

UFRRJ
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

DISSERTAÇÃO

**Concentração Letal Mediana para compostos nitrogenados em vieiras da
espécie *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) (Mollusca, Bivalvia)**

Renan Ribeiro e Silva

2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**CONCENTRAÇÃO LETAL MEDIANA PARA COMPOSTOS
NITROGENADOS EM VIEIRAS DA ESPÉCIE *NODIPECTEN*
NODOSUS (LINNAEUS, 1758) (MOLLUSCA, BIVALVIA)**

RENAN RIBEIRO E SILVA

Sob a Orientação do Professor
Leonardo Rocha Vidal Ramos

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre** no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Área de Concentração em Zootecnia.

Seropédica, RJ
Outubro de 2022

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586c Silva, Renan Ribeiro e, 1984-
Concentração Letal Mediana para compostos
nitrogenados em vieiras da espécie *Nodipecten
nodosus* (Linnaeus, 1758) (Mollusca, Bivalvia) / Renan
Ribeiro e Silva. - Angra dos Reis, 2022.
33 f.: il.

Orientadora: Leonardo Rocha Vidal Ramos.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência
Animal, 2022.

1. Pectinídeos. 2. Nitrogenados. 3. Toxicidade. 4.
Maricultura. 5. Aquicultura. 1. Ramos, Leonardo
Rocha Vidal, 1985-, orient. II Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal III. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA



TERMO Nº 267 / 2022 - PPGZ (12.28.01.00.00.00.61)

Nº do Protocolo: 23083.016577/2022-80

Seropédica-RJ, 15 de março de 2022.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO
DE JANEIRO**

INSTITUTO DE ZOOTECNIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
ANIMAL**

RENAN RIBEIRO E SILVA

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre(a)**, no Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Área de Concentração em Zootecnia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 15/03/2022.

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese / dissertação.

Banca Examinadora:

Leonardo Rocha Vidal Ramos, Dr. UFRRJ - (Presidente)

Matheus Pereira dos Santos, Dr. UFRRJ

Paulo Márcio Santos Costa, Dr. FIPERJ

(Assinado digitalmente em 16/03/2022 08:17)

LEONARDO ROCHA VIDAL RAMOS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DPA (12.28.01.00.00.00.63)
Matrícula: 2376201

(Assinado digitalmente em 16/03/2022 13:08)

MATHEUS PEREIRA DOS SANTOS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DPA (12.28.01.00.00.00.63)
Matrícula: 3067308

(Assinado digitalmente em 02/09/2022 19:49)

PAULO MÁRCIO SANTOS COSTA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 830.860.487-00

Para verificar a autenticidade deste documento entre em

<https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **267**, ano: **2022**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **15/03/2022** e o código de verificação: **7cbf7edaaf**

DEDICATÓRIA

A minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Jairo Jorge de Souza e Silva e Virginia Maria Ribeiro e Silva por todo apoio.

A minha esposa Marina Nunes Ribeiro por todo incentivo.

Ao meu filho João Gabriel Nunes Ribeiro por ser minha motivação em todos os momentos.

Ao amigo Bruno Marques Veríssimo pelo grande apoio e amizade.

A toda equipe do Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía da Ilha Grande pelo apoio na produção das formas jovens de vieiras e durante o desenvolvimento do experimento.

Ao amigo e presidente do Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía da Ilha Grande Jose Luiz Zaganelli por intender e apoiar a importância da capacitação profissional dos colaboradores do IED-BIG.

A professora Dr. Virgínia Pedrosa do Laboratório de Imunologia e Patologia de Organismos Aquáticos (LIPOA) da Universidade Federal do Rio Grande/RS pela colaboração com as análises histológicas.

Aos amigos e colegas de turma Rafael Carvalho da Silva e Pamella Talita da Silva melo pelo grande apoio durante a realização dos experimentos.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao Instituto de Zootecnia pela oportunidade de cursar o mestrado.

A todo o corpo docente da Pós-graduação em Ciência Animal-UFRRJ pelos conhecimentos adquiridos.

Ao colaborador do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal-UFRRJ Marcelo Miranda pelo grande profissionalismo.

Agradeço ao meu orientador professor Dr. Leonardo Rocha Vidal Ramos pela parceria, amizade e muitos ensinamentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Silva, Renan Ribeiro e. **Concentração Letal Mediana para compostos nitrogenados em vieiras da espécie *Nodipecten nodosus*** (Linnaeus, 1758). 2022. 33p. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Ciência Animal, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

No Brasil o pectinídeo da espécie *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) se destaca na malacocultura pelo seu potencial zootécnico. A disponibilidade de água de alta qualidade é fundamental para a garantia de uma produção eficiente, onde os nitrogenados desempenham papel de destaque e carecem de informação para *N. nodosus*. O presente estudo teve como objetivos identificar a concentração letal mediana (CL₅₀) dos compostos nitrogenados e avaliar a presença de alterações histológicas branquiais em formas jovens (sementes) de vieiras da espécie *N. nodosus* durante 96h de exposição. Foram disponibilizadas 1500 sementes de *N. nodosus* para realização de pré-testes e delineamento experimental. Foram realizados pré-testes com as concentrações de 3, 6, 12, 20, 35 e 45 mg/L de amônia total, 25, 50, 100, 500, 600, 750, 900 e 1000 mg/L de nitrito e 100, 500, 1.000, 6.000, 7.500, 9.000 e 10.000 mg/L de nitrato para definir as faixas experimentais. Durante os pré-testes não foi possível verificar a CL₅₀ para nitrito e nitrato nas concentrações testadas, não se justificando a realização de uma investigação através de um delineamento experimental. A toxicidade aguda da exposição durante 96h à amônia em sementes de *N. nodosus* foi investigada em delineamento inteiramente casualizado, utilizando cinco concentrações de amônia total, 12, 15, 18, 25, 30 mg/L e o controle (0 mg/L) com quatro repetições para cada tratamento. Para o delineamento foram usados 24 tanques preenchidos com volume de 1L, densidade de 10 indivíduos com tamanho médio de $16,15 \pm 1,98$ mm por tanque. As sementes mortas durante os testes foram fixadas em formol tamponado diluído em água marinha (20%), identificadas por tratamento para análise histológica. A salinidade durante o teste foi $30,33 \pm 0,42$ mg/L, a temperatura $22,4 \pm 0,68$ °C, o oxigênio dissolvido $5,88 \pm 0,27$ mg/L e o pH foi de $8,02 \pm 0,08$. Ao final da exposição durante 96h, a taxa de mortalidade observada para o grupo controle (0 mg/L) e para as concentrações de 12, 15, 18, 25 e 30 mg/L de amônia total foram respectivamente 7,5, 72,5, 77,5, 92,5, 100 e 100%. Para a análise de toxicidade e determinação da CL₅₀ 96h de amônia total foi utilizado o Teste TSK (Trimmed Spearman-Kärber) com a eliminação do limite inferior. De acordo com os resultados, a CL₅₀ 96h de amônia total para as sementes de vieiras *N. nodosus* foi estimada em 8,614 mg/L, convertendo esse valor para concentração de amônia tóxica N-NH₃ o valor é 0,2972 mg/L N-NH₃. As análises histológicas das brânquias demonstraram diferenças entre os tratamentos, com a presença de necrose, infiltrado hemocitário e hiperplasia nos animais expostos às concentrações de 18, 25 e 30 mg/L. Os testes realizados demonstraram que as sementes de vieiras *N. nodosus* são resistentes a elevadas concentrações de amônia total e principalmente a nitrito e nitrato, já que não foi possível estimar a CL₅₀ para esses compostos com as dosagens pré-determinadas. Por esses resultados, a espécie pode ser recomendada para ser usada em sistemas intensivos ou superintensivos de produção de sementes fechados durante as etapas de produção em laboratório.

Palavras Chave: Pectinídeos, Nitrogenados, Toxicidade.

