

Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná

Elissandra Ulbricht Winkaler, Andressa das Graças Silva, Henrique Chaicoski Galindo e Cláudia Bueno dos Reis Martinez*

Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Estadual de Londrina. C.P. 6001, CEP: 86051-990, Londrina, Paraná, Brasil. *Author for correspondence. e-mail: cbueno@uel.br

RESUMO. Duas espécies de lambaris (*Astyanax altiparanae* e *A. fasciatus*) foram coletadas nos seguintes ribeirões do município de Londrina: Cambé (no lago Igapó IV), Três Bocas, Apertados e córrego Capivara. Imediatamente após a coleta dos peixes, amostras sanguíneas e brânquias foram retiradas. As brânquias foram fixadas em Bouin e processadas para microscopia óptica. Do sangue coletado uma alíquota foi utilizada para dosagem de hemoglobina e o restante foi centrifugado para a determinação da concentração plasmática de sódio e glicose. Os animais provenientes do Cambé e Capivara apresentaram alterações histopatológicas severas, tais como: aneurisma lamelar e elevação epitelial. Estes animais também mostraram maior teor plasmático de sódio e redução da glicemia quando comparados com os peixes do Três Bocas. Os lambaris provenientes do Capivara apresentaram decréscimo significativo do conteúdo de hemoglobina em relação aos animais coletados no Cambé. A maior incidência de alterações histológicas e fisiológicas nos lambaris procedentes do ribeirão Cambé e do córrego Capivara indica claramente o comprometimento da saúde destes peixes e da qualidade da água destes locais.

Palavras chave: biomarcadores, saúde de lambaris, ribeirões de Londrina.

ABSTRACT. **Histological and physiological biomarkers to assess fish health in Londrina streams, state of Paraná.** Two fish species, known as lambaris (*Astyanax altiparanae* and *A. fasciatus*) were collected from the following streams in Londrina: Cambé (lake Igapó IV), Três Bocas, Apertados and Capivara. After capture blood samples and gills were immediately removed. Gills were fixed in Bouin and processed for light microscopy. A small amount of blood was used for hemoglobin determination and sodium and glucose plasma concentrations were determined after blood centrifugation. Animals from Cambé and Capivara streams showed certain severe histopathological alterations, such as lamellar aneurism and epithelial lifting. These fish also showed higher blood sodium concentration and a reduction of blood glucose when compared to fish from Três Bocas stream. Fish from Capivara showed a decrease in hemoglobin content when compared to animals from Cambé stream. Higher incidence of histological and physiological alterations observed in fish from Cambé and Capivara stream clearly indicates the animals' health impairment.

Key words: biomarkers, fish health, Londrina streams.

Nas últimas décadas as avaliações clássicas dos efeitos biológicos de substâncias químicas nos organismos aquáticos têm se baseado nos resultados de testes de toxicidade laboratoriais para uma dada espécie. A padronização destes testes forneceu um meio eficiente e de custo moderado para o monitoramento dos efeitos adversos potenciais de algumas substâncias químicas (Rand e Petrocelli, 1985). Entretanto, os testes de toxicidade, além de não considerarem as condições que ocorrem no ambiente natural, geralmente superestimam a magnitude e duração da exposição ao agente tóxico.

Estudos de campo são componentes importantes para a avaliação e compreensão dos efeitos biológicos e/ou ecológicos de agentes químicos sob condições naturais. As principais vantagens de tais estudos referem-se à incorporação de exposições realistas, que vão determinar diretamente os efeitos observados, e à utilização de ambientes naturais, que evitam a necessidade de extrapolação dos resultados para o ecossistema (Graney *et al.*, 1995). Apesar disto, ainda são poucos os estudos de campo que avaliam as respostas biológicas de espécies nativas aos contaminantes eventualmente presentes no seu

habitat (Orlando *et al.*, 1999). Esta situação ainda é mais séria no Brasil, considerando-se que pouca pesquisa tem sido realizada sobre o impacto de contaminantes nos ecossistemas tropicais; sendo assim, a ecotoxicologia tropical necessita de mais estudos sobre os efeitos de contaminantes em organismos aquáticos nativos da região (Lacher Jr. e Goldstein, 1997).

