

Respostas fisiológicas de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) expostos ao ar atmosférico

Physiological responses in jeju ("Hoplerythrinus unitaeniatus") to atmospheric air exposure

MARIANO, Wagner dos Santos¹; OBA, Eliane Tie², SANTOS, Laila Romagueira Bichara³, FERNADES Marisa Narciso⁴

¹Faculdades Anhanguera, Curso de Medicina Veterinária, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Macapá, Amapá, Brasil.

³Universidade de São Paulo, Instituto de Biociência, Departamento Fisiologia Humana, São Paulo, Brasil.

⁴Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Biológicas, São Carlos, São Paulo, Brasil.

*Endereço para correspondência: wagnermariano14@hotmail.com

RESUMO

As respostas fisiológicas de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) à exposição ao ar foram analisadas após 1, 6 e 12 horas de exposição ao ar e 1 e 6 horas após o retorno ao ambiente aquático. As concentrações plasmáticas de cortisol e glicose foram significativamente maiores que as do grupo controle em 1, 6 e 12 horas de exposição ao ar, respectivamente. Desequilíbrio iônico e ácido-base durante exposição aérea foram evidenciados pela redução de Na⁺ e K⁺ plasmáticos e do pH com subsequente restauração do equilíbrio ácido-base quando o animal retornou ao meio aquático. Acúmulo de amônia foi observado em todos os grupos experimentais e aumentou progressivamente durante a exposição ao ar. Durante recuperação em meio aquático, a amônia foi significativamente maior que a do grupo controle. A concentração de lactato foi significativamente maior apenas após 1 hora de recuperação em meio aquático, enquanto o piruvato aumentou após 6 horas de recuperação no meio aquático. O hematócrito, o número de eritrócitos, a concentração de hemoglobina e a concentração de hemoglobina corpuscular média aumentaram significativamente nos animais expostos ao ar atmosférico. A exposição ao ar atmosférico pode ser caracterizada como um agente estressor para *H. unitaeniatus* e implica ajustes fisiológicos para manter a transferência do O₂ atmosférico para os tecidos e a homeostase e mobilização de energia.

Palavras-chave: cortisol, estresse, glicose, intermediários metabólicos, variáveis hematológicas

SUMMARY

Physiological responses to air exposure were analyzed in jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus* after 1, 6 and 12 hours of air exposure and 1 and 6 hours after returning to water environment. Plasma cortisol and glucose were significantly higher than those of control group after 1, 6 and 12 hours of air exposure, respectively. Acid-base and ionic unbalances during air exposure were evidenced by low plasma pH and low plasma concentration of Na⁺ and K⁺ followed by pH and acid-base equilibrium recovery as fish returned to water environment. Ammonia accumulation was found in all experimental groups increasing continuously during air exposure. During the recovery period in water ammonia concentration was significantly higher than the control. Plasma concentration of lactate was significantly higher than the controls only after 1 hour of recovery in water while pyruvate increased after 6 hours of recovery in water. Hematocrit, red blood cells, hemoglobin concentration and mean corpuscular hemoglobin concentration increased significantly during air exposure. Air exposure can be characterized as a stressor agent to *H. unitaeniatus* and imply in physiological adjustments to keep the O₂ transfer from air to tissue and homeostasis as well as energy mobilization.

Keywords: cortisol, glucose, haematological variables, metabolic intermediaries, stress

INTRODUÇÃO

O ciclo anual de cheia e seca é o fenômeno ecológico mais importante de um rio.

A área de abrangência de inundação e o tempo de permanência das águas nos campos determinam a disponibilidade de habitats e alimentação para peixes, crustáceos, aves, répteis, mamíferos, plantas aquáticas e semiaquáticas. Com essa dinâmica, o Pantanal sul-mato-grossense (Brasil), que possui características climáticas e topográficas peculiares, apresenta períodos de estiagem com duração média de quatro meses no ano (VALVERDE, 1972; CADAVID GARCIA, 1984), provocando a diminuição do nível das águas dos rios, dando origem a ambientes conhecidos popularmente como baías, vazantes e corixos (AMARAL FILHO, 1986; MARIANO et al., 2007). Durante esse período, os organismos aquáticos ficam confinados nessas lagoas ou corixos, que apresentam condições estressantes, como hipóxia, exposição ao ar e falta de alimento (MARIANO et al., 2007).

Os corixos são caracterizados por corpos de águas rasas, muitas vezes estagnadas, com altas temperaturas e pobres em oxigênio, nos quais espécies que possuem respiração bimodal, que utilizam as brânquias para obtenção de oxigênio dissolvido no meio aquático e outro órgão modificado para a respiração aérea, têm maior possibilidade de sobreviver aos períodos de estiagem e mesmo à completa emersão durante curtas migrações entre corpos d'água (CADAVID GARCIA, 1984; MARIANO et al., 2007).

Animais que vivem nessas condições mantêm diferentes estratégias para lidar com a pouca disponibilidade de oxigênio e o alimento. Quando o

oxigênio e o alimento diminuem, os peixes normalmente escapam para outras regiões. Diferentes estratégias, como a hiperventilação, bradicardia, sincronismo cardio-respiratório, constrição periférica vascular e constrição do trato digestório, são algumas das respostas fisiológicas e morfológicas de peixes que vivem nestas condições (MORAES et al., 2002; MARIANO et al., 2007).