ABSTRACT

Silva, Renan Ribeiro e. **Median Lethal Concentration for nitrogen compounds in scallops of the species *Nodipecten nodosus*** (Linnaeus, 1758). 2022. 33p. Master's thesis. Postgraduate in Animal Science, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

In Brazil, the pectinid of the species *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) stands out among the bivalve farming for its zootechnical potential. The availability of high-quality water is essential to guarantee an efficient production, where nitrogenous compounds play a prominent role and lacking of information for *N. nodosus*. The present study aimed to identify the median lethal concentration (LC₅₀) of nitrogen compounds and to evaluate the presence of gill histological alterations in young forms (seeds) of scallops of the species *N. nodosus* exposed for 96h. 1500 seeds of *N. nodosus* were made available for pre-tests and experimental design. Pre-tests were performed with concentrations of 3, 6, 12, 20, 35 and 45 mg/L of total ammonia, 25, 50, 100, 500, 600, 750, 900 and 1000 mg/L of nitrite and 100, 500, 1,000, 6,000, 7,500, 9,000 and 10,000 mg/L of nitrate to define the experimental ranges. During the pre-tests, it was not possible to verify the LC₅₀ for nitrite and nitrate at the concentrations tested, not justifying an investigation through an experimental design. The acute toxicity of 96h exposure to ammonia in *N. nodosus* seeds was investigated in a completely randomized design, using five concentrations of total ammonia, 12, 15, 18, 25, 30 mg/L and the control (0 mg/L) with four replicates for each treatment. For the design, 24 tanks were used filled with a volume of 1L, density of 10 individuals with an average size of 16.15 ± 1.98 mm per tank. The seeds that died during the tests were fixed in buffered formalin diluted in marine water (20%), identified by treatment for histological analysis. The salinity during the test was 30.33 ± 0.42 mg/L, the temperature 22.4 ± 0.68 °C, the dissolved oxygen 5.88 ± 0.27 mg/L and the pH was 8.02 ± 0.68 °C. 0.08. At the end of exposure for 96h, the mortality rate observed for the control group (0 mg/L) and for concentrations of 12, 15, 18, 25 and 30 mg/L of total ammonia were respectively 7.5, 72, 5, 77.5, 92.5, 100 and 100%. For the toxicity analysis and determination of the 96h LC₅₀ of total ammonia, the TSK Test (Trimmed Spearman-Kärber) was used with the elimination of the lower limit. According to the results, the 96h LC₅₀ of total ammonia for the seeds of *N. nodosus* was estimated at 8.614 mg/L, converting this value to the concentration of toxic ammonia N-NH₃ the value is 0.2972 mg/L N- NH₃. Histological analysis of gills showed differences between treatments, with the presence of necrosis, hemocytic infiltrate and hyperplasia in animals exposed to concentrations of 18, 25 and 30 mg/L. The tests performed showed that the seeds are resistant to high concentrations of total ammonia and mainly to nitrite and nitrate, since it was not possible to estimate the LC₅₀ for these compounds with the predetermined dosages. Due to these results, a species can be used to be used in intensive or super-intensive closed seed production systems during the hatchery production stages.

Keywords: Pectinides, Nitrogenates, Toxicity.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Mortalidade total acumulada de sementes de vieiras expostas a diferentes concentrações de amônia total.....	11
--	----

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Laboratório do Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía de Ilha Grande (vista aérea) (A) e disposição dos tanques experimentais (B).....7
- Figura 2.** Sementes de vieiras *N. nodosus* (A) e biometria de comprimento de concha de acordo com Soemodihardjo (1974), corresponde a medida do eixo anteroposterior, ou seja, extremidades das valvas, paralelas as aurículas (B).....8
- Figura 3.** Semente de vieira sem uma das valvas com tamanho de 16mm de comprimento de concha, fixada para análise histológica, as setas indicam a posição das brânquias utilizadas para preparo das lâminas.....10
- Figura 4.** Gráfico e equação gerados a partir da conversão logarítmica das concentrações de amônia total em função da proporção ajustada da mortalidade dos animais segundo o teste TSK.....12
- Figura 5.** Análise histológica do tecido branquial de sementes de vieiras *Nodpecten nodosus* do tratamento controle, sem alterações. Coloração HE. 40x. Manchas escuras na lâmina são artefatos de fixação.....13
- Figura 6.** Análise histológica branquial (HE, 40x) de sementes de vieiras *N. nodosus*, expostas a níveis crescentes de amônia. Em sentido horário, A: 15 mg/L, B: 18 mg/L, C: 25 mg/L, D: 30mg/L. Em todas as imagens, setas longas indicam necroses e setas curtas infiltrado hemocítico. Em C e D, o aumento de tecido observado caracteriza hiperplasia.....14

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Caracterização da Espécie	3
2.2. Mecanismo de Toxicidade dos Compostos Nitrogenados.....	4
2.3 Efeitos dos Nitrogenados em Organismos Aquáticos	5
3 MATERIAL E MÉTODOS	7
3.1 Local do Experimento	7
3.2 Sementes de Vieiras	7
3.3 Pré-testes para Determinação das Concentrações de Nitrogenados.....	8
3.4 Toxicidade Aguda dos Compostos Nitrogenados em Sementes de <i>N. nodosus</i>	9
3.5 Análises Estatísticas	10
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
4.1 Toxicidade Aguda por Amônia Total em Sementes de <i>N. nodosus</i>	11
5 CONCLUSÃO	18
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a FAO (2020), a aquicultura tem aumentado significativamente ao longo dos anos, com a produção de 82.1 milhões de toneladas em 2018, representando 46% do total de pescado produzido tanto pela aquicultura como pela pesca. Neste cenário, a produção mundial de moluscos ocupa importante papel atingindo a marca de 17.7 milhões toneladas produzidas em 2018; deste montante, os bivalves representam mais de 90% dos moluscos cultivados.

A produção dos bivalves é dividida em três grandes grupos: mitilicultura (cultivo de mexilhões), ostreicultura (cultivo de ostras) e a pectinicultura (cultivo de vieiras), sendo este último grupo de maior valor comercial do que os anteriores. De acordo com Queiroz (2005) a pectinicultura se iniciou na década de 30 no Japão, e por conta dos bons resultados obtidos passou a ser desenvolvida em outros países a partir da década de 70, tendo como base as tecnologias desenvolvidas no Japão.

A China se destaca como maior produtor mundial, enquanto que na América do Sul, o Chile apresentou-se como um país pioneiro produzindo 20 mil toneladas de *Argopecten purpuratus* em 1999 (AVELAR, 2000). No litoral brasileiro, que se estende por aproximadamente 8500 km, os pectinídeos estão representados por 15 espécies (RIOS, 2009), tendo destaque para *Euvola zic zaz* (Linnaeus, 1758) e principalmente para *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758), pelo seu potencial zootécnico para cultivo em ambiente natural (MANZONI e RUPP, 1993), e pelo seu alto valor comercial e aceitação no mercado consumidor (RUPP, 2007).

Entretanto, para o fomento da atividade e povoamento das fazendas marinhas com formas jovens de *N. nodosus* é necessário a produção de sementes (=formas jovens) em laboratório, tendo em vista que sua baixa densidade natural e populações dispersas não permite uma alta taxa de captação através de coletores instalados em ambiente natural (URIARTE et al., 2001). Os primeiros estudos relacionados à reprodução em laboratório com *N. nodosus* no Brasil tiveram início na década de 90, no estado de Santa Catarina no Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) (RUPP, 1994, 1997, 2000) e no Estado do Rio de Janeiro com a fundação do Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía da Ilha Grande (IED-BIG) e construção do Laboratório de Larvicultura de Moluscos do IED-BIG em Angra dos Reis, através de esforços conjuntos entre instituições privadas e governamentais (ABELIN, 2013). Os estudos realizados

demonstraram a viabilidade da produção de formas jovens dessa espécie em laboratório (AVELAR, 2000), sendo os únicos locais no Brasil a produzirem sementes de *N. nodosus* até os dias atuais.

