 10.3390/antiox11030545.
- LALLOO, R.; RAMCHURAN, S.; RAMDUTH, D.; GÖRGENS, J.; GARDINER, N. Isolation and selection of *Bacillus* spp. as potential biological agents for enhancement of water quality in culture of ornamental fish. *Journal of Applied Microbiology*, v. 103, p. 1471-1479, 2007. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03360.x.
- LEWIS, W. M.; MORRIS, D. P. Toxicity of nitrite to fish: A review. *Transactions of the American Fisheries Society*, v. 115, n. 2, p. 183-195, 1986.
- LIMA, A. F.; SILVA, B. C.; SANTOS, D. E.; OLIVEIRA, F. G.; PEREIRA, H. I. *Piscicultura de água doce, multiplicando conhecimentos*. Brasília-DF: Embrapa, 2013.

- LIMA, F. R.; FERREIRA, E. A. Manual de Aquarismo. Editora Candeia, 2015.
- LOWE, J.; ANDERSON, M. Advances in Histological Techniques in Diagnostic Pathology. Journal of Diagnostic Pathology, v. 17, n. 2, p. 145-157, 2023.
- MÉNDEZ-SÁNCHEZ, J. F.; BURGGREN, W. W. Hypoxia-induced developmental plasticity of larval growth, gill and labyrinth organ morphometrics in two anabantoid fish: the facultative air-breather Siamese fighting fish (*Betta splendens*) and the obligate air-breather the blue gourami (*Trichopodus trichopterus*). Journal of Morphology, v. 280, n. 2, p. 193-204, 2019. DOI: 10.1002/jmor.20931.
- MNYORO, M. S.; MANG'ENDA, L. M.; MAHAKWA, E.; DJIKENGA, F. W.; MRITHA, A.; et al. Evaluation of biofilter performance with alternative local biomedica in pilot scale recirculating aquaculture systems. Journal of Cleaner Production, v. 366, p. 132929, 2022. DOI: 10.1016/j.jclepro.2022.132929.
- MUDLIAR, H.; SINGH, A.; SAROJ, D. K.; TALPADE, M. B. Comparative study of toxins and heavy metals levels detected in the gills tissue and sediments of marine and freshwater fishes. Journal of Survey in Fisheries Sciences, v. 11, n. 4, p. 293-298, 2024. DOI:10.53555/sfs.v11i4.3110
- NATHANAILIDES, C.; KOLYGAS, M.; CHOREMI, K.; MAVRAGANIS, T.; GOUVA, E.; VIDALIS, K.; ATHANASSOPOULOU, F. Probiotics have the potential to significantly mitigate the environmental impact of freshwater fish farms. Fishes, v. 6, n. 76, 2021. DOI: 0.3390/fishes6040076.
- OECD - ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. OECD guideline for the testing of chemicals: Acute oral toxicity - Fixed dose method. Guideline n. 420. Paris: OECD, 1992.
- OECD - ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, n° 203, Paris: OECD, 2025.
- ORTIZ, I. A. S.; BASTOS, R. K. X.; LANNA, E. A. T.; SANTANA, F. F. V.; TEIXEIRA, T. C.; MATTA, S. L. P. Evaluation of acute toxicity of ammonia in Genetically Improved Farmed Tilapia. Aquaculture Reports, v. 27, n. 101325. DOI: 10.1016/j.aqrep.2022.101325
- PADILLA, S., COWDEN, J., HINTON, D. E., YUEN, B., LAW, S., KULLMAN, S. W., JOHNSON, R., HARDMAN, R.C., FLYNN, K., AU, D.W. Use of medaka in toxicity testing. PMID: 20922755; PMCID: PMC4300524. Current Protocols in Toxicology, Chapter 1:Unit1.10, 2009. doi: 10.1002/0471140856.tx0110s39.
- PEREIRA, L. P. F.; MERCANTE, C. T. J. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. Boletim do Instituto de Pesca, v. 31, n. 1, p. 81-88, 2005.
- PÉREZ, C. A.; ORTEGA, C. Ammonia and nitrite toxicity in fish: Impacts on health and growth. Aquaculture Reports, v. 19, 2019.
- RANDALL, D. J.; TSUI, T. K. N. Ammonia Toxicity in Fish. In: Fish Physiology. v. 21, p. 1-51, 2002.

- ROY, S.; KARMAKAR, D.; PAL, S. Acute toxicity bioassay and determination of LC<sub>50</sub> of cadmium chloride in *Trichogaster (Colisa) fasciata*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 194, p. 3890-3900, 2022. DOI: 10.1007/s12010-022-03953-1.
- RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. The effect of chloride on nitrite toxicity to freshwater species. *Aquatic Toxicology*, v. 19, n. 1, p. 155-161, 1991.
- SANTOS, J. L.; COSTA, M. R. Temperatura da água e suas influências no crescimento de peixes. *Pesquisa em Aquicultura*, v. 14, n. 4, p. 67-75, 2019.
- SCHNICK, R. A. Fish Toxicity Testing. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 41, n. 3, p. 455-471, 2010.
- SPRAGUE, J. B. Measurement of pollutant toxicity to fish III: sublethal effects and safe concentrations. *Water Research*, v. 5, n. 6, p. 245-266, 1971. DOI: 10.1016/0043-1354(71)90171-0.
- TATE, M.; MCGORAN, R. E.; WHITE, C. R.; PORTUGAL, S. J. Life in a bubble: the role of the labyrinth organ in determining territory, mating and aggressive behaviours in anabantoids. *Journal of Fish Biology*, v. 92, n. 3, p. 1-15, 2017. DOI: 10.1111/jfb.13357.
- TAVARES-DIAS, M. Toxicity, physiological, histopathological, handling, growth and antiparasitic effects of the sodium chloride (salt) in the freshwater fish aquaculture. *Aquaculture Research*, v. 52, n. 7, p. 2790-2806, 2022. DOI: 10.1111/are.15616.
- TIMMONS, M. B.; EBELING, J. M. *Recirculating aquaculture*. Ithaca Publishing, 2010.
- TOMASSO, J. R. Environmental requirements and toxicity of nitrite to aquatic life. *Aquatic Toxicology*, v. 10, n. 2, p. 129-165, 1981.
- WANG, Y.; LI, H.; WEI, J.; HONG, K.; ZHOU, Q.; LIU, X.; HONG, X.; LI, W.; LIU, C.; ZHU, X.; YU, L. Multi-effects of acute salinity stress on osmoregulation, physiological metabolism, antioxidant capacity, immunity, and apoptosis in *Macrobrachium rosenbergii*. *Antioxidants*, v. 12, 2023. DOI: 10.3390/antiox12101836.
- WILKIE, M. P.; PAMENTER, M. E.; DUQUETTE, S.; DHIYEBI, H.; SANGHA, N.; SKELTON, G.; SMITH, M. D.; BUCK, L. T. The relationship between NMDA receptor function and the high ammonia tolerance of anoxia-tolerant goldfish. *Journal of Experimental Biology*, v. 214, p. 4107-4120, 2011.
- YANBO, W.; WENJU, Z.; WEIFEN, L.; ZIRONG, X. Acute toxicity of nitrite on tilapia (*Oreochromis niloticus*) at diferente external chloride concentrations. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 32, p. 49-54, 2006. DOI: 10.1007/s10695-005-5744-2.
- YAVUZCAN YILDIZ, H.; ROBAINA, L.; PIRHONEN, J.; MENTE, E.; DOMÍNGUEZ, D.; PARISI, G. Fish welfare in aquaponic systems: Its relation to water quality with an emphasis on feed and faeces - A review. *Water*, v. 9, n. 1, 2017. DOI: 10.3390/w9010013.
- ZHANG, K.; YE, Z.; QI, M.; CAI, W.; SARAIVA, J. L.; WEN, Y.; LIU, G.; ZHU, Z.; ZHU, S.; ZHAO, J. Water quality impact on fish behavior: A review from an aquaculture perspective. *Reviews in Aquaculture*, 1-27, 2025. DOI: 10.1111/raq.12985.
- ZIMMER, A. M. Ammonia excretion by the fish gill: discoveries and ideas that shaped our current understanding. *Journal of Comparative Physiology B*, v. 194, n. 5, p. 697-715, 2024. DOI: 10.1007/s00360-024-01561-5.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivos gerais

O objetivo deste estudo é estimar a tolerância do colisa lalia (*Trichogaster lalius*) aos compostos nitrogenados, nitrito e amônia, considerados como principais agentes toxicantes nos sistemas aquícolas. Além de avaliar os efeitos deletérios causados às brânquias dos peixes.

### 4.2 Objetivos específicos

- Estimar os níveis de segurança em larvas de colisa lalia (*Trichogaster lalius*) expostos à diferentes concentrações de amônia (total e não-ionizada) e nitrito;
- Descrever as principais alterações histopatológicas nas brânquias de larvas de colisa lalia (*Trichogaster lalius*) expostos à diferentes concentrações de amônia (na forma total e não-ionizada) e nitrito.

**ARTIGO**

**Efeito agudo dos compostos nitrogenados, amônia e nitrito, na fase larval de colisa lalia  
(*Trichogaster lalius*)**

**Acute effects of nitrogen compounds, ammonia and nitrite, on larval stage of colisa lalia  
(*Trichogaster lalius*)**

Milena Costa Silva Sales<sup>1</sup>, Érika Ramos de Alvarenga<sup>2</sup>, Juliana Barros da Mota<sup>1</sup>, Kleber Campos Miranda Filho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

<sup>2</sup>Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

## Resumo

A piscicultura ornamental desempenha um papel significativo no setor aquícola do Brasil. Dentre as espécies cultivadas, o colisa lalia, *Trichogaster lalius*, se destaca pelo valor econômico e pela popularidade entre os aquaristas. No entanto, a deterioração da qualidade da água, particularmente o acúmulo de compostos nitrogenados como a amônia e o nitrito, representa uma ameaça importante à saúde dos peixes. Este estudo teve como objetivo avaliar a tolerância, por meio de testes de toxicidade aguda à amônia e ao nitrito, na fase larval de *T. lalius*, utilizando os dados de mortalidade para estimativa da concentração letal mediana em 96 horas ( $CL_{50-96h}$ ) e analisar alterações histopatológicas nos tecidos branquiais. Os testes de toxicidade aguda foram realizados em sistema semi-estático, sob condições laboratoriais controladas. Foram utilizados 240 animais (peso médio de 0,0542 g) divididos em 24 recipientes de 1,5 L, em duplicata. Os valores de  $CL_{50}$  foram estimados a partir das mortalidade registradas ao longo das 96 h de exposição por meio do aplicativo Trimmed Spearman-Kärber. Os resultados mostraram um aumento progressivo da mortalidade com o aumento nas concentrações testadas de ambos os compostos nitrogenados. As  $CL_{50}$  obtidas em 96 horas foram de 3,04 N-AT e 0,30 mg/L N-NH<sub>3</sub> e 2,35 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, com níveis de segurança estimados em 0,030 mg/L N-NH<sub>3</sub> e 0,23 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, respectivamente. As análises histológicas revelaram alterações significativas nas brânquias, como fusão lamelar, hiperplasia e hipertrofia epitelial, descolamento epitelial e dilatação do seio sanguíneo. Essas lesões foram mais severas e frequentes nas concentrações mais elevadas dos compostos. Os resultados reforçam a importância do controle rigoroso da qualidade da água na aquicultura ornamental, especialmente no que se refere aos compostos nitrogenados, que podem comprometer severamente a sobrevivência e o bem-estar dos peixes em estágios iniciais de desenvolvimento.

