

CONCENTRAÇÃO DE AMÔNIA NA ÁGUA DE TILÁPIAS-DO-NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) INOCULADAS COM CIRCOVÍRUS PORCINO 2 (PCV2)*

Victor Hugo da Silva¹

Bruna Santos Azevedo¹

Lais Sobral Santarelli¹

José Roberto de Oliveira²

Vanessa Aparecida Feijó³

João Carlos Shimada Borges³

Flavio A. Baldisseri Jr.^{3*}

Alessandra Marnie Martins Gomes de Castro³

RESUMO: O presente estudo teve como objetivo verificar a possível influência do PCV2 sobre a excreção de amônia por peixes inoculados com esse vírus. Para tal, juvenis de Tilápias-do-Nilo foram inoculados via intramuscular com PCV2 e acompanhados por 40 dias. Foram feitas mensurações diárias dos níveis de amônia total (NH₃ e NH₄), pH, temperatura e troca da água dos aquários. Houve diferença estatística significativa entre os grupos inoculados e o grupo controle {[G1(0,1mL de PCV2)/GC (grupo controle); t=6,484; p=0,000] e [G2(0,2mL de PCV2)/GC; t=2,99; p=0,005]} e entre os grupos tratamento (G1/G2; t=5,542; p=0,000). Discute-se a possibilidade de que a infecção por PCV2 tenha causado um aumento na produção de amônia e sua excreção branquial pelos peixes inoculados.

Palavras-chave: Amônia; *Oreochromis*; PCV2.

* Trabalho apresentado na 5ª edição do Simpósio de Saúde Ambiental em 10 de Novembro de 2016.

¹ Discente do Programa de Iniciação Científica das Faculdades Metropolitanas Unidas (FMU), São Paulo, SP, Brasil.

² Mestrando do Curso de Mestrado Profissional em Saúde Ambiental das Faculdades Metropolitanas Unidas (FMU), São Paulo, SP, Brasil.

³ Docente do Curso de Medicina Veterinária e Mestrado Profissional em Saúde Ambiental das Faculdades Metropolitanas Unidas (FMU), São Paulo, SP, Brasil. Autor para correspondência: baldisseri@gmail.com

AMMONIA CONCENTRATION IN THE WATER OF NILE TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) SPECIMENS INOCULATED WITH PORCINE CIRCOVIRUS 2 (PCV2)

ABSTRACT: The aim of this work was to verify the possible influence of PCV2 on the ammonia excretion by fish inoculated with this virus. Juvenile Nile tilapia specimens were inoculated intramuscularly with PCV2. Ammonia level, pH and temperature were measured daily for 40 days. Aquarium water was always exchanged after measurement. The difference in ammonia concentration was statistically significant between inoculated fish groups and the control group {[G1(0.1 mL of PCV2)/CG (control group); $t = 6,484$; $p = 0.000$] and [G2 (PCV2 0.2mL)/GC; $t = 2.99$; $p = 0.005$]}, as well as in between inoculated groups (G1/G2 $t = 5,542$, $p = 0.000$). Results indicate the possibility that the PCV2 infection caused an increase in ammonia production and its branchial excretion by the inoculated fish.

Keywords: Ammonia; *Oreochromis*; PCV2.

1. INTRODUÇÃO

O circovírus suíno 2 (*Porcine circovirus 2* - PCV2) pertence ao gênero *Circovirus* da família *Circoviridae*. Agente causal primário de várias síndromes que, coletivamente, são designadas circovírus. Mundialmente, este vírus é responsável por enormes prejuízos econômicos na atividade suinícola (Segalés et al. 2013).

Estudos recentes demonstraram a infecção por PCV2 em roedores, suínos domésticos e selvagens e bovinos (Rose et al. 2012; Zhai et al. 2014). Esses achados, associados à alta taxa de mutação do vírus, demonstra sua capacidade em se adaptar a novas condições e/ou hospedeiros.

A piscicultura constitui uma alternativa importante para a pequena propriedade, sendo também uma importante fonte de proteína. A Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis*

niloticus) apresenta aumento crescente na produção em cativeiro no Brasil e esse crescimento está relacionado à sua grande rusticidade (Santos 2006).