Deste modo, para o desenvolvimento da pectinicultura em outros Estados do Brasil e consequente crescimento da atividade, se faz necessário que as sementes sejam transportadas por longas distâncias em caixas de transporte. Porém, sob estas condições e também durante as etapas de produção em laboratório, os níveis dos parâmetros que determinam a qualidade da água, como temperatura, oxigênio dissolvido, potencial hidrogeniônico, salinidade e compostos nitrogenados que desempenham papéis decisivos, podem causar efeitos diversos sobre o metabolismo e processos fisiológicos dos organismos, sendo facilmente alterados (RUPP e PARSONS, 2016).

Dentre os parâmetros citados acima, os compostos nitrogenados são os únicos que apresentam toxicidade aos organismos aquáticos. A amônia não-iônica (NH_3) apresenta alta toxicidade, seguida do nitrito (NO_2), o nitrato por sua vez é tóxico apenas em concentrações elevadas. Até o momento, não foram identificados os limites de tolerância para *N. nodosus* aos compostos nitrogenados, sendo sua determinação de fundamental importância para o sucesso de transportes de longas distâncias e para o desenvolvimento de novas tecnologias de produção intensiva de *N. nodosus*, como aquelas em sistemas fechados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Caracterização da Espécie

Conforme relatado por Rupp e Parsons (2016) a espécie *N. nodosus*, conhecida popularmente como vieira pata-de-leão e coquille, tem distribuição natural desde o litoral sul do México, no Oceano Atlântico, ocorrendo ao longo da costa até o Estado de Santa Catarina, onde as condições climatológicas mudam de tropicais e para subtropicais, o que a caracteriza como uma espécie tipicamente tropical. Segundo Rios (1994), essa espécie é a maior dentre os pectinídeos de ocorrência no litoral brasileiro.

Trata-se de um bivalve epibentônico, ou seja, vive sobre o fundo do mar. São encontrados entre o limite dos substratos rochoso e arenoso, geralmente em ambientes sombreados, fixados através do bisso a substratos duros como rochas e corais (FONSECA, 2004). Podem também ser encontrados livres sobre substrato arenoso com a valva direita voltada para baixo, em profundidades entre 2 e 30 metros, e dependendo das condições ambientais, se tornam sexualmente maduros entre 6 e 7 meses de idade, e a partir deste momento, os gametas são liberados no mar, onde ocorre a fecundação.

Os gametas femininos são liberados na forma de ovócitos. Após a fecundação e antes da fusão dos núcleos masculino e feminino, ocorre a redução cromossômica com a formação de dois corpúsculos polares (segunda divisão meiótica do oócito). Após a fusão dos núcleos masculino e feminino tem início a fase embrionária, com as divisões celulares do zigoto e sua evolução para os estágios de blástula e gástrula (FONSECA, 2004).

A fase larval se inicia aproximadamente de 12 a 19 horas após a fecundação, sob temperatura de 24 a 27 °C, com a formação da larva trocófora, que através de batimentos ciliares possui capacidade natatória, após 22 a 26 horas se desenvolve para larva “véliger D”, que é portadora de uma coroa ciliada denominada velum, originada a partir da coroa de cílios da larva trocófora, e a partir deste momento a larva passa a se alimentar de alimento exógeno (microalgas). Após 12 dias, aproximadamente, a larva desenvolve uma mancha ocular e o pé, passando a ser chamada de pedivéliger, etapa onde se inicia a metamorfose e mudança de hábito trocando a coluna d'água e passando a buscar um substrato no fundo para fixação, concluindo sua metamorfose em formas jovens, seguido da formação de indivíduos adultos (FONSECA, 2004).

2.2 Mecanismo de Toxicidade dos Compostos Nitrogenados

Segundo Lucas e Southgate (2012), a disponibilidade de água de alta qualidade é fundamental para a garantia de uma produção eficiente na aquicultura. Os primeiros estudos relacionados aos parâmetros ambientais e princípios da qualidade da água já sugerem a compreensão desses parâmetros como fundamento básico para a aplicação e sucesso produtivo de organismos aquáticos (ARANA, 1997), onde os nitrogenados desempenham papel de destaque e carencem de informação para *N. nodosus*.

No ambiente aquático, os compostos nitrogenados são representados por pelo menos três principais compostos: a amônia, o nitrito e o nitrato. Segundo Campbell (1973), a amônia é um composto nitrogenado resultante do catabolismo das proteínas e representa o principal produto de excreção dos organismos aquáticos. A amônia é um gás solúvel em água e pode se apresentar nas formas NH_3 (amônia não ionizada) e NH_4^+ (amônia ionizada). A forma NH_3 de natureza lipofílica pode ser considerada mais tóxica para os organismos aquáticos devido à facilidade com que esta molécula se difunde para dentro das membranas branquiais, enquanto a forma NH_4^+ de natureza lipofóbica, além de repelir a gordura (KORMANIK e CAMERON, 1981) se apresenta como moléculas maiores, hidratadas e carregadas, que não podem atravessar rapidamente as membranas (RANDALL e TSUI, 2002). Deste modo, a soma das concentrações de NH_3 e NH_4^+ representa Amônia Total. Em água, a reação de equilíbrio da amônia é representada por $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} = \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$, este equilíbrio varia de acordo com o pH, temperatura e salinidade (BOWER E BIDWELL, 1978).

Após sua excreção, a amônia pode ser oxidada por bactérias, transformando-as em nitrito (NO_2^-): $\text{NH}_4 + 1 \frac{1}{2} \text{O}_2 = \text{NO}_2^- + 2\text{H} + \text{H}_2\text{O}$. O nitrito é oxidado também por ação de outro grupo de bactérias, sendo transformado em nitrato (NO_3^-), como segue: $\text{NO}_2^- + \frac{1}{2} \text{O}_2 = \text{NO}_3^-$. Estes processos ocorrem em condições aeróbicas e são conhecidos como nitrificação (ARANA, 1997). Atualmente, se sabe que as bactérias que realizam o processo de nitrificação são oriundas de diversos táxons, e devido a isso elas foram classificadas de forma generalizada como aquelas que realizam oxidação da amônia para o nitrito, denominadas por Bactérias Oxidadoras de Amônia e as que realizam a oxidação de nitrito para o nitrato denominadas por Bactérias Oxidadoras de Nitrito (EBELING et al., 2006).

Em sistemas de cultivo, a amônia pode alcançar níveis sub-letais ou letais, causando efeitos a nível celular nos tecidos, na excreção, na osmorregulação, no transporte de oxigênio, na redução da imunidade e no crescimento (COLT e ARMSTRONG, 1981).

Como composto intermediário do processo de nitrificação, o nitrito (NO_2^-) que é a

forma ionizada do ácido nitroso (HNO_2), também apresenta efeitos de toxidez em organismos aquáticos. Em peixes, por exemplo, este composto é capaz de oxidar a hemoglobina do sangue, transformando-a em meta-hemoglobina que não é capaz de transportar oxigênio (SPOTTE, 1979).

Já o nitrato (NO_3^-) que é o produto final do processo de nitrificação não apresenta grande toxicidade, a menos que atinja altos níveis (ARANA, 1997). Segundo Colt e Armstrong (1981), a Concentração Letal Mediana de nitrato com tempo de exposição de 96 horas, para a maioria dos organismos aquáticos fica entre 1.000 e 3.000 mg/L. Para amônia e nitrito a Concentração Letal Mediana para algumas espécies pode ser alcançada respectivamente, com 0,29 mg/L e 19 mg/L em 48 horas de exposição, demonstrando a pouca toxicidade do nitrato (ARANA, 1997).

2.3 Efeitos dos Nitrogenados em Organismos Aquáticos

Até o momento, não existe nenhum estudo que avalie os efeitos dos compostos nitrogenados, amônia, nitrito e nitrato no desempenho e/ou sobrevivência de *N. nodosus*. Contudo, na literatura é possível observar trabalhos com outras espécies de moluscos bivalves que também apresentam importância econômica.