A exposição ao ar durante as migrações entre os ambientes alagados impõe ao peixe uma situação de estresse, em decorrência do risco de predação por animais aéreos, dessecação e hipertermia e, ainda, pode causar disfunção branquial, uma vez que as brânquias, além da respiração, têm papel importante na regulação osmótica e iônica (PIIPER, 1989; PERRY, 1997), no equilíbrio ácido-base (GILMOUR et al., 1997) e na excreção de produtos nitrogenados (RANDALL et al., 2004). As Alterações hematológicas (DETHLOFF et al., 1999), hormonais, metabólicas (BARTON & IWAMA, 1991; CARRAGHER & REES, 1994) e no equilíbrio hidromineral (ACERETE et al., 2004) refletem as respostas a esse estresse e à dinâmica dos ajustes fisiológicos durante a exposição ao ar.

Na América do Sul, existem apenas três gêneros da família Erythrinidae: *Erythrinus*; *Hoplias* e *Hoplerythrinus* (GODOY, 1975). Os peixes do gênero *Hoplias* apresentam respiração exclusivamente aquática e aqueles dos outros dois gêneros possuem respiração aérea facultativa. A distribuição geográfica do gênero *Hoplerythrinus* abrange o Peru, Bolívia, Venezuela, Guiana, Paraguai e Brasil (GODOY, 1979; PIIPER, 1989). Vulgarmente conhecido por jeju (SMITH, 1979), o *Hoplerythrinus unitaeniatus* é a única espécie citada desse gênero; é ativa, carnívora, de crescimento rápido e

ocorre em águas de inundação temporária (LOWE-MCCONNEL, 1987). Durante os períodos de pesca no Pantanal, é muito utilizada como isca para peixes como o pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e dourado (*Salminus maxillosus*) e pode ser encontrado com facilidade nas lojas de iscas-vivas da região (STEVENS & HOLETON, 1978; JUCÁ-CHAGAS, 2004).

No Pantanal, o jeju é comumente encontrado em corpos d'água temporários formados durante o período de estiagem (FINK & FINK, 1978). A espécie apresenta respiração aérea facultativa e utiliza a bexiga natatória ricamente vascularizada como o órgão para a respiração aérea (GODOY, 1975; KRAMER, 1978; FERNANDES & MORON, 1996; GRAHAM, 1997). Durante severa hipóxia e anóxia, o oxigênio é absorvido via bexiga natatória, o que permite sua sobrevivência nos períodos de estiagem. Quando os corixos são formados no Pantanal, jejus são frequentemente encontrados migrando entre esses corpos alagados e, conseqüentemente, ficam expostos ao ar atmosférico (KRAMER, 1978; JUCÁ-CHAGAS, 2004).

Muito pouco se conhecia sobre as respostas fisiológicas desta espécie durante o estresse de exposição aérea e o retorno à água. Desta maneira, realizou-se este trabalho com o objetivo de avaliar as respostas fisiológicas ao estresse induzido pela exposição ao ar atmosférico e após o retorno ao meio aquático em jeju, *H. unitaeniatus*, por meio de marcadores hormonais, bioquímicos e hematológicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletados cerca de 100 exemplares de jeju (*Hoplerthrinus unitaeniatus*), adultos de ambos os sexos, com peso de $187,8 \pm 26,08$ g. Os peixes foram coletados na bacia do Rio Paraná, município de Bataguáçu, Mato Grosso do Sul, e mantidos em tanques de 1.000 L com circulação contínua de água sem cloro, termostaticada ($24 \pm 2^\circ\text{C}$), aeração constante e fotoperíodo natural (~12h:12h). Os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados e se mantiveram aproximadamente constantes: pH = 6,7 a 7,5; $\text{DO}_2 = 6,0$ a 7,5 mg/L; dureza = 25 a 30 mg/L (como CaCO_3); alcalinidade = 9,5 a 10,2 mg/L (como CaCO_3); e condutividade = 65 a 72 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Semanalmente os tanques eram higienizados e sifonados para manutenção do bem-estar e da sanidade dos peixes. Os animais foram alimentados com peixes de pequeno porte três vezes por semana até 24 horas antes dos experimentos, quando a alimentação foi suspensa.

Depois de um período de 90 dias para o condicionamento ao manejo laboratorial, os peixes foram divididos em seis grupos de oito peixes. O grupo controle (T0) foi mantido submerso nas mesmas condições de aclimação; três grupos foram expostos ao meio aéreo durante 1 hora (T1); 6 horas (T6) e 12 horas (T12) e dois grupos foram expostos ao meio aéreo durante 12 horas antes de serem lançados ao meio aquático durante 1 hora (TR1) e 6 horas (TR6) para recuperação.