Palavras-chave: Qualidade da água, Histopatologia, Peixes ornamentais,  $CL_{50}$ , Estágio larval, Brânquia.

## Abstract

Ornamental aquaculture plays a significant role in Brazil's aquaculture sector. Among the species cultured, the dwarf gourami, *Trichogaster lalius*, stands out for its economic value and popularity among aquarists. However, the deterioration of water quality, particularly the accumulation of nitrogenous compounds such as total and un-ionized ammonia and nitrite, represents a major threat to fish health. This study aimed to evaluate tolerance through acute toxicity tests with ammonia and nitrite during the larval stages of *T. lalius*, using mortality rates to determine the 96-hour median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) and to analyze histopathological alterations in gill tissues. The tests were conducted in duplicate under controlled laboratory conditions, using 240 animals (average weight 0.0542 g) distributed across 24 containers of 1.5 L. LC<sub>50</sub> values were estimated using the Trimmed Spearman-Kärber method. The results showed a progressive increase in mortality with higher tested concentrations of both nitrogenous compounds. The 96-hour LC<sub>50</sub> values were 3.04 mg/L N-AT and 0.30 mg/L N-NH<sub>3</sub> for ammonia, and 2.35 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> for nitrite, with estimated safe levels of 0.030 mg/L N-NH<sub>3</sub> and 0.23 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, respectively. Histological analyses revealed significant gill alterations, including lamellar fusion, epithelial hyperplasia and hypertrophy, epithelial detachment, and dilation of the blood sinus. These lesions were more severe and frequent at higher compound concentrations. The results reinforce the importance of rigorous water quality management in ornamental aquaculture, particularly regarding nitrogenous compounds, which can severely compromise survival and welfare during the early developmental stages of fish.

**Keywords:** Water quality, Histopathology, Ornamental fish, LC<sub>50</sub>, Larval stage, Gill.

## 1. INTRODUÇÃO

O mercado global de peixes ornamentais movimentava bilhões de dólares e envolve cerca de 125 países, com a comercialização de mais de 2.500 espécies, sendo a maioria de água doce. No entanto, não há como mensurar com precisão a produção dessa atividade, pois faltam métodos padronizados e amplamente aplicáveis para quantificar os volumes produzidos. Além disso, as estatísticas disponíveis sobre o setor são baseadas, em grande parte, em estimativas históricas imprecisas, o que também dificulta calcular de forma confiável o montante financeiro movimentado por esse mercado (Msukwa et al., 2025). Apesar da escassez de dados atualizados sobre o comércio internacional de aquariofilia, o valor foi estimado em 15 bilhões de dólares (Ladisa, 2017).

A produção de peixes ornamentais no Brasil, no ano de 2024, representa uma atividade de significativa relevância econômica, social e ambiental. O país está entre os principais produtores e exportadores globais desse tipo de pescado, com destaque para a região da Zona da Mata, em Minas Gerais, onde a atividade mobiliza centenas de famílias, promovendo o desenvolvimento da economia local, especialmente em propriedades rurais de pequeno porte e gestão familiar. Esse segmento produtivo atrai interesse não apenas por sua capacidade de geração de empregos, mas também pelo baixo investimento inicial necessário e pela sua viabilidade em pequenas propriedades, constituindo uma alternativa econômica importante para comunidades rurais (Tribuna de Minas, 2024).

No Brasil, a produção de peixes ornamentais em cativeiro foca principalmente em espécies de água doce, tanto nativas quanto exóticas. Entre as mais criadas estão o guppy (*Poecilia reticulata*), o peixe-zebra (*Danio rerio*), bettas (*Betta splendens*), platies (*Xiphophorus maculatus*), além de espécies nativas como o tetra-néon (*Paracheirodon axelrodi*), cascudos (*Hypostomus*), acará-disco (*Symphysodon*) e acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). Dentre as espécies introduzidas, destaca-se a colisa lalia (*Trichogaster lalius*), também conhecida como gourami-anão, que tem ganhado espaço na criação por sua reprodução relativamente simples e beleza marcante (Araújo, 2021).

O termo *Trichogaster* tem origem grega, sendo formado pelos termos "tricho" (cabelo) e "gaster" (estômago), em referência às longas nadadeiras peitorais, finas como fios. Os peixes desse gênero pertencem à Família Osphronemidae e integram a Subordem Anabantoidei, Ordem Perciformes. Os anabantídeos são conhecidos por possuir um órgão respiratório

denominado labirinto, que permite a respiração de ar atmosférico facultativa. Essa adaptação os torna aptos a sobreviver em ambientes de baixa oxigenação, como pântanos e águas paradas (Tate et al., 2017). A Família Osphronemidae também tem como representante conhecido o betta ou peixe de briga, *B. splendens*. Ambas espécies são originárias do Sudeste Asiático.

A espécie *T. lalius*, de origem asiática, geralmente atinge de 5 a 7 centímetros de comprimento, o que a torna adequada para aquários menores ou comunitários. Seu porte reduzido, aliado a um comportamento ativo e sociável, contribui para sua popularidade entre aquaristas. A morfologia corporal ovalada e ligeiramente comprimida lateralmente favorece a movimentação entre plantas aquáticas e facilita o acesso à superfície para respiração aérea. Essas características fazem dessa espécie uma escolha frequente em aquários decorativos (Tate et al., 2017).

Apesar da elevada tolerância dos peixes da família Osphronemidae às variações dos parâmetros físico-químicos da água, o monitoramento da qualidade da água é uma condição obrigatória para o bem-estar dos animais e sucesso da atividade aquícola. Dentre as principais variáveis de qualidade de água destacam-se o oxigênio dissolvido, o pH, a temperatura, a alcalinidade e os compostos nitrogenados.

Devido à sua elevada toxicidade para os organismos aquáticos, os compostos nitrogenados exercem influência direta na produção aquícola, uma vez que afetam significativamente a qualidade da água e, conseqüentemente, os animais cultivados. Em diversos sistemas de cultivo, o acúmulo de amônia total ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NH}_3$  ou AT) e nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) pode ocorrer naturalmente, e, dependendo das concentrações atingidas pode provocar efeitos deletérios, comprometendo o crescimento, o bem-estar e até mesmo a sobrevivência dos organismos cultivados (Araújo, 2021).

A amônia total, considerada o composto nitrogenado mais prejudicial aos organismos aquáticos, é gerada a partir de fontes antropogênicas, decomposição de matéria orgânica, como restos de ração e excretas (EPA, 2013). Sob condições de pH elevado e temperaturas altas, a forma não-ionizada da amônia ( $\text{NH}_3$ ) torna-se mais presente, podendo causar estresse, danos branquiais e mortalidade. Estudos apontam que concentrações superiores a 0,02 mg/L já são prejudiciais para peixes ornamentais, especialmente em sistemas com controle limitado de qualidade da água (Affonso-Rantin, 2005; Boyd, 2015).

O nitrito, composto intermediário da nitrificação, também é altamente tóxico por sua interferência na capacidade dos peixes de transportar oxigênio no sangue. Essa condição, conhecida como metemoglobinemia ou “doença do sangue marrom”, compromete o suprimento

de oxigênio aos tecidos. Espécies ornamentais de pequeno porte são particularmente vulneráveis, exigindo controle rigoroso do nitrito por meio de filtração biológica eficiente ou trocas frequentes de água (Francis-Floyd, 2009).

Considerando o alto potencial tóxico da amônia e do nitrito para os organismos aquáticos, os testes de toxicidade realizados em ambiente controlado de laboratório se mostram bastante úteis, pois ajudam a identificar os limites seguros de exposição, como forma de prevenção, especialmente quando pensamos no bem-estar dos animais mantidos em sistemas de produção. Com base nos dados gerados por esses testes, torna-se possível acompanhar os níveis dessas substâncias na água e evitar que se atinja concentrações capazes de causar efeitos subletais ou até mesmo letais (Kajimura et al, 2023; Baldisserotto, 2025).

A realização desses ensaios também é relevante para evitar o acúmulo de substâncias até atingirem níveis tóxicos nos sistemas de cultivo. Isso se aplica especialmente à aquicultura intensiva, onde a densidade de estocagem e o uso recorrente de insumos e compostos químicos para controle sanitário podem favorecer a concentração de resíduos, afetando o sistema imunológico dos peixes, o desenvolvimento, reprodução e até mesmo a taxa de sobrevivência (Mount e Norberg, 1984; Hernando et al., 2001).

Conforme descrito nas diretrizes da OECD (2025), os testes de toxicidade aguda em peixes desempenham um papel fundamental no estabelecimento de políticas públicas e na formulação de normas específicas de qualidade da água, inclusive no contexto da aquicultura ornamental. Os dados obtidos nestes ensaios, como a estimativa da concentração letal mediana ( $CL_{50}$ ), fornecem subsídios técnicos que orientam tanto produtores quanto órgãos reguladores. Isso permite um controle mais eficaz da qualidade da água, prevenindo episódios de toxicidade que possam afetar a saúde dos animais e comprometer a viabilidade da atividade produtiva (OECD, 2025).

A aplicação de testes de toxicidade é essencial dentro das práticas da aquicultura, uma vez que análises físico-químicas tradicionais da água não conseguem, por si só, indicar os efeitos reais de substâncias tóxicas sobre os organismos. Esses testes, de curta duração, utilizam a taxa de mortalidade como principal parâmetro para avaliação dos impactos, permitindo a estimativa da  $CL_{50}$  - concentração responsável pela morte de 50% dos organismos testados em determinado intervalo de tempo. Para além da letalidade imediata, os dados obtidos também subsidiam análises de segurança em exposições prolongadas (nível de segurança). A associação com técnicas histopatológicas e outros biomarcadores (e.g. genéticos, proteicos e metabólicos) amplia a precisão dessas avaliações, tratando, prevendo e revelando lesões celulares em órgãos

vulneráveis. Através da microscopia é possível identificar danos estruturais provocados por agentes tóxicos, promovendo uma compreensão mais abrangente dos efeitos deletérios causados por estes nos organismos cultivados (Kumar et al., 2021; Zhou et al., 2023).