O Brasil caracteriza-se por uma forte indústria agro-alimentar alicerçada em unidades familiares de produção, a qual exige diversidade. O desafio da aquicultura é o desenvolvimento de sistemas produtivos, economicamente, ambientalmente e socialmente inovadores. Nesse contexto, sistemas de piscicultura integrada à criação de suínos vêm sendo introduzidos com o intuito de minimizar o impacto ambiental das criações intensivas de porcos (Cavalett 2004).

O PCV2 é ubíquo nas granjas de suínos. Essa característica associada a sua alta taxa de mutação, resulta em quebra de barreiras interespecies, conforme demonstrado em artigos recentes. Assim, é importante verificar-se o impacto do PCV2 em outras espécies animais integradas à produção de porcos.

O presente estudo teve como objetivo verificar o impacto sobre a concentração de amônia no meio aquático de peixes inoculados com PCV2.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi realizado no Parque de Laboratórios do Curso de Mestrado Profissional em Saúde Ambiental (Laboratório de Animais Aquáticos de Biologia Animal e Biologia Molecular) do Complexo Educacional das Faculdades Metropolitanas Unidas, Campus Ponte Estaiada.

Foram utilizadas tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) juvenis (n=12) de 10 a 12 cm de comprimento, provenientes do Recanto dos Pescadores do município de Carapicuíba, SP. Os exemplares foram mantidos em três aquários com quatro indivíduos cada. Os espécimes foram inoculados via intramuscular com PCV2 cedido pelo Laboratório de doenças Washington Sugay (LDSWS) pertencente ao Instituto Biológico de São Paulo e divididos em grupos: grupo controle (GC), sem inoculação; grupo 1 (G1), inoculação de 0,1 mL e grupo 2 (G2), inoculação de 0,2 mL.

Os animais foram acompanhados por 40 dias após a inoculação (dpi). A mensuração de amônia foi realizada diariamente com o kit Amônia Tóxica (LabconTest®) e o pH com o kit pH Tropical (LabconTest®), conforme as instruções do fabricante. A água dos aquários era trocada após as medições.

Os dados obtidos para os níveis de amônia dos grupos inoculados e do grupo controle foram comparados através do Teste-t para amostras pareadas com nível de significância de 99%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração média de amônia tóxica (NH_3) foi de 0,019mg/L; 0,005mg/L e 0,003mg/L para G1, G2 e GC, respectivamente (Tabela 1). Os maiores valores de concentrações (Tabela 1) foram mensuradas aos 16 dpi para G1 e aos 27 dpi para G2. Ressalta-se que para o tratamento G1, 65% das medições realizadas no período de 40 dias apresentaram níveis acima do aceitável de acordo com o quadro de avaliação do kit Amônia Tóxica (LabconTest®). As tabelas 3 e 4 trazem a estatística descritiva das variáveis pH e temperatura.

O Teste t de Student para amostras pareadas mostrou diferenças significativas com probabilidade maior que 99% para todos os pares (Tabela 2).

Tabela 1: Estatística descritiva da concentração de amônia nos diferentes grupos.

Grupos	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
GC	40	0,000	0,014	0,0032	0,003
G1	40	0,001	0,078	0,0197	0,016
G2	40	0,001	0,028	0,0058	0,005

Tabela 2: valores do Teste t e respectivas probabilidades para a concentração de amônia nos diferentes grupos.

Pares	t	P<0,01
G1/GC	6,484*	0,000
G2/GC	2,990*	0,005
G1/G2	5,541*	0,000

Graus de liberdade = 39; *= valor significativo

Tabela3: Estatística descritiva do pH nos diferentes grupos.

Grupos	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
GC	40	6,6	7,6	7,1	0,22
G1	40	7,0	7,6	7,2	0,15
G2	40	6,8	7,4	7,1	0,14

Tabela 4: Estatística descritiva da temperatura (°C) nos diferentes grupos.