Um tanque experimental abrigou os peixes por 24 horas antes do início dos experimentos. A água do tanque foi lentamente removida e reintroduzida por meio de um sifão para não causar distúrbio aos animais. Um fino filme de

água foi deixado no fundo dos tanques para manter a umidade do ambiente e evitar a dessecação, porém sem permitir a respiração aquática durante todo o período de exposição ao meio aéreo. Imediatamente após o período de exposição ao meio aéreo ou período de recuperação em meio aquático, amostras de sangue foram coletadas por punção caudal com seringa heparinizada para determinação dos parâmetros hematológicos. O pH sanguíneo foi determinado utilizando-se um peagâmetro Micronal B375. O hematócrito (Hct=%) foi determinado, em duplicata, em tubo capilar heparinado utilizando-se centrífuga para microhematócrito Fanen mod.211. A concentração de hemoglobina (Hb=g/dL) foi determinada de acordo com o método da formação de cianometahemoglobina utilizando-se espectrofotômetro e leitura em 540 nm. A contagem do número de eritrócitos (RBC= $\times 10^6/\text{mm}^3$) foi feita em câmara de Neubauer após diluição do sangue em formol citrato a 4%. A partir dos dados de Hct, concentração de Hb e RBC, foram determinados os índices hematimétricos: VCM (volume corpuscular médio = μm^3), HCM (hemoglobina corpuscular média = pg/célula), CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média = %) (VERRASTRO et al., 1998). O sangue remanescente foi centrifugado e o plasma foi separado em alíquotas para determinação das concentrações de cortisol, glicose, piruvato, lactato, amônia, osmolalidade e íons. A concentração da glicose foi determinada por colorimetria, de acordo com o método descrito por Dubois et al. (1956), e a leitura realizada em espectrofotômetro Spectronic Genesys em 480 nm; a concentração de piruvato foi determinada pelo método descrito por Lu (1939) e leitura em 440 nm; e a

de lactato, pelo método descrito por Harrower & Brown (1972) e leitura em 570 nm. A determinação da amônia foi feita pelo método de Gentzkon & Masen (1942) e leitura em espectrofotômetro em 420 nm. A osmolalidade foi determinada por congelamento utilizando um micro-osmômetro $\mu\text{OSMETTE}$ Precision. As concentrações de Na^+ e K^+ foram determinadas por fotômetro de chama Digimed DM-61, após diluição 1:100 e o Cl⁻ foi quantificado utilizando-se *kit* reagente comercial (*kit* Labtest Diagnóstica). O cortisol foi medido por meio do *kit* COAT-A-COUNT Cortisol (COAT-A-COUNT[®] Cortisol, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, USA), que permite quantificar o nível do cortisol (hidrocortisona, Composto F) por radioimunoensaio utilizando o marcador ¹²⁵I e um contador Gamma-C12.

A partir dos resultados dos parâmetros avaliados, foi utilizado o teste de Bartlett para determinar a homogeneidade dos dados e definir a aplicação de testes paramétrico ou não paramétrico. Em dependência ao tipo de análise, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e o pós-teste Dunn, nas variáveis paramétricas foi utilizada a análise de variância e o teste Dunnett, a 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi o GraphPad InStat versão 2.01 (GraphPad software, San Diego, CA – USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Logo após a remoção da água do tanque, os peixes se movimentaram muito, mas, no decorrer da exposição aérea, diminuíram gradualmente a movimentação até permanecerem praticamente imóveis, com raros

movimentos. Durante a respiração aérea, foi possível perceber aumento do muco cutâneo dos peixes. Após o retorno ao meio aquático, os peixes voltaram a apresentar os movimentos aleatórios característicos da espécie. Não houve mortalidade durante o experimento.

A concentração de lactato foi significativamente maior em uma hora após o retorno ao meio aquático. Após seis horas de recuperação, a concentração de lactato plasmático foi estatisticamente igual ao grupo controle. A concentração de piruvato foi significativamente maior no grupo com tempo de recuperação de seis horas.

A concentração de amônia em todos os grupos experimentais foi significativamente mais elevada que no grupo controle (Tabela 1).

Nas primeiras seis horas de exposição ao ar atmosférico, os níveis de cortisol aumentaram significativamente, porém, após 12 horas, baixaram para níveis semelhantes aos do grupo controle. A concentração de glicose aumentou até 12 horas de exposição ao meio aéreo, entretanto, uma hora após o retorno ao meio aquático, já havia regredido a valores próximos ao do grupo controle (Tabela 2).

As variáveis hematológicas: hematócrito (Hct), concentração de hemoglobina (Hb) e contagem de eritrócitos (RBC) aumentaram significativamente durante a exposição ao ar, entretanto, durante o período de recuperação na água, não diferiram das observadas no grupo controle. Não houve diferença significativa nos valores do Volume Corpuscular Médio (VCM) e da Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) em nenhum dos grupos experimentais. A Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) aumentou significativamente em todos os grupos de exposição aérea (1 hora, 6 horas e 12 horas), inclusive no

grupo que ficou uma hora em recuperação em ambiente aquático. Após seis horas de recuperação na água, a Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média retornou a níveis semelhantes ao do grupo controle (Tabela3).

A osmolaridade plasmática aumentou significativamente seis horas após a exposição ao ar. A concentração plasmática de íons Na^+ diminuiu em todos os grupos experimentais, enquanto a de K^+ foi mais baixa nos grupos expostos ao ar por uma e seis horas. Em 12 horas de exposição ao ar e durante o período de recuperação em meio aquático, a concentração plasmática de K^+ foi semelhante à do grupo controle. O íon Cl^- não foi alterado durante o período de exposição ao ar e recuperação em meio aquático. O pH sanguíneo diminuiu significativamente em todos os grupos de exposição aérea, quando comparado ao grupo controle. O grupo que se recuperava por 1 hora em meio aquático não apresentou diferença no pH em comparação ao grupo controle, entretanto, no grupo que se recuperava por 6 horas em meio aquático, houve aumento significativo (Tabela 4).