O presente estudo teve como objetivo estimar a tolerância de larvas de colisa lalia (*Trichogaster lalius*) à exposição a diferentes concentrações de amônia (total e não ionizada) e nitrito, bem como determinar níveis seguros desses compostos. Além disso, buscou-se descrever as principais alterações histopatológicas observadas nas brânquias dos organismos expostos, visando compreender os efeitos deletérios desses poluentes sobre a estrutura e a função branquial.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Manutenção dos animais pré-experimento**

Salientamos que os procedimentos envolvendo animais foram conduzidos em conformidade com as diretrizes estabelecidas pelo Decreto nº 6.899/2009 e pela Lei Arouca nº 11.794/2008, que regulamentam o uso científico de animais no Brasil. O projeto experimental foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) e recebeu aprovação conforme protocolo nº 274/2024.

O experimento foi conduzido no laboratório de maricultura pertencente ao LAQUA (Complexo de laboratórios de aquicultura), localizado nas dependências da Escola de Veterinária. Os peixes foram obtidos de um produtor da Zona da Mata mineira com duas semanas de idade e com média de peso de 0,0542 g. Durante o período pré-experimental, os animais foram mantidos em um reservatório com capacidade de 20 litros, equipado com aquecedor com termostato, ajustado para manter a temperatura constante de 28°C, além de contar com sistema de aeração contínua por meio de difusores de ar. Nessa etapa de aclimação os animais não possuíam mais reserva vitelínica, sendo necessário o fornecimento de alimentação exógena com artêmia salina recém eclodida duas vezes ao dia. Os principais parâmetros de qualidade da água - incluindo temperatura, pH, oxigênio dissolvido e percentual de saturação - foram monitorados diariamente ao longo de cinco dias.

### **2.2. Teste de toxicidade aguda**

As soluções utilizadas para os testes de amônia total (AT) e nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) foram preparadas a partir de substâncias de grau analítico, utilizando cloreto de amônio P.A. (Merck®)

e nitrito de sódio P.A. (Merck®), respectivamente. As concentrações finais desses compostos foram definidas com base em ensaios preliminares de toxicidade aguda. Esses testes são fundamentais para determinar a faixa letal a ser empregada nos testes de toxicidade aguda definitivos.

Os testes de toxicidade aguda definitivos foram realizados com 240 exemplares de *T. lalius* com 14 dias de idade, apresentando peso médio de 0,0542 g e acondicionados em 24 recipientes plásticos atóxicos com volume de 1,5 litros. Cada unidade experimental foi composta por 10 peixes, em conformidade com os critérios estabelecidos pela OECD (1992) e ABNT (2016). Foram avaliadas cinco concentrações crescentes de amônia (5, 20, 35, 50 65 mg/L N-AT) e de nitrito (10, 30, 50, 70, 90 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), além de um grupo controle isento de compostos tóxicos, todos realizados em duplicata. As análises ocorreram em estufa climatizada, utilizada para controle de demanda bioquímica de oxigênio (DBO), proporcionando um ambiente experimental estável.

Os animais do teste já não possuíam reserva vitelínica, portanto foi ofertada alimentação exógena de 5 artêmias salinas por indivíduo 30 minutos antes da troca de água.

A adoção de protocolos padronizados garantiu a consistência e a confiabilidade dos dados, permitindo uma avaliação precisa dos efeitos das substâncias testadas sobre os organismos. As condições ambientais controladas dentro da estufa contribuíram para reduzir interferências externas que poderiam comprometer a qualidade dos resultados obtidos.

A mortalidade foi utilizada como parâmetro principal para avaliação da toxicidade dos compostos nitrogenados. Durante as primeiras 12 horas do ensaio, os peixes foram monitorados a cada 15 minutos, passando para intervalos de 30 minutos nas 12 horas seguintes. A partir do segundo dia, as observações foram realizadas com frequência horária, ou seja, a cada hora. Os indivíduos eram considerados mortos quando não apresentavam resposta a estímulos mecânicos aplicados com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e permaneciam imóveis no fundo do recipiente, sem qualquer sinal de movimento.

Os dados de mortalidade foram utilizados para a estimativa das CL<sub>50</sub> em 96 horas de exposição à amônia e ao nitrito, por meio do “software” Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton et al., 1977). As CL<sub>50</sub>-96h foram empregadas para a estimativa dos níveis de segurança descritos por Sprague (1971).

### 2.3. Qualidade de água

A cada 24 horas, foram realizadas medições de pH, oxigênio dissolvido (OD) e temperatura em todas as unidades experimentais, utilizando um medidor portátil de pH (Hanna, modelo HI 98130) e um oxímetro portátil (Hanna, modelo HI 9146). Para a análise dos níveis de amônia e nitrito, foram coletadas amostras de 10 mL no momento das renovações dos meios experimentais e posteriormente analisadas em um espectrofotômetro de feixe único (HACH, modelo DR/2010). Essas medições tiveram como finalidade verificar se as concentrações reais dos compostos tóxicos estavam de acordo com os valores nominais previamente estabelecidos, assegurando a precisão e a confiabilidade na preparação das soluções testadas.

### 2.4 Amônia não ionizada (NH<sub>3</sub>)

A quantificação da amônia não-ionizada a partir dos valores de AT foi realizada utilizando a equação descrita por Emerson et al. (1975), a qual considera como variáveis os dados de temperatura e pH registrados em cada unidade experimental. Essa metodologia é essencial, uma vez que a forma não-ionizada da amônia representa o maior risco toxicológico para os organismos aquáticos, sendo sua concentração altamente dependente das condições ambientais.

$$\frac{\text{NH}_3 \text{ Livre}}{\text{Amônia total}} (\%) = \frac{100}{1 + 10 \left[ 0,09018 + \left( \frac{2729,92}{T + 273,20} \right) \right] \cdot \text{pH}}$$

Onde:

T = Temperatura do meio (°C)

pH = pH do meio

### 2.5. Histologia

A técnica de análise histológica foi aplicada com o objetivo de avaliar os efeitos lesivos decorrentes da exposição aguda à amônia em juvenis da espécie *T. lalius*. Durante o período experimental, que teve duração de 96 horas, foram coletados aleatoriamente 10 exemplares de cada tratamento de amônia e de nitrito.

O tratamento das amostras biológicas seguiu a técnica descrita por Luna (1968). De forma resumida, os peixes foram fixados inteiros em solução de Bouin por um período de 12 horas e, em seguida, transferidos para álcool a 70%. O processamento histológico convencional envolveu as etapas de desidratação em concentrações crescentes de álcoois, diafanização em xilol e posterior inclusão dos espécimes em blocos de parafina (Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6).



Figura 4. Procedimento de infiltração do material biológico em parafina (Fonte: Milena Sales).



Figura 5. Procedimento para fixar o material em bloco de parafina (Fonte: Milena Sales).



Figura 6. Bloco de parafina finalizado com material biológico (Fonte: Milena Sales).



Figura 7. Montagem das lâminas histológicas após coloração com hematoxilina e eosina (Fonte: Milena Sales).

Os cortes histológicos foram obtidos com o auxílio de um micrótomo (Hyrax M15, Zeiss) gerando seções com espessura de 5  $\mu\text{m}$ . As lâminas foram então montadas em porta-objetos de vidro e submetidas à coloração pela técnica de hematoxilina-eosina. Esse método permitiu distinguir com eficiência os diferentes componentes celulares e estruturais dos tecidos (Fig. 7).

Após a confecção das lâminas histológicas procedeu-se a observação dos tecidos em microscópio (Nikon eclipse 50i) visando a detecção de possíveis histopatologias nas brânquias. Fotomicrografias foram obtidas a partir do “software” Image J. Os tecidos foram fotografados

com câmera acoplada ao microscópio, incluindo uma escala gráfica para calibração de 100 micrômetros.

As imagens obtidas foram processadas no software “ImageJ”. Primeiramente foi ajustada a escala (pixels para mm) por meio do comando “Set Scale”, com base na régua presente na imagem. Em seguida, cada brânquia foi delimitada manualmente e a área interna foi obtida pelo comando Measure, que retorna valores da área em unidade calibrada (mm<sup>2</sup>). Dessa forma foi analisado o número de cada tipo de lesão por área (mm<sup>2</sup>) branquial presente nas fotografias.

As alterações histopatológicas foram avaliadas de forma qualitativa, com base na classificação proposta por Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994), que categoriza as lesões em três estágios distintos:

- Estágio I: alterações leves, que não interferem no funcionamento normal do órgão afetado;
- Estágio II: lesões mais intensas, com impacto negativo sobre a funcionalidade do órgão;
- Estágio III: alterações graves, de caráter irreversível, que comprometem de forma permanente a estrutura e o desempenho do órgão.

Das lesões encontradas foram consideradas de Estágio 1: hiperplasia, hipertrofia, descolamento epitelial, e dilatação do seio sanguíneo. A fusão lamelar foi classificada como Estágio II. Não houveram lesões de Estágio III.

Foram selecionadas aleatoriamente brânquias de cinco exemplares por concentração. As lesões identificadas foram quantificadas, e a média obtida para cada tipo de alteração serviu como base para classificar sua frequência: valores entre 0 e 5 foram considerados raros; entre 5 e 10, pouco frequentes; de 10 a 15, frequentes; e acima de 15, muito frequentes.

## **2.6 Análise estatística**

As médias das variáveis físico-químicas da água foram testadas quanto à normalidade e homogeneidade de variâncias (homocedasticidade) e, posteriormente, submetidas à análise de variância (ANOVA), seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey, utilizando-se o “software” PAST, versão 3.14. A análise de amostras que não foram normais foram testadas pelo método de Kruskal-Wallis, um teste não paramétrico usado para comparar as medianas de três ou mais grupos independentes utilizando o mesmo “software” PAST.