Os efeitos de contaminantes em peixes podem se manifestar em vários níveis de organização biológica, incluindo disfunções fisiológicas, alterações estruturais em órgãos e tecidos e modificações comportamentais que levam ao prejuízo do crescimento e reprodução (Adams, 1990). Estas respostas biológicas ao estresse provocado pelos poluentes podem ser utilizadas para identificar sinais iniciais de danos aos peixes e podem ser denominadas biomarcadores. Estes biomarcadores são excelentes ferramentas para monitorar a saúde do ecossistema aquático e têm sido incluídos em vários programas modernos de monitoramento ambiental de países desenvolvidos (Walker *et al.*, 1996). Atualmente, biomarcadores fisiológicos e histopatológicos são utilizados extensivamente para documentar e quantificar tanto a exposição quanto os efeitos de poluentes ambientais. Como monitores de exposição, estes biomarcadores têm a vantagem de quantificar apenas poluentes biológicos disponíveis. Como monitores de efeitos, os biomarcadores podem integrar efeitos de múltiplos estressores e auxiliar na elucidação dos mecanismos de ação (Adams, 1990).

Portanto, a utilização de alguns parâmetros fisiológicos e morfológicos pode ser uma ferramenta bastante útil para a avaliação dos efeitos da contaminação ambiental nas populações de peixes. Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a ocorrência de alterações morfológicas branquiais e determinar os teores plasmáticos de sódio e glicose e o conteúdo de hemoglobina em duas espécies de peixes do gênero *Astyanax*, nativas da região, coletadas em ribeirões do município de Londrina com características distintas quanto à ação antrópica.

Material e métodos

Locais de coleta. Foram realizadas coletas sazonais no período compreendido entre março e dezembro de 1999 nos seguintes ribeirões do município de Londrina (Figura 1):

Ribeirão Cambé: no lago Igapó IV, próximo aos córregos da Mata, Bororé e Rubi, bastante impactado, principalmente em função do despejo de esgoto doméstico e efluente rural;

Córrego Capivara: em local de remanso, a jusante de uma fábrica de baterias, que apresenta níveis elevados de metais (Yabe e Oliveira, 1998);

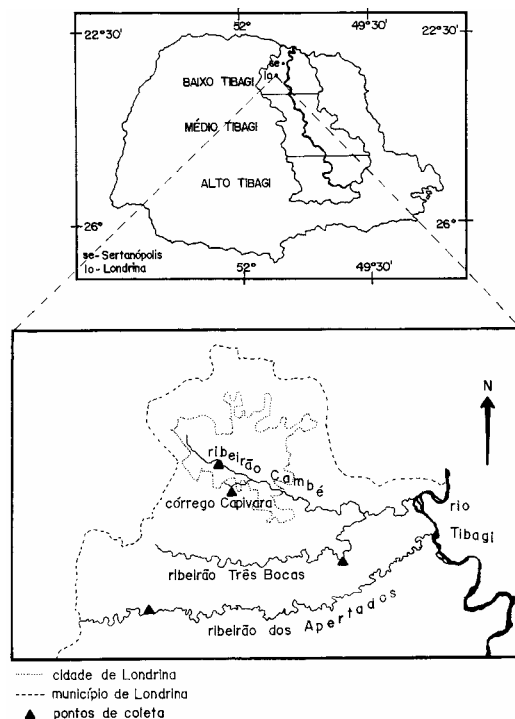


Figura 1. Mapa do Estado do Paraná, destacando a bacia do rio Tibagi. No detalhe mapa do município de Londrina, indicando os locais de coleta: Ribeirão dos Apertados; Ribeirão Cambé; Córrego Capivara e Ribeirão Três Bocas

Ribeirão Três Bocas: em local de corredeira, com mata ciliar pouco preservada, próximo a algumas propriedades rurais que apresentam plantações até as margens e podem permitir o influxo de agrotóxicos e outros efluentes agrícolas;

Ribeirão dos Apertados: em local de corredeira, dentro do Parque Estadual “Mata dos Godoy”, com mata ciliar bastante preservada. Dentre os ambientes de coleta este local aparentemente é o mais preservado e foi considerado local de referência.