DISCUSSÃO

Embora o jeju (*Hoplerthrinus unitaeniatus*) possa sobreviver 24 horas em meio aéreo (STEVENS & HOLETON, 1978), os dados obtidos neste estudo evidenciam que a exposição ao ar atmosférico, situação que o animal enfrenta em seu habitat durante o período de seca, confirmam as denominadas respostas primárias e secundárias ao estresse concomitante com disfunção branquial associada à excreção da amônia.

Tabela 1. Níveis plasmáticos de lactato, piruvato e amônia (nmol/mL) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) durante exposição ao ar e subsequente recuperação em meio aquático

Itens	Controle	Exposição ao ar atmosférico			Recuperação em meio aquático	
		1 hora	6 horas	12 horas	1 hora	6 horas
Lactato (nmol/mL)	4115,42±346,97	3914,64±379,86	4728,47±601,38	5014,19±360,05	6423,84±876,08*	3907,28±342,20
Piruvato (nmol/mL)	171,87±12,32	136,42±11,81	148,08±7,66	147,88±11,89	180,63±17,90	243,96±17,07*
Amônia (nmol/mL)	102,20±8,37	165,34±7,29*	230,96±14,73*	339,53±13,27*	220,30±19,09*	161,22±10,73*

*Indica diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de análise de variância seguido do pós-teste DUNNETT (paramétrico) em relação ao grupo controle (T0).

Tabela 2. Níveis plasmáticos de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) e glicose (nmol/mL) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) durante exposição ao ar e subsequente recuperação em meio aquático

Itens	Controle	Exposição ao ar atmosférico			Recuperação em meio aquático	
		1 hora	6 horas	12 horas	1 hora	6 horas
Cortisol ($\mu\text{g/dL}$)	2,41± 1,00	17,25± 2,03*	10,59± 1,52*	6,63± 1,76	1,54± 0,06	1,812 ± 0,58
Glicose (nmol/mL)	646,38± 79,28	1315,04± 164,12*	1394,71± 167,84*	1368,12± 114,03*	847,95± 66,38	963,62 ± 52,70

*Indica diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de KRUSKAL-WALLIS seguido do pós-teste DUNN (não-paramétrico) em relação ao grupo controle (T0).

Tabela 3. Parâmetros hematológicos de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) durante exposição ao ar e subsequente recuperação em meio aquático

Itens	Controle	Exposição ao ar atmosférico			Recuperação em meio aquático	
		1 hora	6 horas	12 horas	1 hora	6 horas
Hct (%)	36,43 ± 0,57	46,70 ± 1,25*	48,87 ± 1,50*	43,50 ± 0,84*	39,71 ± 1,21	39,5 ± 1,67
Hb (g/dL)	12,55 ± 0,12	16,43 ± 0,20*	15,85 ± 0,56*	14,85 ± 0,10*	14,67 ± 0,30*	12,61 ± 0,63
RBC (x10 ⁶ /mm ³)	1,99 ± 0,17	2,87 ± 0,12*	2,89 ± 0,16*	2,82 ± 0,11*	2,47 ± 0,08	2,28 ± 2,37
CHCM (%)	12,97 ± 0,24	15,59 ± 0,36*	15,85 ± 0,56*	14,54 ± 0,23*	14,67 ± 0,30*	13,04 ± 0,52
HCM (pg)	57,05 ± 5,68	52,12 ± 0,99	56,18 ± 3,03	51,32 ± 2,23	59,34 ± 1,83	59,71 ± 3,47
VCM (μm ³)	160,44 ± 10,15	149,54 ± 5,56	168,43 ± 6,94	159,54 ± 4,05	166,04 ± 7,03	164,94 ± 7,39

*Indica diferença significativa (p < 0,05), pelo teste de análise de variância seguido do pós-teste DUNNETT (paramétrico), em relação ao grupo controle (T0).
Hct = hematócrito; Hb = concentração de hemoglobina; RBC = contagem de eritrócitos; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média; HCM = Hemoglobina Corpuscular Média; VCM = volume corpuscular médio.

Tabela 4. Íons plasmáticos: Na⁺ / K⁺ / Cl⁻ (mEq/L), osmolalidade (mOsmol/Kg H₂O) e pH sanguíneo de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) durante exposição ao ar e subsequente recuperação em meio aquático

Itens	Controle	Exposição ao ar atmosférico			Recuperação em meio aquático	
		1 hora	6 horas	12 horas	1 hora	6 horas
Na ⁺ (mEq/ L)	152,00±2,02	137,1 ±3,55*	137,3± 2,42*	129,7± 5,73*	132,4±1,56*	125,11± 4,66*
N ⁺ (mEq/ L)	4,1 ± 0,05	3,07 ± 0,14*	3,4± 0,1*	3,9± 0,23	4,1± 0,10	3,8± 0,03
Cl ⁻ (mEq/ L)	138,2± 2,25	137,8± 8,83	133,9± 8,29	126,6±12,2	136,3± 18,1	131,1± 6,95
Osmolalidade (mOsmol/Kg H ₂ O)	256,12±2,24	273,33±4,68	281,87±3,23*	256,87±3,23	249,33±6,83	268,86±11,54
pH	7,61±0,017	7,49±0,012*	7,46±0,02*	7,54±0,01*	7,66±0,02	7,70±0,02*

*Indica diferença significativa (p < 0,05), pelo teste de análise de variância seguido do pós-teste DUNNETT (paramétrico), em relação ao grupo controle (T0).