Para o cálculo das concentrações letais medianas (CL<sub>50</sub>) nos períodos de 24, 48, 72 e 96 horas, bem como dos respectivos intervalos de confiança a 95%, foi empregado o "software" Trimmed Spearman-Kärber, conforme descrito por Hamilton et al. (1977). Os níveis de segurança foram calculados de acordo com Sprague (1971).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Qualidade de água

A concentração de amônia apresentou uma progressão clara e significativa, com aumento consistente entre os tratamentos, de 0 mg/L (controle) até  $65,27 \pm 0,66$  mg/L AT. Para todos os tratamentos, a temperatura permaneceu estável, com médias entre  $26,95 \pm 0,07^\circ\text{C}$  e  $27,7 \pm 0,28^\circ\text{C}$ , sem diferenças estatisticamente significativas. Os níveis de oxigênio dissolvido ( $5,94 \pm 0,42$  a  $6,78 \pm 0,27$  mg/L) e a saturação na água ( $80,63 \pm 5,84\%$  a  $92,9 \pm 3,68\%$ ) também não apresentaram diferenças estatísticas significativas. O pH mostrou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. No controle, o pH foi 8,3 (percentil 25-75: 8,30-8,30), na concentração 5 mg/L AT foi de 8,3 (percentil 25-75: 8,20-8,30), em 20 e 50 mg/L AT foi 8,20 (percentil 25-75: 8,20-8,20), em 35 mg/L AT foi de 8,25 (percentil 25-75: 8,30-8,30) e em 65 mg/L AT foi de 7,90 (percentil 25-75: 7,90-7,90). Os dados sugerem que, enquanto a temperatura, o oxigênio dissolvido e a saturação se mantiveram estáveis, o pH foi o principal parâmetro afetado pelos níveis crescentes de AT (Tabela 1).

**Tabela 1. Média ( $\pm$  desvio padrão) e mediana (percentis 25 e 75) das variáveis da qualidade de água e concentração real para a amônia total (AT) durante 96 h de experimento de toxicidade aguda com *Trichogaster lalius*.**

Conc. Nominal de AT (mg/L)	Conc. Real de N-AT* (mg/L)	Conc. de N-NH <sub>3</sub> * (mg/L)	Temperatura* (°C)	Oxigênio* (mg/L)	Saturação* (%)	pH**
0	$0 \pm 0^a$	$0 \pm 0^a$	$27,38 \pm 0,34^a$	$6,09 \pm 0,43^a$	$83,55 \pm 6,13^a$	8,30 (8,30-8,30) <sup>a</sup>
5	$5,11 \pm 0,46^b$	$0,517 \pm 0,03^b$	$27,28 \pm 0,28^a$	$5,94 \pm 0,42^a$	$80,63 \pm 5,84^a$	8,30 (8,20-8,30) <sup>a</sup>
20	$20,53 \pm 0,37^c$	$1,606 \pm 0,03^c$	$27,05 \pm 0,07^a$	$6,73 \pm 0,24^a$	$92,9 \pm 3,68^a$	8,20 (8,20-8,20) <sup>ab</sup>
35	$36,46 \pm 2,18^d$	$3,078 \pm 0,56^d$	$27,7 \pm 0,28^a$	$6,62 \pm 0,45^a$	$87,5 \pm 5,23^a$	8,25 (8,20-8,30) <sup>ab</sup>

50	49,94±0,89 <sup>c</sup>	3,965±0,02 <sup>c</sup>	27,4±0,0 <sup>a</sup>	6,44±0,09 <sup>a</sup>	83,8±0,14 <sup>a</sup>	8,20 (8,20-8,20) <sup>ab</sup>
65	65,27±0,66 <sup>f</sup>	2,576±0,17 <sup>fd</sup>	26,95±0,07 <sup>a</sup>	6,78±0,27 <sup>a</sup>	88,45±3,61 <sup>a</sup>	7,90 (7,90-7,90) <sup>b</sup>

\*Médias com diferentes letras indicam diferença significativa pela ANOVA seguida pelo teste de Tukey (p<0,05).

\*\*Mediana com diferente letra indicam diferença significativa pelo teste de Kruskal Wallis

As concentrações de nitrito aumentaram gradualmente entre os tratamentos, de 0 mg/L (controle) para 89,74 ± 1,44 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> no tratamento mais elevado. A análise estatística indicou diferenças significativas entre todas as concentrações (p < 0,05). Essa progressão consistente reflete um controle experimental bem estruturado e permite uma avaliação clara dos efeitos do nitrito nas variáveis de qualidade da água.

A temperatura permaneceu constante em todos os tratamentos, variando de 27,1 ± 0,21°C no controle a 27,58 ± 0,0°C no tratamento 90 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Não houve diferenças significativas entre os grupos. Os níveis médios de oxigênio dissolvido apresentaram diferenças significativas (p < 0,05), aumentaram gradativamente de 5,84 ± 0,19 mg/L no controle para 7,08 ± 0,01 mg/L no tratamento mais elevado (90 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). A saturação de oxigênio também apresentou um aumento progressivo, de 79,19 ± 2,46% no controle para 95,05 ± 0,0% no tratamento mais elevado (90 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), com diferença significativa no último grupo (p < 0,05). Os valores de pH oscilaram entre 8,40 no controle e 8,15 no tratamento com 70 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, mas apresentaram uma leve recuperação para 8,30 no tratamento 90 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. As medianas indicaram diferenças estatisticamente significativas (teste de Kruskal-Wallis, p < 0,05) apenas em alguns grupos (Tabela 2).

**Tabela 2. Média (± desvio padrão) e mediana (percentis 25 e 75) das variáveis da qualidade de água e concentração real para a nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) durante 96 h de experimento de toxicidade aguda com *Trichogaster lalius*.**

Conc. nominal de NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	Conc. real do NO <sub>2</sub> <sup>-*</sup> (mg/L)	Temperatura* (°C)	Oxigênio* (mg/L)	Saturação* (%)	pH**
0	0±0 <sup>a</sup>	27,1±0,21 <sup>a</sup>	5,84±0,19 <sup>a</sup>	79,19±2,46 <sup>a</sup>	8,40 (8,40-8,40) <sup>a</sup>
10	10,35±0,76 <sup>b</sup>	27,1±0,23 <sup>a</sup>	6,07±0,28 <sup>ab</sup>	81,79±3,68 <sup>a</sup>	8,40 (8,20-8,40) <sup>ab</sup>
30	30,13±1,11 <sup>c</sup>	27,23±0,42 <sup>a</sup>	6,37±0,28 <sup>abc</sup>	83,2±10,11 <sup>a</sup>	8,40 (8,40-8,40) <sup>ab</sup>

50	50,71±1,62 <sup>d</sup>	27,25±0,49 <sup>a</sup>	6,82±0,53 <sup>bc</sup>	90,2±6,65 <sup>a</sup>	8,35 (8,30-8,40) <sup>ab</sup>
70	70,18±2,21 <sup>e</sup>	27,4±0,14 <sup>a</sup>	6,99±0,39 <sup>c</sup>	90,85±7,57 <sup>a</sup>	8,15 (8,10-8,20) <sup>ab</sup>
90	89,74±1,44 <sup>f</sup>	27,58±0,0 <sup>a</sup>	7,08±0,01 <sup>c</sup>	95,05±0,0 <sup>b</sup>	8,30 (8,30-8,30) <sup>b</sup>

\*Médias com diferentes letras indicam diferença significativa pela ANOVA seguida pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \*\*Mediana com diferente letra indicam diferença significativa pelo teste de Kruskal Wallis.

### 3.2. CL<sub>50</sub> e Nível de segurança

Os dados indicam que tanto a amônia quanto o nitrito apresentam toxicidade significativa para *T. lalius*, com valores de CL<sub>50</sub> diminuindo ao longo do tempo de exposição. A CL<sub>50</sub> para amônia reduziu de 10,14 mg/L N-AT em 24 h para 3,04 mg/L N-AT em 96 h, enquanto que, para o nitrito, a CL<sub>50</sub> variou de 16,95 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (24 h) a 2,35 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (96 h) (Tabelas 3 e 4).

**Tabela 3. Valores estimados de CL<sub>50</sub> de amônia total (N-AT) e não-ionizada (N-NH<sub>3</sub>) (mg/L) e o nível de segurança (N-NH<sub>3</sub>) para *Trichogaster lalius* em 96 horas de exposição aguda.**

Tempo de Exposição (h)	CL <sub>50</sub> N-AT (mg/L)	CL <sub>50</sub> N-NH <sub>3</sub> (mg/L)	Nível de Segurança (mg/L)
24	10,14		
48	5,16		
72	3,47		
96	3,04	0,30	0,03

**Tabela 4. Valores estimados de CL<sub>50</sub> de nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) e o nível de segurança para *Trichogaster lalius* em 96 horas de exposição aguda.**

Tempo de Exposição (h)	CL <sub>50</sub> de Nitrito (mg/L N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	Nível de Segurança (mg/L N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )
24	16,95	
48	6,38	
72	2,35	
96	2,35	0,23

Nas tabelas 5 e 6 é possível comparar a sensibilidade de *T. lalius* em relação a outras espécies de água doce e de água salgada.

**Tabela 5. Valores estimados de CL<sub>50</sub> de amônia não-ionizada (NH<sub>3</sub>) de diferentes espécies de peixes.**

Espécie	Estágio	Salinidade (g/L)	CL <sub>50</sub> 96h NH <sub>3</sub> (mg/L)	Bibliografia
<i>Trichogaster lalius</i>	Larva	0	0,3	Presente trabalho
<i>Amphiprion ocellaris</i>	Juvenil	0	0,75	Medeiros et al. (2016)
<i>Betta splendens</i>	Adulto	0	1,7	Kajimura et al. (2023)
<i>Trachinotus marginatus</i>	Juvenil	5	0,66	Costa et al. (2008)
<i>Rachycentron canadum</i>	Juvenil	22	1,13	Rodrigues et al. (2007)
<i>Mugil platanus</i>	Juvenil	0	0,58	Sampaio et al. (2002)
<i>Oncorhynchus gilae</i>	Juvenil	0	0,47	Fuller et al. (2003)
<i>Paralichthys orbignyanus</i>	Juvenil	0	0,19	Bianchini et al. (1996)

**Tabela 6. Valores estimados de CL<sub>50</sub> de nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) de diferentes espécies de peixes.**