Nos locais de coleta os seguintes parâmetros físico-químicos da água foram determinados: temperatura e teor de oxigênio dissolvido (OD), por medida direta utilizando-se oxímetro (Orion) e pH, utilizando-se pHmetro de bolso (Corning).

Animais. Para a realização do monitoramento destas localidades foram utilizados peixes do gênero *Astyanax*, pertencente à família Characidae. A coleta dos animais foi realizada utilizando-se principalmente tarrafa. Como apresentado na Tabela

1, foram coletados exemplares de peixes da espécie *A. altiparanae* no ribeirão Cambé, córrego Capivara e ribeirão Três Bocas. Nos ribeirões Cambé e Três Bocas, além dessa espécie, foram também capturados espécimes de *A. fasciatus*, enquanto no Ribeirão dos Apertados foram coletados apenas exemplares de *A. fasciatus*. A espécie *A. altiparanae* (Garutti e Britski, 2000), anteriormente denominada *A. bimaculatus*, é conhecida vulgarmente como lambari-do-rabo-amarelo, e a espécie *A. fasciatus* (Cuvier, 1819) é conhecida como lambari-do-rabo-vermelho. Ambas as espécies são abundantes nos rios da bacia do Rio Paraná, apreciadas na pesca esportiva e desempenham importante função na cadeia alimentar dos sistemas ecológicos em que ocorrem (Agostinho *et al.*, 1984; Garutti e Britski, 2000). Os peixes destas espécies são de pequeno porte (atingem cerca de 10 cm), prolíficos e servem de alimento para peixes carnívoros maiores. Apresentam grande flexibilidade alimentar, alimentando-se principalmente de insetos e sementes.

Tabela 1. Datas de coleta e número total de lambaris (*Astyanax altiparanae* ou *Astyanax fasciatus*) coletados para cada um dos ribeirões amostrados neste trabalho. Todas as coletas foram realizadas no ano de 1999

Local	Datas de coleta	Peixes coletados
Ribeirão dos Apertados	25/03, 22/04, 14/09, 09/11, 21/12	16 <i>Astyanax fasciatus</i>
Córrego Capivara	23/07, 28/09, 26/10, 23/11	20 <i>Astyanax altiparanae</i>
Ribeirão Cambé	31/03, 13/05, 07/06, 17/08, 05/10, 07/12	22 <i>Astyanax altiparanae</i> 1 <i>Astyanax fasciatus</i>
Ribeirão Três Bocas	18/03, 08/04, 31/08, 19/10, 14/12	23 <i>Astyanax altiparanae</i> 6 <i>Astyanax fasciatus</i>

Parâmetros analisados. Imediatamente após a retirada dos animais da água, procedeu-se à coleta de sangue e brânquias. O sangue foi coletado a partir da veia caudal, região ventral anterior ao pedúnculo caudal, de cada peixe, utilizando-se seringa descartável de 1 mL, lavada com anticoagulante (heparina). Após a coleta de sangue, os animais foram sacrificados por secção medular, medidos (comprimento total e padrão) e pesados, e as brânquias foram retiradas com o auxílio de material de dissecação.

Depois de retiradas, as brânquias foram imediatamente fixadas em Bouin, durante 6 horas, e em seguida, foram lavadas e mantidas em álcool 70% até o processamento histológico. Para tanto, o segundo arco branquial direito foi desidratado em série crescente de álcoois, diafanizado em xilol (PA), impregnado e incluído em Paraplast Plus (Oxford). Cortes transversais, de aproximadamente 7 µm de espessura, foram corados com Hematoxilina e

Eosina (HE). Foram analisados 12 cortes para cada animal. As alterações histopatológicas foram avaliadas semiquantitativamente segundo Schwaiger *et al.* (1997), ordenando-se o grau de severidade das lesões de acordo com a seguinte escala: grau 1 = nenhuma alteração patológica; grau 2 = alterações moderadas e localizadas; grau 3 = alterações severas e/ou extensamente distribuídas. Com base nesta escala um valor médio de alteração histopatológica (VMA) foi conferido para cada animal. A partir dos dados individuais calculou-se a média de VMA para cada local de coleta.