O estresse em peixes é caracterizado principalmente pela elevação da concentração plasmática de cortisol (MAZEAUD et al., 1977; BARTON & IWAMA, 1991; WENDELAAR BONGA, 1997). O aumento de aproximadamente 6 vezes na concentração do cortisol plasmático (2,90 a 17,24 µg/dL) após a primeira hora de exposição ao ar seguido de diminuição gradual e o retorno aos níveis semelhantes ao controle (mantidos em meio aquático) sugere que a exposição ao ar pode ser caracterizada como estresse agudo para jeju. Pickering & Pottinger (1989) ressaltaram que, em situações de estresse agudo, o nível de cortisol em peixes pode aumentar até 10 e 100 vezes o valor do nível basal. A concentração de cortisol plasmático em *Sparus aurata* exposto ao ar atmosférico (3 minutos) foi, 1 hora após o estímulo, 23 vezes maior que o nível basal, enquanto o confinamento (24 horas) provocou aumento de 8 vezes (ARENDS et al., 1999). Em *Oncorhynchus mykiss*, 30 segundos de exposição ao ar resultou em aumento de 60 vezes na concentração basal de cortisol (SLOMAN et al., 2001).

O aumento da glicose plasmática é uma resposta comum ao estresse (MORAES et al., 2002; ACERETE et al., 2004) e constitui fonte extra de energia que possibilita ao animal superar os distúrbios causados pelo agente estressor (WENDELAAR BONGA, 1997). Em geral, o aumento da glicose plasmática tem sido considerado o resultado da ação das catecolaminas no fígado (JANSSENS & WATERMAN, 1988; RANDALL & PERRY, 1992; WENDELAAR BONGA, 1997), entretanto também está associado ao aumento da glicose plasmática, principalmente durante estresse

prolongado, via gliconeogênese (WENDELAAR BONGA, 1997).

O aumento da glicose e a ausência de aumento na concentração de lactato e piruvato sugerem que o O₂ absorvido pela bexiga natatória, mediado pelos ajustes hematológicos, manteve o suprimento de O₂ aos tecidos e o metabolismo aeróbico durante a exposição aérea. A absorção de O₂ pela bexiga natatória por jeju é maior que 30 % em condições de hipóxia ambiental e livre acesso ao ar atmosférico e aumenta à medida que a concentração de O₂ diminui na água (STEVENS & HOLETON, 1978), extraindo aproximadamente 7 mL O₂/respiração aérea/kg quando em severa hipóxia (JUCÁ-CHAGAS, 2004). Em condições de exposição ao ar, 100% do O₂ tem que ser obtido via bexiga natatória.

O aumento dos parâmetros hematológicos, do hematócrito, da concentração de hemoglobina e contagem de eritrócitos, como observado em jeju, aumenta a capacidade de transporte do O₂ e provavelmente ocorreu para reduzir os efeitos do agente estressor e manter a homeostasia interna preservando a manutenção do suprimento de O₂ aos tecidos. O hematócrito depende do número de eritrócitos presentes e pode ser influenciado por sua forma e seu tamanho. Como o volume corpuscular médio e a osmolalidade (exceto em T6) não foram alterados, pode-se sugerir que o aumento no Hct em jeju ocorreu como resultado da liberação de novos eritrócitos pelos centros hematopoiéticos durante a exposição ao ar (AFFONSO et al., 2002; MORAES, et al., 2002; MARIANO et al., 2007).

Após 12 horas de exposição ao ar, o hematócrito continuava apresentando diferença estatística, porém indicando redução numérica em comparação ao grupo mantido por seis horas de

exposição ao ar. Essa redução numérica pode indicar que, após 12 horas de exposição aérea, os centros hematopoiéticos diminuem a liberação de eritrócitos, porém essa afirmativa não pôde ser confirmada, pois não foi quantificado tempo superior a 12 horas de exposição aérea.

O aumento do lactato nos peixes na primeira hora após o retorno ao meio aquático, que possui menor disponibilidade de O_2 que o ar atmosférico, pode ter sido ocasionado pelo aumento brusco da atividade animal, uma vez que, segundo Stevens & Holeton (1978), o consumo de O_2 do meio aquático em jeju, após 24 de exposição ao ar, não é muito alto e não evidencia débito de O_2 muito alto. Arends et al. (1999) também consideraram que o aumento do nível de lactato plasmático durante a exposição aérea (3 minutos) de *Sparus aurata* possivelmente foi ocasionado pelo aumento da atividade muscular.