Dybas (2014) testou a resistência de larvas de ostras *Crassostrea gigas* a compostos nitrogenados, e foi verificado, respectivamente, para amônia total (NH_4^+), amônia não-ionizada (NH_3) e para nitrito (NO_2^-) as Concentrações Letais Medianas (CL_{50}) de 2,66 mg/L, 0,10 mg/L e 123,47 mg/L em 96 hora, para o nitrato (NO_3^-) o autor afirma que não foi possível verificar a (CL_{50}) com as concentrações utilizadas 500, 1000 e 1500 mg/L. O autor considerou altas as CL_{50} para os nitrogenados e atribui as mortalidades recorrentes em larviculturas de *C. gigas* a outros fatores físico-químicos como temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, entre outros, ou fatores biológicos como bactérias e protozoários. Esses resultados corroboram com Epifanio e Srna (1975), que verificaram alta tolerância de juvenis e adultos dos bivalves *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758) e *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) em relação aos compostos nitrogenados.

Já Widman *et al* (2007), determinou a toxicidade aguda de amônia não-iônica, nitrito e nitrato em vieiras da espécie *Argopecten irradians irradians* (Lamarck, 1819). Neste estudo, os indivíduos com tamanho entre 7,2 e 26,4 mm de comprimento de concha foram expostos por um período de 72h a diferentes concentrações dos nitrogenados. Foi verificado que concentrações de amônia não-ionizada acima de 1,0 mg/L de N- NH_3 resultaram em 100% de mortalidade dos indivíduos em 72h, sendo a CL_{50} de 72h 0,43 mg/L para este composto. Para

nitrito, em concentrações a partir de 800 mg/L foi observado 100% de mortalidade, sendo a CL_{50} para nitrito estimada em 345 mg/L . Para nitrato, concentrações de 5000 mg N / L causaram mortalidade de 100%, e a CL_{50} de 72 h foi de 4.453 mg/L, sendo, entre os compostos nitrogenados, o nitrato o menos tóxico e a amônia não-ionizada a mais letal.

Em ambiente natural existe pouca probabilidade de ocorrerem CL_{50} de compostos nitrogenados para vieiras e outras espécies de moluscos bivalves. Porém, a probabilidade aumenta significativamente em sistemas intensivos de produção e em situações de transporte de sementes, que é muito comum em início de ciclo de produção por parte dos pectinicultores.

Devido a ausência de informações sobre o impacto de nitrogenados em sementes e a possibilidade de produções intensivas em ambientes fechados com a espécie *N. nodosus*, esse trabalho tem por objetivo determinar as concentrações letais medianas para amônia, nitrito e nitrato durante exposição de 96h, avaliar mudanças comportamentais durante o período de exposição e avaliar a presença de alterações histológicas branquiais em sementes de *N. nodosus* com noventa dias de vida.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do Experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Larvicultura de moluscos do Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía da Ilha Grande (IED-BIG), localizado na Vila da Petrobras, Rua EAP, número 01, CEP 23.915-010, - município de Angra dos Reis – RJ. Coordenadas 23°00'24.55''S – 44°14'06.10'' O (Figura 1).

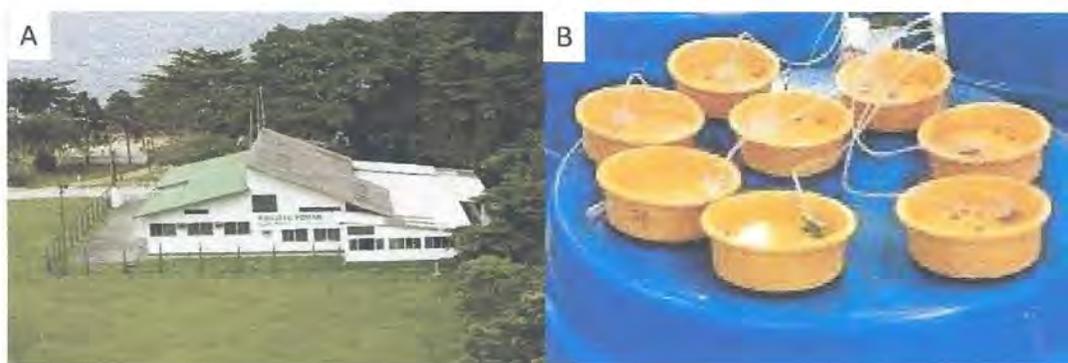


Figura 1. Laboratório do Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía de Ilha Grande (vista aérea) (A) e disposição dos tanques experimentais (B).

3.2 Sementes de Vieiras

Foram disponibilizadas 1500 sementes de *N. nodosus* com tamanho e peso médio de $16,15 \pm 1,98$ mm e $0,84 \pm 0,25$ g, respectivamente, produzidas e fornecidas pelo Laboratório de Larvicultura de moluscos do IED-BIG para realização de pré-testes e atender o delineamento experimental.

As sementes foram transferidas da fazenda marinha localizada na Praia do Clube Náutico, Enseada de Jacuecanga, Baía da Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ, para o laboratório.

Para a aclimação às condições do laboratório, inicialmente as sementes foram acondicionadas em caixas de 500 litros em sistema semiestático, com uma densidade de 500 indivíduos por caixa (~ 1 animal/L), com aeração constante por difusão de ar (soprador), mantidas em temperatura média de 24°C controlada por condicionador de ar, salinidade de 35 mg/L, pH 8 e fotoperíodo mantido em 12C: 12E. A alimentação se deu uma vez ao dia após troca parcial de 30% da água, sendo fornecidos 3 litros de solução da microalga *Chaetoceros sp.* com concentração de 50.000 cel/ml/caixa.

Após 48 horas de aclimação, as sementes foram transferidas para o bioensaio onde

foram submetidas aos pré-testes e experimentos.

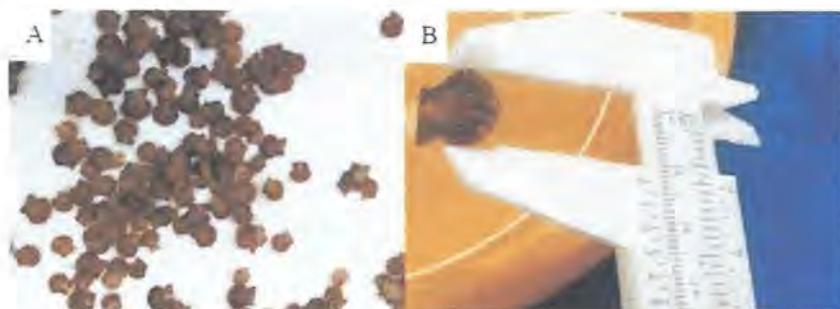


Figura 2. Sementes de vieiras *N. nodosus* (A) e biometria de comprimento de concha, de acordo com Soemodihardjo, 1974, corresponde a medida do eixo anteroposterior, ou seja, extremidades das valvas, paralelas as aurículas (B).

3.3 Pré-testes para Determinação das Concentrações de Nitrogenados

Para a definição das concentrações experimentais dos compostos nitrogenados, foram realizados pré-testes com as concentrações de 3, 6, 12, 20, 35 e 45 mg/L de amônia total; 25, 50, 100, 500, 600, 750, 900 e 1000 mg/L de nitrito e 100, 500, 1000, 6000, 7500, 9000 e 10000 mg/L de nitrato.

Para obter essas concentrações, foram utilizadas soluções estoques previamente preparadas a partir do Cloreto de Amônia (NH_4Cl , P.A.), Nitrito de Sódio (NaNO_2 , PA) e Nitrato de Sódio (NaNO_3 , PA). Quando necessário, o pH e a salinidade da água após a inclusão dos compostos nitrogenados foram ajustados com o uso de bicarbonato de sódio e água destilada, respectivamente.