O sangue amostrado foi mantido resfriado até a chegada ao laboratório, quando uma alíquota de sangue total (cerca de 10 µL) foi utilizada para dosagem de hemoglobina através do método do cianeto de metahemoglobina, por fotolorimetria (espectrofotômetro Shimadzu), utilizando-se kit comercial (Hemoglobina - Analisa). O restante do sangue foi centrifugado, durante 5 minutos (Centrimicro - Fanem), para a separação do plasma. O plasma obtido foi mantido congelado (-20°C) até o momento das análises de sódio e glicemia. Após diluições apropriadas em água destilada e deionizada determinou-se a concentração plasmática de sódio utilizando-se fotômetro de chama (Analyser - Modelo 900). A concentração plasmática de glicose foi determinada pelo método enzimático da glicose-oxidase, por espectrofotometria (espectrofotômetro Shimadzu), utilizando-se kit comercial (Glicose Enzimática - Analisa).

Análise estatística

As médias dos resultados obtidos para cada parâmetro analisado foram comparadas entre si através de teste *t* de Student ou de Análise de variância - critério único (ANOVA), dependendo do número de grupos que estavam sendo comparados. Para a localização das diferenças (nos casos de F significativo) entre as médias obtidas para os diferentes locais de coleta foi utilizado o teste de comparações múltiplas de Student-Newman-Keuls (SNK). Foram considerados significativos valores de $P < 0,05$. Todos os testes foram aplicados de acordo com Zar (1999).

Resultados

Os resultados referentes ao pH, temperatura e oxigênio dissolvido determinados durante as coletas estão apresentados na Tabela 2. Observou-se que a água do córrego Capivara apresentou valores de pH e OD significativamente menores que das demais localidades ($F=18,59$; $P < 0,01$ e $F = 8,10$; $P <$

0,01, respectivamente). O ribeirão Cambé apresentou água mais ácida que os ribeirões Três Bocas e dos Apertados ($F = 18,59$; $P < 0,01$) e não foi constatada diferença significativa no teor de oxigênio dissolvido em relação aos demais ribeirões. A temperatura nos 4 locais de coleta manteve-se semelhante ao longo do ano.

Tabela 2. Valores médios de pH, temperatura (T) e oxigênio dissolvido (OD) determinados nos diferentes locais de coleta

Local	pH	T (°C)	OD (mg/L)
Ribeirão dos Apertados	$7,17 \pm 0,16$	$23,70 \pm 4,95$	$8,05 \pm 1,20$
Córrego Capivara	$5,84 \pm 0,33$	$25,43 \pm 2,93$	$3,77 \pm 0,78$
Ribeirão Cambé	$6,60 \pm 0,31$	$21,60 \pm 4,17$	$6,70 \pm 1,81$
Ribeirão Três Bocas	$7,13 \pm 0,16$	$24,90 \pm 0,31$	$8,12 \pm 0,74$

Os valores representam média $\pm$ desvio padrão

As brânquias dos lambaris coletados nos ribeirões Apertados e Três Bocas apresentaram pouca incidência de alterações histopatológicas. Entretanto, os animais coletados no córrego Capivara e ribeirão Cambé apresentaram alterações histopatológicas severas, tais como: aneurisma lamelar, caracterizada pelo extravasamento de sangue no interior da lamela, causando rompimento das células pilares e conseqüente dilatação dos canais sangüíneos (Figura 2) e elevação epitelial, caracterizada pelo descolamento do epitélio lamelar (Figura 3). Outras alterações na estrutura branquial, tais como hiperplasia, hipertrofia e dilatação do canal marginal, também foram observadas, indistintamente, em animais procedentes de todos os locais de coleta.