Peixes que possuem respiração aérea, como jeju, mantêm as brânquias como os órgãos primários para a excreção de CO_2 , amônia e equivalentes ácidos (HYDE & PERRY, 1987; RANDALL et al., 2004). A ausência do fluxo de água sobre as brânquias, em decorrência da supressão da ventilação branquial durante a exposição aérea, elimina a ação deste órgão como potencial sítio de regulação iônica e ácido-base e excreção de amônia. O balanço hidromineral em peixes, embora possa ser modificado por muitos agentes estressores, está associado à atividade da enzima $Na^+/K^+(NH_4^+)$ -ATPase na região basolateral das células de cloreto e à ação de trocadores iônicos Na^+/H^+ (NH_4^+) e Cl^-/OH^- (HCO_3^-) na região apical dessas células que compensam as perdas iônicas por difusão. Além disso, a absorção de Na^+ , via canais de Na^+ , também ocorre durante a excreção ativa

de H^+ (via V-ATPase) na região apical das células pavimentosas (RANDALL et al., 2004). Processo semelhante também ocorre nos túbulos renais para a reabsorção de íons (CAMERON & WOOD 1978).

A diminuição na concentração dos íons plasmáticos (Na^+ e K^+) durante a exposição aérea em jeju pode ter ocorrido via excreção renal. Segundo Cameron e Wood (1978), em condições de repouso e em meio aquático, o fluxo urinário de íons e a excreção de amônia pelos rins de jeju são comparáveis aos de outros teleósteos e ligeiramente maiores que em traira, *Hoplias malabaricus*, espécie da família Erythrinidae com respiração exclusivamente aquática.

Um pH corpóreo estável requer que a produção de ácido seja equiparada a sua excreção. Em animais aquáticos, as superfícies externas têm a capacidade de expelir ácido de maneira semelhante à observada no ducto coletor do rim de mamíferos. As brânquias dos peixes de água doce têm H^+ -ATPase que excreta prótons na sua superfície apical do epitélio. Outro mecanismo de troca é o HCO_3^-/Cl^- , que também ocorrem nas brânquias (RANDALL et al., 2000). No entanto, para que estes mecanismos sejam utilizados, a presença da água torna-se indispensável. Durante a exposição ao ar, o pH em jeju reduziu, comprovando que a falta d'água altera a regulação ácido-base.

A redução do pH e o acúmulo de amônia durante a exposição aérea indicam que jeju tem uma capacidade limitada para a regulação ácido-base. Nessas condições, a redução do pH sanguíneo durante a exposição aérea pode estar relacionada também à retenção de CO_2 que é excretado pelas brânquias por difusão e hidratado, participando da regulação ácido-base, uma vez que uma hora após o retorno ao

meio aquático, o pH sanguíneo foi restaurado (CAMERON & WOOD, 1978; HYDE & PERRY, 1987; PERRY, 1997).

Em jeju a participação de NH_4^+ na acidificação da urina pelos rins é de 87% em condições de repouso (CAMERON & WOOD, 1978). Em *Anguilla rostrata* exposta ao ar, ocorre pequeno aumento na excreção de H^+ pelos rins e a recuperação do pH, após o retorno ao meio aquático, deve-se primariamente ao trocador $\text{Na}^+/\text{H}^+(\text{NH}_4^+)$ nas brânquias. HYDE e PERRY (1987) enfatizaram que o principal papel dos rins durante a exposição aérea é reduzir o possível risco de desidratação, pois regulará a perda hídrica. De acordo com Randall et al. (2000), os rins de teleósteos de água doce, como é o caso do jeju, têm grandes glomérulos, a maioria deles maiores que dos teleósteos marinhos. Uma vez que seus corpos são hipertônicos em relação ao meio e a água se difunde para seus corpos, os teleósteos de água doce mantêm o equilíbrio de água produzindo grandes volumes de urina diluída (RANDALL et al., 2000).

O aumento da concentração de amônia plasmática em todos os grupos experimentais pode estar associado à dificuldade de excreção via brânquias, pois houve aumento gradativo em 1, 6 e 12 horas de exposição aérea e, com o retorno da água, o nível também diminuiu gradativamente, mas seis horas de recuperação não foram suficientes para que a amônia plasmática retornasse ao normal. Polez et al. (2003) também verificaram que jeju exposto ao ar por duas horas apresentou aumento significativo da amônia plasmática. Nesse mesmo estudo, esses autores demonstraram ainda que o jeju aumenta a atividade da enzima glutamina sintetase, uma das

enzimas do ciclo da uréia que converte amônia em glutamina, reduzindo os efeitos da toxicidade da amônia (MCKENZIE et al. 1999; MOMMSEN & WALSH, 1992; MOMMSEN & WALSH, 1989). Além disso, essa conversão pode auxiliar no controle do pH, uma vez que, para cada molécula de glutamina metabolizada, surgem dois íons amônio (NH_4^+) que poderão ser excretados pelo rim e dois íons bicarbonatos (HCO_3^+) que serão lançados na corrente sanguínea (SCHWARTZ, 1995). Entretanto, os dados obtidos neste estudo mostraram que, embora possa estar ocorrendo 12 horas de exposição ao ar, essa estratégia não impediu o aumento da amônia plasmática.

A exposição aérea em jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) atua como estressor agudo, caracterizado pelo aumento na concentração do hormônio cortisol e da glicose plasmática. Seis horas em meio aquático após a exposição aérea são suficientes para a recuperação.