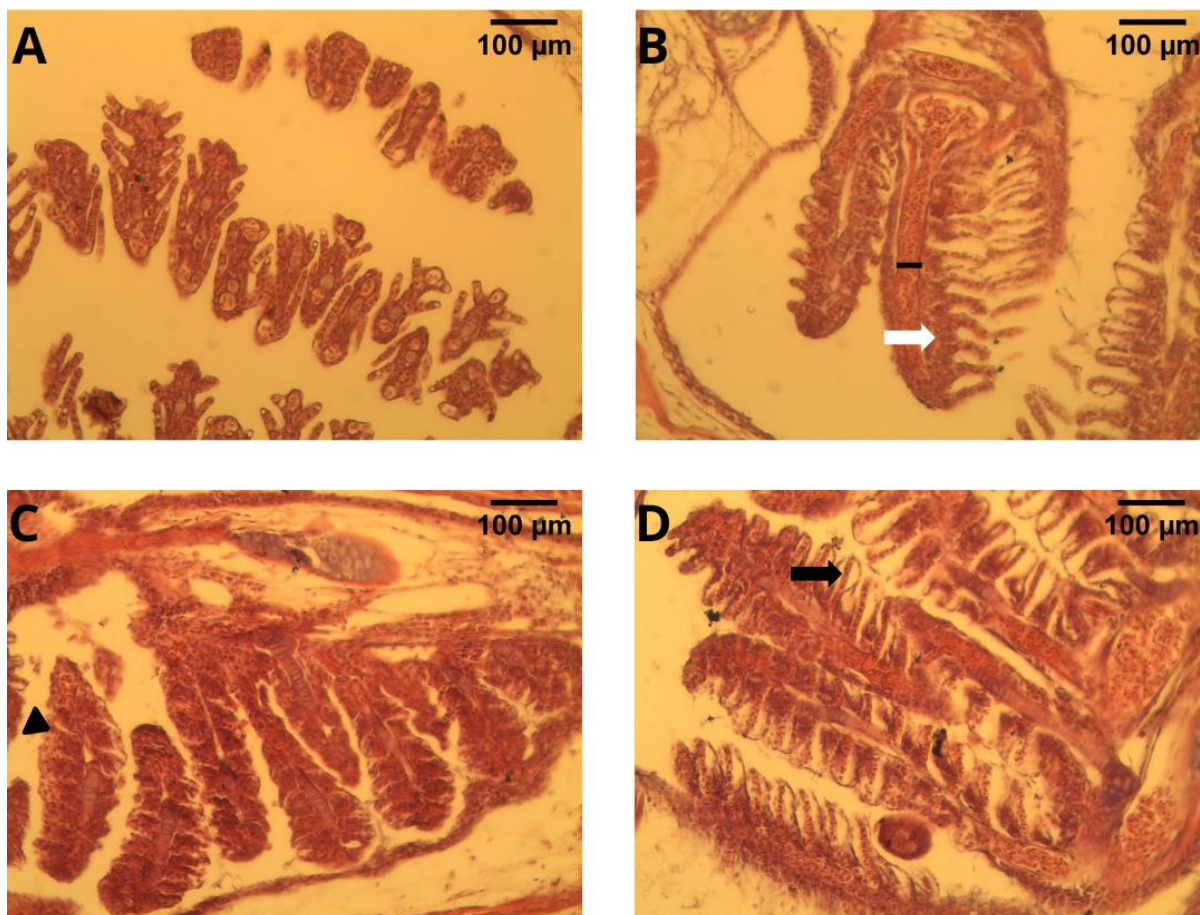
Espécie	Estágio	Salinidade (g/L)	CL <sub>50</sub> 96h NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	Bibliografia
<i>Trichogaster lalius</i>	Larva	0	2,35	Presente trabalho
<i>Amphiprion ocellaris</i>	Juvenil	0	108,8	Medeiros et al. (2016)
<i>Betta splendens</i>	Adulto	0	343,6	Kajimura et al. (2023)
<i>Trachinotus marginatus</i>	Juvenil	5	39,94	Costa et al. (2008)
<i>Rachycentron canadum</i>	Juvenil	22	>290	Rodrigues et al. (2007)
<i>Oreochromis niloticus</i>	Juvenil	0,07	44,67	Yanbo et al. (2006)
<i>Mugil platanus</i>	Juvenil	0	1,5	Sampaio et al. (2002)
<i>Oncorhynchus gilae</i>	Juvenil	0	10	Fuller et al. (2003)

<i>Paralichthys orbignyanus</i>	Juvenil	0	24,01	Bianchini et al. (1996)
---------------------------------	---------	---	-------	-------------------------

---

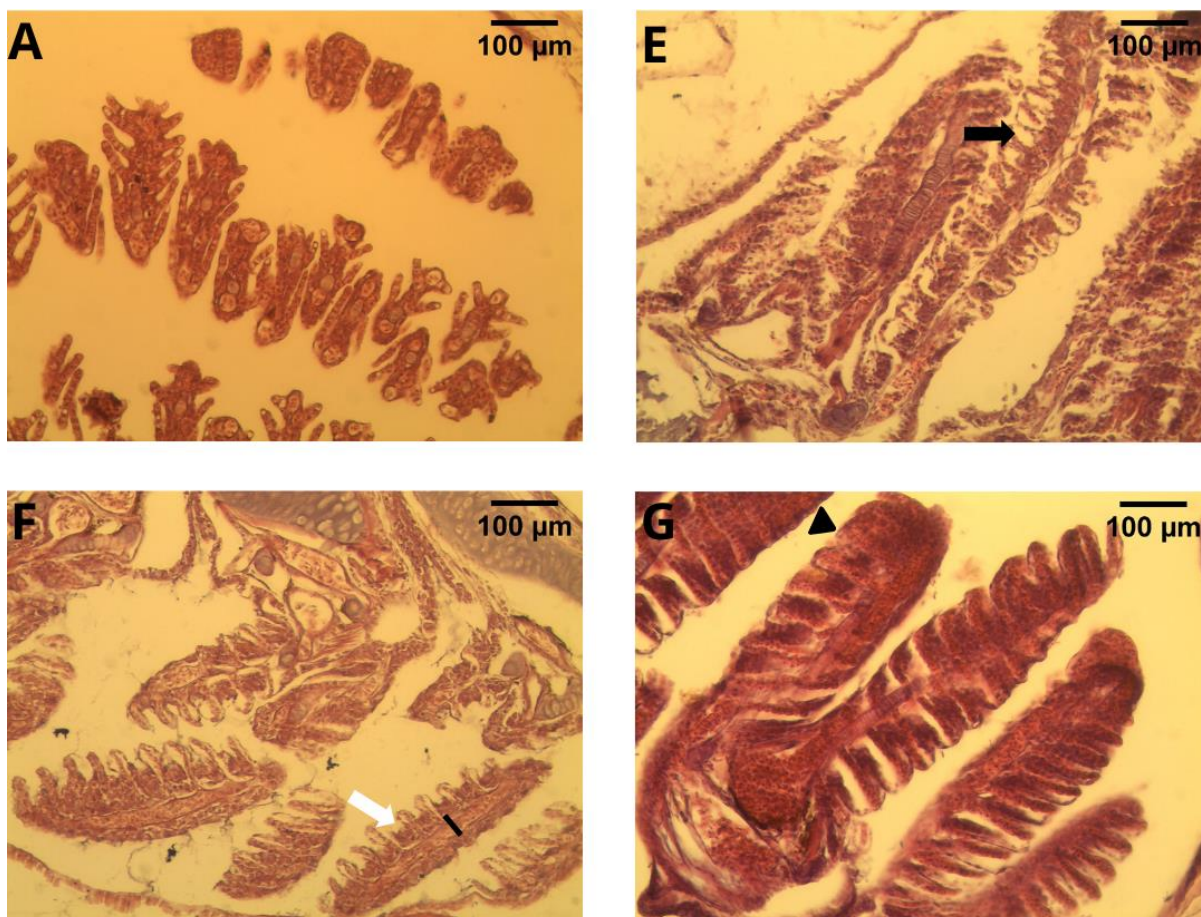
### 3.3. Histopatologia

O estudo histológico de *T. lalius* expostos às concentrações crescentes de amônia e tratamento controle é apresentado na Figura 8.



**Figura 8.** Fotomicrografia mostrando as alterações histológicas de brânquias de colisa lalia expostas às concentrações de amônia e tratamento controle. Em 8A (tratamento controle), observam-se brânquias com arquitetura lamelar bem preservada, apresentando lamelas secundárias íntegras, organizadas e sem sinais evidentes de alterações histopatológicas. Em 8B (50 mg/L N-AT) revela hipertrofia epitelial (seta branca) e dilatação do seio sanguíneo (traço preto), indicando alterações associadas à exposição a concentrações elevadas de amônia. Em 8C, tratamento amônia 65 mg/L N-AT, observa-se fusão lamelar (cabeça de seta preta). Em 8D (65 mg/L N-AT), observa-se descolamento epitelial (seta preta).

Na Figura 9 são mostradas as brânquias de *T. lalius* expostos às concentrações crescentes de nitrito e tratamento controle.



**Figura 9.** Fotomicrografia mostrando as alterações histológicas de brânquias de colisa lalia expostas às concentrações crescentes de nitrito e tratamento controle. Em 9A é possível visualizar as brânquias saudáveis de colisa do tratamento controle. Em 9E (70 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), nota-se descolamento do epitélio lamelar (seta preta), indicando comprometimento estrutural das lamelas em resposta à exposição ao nitrito. Em 9F (70 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) mostra simultaneamente hipertrofia epitelial (seta branca) e dilatação do seio sanguíneo (traço). Em 9G (90 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), a lesão predominante é a fusão lamelar (cabeça de seta preta), representando um agravamento das alterações morfológicas em níveis mais altos de exposição.

Nos tratamentos com amônia, a fusão lamelar foi classificada como muito frequente (+++) nas amostras 20 mg/L, 35 mg/L, 50 mg/L e 65 mg/L N-AT, sendo ausente (0) nas amostras 5 mg/L N-AT e na condição controle (C). A hiperplasia epitelial lamelar foi observada como rara (0+) nas amostras 5 mg/L e 20 mg/L N-AT, e pouco frequente (+) em 35 mg/L, 50 mg/L e 65 mg/L N-AT, com ausência no controle. A hipertrofia esteve presente em todas as concentrações, sendo pouco frequente (+) nas amostras C e 5 mg/L N-AT, frequente (++) nas concentrações 20 mg/L, 35 mg/L e 50 mg/L N-AT, e muito frequente (+++) na concentração de 65 mg/L N-AT. O descolamento epitelial seguiu um padrão crescente, sendo frequente (++) em 20 mg/L N-AT e muito frequente (+++) em 35 mg/L, 50 mg/L e 65 mg/L N-AT, mas ausente nas amostras controle e 5 mg/L N-AT.

A dilatação do seio sanguíneo foi detectada apenas nas concentrações 20 mg/L, 35 mg/L, 50 mg/L N-AT, classificando-se como rara (0+) nestes tratamentos e ausente (0) nas demais (Tab. 7).