As concentrações de nitrogenados utilizadas nos pré-testes se basearam em valores encontrados na bibliografia para outras espécies de bivalves (EPIFANIO e SRNA, 1975; REDDY e MENON, 1979; WIDMAN *et al.*, 2007) e foram reguladas conforme a resistência demonstrada por *N. nodosus*.

Para confirmação das concentrações dos nitrogenados foram utilizados colorímetro digital Hanna Checker HI733 e HI708 para a amônia e nitrito, respectivamente, e Sonda Hanna HI72911 para o Nitrato. Em concentrações mais elevadas, foi necessário realizar diluições seriais para obter a leitura das concentrações dentro da faixa de trabalho de cada equipamento.

Os pré-testes foram realizados em béqueres com volume de água de 500 ml com aeração constante e densidade de cinco indivíduos de *N. nodosus* por recipiente com tamanho médio de 16mm de comprimento de concha, foram realizadas três repetições para cada

concentração testada. A temperatura da água foi mantida entre 21,5 e 22°C; a salinidade entre 30 e 30,5 mg/L, de acordo com os limites descritos por Rupp e Parsons (2016); o oxigênio dissolvido entre 5,88 e 6 mg/L; e o pH entre 7,98 e 8,07.

3.4 Toxicidade Aguda dos Compostos Nitrogenados em Sementes de *N. nodosus*

A toxicidade aguda da exposição durante 96h à amônia em formas jovens de *N. nodosus* foi investigada em delineamento inteiramente casualizado, utilizando cinco concentrações de amônia total, 12, 15, 18, 25, 30 mg/L e o controle (0 mg/L) com quatro repetições para cada tratamento. Para as concentrações de amônia, foi preparada uma solução estoque de 10.000 mg/L de NH₄CL e ajustadas para cada concentração experimental.

Para o delineamento foram usados 24 tanques preenchidos com 1L de água marinha esterelizada, com densidade de 10 indivíduos por tanque em sistema estático com aeração constante via difusão. Previamente à estocagem, os animais foram submetidos a uma biometria, mensurando o comprimento de concha. Durante os testes, os animais não foram alimentados.

Durante o experimento, foram monitorados os parâmetros de qualidade de água. Salinidade foi mantida em $30,33 \pm 0,42$ mg/L, mensurada com um refratômetro de mão. O pH, temperatura e oxigênio dissolvido foram mensurados com o uso de uma sonda multiparâmetro HANNA HI98194. Os nitrogenados foram mensurados diariamente para confirmação das concentrações inicialmente propostas. Todos os parâmetros foram mensurados duas vezes por dia as 9:00 e 16:00h.

As sementes mortas durante os testes foram imediatamente fixadas em fórmol tamponado diluído em água marinha (20%), identificadas por tratamento para análise histológica. Para isso, o material coletado foi enviado para o Laboratório de Imunologia e Patologia de Organismos Aquáticos (LIPOA) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG/RS), onde foi submetido ao processamento histológico clássico como descrito por Heluy et al., 2020. Foram analisadas a presença de danos nas brânquias, hipertrofia celular e presença de infiltrados hemocíticos (Figura 3).

Ainda durante as 96h de exposição foram observadas mudanças comportamentais relacionadas a respostas à estímulos, como padrão de abertura e fechamento das valvas.



Figura 3. Semente de vicira sem uma das valvas com tamanho de 16mm de comprimento de concha, fixada para análise histológica, as setas indicam a posição das brânquias utilizadas para preparo das lâminas.

3.5 Análises Estatísticas

Para a análise de toxicidade e determinação da (CL₅₀) de amônia total durante as 96h de exposição foi utilizado o Teste TSK (Trimmed Spearman-Kärber) com a eliminação do limite inferior (controle – 0 mortalidade) da base e cálculo (HAMILTON et al., 1977).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Toxicidade Aguda por Amônia Total em Sementes de *N. nodosus*

Ao final da exposição durante 96h, a taxa de mortalidade observada para o grupo controle (0 mg/L) e para as concentrações de 12, 15, 18, 25 e 30 mg/L de amônia total foram respectivamente de 7,5, 72,5, 77,5, 92,5, 100 e 100% (Tabela1).

Na concentração de 12 mg/L de amônia total somente foi observado mortalidade após 72h de experimento, enquanto que nas concentrações de 15, 18, 25 e 30 mg/L de amônia total foi observado mortalidade já nas primeiras 24h de exposição, no grupo controle só foi observado mortalidade após 72h de experimento.

Os organismos sobreviventes de todos os tratamentos foram enviados para uma fazenda marinha e não apresentaram mortalidade nos 30 dias seguintes mesmo após estresse de transporte, manejo e exposição aos nitrogenados.

Na Figura 4 destaca-se a curva de mortalidade a partir da conversão logarítmica das concentrações e aplicação do teste TSK. De acordo com os resultados, a CL₅₀ de amônia total em 96h para sementes de viciras foi estimada em 8,614 mg/L.

Tabela 1. Mortalidade total acumulada, ao longo do tempo, de sementes expostas a diferentes concentrações de amônia total.

NAT (mg/L)	24h	%	48h	%	72h	%	96h	%
0	0	0	0	0	1	2,5	3	7,5
12	0	0	0	0	9	22,5	29	72,5
15	2	5	7	17,5	16	40	31	77,5
18	2	5	29	72,5	34	85	37	92,5
25	12	30	27	67,5	40	100	40	100
30	9	22,5	25	62,5	39	97,5	40	100

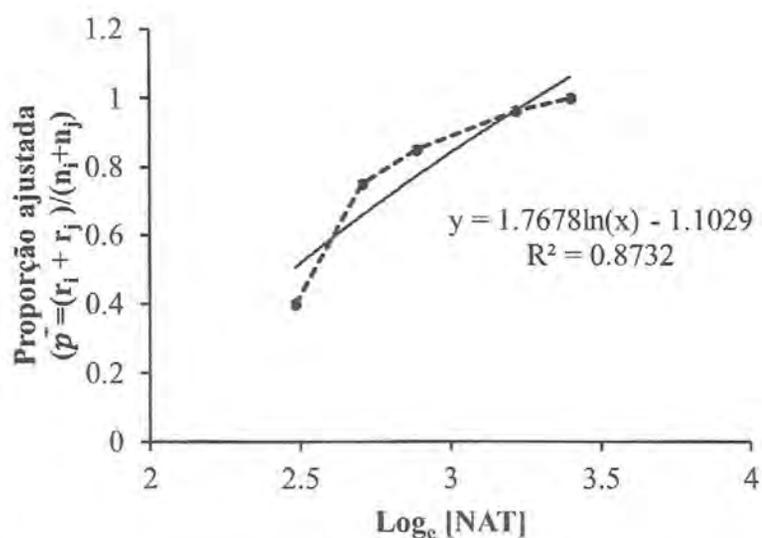


Figura 4. Gráfico e equação gerados a partir da conversão logarítmica das concentrações de amônia total em função da proporção ajustada da mortalidade dos animais segundo o teste TSK.

4.2 Toxicidade Aguda por Nitrito e Nitrato em Sementes de *N. nodosus*

Durante os pré-testes realizados não foi possível obter a CL_{50} para nitrito e nitrato nas sementes de *N. nodosus* durante 96h de exposição até as concentrações máximas de 1000 e 10000 mg/L, respectivamente. Níveis ainda mais elevados nas condições experimentais propostas não foram possíveis de serem avaliados, já que os equipamentos utilizados não conseguem realizar leituras acima das doses máximas testadas.

4.3 Parâmetros de Qualidade de Água

A temperatura média da água durante o experimento foi de $22,4^{\circ}\text{C} \pm 0,68$; a salinidade média foi de $30,33 \pm 0,42$ mg/L; o oxigênio dissolvido foi de $5,88 \pm 0,27$ mg/L; e o pH médio foi de $8,02 \pm 0,08$.