Grupos	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
GC	40	22	26	23,9	1,06
G1	40	18	28	21,6	3,02
G2	40	21	29	24,1	1,81

A amônia é gerada principalmente pelo metabolismo de amino-ácidos provenientes da alimentação ou decomposição de matéria orgânica no meio (Casebolt et al. 1998). Em peixes, o fígado é responsável por 50 a 70% da amônia produzida (Van Den Thillart, Van Raaji 1995). A exposição prolongada a este composto em altas concentrações (>2mg/L) pode causar morte, principalmente em alevinos e indivíduos jovens (Abdelaziz, Zaki 2010). Ademais, alta concentração de amônia tóxica induz estresse lesões branquiais que facilitam o estabelecimento de infecções virais (Munang'andu et al 2016).

A Tilápia do Nilo é um ciclídeo amoniotélico (Wright 1993). A maioria dos teleosteos amoniotélicos de água doce excretam amônia na forma tóxica (NH₃) através do epitélio branquial (Evans et al. 2005). Assim, em experimentos onde os animais são mantidos em sistemas fechados sem filtração, a qualidade da água deve ser monitorada diariamente para seus níveis de amônia total, pH e temperatura.

A amônia tóxica [não-ionizada (NH_3)] aumenta no meio, proporcionalmente ao incremento do pH e temperatura (Casebolt et al. 1998). É sabido que o pH é o fator mais importante no deslocamento de equilíbrio entre a amônia ionizada e não-ionizada (tóxica) (Weihrauch et al. 2009). Durante todo o experimento, o pH ficou em torno da neutralidade nos três aquários, minimizando a influência dessa variável para formação de amônia tóxica. Apesar disso, os níveis desse composto foram mais altos nos aquários tratamentos (G1 e G2) do que no aquário controle (GC).

4. CONCLUSÃO

No contexto estabelecido acima, aventa-se a possibilidade de que a inoculação viral tenha surtido influência na produção e eliminação de amônia no meio pelos peixes inoculados.

REFERÊNCIAS

- Abdelaziz MA, Zaki MM. Investigation of Mass Mortality Problem of *Oreochromis niloticus* in Mariotia Channel in Egypt. *World J. Fish & Marine Sci.* 2010; 2(5):461-470.
- Casebolt DB, Speare DJ, Horney BS. Care and use of fish as laboratory animals: Current state of knowledge. *Lab. Anim. Sci.* 1998; 48(2): 124-136.
- Cavalett O. Análise energética de piscicultura integrada à criação de suínos e de pesque-pagues. 2004. 156f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Alimentos - Universidade de Campinas, Campinas, SP, 2004.
- Evans DH, Piermarini PM, Choe KP. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiol. Rev.* 2005; 85: 97–177.

Munang'andu HM, Mutoloki S, Evensen O. Prevention and control of viral diseases in aquaculture. Chapter 5. *In*: Kibenge, F. S. B., Godoy, M. G. Editors. Aquaculture Virology. London: Academic Press, 2016.

Rose N, Opriessnig T, Graslanda AB, Jestin A. Epidemiology and transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Res.* 2012; 164:78-89.

Santos VB. (2006). Disponibilidade de diferentes linhagens de tilápias. *Pesq Tecn*, 3(1). Disponível em: <http://www.apta regional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2006/2006-janeiro-junho/278-a-disponibilidade-de-diferentes-linhagens-de-tilapias/file.html>

Segalés J, Kekarainen T, Cortey M. The natural history of porcine circovirus type 2: from an inoffensive virus to a devastating swine disease? *Vet. Microbiol.* 2013;165(1-2):3-20.

Van Den Thillart G., Van Raaji M. Endogenous fuels; noninvasive versus invasive. *In*: Biochemistry and Molecular Biology of Fishes, v. 4, Metabolic Biochemistry, eds P. W. Hochachka and T. P. Mommsen (Amsterdam: Elsevier), p.33–63, 1995.

Weihrauch D, Wilkie MP, Walsh PJ. Ammonia and urea transporters in gills of fish and aquatic crustaceans. *J. Exp. Biol.* 2009; 212: 1716–1730.

Wright PA. Nitrogen excretion and enzyme pathways for ureagenesis in freshwater Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Physiol. and Biochem. Zool.* 1993; 66(6): 881-901.

Zhai SL, He DS, Qi WB, Chen SN, Deng SF, Hu J, Li, L, Chen RA, Luo ML., Wei WK. Complete genome characterization and phylogenetic analysis of three distinct buffalo-origin PCV2 isolates from China. *Infection, Genetics and Evolution.* 2014; 28: 278-282.