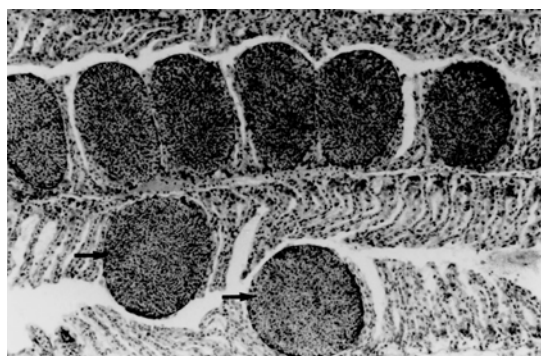


Figura 2. Fotomicrografia do segundo arco branquial direito de exemplar de *Astyanax altiparanae* coletado no ribeirão Cambé. Detalhe de um filamento branquial mostrando a ocorrência de aneurisma lamelar (setas). X 1000 HE

Os locais amostrados diferiram entre si em relação aos valores médios de alterações histopatológicas (VMA) branquiais (Figura 4). Os valores obtidos para os exemplares do ribeirão Cambé e córrego Capivara foram significativamente maiores ($F=4,67$; $P < 0,01$) do que os valores de

VMA dos animais coletados nos ribeirões Três Bocas e Apertados.

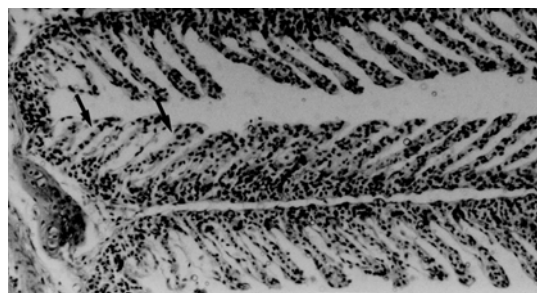


Figura 3. Fotomicrografia do segundo arco branquial direito de exemplar de *Astyanax altiparanae* coletado no ribeirão Cambé. Detalhe de um filamento branquial mostrando a ocorrência de elevação epitelial (setas). X 1000 HE

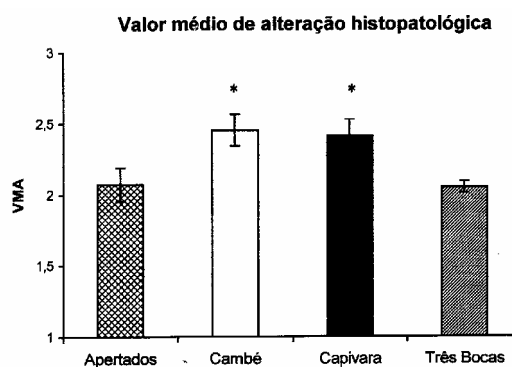


Figura 4. Valor médio de alteração histopatológica (VMA) para lambaris coletados nos ribeirões Apertados, Cambé e Três Bocas e no córrego Capivara. As barras representam as médias e a linha vertical o erro padrão. * indica valor significativamente maior em relação aqueles obtidos para os animais provenientes do Apertados e Três Bocas ($P < 0,01$)

Apesar de terem sido realizadas 5 coletas no ribeirão dos Apertados, os poucos exemplares de lambaris coletados eram extremamente pequenos e inviabilizaram a coleta de sangue. Sendo assim, não foi possível analisar os parâmetros fisiológicos dos animais provenientes desta localidade.

Para os animais coletados nos ribeirões Cambé e Capivara, os teores plasmáticos de sódio foram significativamente maiores ($F= 6,72$; $P < 0,01$) que os dos animais do ribeirão Três Bocas (Figura 5a), enquanto os valores de glicemia foram significativamente menores que aqueles obtidos para os lambaris do ribeirão Três Bocas ($F= 6,73$; $P < 0,01$) (Figura 5b).