4.4 Análises Histológicas

As análises realizadas nas lâminas contendo tecido branquial das vieiras demonstraram a existência de diferenças qualitativas entre os tratamentos e o controle (Figura 5)

No tratamento controle e no tratamento com 12 mg/L de amônia total não foram encontradas lesões. No tratamento com 15 mg/L de amônia total foi encontrado foco de

necrose e infiltrado hemocítico no tecido branquial em um dos animais analisados (n=3) (Figura 5, A).

Nos tratamentos com 18 mg/L e 25 mg/L de amônia total foram observados hiperplasia, foco de necrose e infiltrado hemocítico no tecido branquial (Figura 6, B e C), sendo o infiltrado hemocítico mais intenso no tratamento com 25 mg/L de amônia total em relação aos tratamentos com menores concentrações.

No tratamento com 30 mg/L de amônia total foram encontrados hiperplasia, foco de necrose e infiltrado hemocítico no tecido branquial, e uma das amostras apresentou foco de necrose intensa (Figura 6, D).

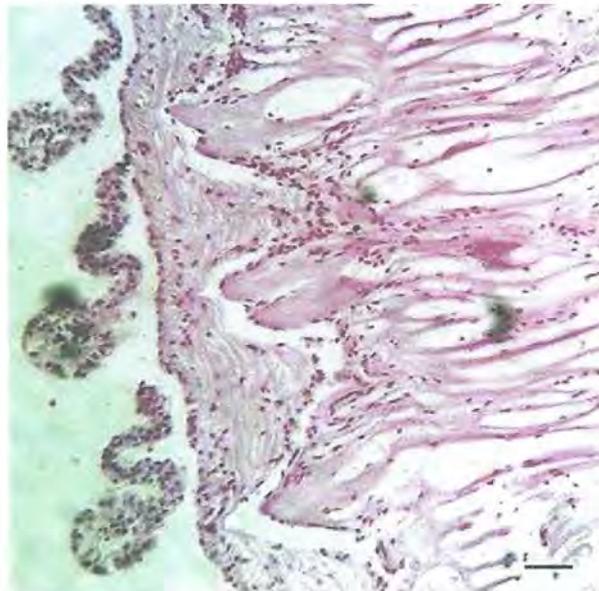


Figura 5. Análise histológica do tecido branquial de sementes de vieiras *Nodpecten nodosus* do tratamento controle, sem alterações. Coloração HE. 40x. Manchas escuras na lâmina são artefatos de fixação.

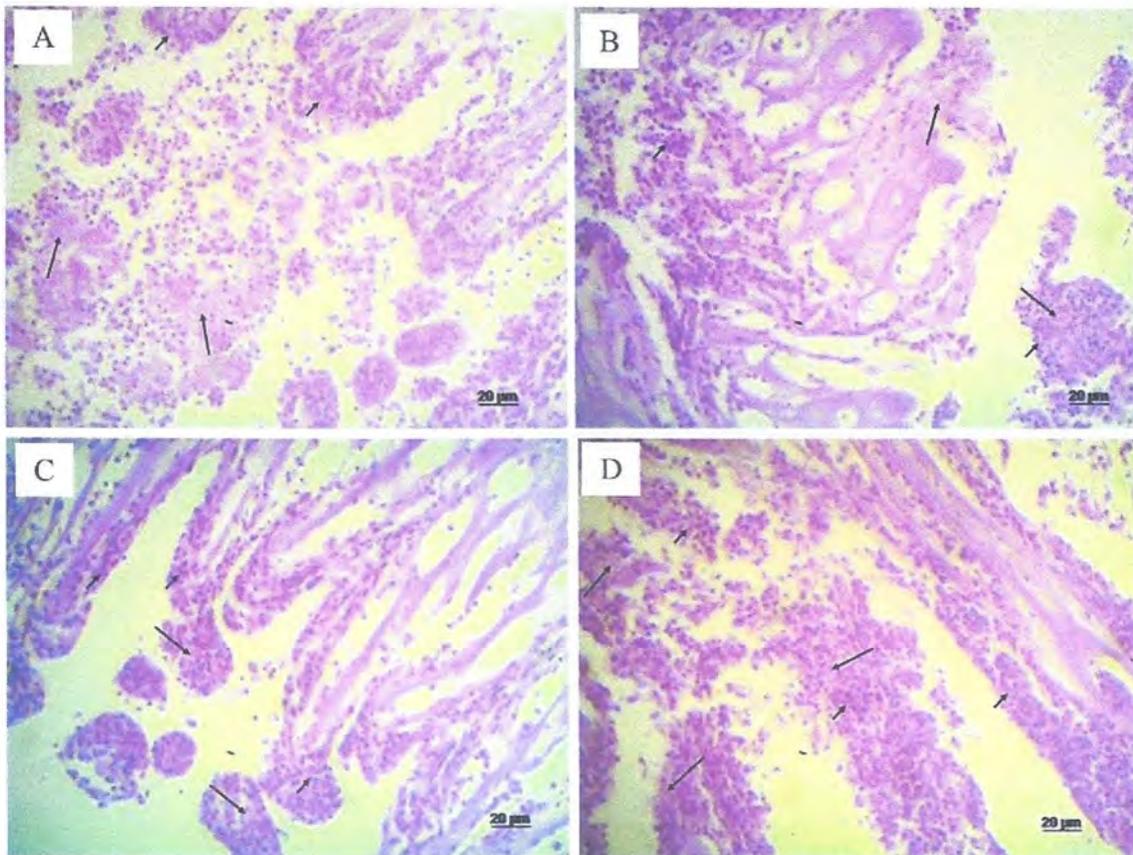


Figura 6. Análise histológica branquial (HE, 40x) de sementes de vieiras *N. nodosus*, expostas a níveis crescentes de amônia. Em sentido horário, A: 15 mg/L, B: 18 mg/L, C: 25 mg/L, D: 30mg/L. Em todas as imagens, setas longas indicam necroses e setas curtas infiltrado hemocítico. Em C e D, o aumento de tecido observado caracteriza hiperplasia.

Apesar da importância em avaliar a concentração de amônia em cultivos, muitas vezes as informações da toxidez desse composto para organismos marinhos ainda são negligenciadas. Isso ocorre porque, apesar da toxicidade variar proporcionalmente em relação à elevação da temperatura e do pH, o efeito da salinidade é inverso: quanto maior a salinidade, menor é a toxidez da amônia, nitrito e nitrato (Bower e Bidwell, 1978). Isso quer dizer que, em condições de mesmo pH e temperatura, organismos dulcícolas são mais propensos a concentrações tóxicas de nitrogenados do que organismos marinhos, pela presença dos sais dissolvidos, em especial o íon cloreto.

A partir dos dados de amônia total=NAT, pode-se estimar os valores da amônia tóxica,

já que não há uma maneira de se realizar a determinação direta desse composto na água. O trabalho de Bower e Bidwell (1978) fornece diversas tabelas estimando a concentração da amônia tóxica em água a partir de diferentes temperaturas, pH e faixas de salinidade. Com base nessas informações, pode-se estimar as concentrações de amônia tóxica a partir das concentrações de amônia total usadas no presente estudo, dada as condições de temperatura ($22,4^{\circ}\text{C} \pm 0,68$), pH ($8,01 \pm 0,08$) e salinidade ($30,3 \text{ mg/L} \pm 0,41$), como seguem: $12 \text{ mg/L NAT} = 0,414 \text{ mg/L N-NH}_3$; $15 \text{ mg/L NAT} = 0,5175 \text{ mg/L N-NH}_3$; $18 \text{ mg/L NAT} = 0,621 \text{ N-NH}_3$; $25 \text{ mg/L NAT} = 0,8625 \text{ N-NH}_3$; $30 \text{ mg/L NAT} = 1,035 \text{ mg/L N-NH}_3$. A CL_{50} durante 96h de exposição foi calculada em $8,614 \text{ mg/L}$ de NAT. Convertendo esse valor para concentração de N-NH_3 a concentração obtida é de $0,2972 \text{ mg/L}$.