**Tabela 7. Alterações histológicas encontradas nas brânquias de *Trichogaster lalius* expostas às crescentes concentrações de amônia (N-AT).**

Lesão	C	5 mg/L	20 mg/L	35 mg/L	50 mg/L	65 mg/L
Fusão lamelar	0	0	+++	+++	+++	+++
Hiperplasia epitelial lamelar	0	0+	0+	+	+	+
Descolamento epitelial	0	0	++	+++	+++	+++
Hipertrofia	+	+	++	++	++	+++
Dilatação do seio sanguíneo	0	0	0+	0+	0+	0+

0= ausente; 0+ = raro; + pouco frequente; ++ = frequente; +++ = muito frequente

Na série de nitrito, a amostra 5 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> apresentou índice branquial leve, com fusão lamelar e hiperplasia classificadas como raras (0+). À medida que a concentração de nitrito aumentou, observou-se um aumento na frequência de lesões. Em 30 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, a fusão tornou-se pouco frequente (+), enquanto hipertrofia e descolamento epitelial alcançaram a classificação frequente (++) . A partir de 50 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, fusão lamelar e descolamento epitelial foram classificadas como muito frequentes (+++), mantendo-se assim em 70 mg/L e 90 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, com hiperplasia epitelial variando entre frequente (++) e muito frequente (+++) nessas concentrações. A dilatação do seio sanguíneo foi mais evidente em 90 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, atingindo a classificação frequente (++) (Tab. 8).

**Tabela 8. Alterações histológicas encontradas nas brânquias de *Trichogaster lalius* expostas às crescentes concentrações de Nitrito (N-NO<sub>2</sub>-).**

Lesão	C	10 mg/L	30 mg/L	50 mg/L	70 mg/L	90 mg/L
Fusão lamelar	0	+++	+++	+++	+++	+++
Hiperplasia epitelial lamelar	0	0+	+	++	++	+++
Descolamento epitelial	0	+	+++	+++	+++	+++

Hipertrofia	+	0+	+	+++	+++	+++
Dilatação do seio sanguíneo	0	0+	0	0+	+	++

0= ausente; 0+ = raro; + pouco frequente; ++ = frequente; +++ = muito frequente

Em geral, observou-se que o aumento das concentrações de compostos nitrogenados (tanto amônia quanto nitrito) resultou em maior frequência e gravidade das lesões branquiais, com fusão lamelar e descolamento epitelial figurando entre as alterações mais intensas e frequentes nos tratamentos mais elevados.

#### 4. DISCUSSÃO

No presente estudo, as concentrações crescentes de amônia levaram a uma redução significativa no pH, o que pode ter mitigado parcialmente a toxicidade do  $\text{NH}_3$  ao promover sua conversão em íons  $\text{NH}_4^+$ , menos tóxicos. A redução do pH em concentrações mais altas de amônia é consistente com a literatura sobre interações químicas em sistemas aquáticos. O aumento da concentração de  $\text{NH}_4^+$  em ambientes de pH mais baixo reduz parcialmente a toxicidade aguda, mas não elimina os impactos fisiológicos causados por outros fatores associados, como o estresse oxidativo e a acidificação sistêmica (Menon et al., 2023).

Esses efeitos são corroborados por estudos como os de Wicks et al. (2002), que indicam que até mesmo pequenas mudanças no pH podem afetar significativamente a permeabilidade das membranas branquiais e o equilíbrio ácido-base nos peixes, especialmente em condições de altas concentrações de amônia.

A estabilidade térmica observada durante o experimento, com temperaturas variando entre 26,95 e 27,7°C, representa um fator positivo, uma vez que flutuações térmicas podem aumentar a vulnerabilidade dos peixes em ambientes já estressantes, como aqueles contendo compostos nitrogenados (Zhang et al., 2025). A manutenção de uma temperatura constante também permite isolar os efeitos diretos da amônia nas variáveis de interesse. Conforme relatado por Randall et al. (2002), temperaturas mais altas, combinadas com altos níveis de amônia, comprometem funções críticas como a respiração e o transporte de íons pelas brânquias, o que poderia intensificar os efeitos da exposição.

Os níveis de oxigênio dissolvido permaneceram sem diferenças significativas entre os tratamentos. Embora isso indique que a qualidade geral dos meios experimentais foi mantida, Beaumont et al. (1995) relataram que o estresse metabólico associado à toxicidade da amônia pode

aumentar a demanda de oxigênio nos tecidos dos peixes, mesmo quando os níveis de oxigênio no ambiente permaneceram adequados. Adicionalmente, observaram que a exposição a elevados níveis de amônia, os peixes podem redirecionar recursos fisiológicos para a excreção não difusiva e a regulação osmótica, o que pode comprometer outras funções essenciais. Esse efeito é ainda mais agudo na colisa lalia pois o órgão labirinto - estrutura especializada para a respiração aérea facultativa - ainda não está totalmente desenvolvido durante a fase larval. Nessa etapa inicial, a capacidade de captar oxigênio diretamente da superfície é limitada, e a respiração depende quase exclusivamente das brânquias e da difusão cutânea. A formação completa das lamelas e câmaras do labirinto ocorre apenas em estágios juvenis, quando o peixe passa a explorar de forma eficiente o oxigênio atmosférico como complemento à respiração aquática (Méndez-Sánchez e Burggren et al., 2019).

A amônia, particularmente na forma não-ionizada ( $\text{NH}_3$ ), é uma das substâncias mais tóxicas em ambientes aquáticos, pois atravessa facilmente as membranas celulares dos peixes, interferindo nos processos metabólicos e causando acidose e estresse oxidativo (Wicks et al., 2002). Segundo os autores, a exposição, mesmo subletal à amônia, pode prejudicar o desempenho natatório de espécies como salmões, aumentando a vulnerabilidade a predadores e reduzindo a capacidade de sobrevivência.

Na tabela 5, a  $\text{CL}_{50-96\text{h}}$  para a amônia não ionizada variou de 0,19 mg/L N- $\text{NH}_3$  para o linguado *Paralichthys orbignyanus* (Bianchini et al., 1996) a 1,7 mg/L N- $\text{NH}_3$  para *Betta splendens* (Kajimura et al., 2023), sendo 0,3 mg/L N- $\text{NH}_3$  para *Trichogaster lalius* (presente estudo). O *B. splendens*, apresentou maior tolerância, o que corrobora sua capacidade de sobreviver em ambientes com baixa renovação hídrica e maior acúmulo de compostos nitrogenados (Miranda-Filho e Costa, 2015). Outra razão para o *B. splendens* ser menos sensível à amônia é a fase de vida, em exemplares adultos o órgão labirinto já é formado tornando essa fase mais resistente (Méndez-Sánchez e Burggren et al., 2019).

Além disso, mesmo quando comparado a espécies com diferentes estágios de desenvolvimento e condições de salinidade, como *Trachinotus marginatus* (Costa et al., 2008) (0,66 mg/L N- $\text{NH}_3$  e 5 g/L de salinidade) e *Mugil platanus* (Sampaio et al., 2002) (0,87 mg/L em água doce), *T. lalius* ainda demonstra maior sensibilidade. Tal resultado ressalta a importância de um rigoroso controle da qualidade da água em sistemas de criação desta espécie, especialmente durante os estágios iniciais de vida, nos quais a exposição a concentrações subletais de amônia pode comprometer significativamente a sobrevivência e o desempenho zootécnico dos indivíduos.

No tratamento de amônia, a fusão lamelar foi classificada como muito frequente (+++) nas amostras de 20, 35, 50 e 65 mg/L N-AT, indicando uma resposta adaptativa ao estresse ambiental, reduzindo a superfície de troca gasosa para minimizar a entrada de toxinas. Estudos demonstram que a exposição a altos níveis de amônia pode induzir tal fusão nas fases iniciais de vida, prejudicando a eficiência respiratória dos peixes (Camargo e Martinez, 2007).

A hiperplasia epitelial, observada como pouco frequente (+) nas amostras de 35, 50 e 65 mg/L N-AT, é uma resposta proliferativa do tecido branquial frente à irritação química. Essa alteração aumenta a espessura do epitélio, dificultando a difusão de gases e íons, e é frequentemente associada à exposição à amônia e outros poluentes (Marinović et al., 2021).

O descolamento epitelial, classificado como muito frequente (+++) em 35, 50 e 65 mg/L N-AT, representa uma lesão grave que compromete a integridade do epitélio branquial, facilitando infecções secundárias e prejudicando a osmorregulação. Tal lesão é relatada em peixes expostos a ambientes contaminados, refletindo danos severos ao tecido branquial (Camargo e Martinez, 2007).

A hipertrofia e a dilatação do seio sanguíneo, observadas em menor frequência, também são indicativas de estresse fisiológico. A hipertrofia aumenta a espessura do epitélio, enquanto a dilatação do seio sanguíneo pode levar a hemorragias e comprometimento da circulação branquial. Essas alterações são comuns em peixes expostos a poluentes como amônia e nitrito (Zhang et al., 2021).

Na tabela 6, a  $CL_{50-96h}$  oscilou entre 1,5 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> para a tainha *M. platanus* (Sampaio et al., 2002) e 343,6 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> para *B. splendens* (Kajimura et al., 2023). Essa diferença expressiva mostra o potencial altamente variável do nitrito como agente tóxico. Espécies como a tainha e especialmente as trutas apresentaram-se altamente sensíveis, à formação de meta-hemoglobina. (Miranda-Filho e Costa, 2015). Os valores apresentados na Tabela 6 indicam que *T. lalius* é mais sensível à toxicidade do nitrito, com uma  $CL_{50}$  de apenas 2,35 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> para alevinos em água doce, sendo o menor valor entre todas as espécies analisadas. Esta sensibilidade é marcadamente inferior quando comparada com *A. ocellaris* (Medeiros et al., 2016) (108,8 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) e *B. splendens* (Kajimura et al. 2023) (343,6 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), sugerindo que o nitrito é significativamente mais tóxico para *T. lalius*, especialmente em seus primeiros estágios de desenvolvimento. Em comparação com *M. platanus* (Sampaio et al., 2002) (1,5 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), *T. lalius* se destaca como altamente vulnerável. Esses dados reforçam a necessidade de um monitoramento rigoroso dos níveis de nitrito em sistemas de cultivo desta espécie, dado o risco elevado de mortalidade mesmo em concentrações muito baixas. A alta toxicidade pode estar

relacionada à menor capacidade de tolerância fisiológica de larvas de *T. lalius*, a distúrbios osmóticos e à interferência do nitrito na capacidade de transporte de oxigênio, o que agrava ainda mais o risco em ambientes de cultivo com má qualidade da água.

Espécies eurialinas como o bijupirá *Rachycentron canadum* (Rodrigues et al., 2007) ( $CL_{50-96h} > 290 \text{ mg/L N-NO}_2^-$ ), mostraram elevada tolerância ao nitrito, o que pode ser explicado pela presença de íons competitivos como o cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) em águas salinas, que inibem a assimilação do nitrito pelas brânquias (Miranda-Filho e Costa, 2015).