O conteúdo de hemoglobina (Figura 6) determinado para os lambaris coletados no ribeirão Cambé variou de 3,52 a 7,41 g/dL e no córrego Capivara de 3,24 a 7,23 g/dL. Este parâmetro hematológico não foi determinado para os peixes

coletados no ribeirão Três Bocas em virtude do pequeno volume de sangue amostrado. Os peixes do córrego Capivara apresentaram, em média, conteúdo de hemoglobina menor que aqueles coletados no ribeirão Cambé.

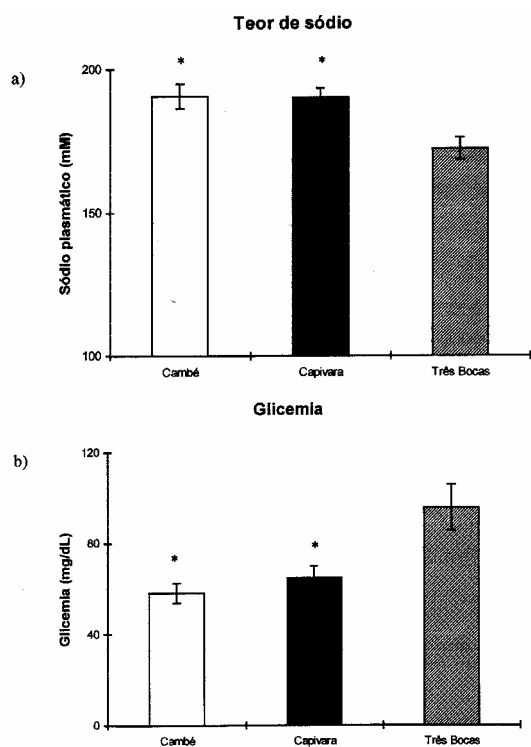


Figura 5. Concentração plasmática de sódio (a) e glicose (b) de lambaris coletados nos ribeirões Cambé e Três Bocas e no córrego Capivara. As barras representam as médias e a linha vertical o erro padrão. * indica valor significativamente diferente daquele obtido para os animais provenientes do Três Bocas ($P < 0,01$)

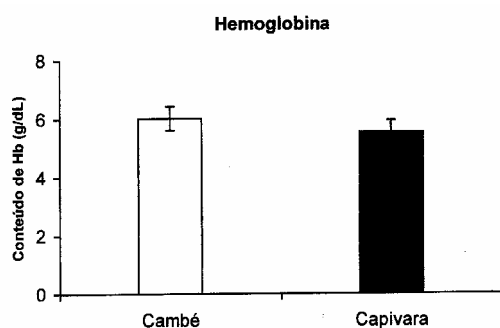


Figura 6. Conteúdo de hemoglobina (g/dL) de lambaris coletados no ribeirão Cambé e no córrego Capivara. As barras representam as médias e a linha vertical o erro padrão

Discussão

As alterações histopatológicas em tecidos de peixes são biomarcadores da exposição a estressores ambientais que sinalizam os efeitos resultantes da exposição a um ou mais agentes tóxicos (Hinton *et al.*, 1992). Neste trabalho, as respostas histopatológicas branquiais dos lambaris permitiram diferenciar claramente os animais provenientes dos ribeirões dos Apertados e Três Bocas daqueles provenientes do ribeirão Cambé e do córrego Capivara. A alta incidência de aneurismas e elevação epitelial nas brânquias dos lambaris provenientes do ribeirão Cambé e córrego Capivara apontam para o comprometimento da qualidade da água destes locais.

Segundo Laurent e Perry (1991), as alterações morfológicas das brânquias, em resposta a mudanças ambientais, podem representar estratégias adaptativas para conservação de algumas funções fisiológicas. Assim, os tipos de lesões histopatológicas observadas neste estudo indicam que os peixes estão respondendo aos efeitos de agentes tóxicos presentes na água e sedimento. A elevação epitelial é uma das primeiras alterações que ocorrem quando o animal está sob algum tipo de estresse. Neste caso, o epitélio lamelar se separa da lamela, formando um espaço que pode ser preenchido por água, podendo levar à formação de um edema. As alterações do tipo elevação epitelial podem servir como defesa, com o aumento da distância de difusão entre a água e o sangue (Mallat, 1985), interferindo, entretanto, na eficiência das trocas gasosas e transporte iônico. Na alteração do tipo aneurisma ocorre um acúmulo de sangue nas lamelas respiratórias que pode levar ao rompimento das células pilares e conseqüente desarranjo estrutural das lamelas (Heath, 1987).