A CL_{50} de NAT para *N. nodosus* verificada no presente estudo foi superior aos limites de tolerância observados por Epifanio e Srna (1975) em juvenis e adultos de *Mercenaria mercenaria* e *Crassostrea virginica* em exposição de 96h, na faixa de 3,3 a 6 mg/L de NAT respectivamente, porém apresentou menor valor ao verificado por Reddy e Menon (1979) com juvenis de *Perna viridis* (Linnaeus, 1758) que verificou a CL_{50} em 96 horas de NAT em 13 mg/L , e apresentou também menor CL_{50} de N-NH_3 ao observado por (WIDMAN *et al.*, 2007) para a vieira *Argopecten irradians irradians* que verificou CL_{50} de $0,43 \text{ mg/L}$ de N-NH_3 em exposição de 72h. Apesar de apresentar menor tolerância a amônia quando comparado com determinadas espécies de bivalves os valores observados podem ser considerados altos para *N. nodosus*.

Durante os testes, foi possível observar ainda alterações de comportamento nas sementes durante a exposição. Em animais expostos a maiores níveis de NAT foi observada uma incapacidade de se fixar na parede dos recipientes utilizados (polietileno) além de uma rápida alteração na resposta a estímulos externo, que pode ser observado pela velocidade de fechamento das valvas. Em animais expostos as maiores concentrações, a resposta de fechamento era lenta ou mesmo ausente. Em animais expostos às menores concentrações de NAT, este padrão de comportamento também foi observado, porém após um tempo maior de exposição em relação às concentrações mais altas. Essas observações comportamentais são inéditas na literatura sobre impactos da toxicidade de nitrogenados em bivalves.

No presente estudo os pré-testes realizados com nitrito e nitrato demonstraram uma alta resistência da vieira *N. nodosus* a esses nitrogenados, mesmo quando desafiados a concentrações muito elevadas. As sementes de *N. nodosus* não apresentaram mortalidade e mudanças de comportamento nos pré-testes realizados com exposição de 96h ao nitrito na

concentração de 1.000 mg /L e ao nitrato nas mesmas 96h de exposição na concentração de 10.000 mg /L. Esses resultados diferem dos verificados por Epifanio and Srna (1975) que em testes de 96 horas para toxicidade aguda nos bivalves *Mercenaria mercenaria* e *Crassostrea virginica*, determinou tolerância a compostos nitrogenados, na faixa, 756 a 532 mg/L de NO₂ para juvenis e adultos de ambas espécies, e 2.600 a 3.800 mg/L de NO₃ para *C. virginica* e diferem também dos resultados encontrados por Widman *et al* (2007), que determinou a toxicidade aguda de nitrito e nitrato na vieira *Argopecten irradians irradians* em exposição de 72h. Para nitrito, concentrações de 800 mg/L causaram 100% de mortalidade, a CL₅₀ para nitrito foi calculada em 345 mg/L. Para nitrato, concentrações de 5000 mg/L causaram mortalidade de 100%, e a CL₅₀ de 72 h calculada foi de 4453 mg N / L.

Não existem muitos outros estudos até o momento que demonstrem efeitos diretos dos nitrogenados em bivalves. Por serem animais de baixa ou nenhuma atividade locomotória (exceto vieiras), e por serem capazes de apresentar metabolismo anaeróbico por longos períodos de tempo através do fechamento da valva, que impedem o acesso do animal ao ambiente exterior como uma forma de proteção contra predadores e variação de parâmetros ambientais, como salinidade, desidratação e poluição (BOYD, 2012), essas características tornam os bivalves animais naturalmente resistentes aos efeitos tóxicos dos nitrogenados.

Dybas (2014) considerou como um dos fatores à alta tolerância aos compostos nitrogenados a capacidade dos moluscos bivalves em fechar as valvas e se isolar do meio. No presente estudo não foi verificado um fechamento total das valvas durante o período de exposição aos compostos nitrogenados o que sugere que para *N. nodosus* a alta tolerância observada está relacionada a uma resistência fisiológica.

Sabe-se que em organismos aquáticos, os compostos nitrogenados agem diretamente sobre as brânquias, principal órgão de excreção e absorção de nitrogenados, em especial a amônia, com ambas as ações dependendo do gradiente de concentração desse composto na água, além de condições abióticas, especialmente o pH da água (TOMASSO, 1994).

Dessa forma, em um ambiente com elevado nível de amônia, a excreção desse produto pelo corpo do organismo aquático é reduzida, causando o acúmulo na hemolinfa (invertebrados) e em tecidos, que por sua vez causa elevação do pH (acidose metabólica), redução de atividade enzimática celular e alteração da permeabilidade de membrana (BOYD, 2012). Essas ações, como observadas no presente estudo, são intensificadas em tecidos e órgãos que estão em contato direto com água, como as brânquias, resultando em danos que podem ser observados histologicamente. A curto prazo, os animais apresentam respostas

comportamentais (redução de atividade, abertura e fechamento de valvas, e a longo prazo ocorrem as mortalidades, causadas principalmente por impactos sobre a respiração.

Assim como no presente estudo, Cong et al. (2017) também observaram alterações histopatológicas nas brânquias da ameijoia japonesa *Ruditapes philippinarum* (A. Adams & Reeve, 1850) expostas a duas concentrações de amônia (0,5 e 1,1 mg/L). As alterações observadas foram principalmente na musculatura lisa que sustenta os filamentos branquiais, tornando a brânquia incapaz de realizar trocas gasosas e captação de alimento no tratamento com o nível mais elevado da amônia.

Por outro lado, não foram observadas mortalidades nas sementes expostas a concentrações consideradas elevadas para os padrões aquícolas de nitrito e nitrato. O principal efeito destes compostos nos organismos aquáticos é na atividade respiratória, desde que ambas se ligam a hemocianina dos invertebrados, causando a oxidação da molécula de cobre que é responsável por carrear oxigênio pela hemolinfa até os tecidos, perdendo sua funcionalidade (BOYD, 2012).

Sabe-se que a principal forma do íon nitrito entrar no corpo de organismos aquáticos é via transportadores brânquiais, normalmente o mesmo usado para o íon cloreto, já que ambos são ânions monovalentes e apresentam aproximadamente o mesmo peso molecular (TOMASSO, 1994). Além disso, o pH tem relação direta em sua toxidez, onde quanto mais ácido o pH, mais tóxico é o efeito do nitrito para os organismos aquáticos. Dessa maneira, organismos aquáticos marinhos e estuarinos naturalmente apresentam maior resistência a toxicidade do nitrito, e, ainda de acordo com o autor, observa-se que há uma resistência espécie-específica que permite que os animais consigam discriminar a absorção do nitrito em relação ao cloreto. Essas mesmas tendências são observadas para o efeito do nitrato em invertebrados aquáticos (CAMARGO et al. 2005).

Já foi demonstrado que algumas espécies de peixes são capazes de reverter a metahemoglobinemia através da atividade da metahemoglobina redutase (BOYD, 2012), e recomenda-se futuros estudos para verificar a presença de enzimas com atividades similares em *N. nodosus*.

5 CONCLUSÃO

Os testes realizados demonstraram que as sementes de vieiras *N. nodosus*, nas condições avaliadas, são resistentes a elevadas concentrações de amônia total, com CL_{50} em 96h estimada em 8,614 mg/L e toxicidade para amônia não-iônica bem abaixo de 1,0 mg/L, na exposição durante 96h, com CL_{50} estimada em 0,2972 mg/L.

Ainda, a resistência a toxicidade contra nitrito e nitrato foi evidente, dado que não houve observação de mortalidades mesmo quando expostas a concentrações extremamente elevadas para padrões aquícolas, 1000 e 10000 mg/L, respectivamente, dentro da faixa de leitura dos equipamentos que apresentam maior sensibilidade de mensuração presentes no mercado nacional.