O colisa lalia, assim como outros anabantídeos, possui o órgão labiríntico, especializado na respiração aérea suplementar. Contudo, em estágios larvais iniciais, essa estrutura encontra-se pouco desenvolvida, sendo incapaz de suprir de forma eficiente as demandas metabólicas por oxigênio. Nessa fase, a respiração depende quase exclusivamente das brânquias e difusão cutânea, tornando os indivíduos mais suscetíveis a alterações na disponibilidade de oxigênio dissolvido e à interferência de agentes tóxicos que afetam o transporte de oxigênio no sangue ((Méndez-Sánchez e Burggren, 2019)

No presente trabalho, o aumento progressivo do nitrito mostrou um impacto mensurável em variáveis como o oxigênio dissolvido e a sua saturação no meio. Embora os níveis de oxigênio dissolvido tenham aumentado com as concentrações mais altas de nitrito, isso pode mascarar os efeitos subletais da hipóxia induzida pela formação de metahemoglobina como mostrado pelas alterações histopatológicas (Kim et al., 2022).

O pH da água influencia diretamente a toxicidade do nitrito. Em níveis mais baixos de pH, o nitrito tende a ser menos tóxico devido à conversão para formas menos reativas ( $\text{NH}_4^+$ ), mas em ambientes de pH alcalino, como os observados no experimento, a toxicidade pode ser exacerbada. De acordo com estudos de Weirich et al. (1993), peixes expostos a nitrito em condições de pH alcalino apresentam maior formação de metahemoglobina, resultando em maior risco de asfixia mesmo em concentrações subletais. Os dados indicam um aumento na saturação de oxigênio (79,19% no controle para 95,05% no tratamento 90mg/L de nitrito).

Embora isso possa parecer um sinal de melhoria, a disponibilidade de oxigênio para os peixes pode estar comprometida devido à ineficiência no transporte sanguíneo causada pelo nitrito.

A temperatura estável do experimento é um fator positivo, pois evita que a toxicidade do nitrito seja exacerbada. Temperaturas elevadas podem aumentar o metabolismo dos peixes, intensificando os efeitos tóxicos do nitrito ao aumentar a demanda de oxigênio e a produção de subprodutos metabólicos prejudiciais (Kroupova et al., 2018).

Estudos recentes vêm demonstrando que o nitrito, mesmo em concentrações subletais, atua como um disruptor fisiológico multifatorial nos peixes de água doce. Além do já conhecido efeito sobre a conversão da hemoglobina em meta-hemoglobina, novos trabalhos indicam que o nitrito compromete múltiplos sistemas orgânicos de forma simultânea. Por exemplo, Ma et al. (2023) observaram em juvenis de carpa que a exposição aguda ao nitrito com concentrações de 0, 0.2, 2, e 20 mg/L alterou significativamente parâmetros bioquímicos do sangue, como a atividade da lactato desidrogenase e a concentração de triglicerídeos, evidenciando perturbações no metabolismo anaeróbico e lipídico mesmo em exposição de curta duração. Esses efeitos indicam que o nitrito não afeta apenas a oxigenação, mas também o uso e a mobilização de energia.

Do ponto de vista reprodutivo, os efeitos do nitrito também vêm sendo investigados com mais atenção. Em um estudo experimental com zebrafish *Danio rerio*, Falcão (2019) identificou que o nitrito reduz a produção de espermatozoides viáveis e compromete a integridade da camada vitelínica em fêmeas. Essas alterações não são revertidas imediatamente após a remoção do estressor, indicando efeitos duradouros sobre a reprodução e o sucesso reprodutivo, especialmente em sistemas de cultivo onde há recirculação e acúmulo gradual de compostos nitrogenados.

Recentemente, evidências comportamentais também têm sido associadas à exposição ao nitrito. Segundo Zhao et al. (2022), peixes expostos a níveis subcríticos de nitrito apresentaram desorganização em padrões natatórios e alterações na resposta a estímulos visuais e táteis. Esses distúrbios comportamentais dificultam atividades essenciais como forrageamento, fuga de predadores e reconhecimento de parceiros, com impactos diretos sobre a sobrevivência e a competitividade intraespecífica. Tal efeito é especialmente preocupante em espécies ornamentais ou de valor ecológico, como *T. lalius*, em que o comportamento é parte crítica do sucesso reprodutivo e da manutenção da hierarquia social.

Por fim, efeitos morfológicos internos também vêm sendo amplamente documentados. Wang et al. (2023) identificaram alterações histológicas em fígado, rins e baço de carpas *Cyprinus carpio* expostas ao nitrito, incluindo congestão hepática, necrose tubular renal e hiperplasia esplênica. Essas lesões não são imediatamente aparentes, mas comprometem de forma significativa a função fisiológica de órgãos essenciais, reforçando a necessidade de monitoramento contínuo mesmo quando parâmetros básicos da água indicam níveis aceitáveis.

Observando os efeitos histopatológicos da exposição ao nitrito, foi notado o aumento da frequência das lesões com a elevação das concentrações testadas, refletindo o aumento da toxicidade desse composto para os peixes. De acordo com Pedrotti (2018), o nitrito interfere na capacidade de transporte de oxigênio do sangue e induz alterações histopatológicas nas brânquias,

como hiperplasia e descolamento epitelial, comprometendo a sobrevivência dos organismos aquáticos.

A fusão lamelar e o descolamento epitelial foram classificados como muito frequentes (+++) nas amostras 50, 70 e 90 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, indicando um agravamento das lesões com o aumento das concentrações. A hiperplasia epitelial variou entre frequente (++) e muito frequente (+++) nessas concentrações, refletindo uma resposta proliferativa ao estresse químico (Kajimura et al., 2023).

A hipertrofia e a dilatação do seio sanguíneo também aumentaram em frequência nas amostras de maior concentração. Essas alterações indicam um comprometimento significativo da função branquial, afetando a respiração e a osmorregulação dos peixes (Pedrotti, 2018).

De acordo com os dados de toxicidade obtidos no presente estudo e a estimativa dos níveis de segurança para amônia e nitrito, nota-se a extrema toxicidade dos compostos nitrogenados às formas jovens de colisa lalia. Frente ao exposto, testes subletais são necessários visando a prevenção de efeitos danosos desses poluentes em sistemas aquícolas ornamentais.

Já Zhao et al. (2021) demonstraram que a exposição à amônia pode prejudicar o comportamento social e alimentar em peixes tropicais, afetando o desempenho do lote como um todo. Reduções na agressividade alimentar e aumento do isolamento de indivíduos mais sensíveis foram observados mesmo em níveis considerados subcríticos, o que pode comprometer a homogeneidade de crescimento em cultivos intensivos. Esses achados enfatizam a importância de se considerar os efeitos subletais comportamentais na formulação de políticas de bem-estar animal em sistemas aquícolas.

A análise conjunta dos valores de CL<sub>50</sub> para amônia não-ionizada (Tab. 5) e nitrito (Tab. 6) evidencia que *T. lalius* apresenta uma sensibilidade significativamente elevada a ambos os compostos na fase de desenvolvimento larval. Para a amônia, os dados indicam uma CL<sub>50</sub> de 0,3 mg/L N-NH<sub>3</sub> em larvas, o menor valor entre as espécies avaliadas. De forma semelhante, para o nitrito, os alevinos de *T. lalius* apresentaram CL<sub>50</sub> de 2,35 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, novamente destacando-se como a espécie mais suscetível. Essa elevada sensibilidade está fortemente associada à fase de desenvolvimento dos indivíduos, uma vez que larvas e alevinos possuem sistemas fisiológicos imaturos, como brânquias ainda em desenvolvimento, mecanismos de excreção nitrogenada pouco eficientes e capacidade osmorregulatória reduzida.

Além disso, compostos como amônia e nitrito afetam diretamente o equilíbrio ácido-base e a oxigenação tecidual, processos críticos para organismos jovens que possuem alta taxa metabólica e baixa reserva energética. Quando comparado a outras espécies avaliadas em estágios juvenis ou

adultos, como *B. splendens* e *A. ocellaris*, que apresentaram maior tolerância, torna-se evidente que a vulnerabilidade do *T. lalius* está diretamente relacionada à sua fase ontogenética. Esses achados reforçam a necessidade de cuidados rigorosos no manejo da qualidade da água durante as fases iniciais da criação de *T. lalius*, especialmente em relação à concentração de compostos nitrogenados, que mesmo em níveis considerados baixos, podem comprometer drasticamente a sobrevivência e o desempenho zootécnico da espécie.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos neste estudo, torna-se evidente que o monitoramento rigoroso da qualidade da água é uma exigência fundamental para a sustentabilidade da piscicultura ornamental, sobretudo no cultivo de espécies sensíveis como *T. lalius*. A determinação das concentrações letais medianas ( $CL_{50}$ ) para amônia (3,04 mg/L N-AT; 0,3 mg/L N-NH<sub>3</sub>) e nitrito (2,35 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), bem como a definição dos níveis de segurança (0,030 mg/L N- NH<sub>3</sub> e 0,23 mg/L N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, respectivamente), fornecem subsídios valiosos para o manejo adequado desses compostos nos sistemas aquícolas.

As alterações histopatológicas observadas nas brânquias, como fusão lamelar, hiperplasia, hipertrofia epitelial, descolamento e dilatação dos seios sanguíneos, evidenciam o impacto direto da exposição à amônia e nitrito mesmo em períodos relativamente curtos. Tais danos estruturais comprometem funções respiratórias, osmóticas e de excreção dos peixes, sendo ainda mais prejudiciais nas fases iniciais do desenvolvimento, quando os organismos são menos tolerantes às alterações ambientais.