Considerando os resultados de lactato e piruvato plasmático, durante a respiração aérea, o metabolismo aeróbico é possivelmente mantido, provavelmente pela eficiência da bexiga natatória na obtenção de O_2 , associado aos ajustes hematológicos mostrados durante a exposição aérea.

O jeju apresenta, durante 12 horas de exposição ao ar, desequilíbrio iônico, caracterizado pela diminuição dos íons Na^+ e K^+ , e 6 horas de recuperação em meio aquático não são suficientes para a recuperação. A exposição aérea dificulta ainda a excreção de amônia, evidenciada pelo acúmulo crescente de amônia durante todos os grupos de exposição aérea. Seis horas de recuperação não são suficientes para que o nível de amônia retorne ao normal.

Durante a exposição aérea, há síntese e liberação de eritrócitos, evidenciadas pelos resultados de hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem de eritrócitos e volume corpuscular médio. A exposição aérea provoca desequilíbrio ácido-base em jejum, caracterizado pela redução do pH em todos os grupos expostos ao ar.

REFERÊNCIAS

ACERETE, L.; BALASCH, J.C.; ESPINOSA, E.; JOSA, A.; TORT, L. Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. **Aquaculture**, n.237, 167-178, 2004. [[Links](#)]

AFFONSO, E.G.; POLEZ, V.L.P.; CORRÊA, C.F.; MAZON, A.F.; ARAÚJO, M.R.; MORAES, G.; RANTIN, F.T. Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. **Comparative Biochemistry and Physiology C**, v.133, p.375-382, 2002. [[Links](#)]

AMARAL FILHO, Z.P. Solos do Pantanal Mato-grossense. In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO-ECONÔMICOS DO PANTANAL, 1986, Corumbá. **Anais...** Corumbá: EMBRAPA/DDT, 1986. p.29-42. [[Links](#)]

ARENDS, R.J.; MANCERA, J.M.; MUNÕZ, J.L.; WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. **Journal of Endocrinology**, n.163, p.149-157, 1999. [[Links](#)]

BARTON, B.; IWAMA, G. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**, 1, p.3-26, 1991. [[Links](#)]

CADAVID GARCIA, E.A. **O clima do Pantanal Mato-grossense**. Corumbá: EMBRAPA Pantanal, 1984. 39p. (Circular Técnica, 14). [[Links](#)] .

CAMERON, J.N.; WOOD, C.M. Renal function and acid-base regulation in two Amazonian erythrinid fishes: *Hoplias malabaricus*, a water breather, and *Hoplerythrinus unitaeniatus*, a facultative air breather. **Canadian Journal of Zoology**, n.56, p.917-930, 1978. [[Links](#)]

CARRAGHER, J.F.; RESS, C.M. Primary and secondary stress responses in golden perch, *Macquaria ambigua*. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, 107, p.49-56, 1994. [[Links](#)]

DETHLOFF, G.M.; SCHLENK, D.; KHAN, S.; BAILEY, H.C. The effects of copper on blood and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.36, n.4, p.415-423, 1999. [[Links](#)]

DUBOIE, M.G.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; ROBERTS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.350-358, 1956. [[Links](#)]

FERNANDES, M.N.; MORON, S.E. Respiratory organs in erythrinid fishes. In VAL, A.L., RANDALL, D.J.; MACKINLEY, D. (Eds.). **Proceeding of Physiology of Tropical fishes**. San Francisco: San Francisco University, 1996. p.141. [[Links](#)]

FINK, W.I.; FINK, S.V. A Amazônia central e seus peixes. **Acta Amazônica**, v.8, n.4, p.19-42, 1978. [[Links](#)]

GENTZKON, C.J.; MASEN, J.M. An accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization. **Journal of Biological Chemistry**, n.143, p.531-544, 1942. [[Links](#)]

GILMOUR, K.M., HENRY, R.P., WOOD, C.M., PERRY, S.F., Extracellular carbonic anhydrase and an acid-base disequilibrium in the blood of the dogfish *Squalus acanthias*. **Journal of Experimental Biology**, n.200, p.173-183, 1997. [[Links](#)]

GODOY, M.P. Família erythrinidae. In: **Peixes do Brasil, subordem Characoidei: bacia do rio Mogí Guassú**. Piracicaba: Franciscana, 1975. p.440-444. [[Links](#)]

GODOY, M.P. **Rio Iguaçu, Paraná, Brasil: reconhecimento da ictiofauna, modificações ambientais e usos múltiplos dos reservatórios**. Rio de Janeiro: Eletrosul, 1979. 33p. [[Links](#)]

GRAHAM, J.B. **Air-breathing fishes: evolution, diversity and adaptation**. San Diego: Academic Press, 1997. 299p. [[Links](#)]

HARROWER, J.R.; BROWN, C.H. Blood lactic acid. micromethod adapted to field collection of microliter samples. **Journal of Applied Physiology**, v.32, n.5, p.224-228, 1972. [[Links](#)]

HYDE, D.A.; PERRY, S.F. Acid-base and ionic regulation in the American eel (*Anguilla rostrata*) during and after prolonged aerial exposure: branchial and renal adjustments. **Journal of Experimental Biology**, n.133, p.429-447, 1987. [[Links](#)]