Por esses resultados, a espécie pode ser recomendada para ser usada em sistemas intensivos ou superintensivos de produção de sementes fechados durante as etapas de produção em laboratório.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELIN, P. Agricultura de vicinas como atividade de subsistência em comunidades de pescadores costeiros de Angra dos Reis, Brasil: lições e oportunidades. In: **XIX Workshop Internacional de Pectinídeos**, Florianópolis, Brasil, Livro de resumos, p. 33. 2013. (Resumo não publicado).
- ARANA, L.V. Princípios Químicos de Qualidade da Água em Aqüicultura: Uma Revisão para Peixes e Camarões. **Editora da Universidade Federal de Santa Maria**, Santa Maria, RS. 1997.
- AVELAR, J. O cultivo de vieiras no Estado do Rio de Janeiro. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 62, p. 41–47, nov. /dez. 2000.
- BOWER, C., BIDWELL, J. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH and salinity. **J. Fish. Res. Board Can.**, 35(7), P. 1012-16. 1978. Doi: 10.1139/f78-165
- BOYD, C. 2012. Water quality. In **Aquaculture: farming aquatic animals and plants** (ed. John S. Lucas e Paul C. Southgate). Willey-Blackwell, 2^a ed.. 2012. pg. 52–82. Doi:10.1002/9781118687932
- CAMARGO, J.A.; ALONSO, A.; SALAMANCA, A. Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. **Chemosphere**, 58, 1255-1267. 2005. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2004.10.044
- CAMPBELL, J.W. Nitrogen excretion. In: **Comparative Animal Physiology**. (ed. C.L. Prosser). Saunders, Philadelphia. 1973. pg 279–316.
- COLT, J., ARMSTRONG, D. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. In: **Proceedings of the Bioengineering Symposium for fish Culture** (ed. L. Allen and E. Kinney). Fish Section of the American Fisheries Society, Bethesda, Mariland, USA, 1981. pg 34-47.
- CONG, M.; WU, H.; YANG, H.; ZHAO, J.; LV, J. Gill damage and neurotoxicity of ammonia nitrogen on the clam *Ruditapes philippinarum*. **Ecotoxicology**, 26, 459-469. 2017. Doi: 10.1007/s10646-017-1777-4.
- DYBAS, P, R. **Sistema de recirculação de água para Larvicultura de ostras *Crassostrea gigas***. 2014. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina 2014.
- EBELING, J.M.; TIMMONS, M.B.; BISOGNI, J.J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in

- aquaculture systems. **Aquaculture**, 257, 346-358. 2006. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.03.019
- EPIFANIO CE, SRNA RF. Toxicity of ammonia, nitrite ion, nitrate ion, and orthophosphate to *Mercenaria mercenaria* and *Crassostrea virginica*. **Marine Biology**, 33, 241–246. 1975.
- FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020 (SOFLA): Sustainability in action. Rome. **Food and Agriculture Organization**, 2020. Doi: 10.4060/ca9229en.
- FONSECA, M.L. **Anatomia funcional de *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia: Pectinidae)**. 2004. Tese (doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004.
- HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Sperm-Karber: Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science Technology**, v. 11, p. 714 - 719, 1977.
- HELUY, G.M.; RAMOS, L.R.V.; PEDROSA, V.F.; SARTURI, C.; FIGUEIREDO, P.G.P.; VIDAL, L. FRANÇA, I.F.; PEREIRA, M.M. 2020. Oregano (*Origanum vulgare*) essential oil as an additive in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings reared in salinized water. **Aquaculture Research**, 51(1), 1-7. 2020. Doi: 10.1111/are.14658.
- KORMANIK, G., CAMERON, J. Ammonia excretion in animal that breathe water: a review. **Mar. Biol. Lett.**, 2. P. 11-23. 1981.
- LUCAS J. S. e SOUTHGATE. P. C. Aquaculture Farming aquatic animals and plants. **Wiley-Blackwell**, 2a edição. 629 p. 2012.
- MANZONI, G. C.; RUPP, G. S. Estudo da biologia reprodutiva e viabilidade de cultivo de *Lyropecten nodosus* (Linnaeus, 1758) (Mollusca: Pectinidae) na Ilha do Arvoredo – SC. Florianópolis: **Universidade Federal de Santa Catarina**, 35 pp. (Relatório Final, Projeto). 1993.
- QUEIROZ, C. R. Técnica de produção de coquille, *Nodipecten nodosus*, (Linnaeus, 1758) no laboratório do terminal de minério da empresa **MBR** - Mangaratiba – RJ, pp.12. 2005.(Relatório não publicado).
- RANDALL, D.J.; TSUI, T.K.N.. Ammonia toxicity in fish. **Marine Pollution Bulletin**, 45: 17-23. 2002. Doi: 10.1016/S0025-326x(02)00227-8
- REDDY N. A., MENON N. R. Effects of Ammonia and Ammonium on Tolerance and Byssogenesis in *Perna viridis*. **Marine ecology**, 1, 315-321. 1979.
- RIOS, E. C. Seashells of Brazil. Rio Grande, **Fundação Cidade do Rio Grande, Instituto Aqua R.J., Museu Oceanográfico Prof. E. C. Rios**, Universidade do Rio Grande, 328p.

1994.

RIOS, E. Compedium of brazilian sea shells. Rio Grande: **Evangraf LTDA.**, 676 p. 2009.

RUPP, G.S. **Obtenção de reprodutores, indução a desova, cultivo larval e pós larval de *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758), (Mollusca-Bivalvia).** 1996. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina. 1996.

RUPP, G.S. Desenvolvimento de tecnologia de produção de sementes de *Nodipecten nodosus* (Linnaeus,1758) (BIVALVIA:PECTINIDADAE). Programa **RHAE/PIBIQ/UF SC. 71p. (Relatório Final CNPq).** 1997.

RUPP, G. S. Cultivo da vieira *Nodipecten nodosus* em Santa Catarina: influência da profundidade, densidade e frequência de limpeza. **Boletim Técnico 135. Epagri.** Florianópolis, Brasil. 83 p. 2007.

RUPP, G.S.; DE BEM, M.M POLI, C.R. Resultados de assentamento e produção experimentais de sementes de *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) realizados no LCMM em 1996. Resumo. **Aquiculture Brasil – 2000 / Simpósio Brasileiro de aquicultura,** Florianópolis, S. Novembro de 2000.

RUPP, G.S.; PARSONS, G.J. Aquaculture of the scallop *Nodipecten nodosus* in Brazil. In: *Scallops: Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries* (editores Sandra E. Shumway & G. Jay Parsons). 3a Edição, **Elsevier Science**, p. 999 – 1017. 2016. Doi.org/10.1016/B978-0-444-62710-0.00024-9

SOEMODIHARDJO, S. Aspects of the biology of *Chlamys opercularis* (L) (Bivalvia) with comparative notes on four allied species. 1974. Tese (Doutorado) - University of Liverpool, United Kingdom. 1974.

SPOTTE, S. Fish and invertebrate culture. **John Wiley and Sons eds.** New York, USA, 1979.
TOMASSO, J.R. Toxicity of nitrogenous wastes to aquacultured animals. **Reviews in Fisheries Sciences**, 2(4), 291-314. 1994. Doi:10.1080/10641269409388560.

URIARTE, I.; RUPP, G.; ABARCA, A. Producción de juveniles de pectínidos Iberoamericanos bajo condiciones controladas. In: **Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura** (ed. Maeda-Martinez, A.N.). Editorial LIMUSA, México, Cap. 8. 2001. p. 147–171.

WIDMAN J.C. Jr; MESECK, S.L.; SENNEFELDER, G.; VEILLEUX, D.J. Toxicity of Unionized Ammonia, Nitrite, and Nitrate to Juvenile Bay Scallops, *Argopecten irradians irradians*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 54, 460-465. 2007. Doi: 10.1007/s00244-007-9051-z