## 6. CONCLUSÃO

Dessa forma, os dados apresentados reforçam a necessidade de estratégias preventivas e corretivas voltadas para o controle de compostos nitrogenados nos sistemas de cultivo, incluindo práticas como a ciclagem adequada dos aquários, dimensionamento eficiente dos biofiltros, renovação hídrica regular, manejo alimentar apropriado e definição das densidades de estocagem. A aplicação desses conhecimentos no contexto da aquicultura ornamental em Minas Gerais - um dos principais polos de produção do país - pode contribuir para a redução de perdas econômicas, melhoria do bem-estar animal e valorização do setor no mercado nacional e internacional. Além disso, os resultados obtidos servem como base para futuras pesquisas voltadas à avaliação crônica dos efeitos desses compostos e ao aprimoramento de indicadores histológicos como ferramentas de biomonitoramento em piscicultura.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 14725. Produtos químicos - Informações sobre segurança, saúde e meio ambiente - Aspectos gerais do Sistema Globalmente Harmonizado (GHS), classificação, FDS e rotulagem de produtos químicos, 520 p., 2023.
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15088. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes (Cyprinidae). 3ª Edição, 25 p., 2016.
- AFFONSO, E. G.; RANTIN, F. T. Efeitos da amônia na qualidade da água e na fisiologia dos peixes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 34, n. 5, p. 1433–1441, 2005.
- ARAÚJO, R. M. de. Desenvolvimento de sistema de produção de peixes ornamentais com enfoque na sustentabilidade e biossegurança: um estudo de caso com colisa lalia. 2021. 103 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2021.
- ARAÚJO, T. P. de.; BRIGHENTI, L. S.; SANTOS, H. B.; CASTRO, A. H. F.; THOMÉ, R. G. Toxicidade de compostos nitrogenados (amônia, nitrito e nitrato) em peixes: influência dos parâmetros físico-químicos da água. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 11, e359101119779, p. 1–13, 2021. DOI:10.33448/rsd-v10i11.19779.
- BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura, 4ª Ed. Editora da Universidade Federal de Santa Maria-UFSM, Santa Maria-RS, Brasil, 290 p. 2025.
- BEAUMONT, M. W.; BUTLER, P. J.; TAYLOR, E. W. Exposure of brown trout, *Salmo trutta*, to sublethal copper concentrations in soft acidic water: Effects upon gas exchange and ammonia excretion. *Journal of Experimental Biology*, v. 198, n. 3, p. 649–658, 1995.
- BIANCHINI, A.; WASIELESKY, W.; MIRANDA-FILHO, K.C. Toxicity of nitrogenous compounds to juveniles of flatfish *Paralichthys orbignyanus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 56, p. 453–459, 1996.
- BOYD, C. E. *Water quality: an introduction*. 2. ed. Cham: Springer, 2015. DOI: 10.1007/978-3-030-23335-8.
- CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology*, v. 5, n. 3, p. 327–336, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ni/a/ryQDgTqwJ6sydzYCGNRvwPG/?lang=en>. Acesso em: 18 maio 2025.
- COSTA, L. D. F.; MIRANDA-FILHO, K. C.; SEVERO, M. P.; SAMPAIO, L. A. Tolerance of juvenile pompano *Trachinotus marginatus* to acute ammonia and nitrite exposure at different salinity levels. *Aquaculture*, v. 285, p. 270–272, 2008.
- EPA - Environmental Protection Agency. Aquatic life ambient water quality criteria for ammonia - freshwater. EPA, Office of Water - Office of Science and Technology, Washington, USA, 2013.
- FALCÃO, K. V. G. Efeitos do nitrito de sódio em embriões de *Danio rerio*. Universidade Federal de Pernambuco, 2019.
- FRANCIS-FLOYD, R.; WATSON, C.; PETTY, D.; POWDER, D. *Ammonia in aquatic systems*. Gainesville: University of Florida IFAS Extension, FA-16/FA031, revised June 2022. DOI: 10.32473/edis-fa031-2022. Disponível em: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/FA031>.

- FULLER, S. A.; HENNE, J. P.; CARMICHAEL, G. J.; TOMASSO, J. R. Toxicity of ammonia and nitrite to the gill trout. *North American Journal of Aquaculture*, v. 65, p.162–164, 2003.
- HERNANDO, M. D.; MEZCUA, M.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R.; BARCELÓ, D. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*, v. 69, n. 2, p. 334–342, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.037>.
- IP, Y. K.; CHEW, S. F. Ammonia production, excretion, toxicity, and defense in fish: A review. *Frontiers in Physiology*, v. 1, p. 134, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2010.00134>. Acesso em: 18 maio 2025.
- KAJIMURA, M.; TAKIMOTO, K.; TAKIMOTO, A. Acute toxicity of ammonia and nitrite to Siamese fighting fish (*Betta splendens*). *BMC Zoology*, [S. l.], v. 8, n. 25, p. 1–7, 2023. DOI: 10.1186/s40850-023-00188-3.
- KROUPOVA, H.; MACHOVA, J.; SVOBODOVA, Z. Nitrite influence on fish: A review. *Aquatic Toxicology*, v. 200, p. 171–180, 2018.
- KUMAR, S.; MALIK, A.; SINGH, R. Toxicological impacts of nitrogen compounds in aquaculture: A histopathological approach. *Journal of Fish Biology*, v. 99, n. 4, p. 712–725, 2021.
- LADISA, C.; BRUNI, M.; LOVATELLI, A. Overview of ornamental species aquaculture. *FAO Aquaculture Newsletter*, n. 56, p. 38–39, 2017.
- LEWIS, W. M.; MORRIS, D. P. Toxicity of nitrite to fish: A review. *Transactions of the American Fisheries Society*, v. 115, n. 2, p. 183–195, 1986.
- LIU, Y.; WANG, W.; ZHANG, J.; LI, X. Effects of ammonia exposure on growth performance, feed utilization, and physiological responses in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, v. 547, p. 737484, 2022.
- MA, J.; CHEN, J.; WANG, Y. Nitrite induces hepatic glucose and lipid metabolism disorders in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology*, v. 250, p. 106350, 2023.
- MARINOVIĆ, Z.; MILJANOVIĆ, B.; URBÁNYI, B.; LUJIC, J. Gill histopathology as a biomarker for discriminating seasonal variations in water quality. *Applied Sciences*, v. 11, n. 20, 2021. DOI: 10.3390/app11209504. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3417/11/20/9504>.
- MEDEIROS, R. S.; LOPEZ, B. A.; SAMPAIO, L. A.; ROMANO, L. A.; RODRIGUES, R. V. Ammonia and nitrite toxicity to false clownfish *Amphiprion ocellaris*. *Aquaculture International*, v. 24, n. 4, p. 985–993, 2016. DOI: 10.1007/s10499-015-9965-9.
- MENON, S. V.; KUMAR, A.; MIDDHA, S. K.; PAITAL, B.; MATHUR, S.; JOHNSON, R.; KADEMAN, A.; USHA, T.; HEMAVATHI, K.; DAYAL, S.; RAMALINGAM, N.; SUBARAMANIYAM, U.; SAHOO, D. K.; ASTHANA, M. Water physicochemical factors and oxidative stress physiology in fish, a review. *Frontiers in Environmental Science*, v. 11:1240813, 2023. DOI: 10.3389/fenvs.2023.1240813.
- MIRANDA-FILHO, K. C.; COSTA, L. Dy F. Deleterious effects of ammonia and nitrite to fish and crustaceans. *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. Volume 2: Produção e Reprodução de Organismos Aquáticos*. São Carlos: Pedro & João Editores, 2015. p. 523–544. ISBN 978-85-7993-272-4.

- MOUNT, D. I.; NORBERG, T. J. A seven-day life cycle cladoceran toxicity test. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 3, n. 3, p. 425–434, 1984.
- MSUKWA, A. V.; JERE, W. L. Export volume trends and the conservation status of commonly targeted ornamental fishes from Malawi. *Oryx*, [S. l.], p. 1–7, 2025. Published by Cambridge University Press on behalf of Fauna & Flora International. DOI: 10.1017/S0030605324001182.
- PEDROTTI, F. S. Toxicidade aguda de amônia e nitrito em juvenis de robalo-flecha *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae). 2018. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.
- RANDALL, D. J.; TSUI, T. K. N. Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin*, v. 45, n. 1–12, p. 17–23, 2002.
- RODRIGUES, R.V.; SCHWARZ, M.H.; DELBOS, B.C.; SAMPAIO, L.A. Acute toxicity and sublethal effects of ammonia and nitrite for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, v. 271, p. 553–557, 2007.
- RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. The acute toxicity of nitrite to fishes. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 10, n. 3, p. 397–402, 1991.
- SAMPAIO, L. A.; WASIELESKY, W. J.; MIRANDA-FILHO, K. C. Effect of salinity on acute toxicity of ammonia and nitrite to juvenile *Mugil platanus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 68, p. 668–674, 2002.
- SPRAGUE, J. B. Measurement of pollutant toxicity to fish III: sublethal effects and safe concentrations. *Water Research*, v. 5, n. 6, p. 245–266, 1971. DOI: 10.1016/0043-1354(71)90171-0.
- TATE, M.; MCGORAN, R. E.; WHITE, C. R.; PORTUGAL, S. J. Life in a bubble: the role of the labyrinth organ in determining territory, mating and aggressive behaviours in anabantoids. *Journal of Fish Biology*, v. 92, n. 3, p. 1–15, 2017. DOI: 10.1111/jfb.13357.
- THE SPRUCE PETS. Ammonia poisoning in aquarium fish. The Spruce Pets, 2023. Disponível em: <https://www.thesprucepets.com>. Acesso em: 18 maio 2025.
- TOMASSO, J. R. Toxicity of nitrite to aquatic organisms. *Environmental Pollution*, v. 41, n. 2, p. 155–167, 1986.
- TRIBUNA DE MINAS. Cerca de 400 famílias vivem da renda da produção de peixes ornamentais na Zona da Mata. *Tribuna de Minas*, 2024.
- WANG, J.; LIU, H.; ZHANG, X. Histopathological effects of nitrite on liver, kidney, and spleen tissues in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology*, v. 252, 2023.
- WEIRICH, C. R.; TOMASSO, J. R.; SMITH, T. I. J. Toxicity of ammonia and nitrite to sunshine bass in selected environments. *Journal of Aquatic Animal Health*, v. 5, n. 4, p. 294–300, 1993.
- WICKS, B. J. et al. Swimming and ammonia toxicity in salmonids: The effect of sublethal ammonia exposure on swimming performance. *Journal of Fish Biology*, v. 60, n. 6, p. 1258–1270, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb01714.x>. Acesso em: 18 maio 2025.
- YANBO, W.; WENJU, Z.; WEIFEN, L.; ZIRONG, X. Acute toxicity of nitrite to tilapia (*Oreochromis niloticus*) at different external chloride concentrations. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 32, p. 49–54, 2006.

- ZHANG, Y.; QIAO, H.; PENG, L.; MENG, Y.; SONG, G.; LUO, C.; LONG, Y. Influence of high temperature and ammonia and nitrite accumulation on the physiological, structural, and genetic aspects of the biology of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Antioxidants*, v. 14, n. 4, art. 495, 20 abr. 2025. DOI: 10.3390/antiox14040495.
- ZHANG, Y.; HUANG, Z.; YU, K.; GUAN, W.; WANG, Z.; LI, J. A preliminary study on the effects of nitrite exposure on physiological stress response, oxidative stress, gill tissue morphology and immune response of Pearl Gentian Grouper. *Fishes*, v. 7, n. 5, p. 235, 2022. DOI: 10.3390/fishes7050235. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2410-3888/7/5/235>.
- ZHAO, Y.; WANG, L.; ZHANG, X.; LI, D. Behavioral response of fish under ammonia nitrogen stress based on machine vision. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 187, 2021.
- ZHOU, Y.; LI, H.; CHEN, J. Assessment of waterborne pollutants in aquaculture systems through acute toxicity testing in ornamental fish species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 42, n. 5, p. 1012–1021, 2023.