JANSSENS, P.A.; WATERMAN, J.; Hormonal regulation of glucogenesis and glycogenolysis in carp (*Cyprinus carpio*) liver pieces cultured in vitro. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v.91, 451-455, 1988. [[Links](#)]

JUCÁ-CHAGAS, R. Air breathing of the neotropical fishes *Lepidosiren paradoxa*, *Hoplerythrinus unitaeniatus* and *Hoplosternum littorale* during aquatic hypoxia. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v.139, 49-53, 2004. [[Links](#)]

KRAMER, D.L. Ventilation of the respiratory gas bladder in *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Pisces, Characoidei, Erythrinidae). **Canadian Journal of Zoology**, n.56, p.931-938, 1978. [[Links](#)]

LOWE-MCCONNELL, R.H. **Ecological studies in tropical fish communities**. Cambridge: Cambridge University Press, 1987. 382p. [[Links](#)]

LU, G.D. The metabolism of pyruvic acid in normal and vitamin B- deficient state. A rapid specific and sensitive method for the estimation of blood pyruvate. **Biochemical Journal**, n.33, p.249-254, 1939. [[Links](#)]

MARIANO, W.S.; WEBSTER, V.; TOLEDO, J.R.S.; GARCIA, R.G. Aspectos Fisiológicos e morfométricos de tucunaré, *Gymnotus carapo* (LINNAEUS, 1758), submetidas à privação alimentar. **Faces da Academia**, v.2, n.2, p.51-61, 2007. [[Links](#)]

MAZEAUD, M.M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E.M. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.106, n.1, 201-212, 1977. [[Links](#)]

MCKENZIE, D.J.; PIRACCINI, G.; FELSKIE, A.; ROMANO, P.; BRONZI, P.; BOLIS, C.L. Effects of plasma total ammonia content and pH on urea excretion in *Nile tilapia*. **Physiological and Biochemical Zoology**, v.72, p.116-125, 1999. [[Links](#)]

MOMMSEN, T.P.E.; WALSH, P.J. Evolution of urea synthesis in vertebrate: the piscine connection. **Science**, v.243, p.72-75, 1989. [[Links](#)]

MOMMSEN, T.P.E.; WALSH, P.J. Biochemical and environmental perspectives on nitrogen metabolism. **Experientia**, v.48, 583-593, 1992. [[Links](#)]

MORAES, G.; AVILEZ, I.M.; ALTRAN, A.E.; BARBOSA, C.C. Biochemical and hematological responses of the banded knife fish *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) exposed to environmental hypoxia. **Brazilian Journal of Biology**, v.62, n.4, p.633-640, 2002. [[Links](#)]

PERRY, S.F. The chloride cell: structure and function in the gills of freshwater fishes. **Annual Review of Physiology**, v.59, p.325-347, 1997. [[Links](#)]

PICKERING, A.D.; POTTINGER, T.G. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.7, n.1-4, p.253-258, 1989. [[Links](#)]

PIIPER, J. Factors affecting gas transfer in respiratory organs of vertebrates. **Canadian Journal of Zoology**, n.67, p.2956-2960, 1989. [[Links](#)]

POLEZ, V.L.P.; MORAES, G.; SANTOS NETO, C. Different biochemical strategies of two Neotropical fish to cope with the impairment of nitrogen excretion during air exposure. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, n.2, p.279-285, 2003. [[Links](#)]

RANDALL, D.J.; PERRY, S.F. Catecholamines. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J.; FARRELL, A.P., **Fish Physiology**. San Diego: Academic Press, p.255-300, 1992. [[Links](#)]

RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. **Fisiologia Animal: mecanismos e adaptações**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 729p. [[Links](#)]

RANDALL, D.J.; IP, Y.K.; CHEW, S.F.; WILSON, J.M. Air breathing and ammonia excretion in the giant mudskipper, *Periophthalmus schlosseri*. **Physiological and Biochemical Zoology**, v.77, p.783-788, 2004. [[Links](#)]

SCHWARTZ, J.H. Renal acid-base transport: the regulatory role of the inner medullary collectin duct. **Kidney International**, 47, 333, 1995. [[Links](#)]

SLOMAN, K.A.; DESFORGES, P.R.; GILMOUR, K.M. Evidence for a mineralocorticóide-like receptor linked to branchial chloride cell proliferation in freshwater rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of Experimental Biology**, n.204, p.3953-3961, 2001. [[Links](#)]

SMITH, N.J.H. **A Pesca no rio Amazonas**. Manaus: IMPA, 1979. 154p. [[Links](#)]

STEVENS, E.D.; HOLETON, G.F. The partitioning of oxygen uptake from air and from water by erythrinids. **Canadian Journal of Zoology**, n.56, p.965-969, 1978. [[Links](#)]

VALVERDE, J. Fundamentos geográficos do planejamento rural no município de Corumbá. **Revista Brasileira de Geografia**, v.34, n.1, p.149-144, 1972. [[Links](#)]

VERRASTRO, T.; LORENZI, T.F.; NETO, S.W. **Hematologia e Hemoterapia**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1998. 303p. [[Links](#)]

WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, v.77, p.591-625, 1997. [[Links](#)]

Data de recebimento: 17/06/2008
Data de aprovação: 26/01/2009