Como as brânquias desempenham papel fundamental para as trocas gasosas e regulação osmo-iônica, estas alterações histopatológicas podem afetar diretamente os mecanismos de respiração e osmorregulação (Meyers e Hendricks, 1985). Devido a sua estrutura, as brânquias fornecem uma ampla área superficial para o fluxo de oxigênio, gás carbônico, eletrólitos, água, amônia e íons hidrogênio entre o sangue do peixe e seu meio externo. Estes órgãos atuam como interface entre o animal e seu ambiente e constituem o sítio de tomada e depuração de contaminantes e local onde a detoxificação e metabolismo destes agentes tóxicos podem ocorrer (Stagg *et al.*, 1992) e frequentemente são os primeiros órgãos a serem afetados por poluentes (Heath, 1987).

Peixes dulcícolas, ao contrário dos marinhos, têm que eliminar o excesso de água que ganham via osmose. Isto é feito pela produção de um volume relativamente alto de urina diluída. Devido à perda de sais por difusão, através das brânquias e tegumento, e à pequena perda iônica via urina, estes peixes utilizam as células de cloreto, e possivelmente outras células do epitélio branquial, para transportar sódio e cloreto da água para o sangue, utilizando ATP e a enzima Na^+/K^+ -ATPase (Jobling, 1995; Karnaky Jr., 1998). Alterações neste balanço de água e íons podem ser decorrentes dos efeitos de poluentes nos órgãos diretamente envolvidos na osmorregulação, no sistema endócrino, no metabolismo ou nos processos de transporte ativo. Assim, os níveis iônicos no sangue, determinados pela osmolaridade ou concentrações iônicas específicas, são biomarcadores sensíveis de exposição de peixes a agentes químicos e seus efeitos (Heath, 1987; Mayer, 1992).

Neste trabalho verificou-se que lambaris provenientes do ribeirão Cambé e córrego Capivara apresentam teor plasmático de sódio maior que os peixes coletados no ribeirão Três Bocas (Figura 5a). De acordo com Heath (1987), o aumento no teor do sódio plasmático, em peixes expostos a alguns tipos de poluentes, pode ocorrer devido ao aumento da atividade ATPásica nas brânquias ou ao aumento da taxa de produção de urina, que reduziria o volume de sangue, elevando assim sua concentração eletrolítica. Alguns autores já detectaram o aumento do sódio plasmático para peixes expostos a poluentes. Por exemplo, Christensen *et al.* (1977) observaram um aumento do sódio plasmático em trutas expostas a concentrações muito baixas de metilmercúrio (0,01 a 2,93 $\mu\text{g.L}^{-1}$).

Além de fatores intrínsecos aos peixes, relacionados com o efeito direto dos poluentes potencialmente presentes no Cambé e Capivara, poder-se-ia supor que o aumento observado na concentração de sódio estaria relacionado a maior concentração iônica nestes locais, em decorrência da carga salina proveniente de efluentes domésticos e industriais, que são lançados diretamente nestes ribeirões. Entretanto, como não existem dados disponíveis sobre a condutividade ou a concentração de sódio nos locais de amostragem, esta hipótese fica sem confirmação.

Estresse em peixes, assim como em outros animais, resulta tipicamente em dois tipos de respostas endócrinas, a resposta via eixo hipotálamo - hipófise e células interrenais, que culmina com o aumento do cortisol plasmático, e a resposta adrenérgica, que resulta em aumento de

catecolaminas plasmáticas (Brown, 1993). A hipersecreção de catecolaminas e corticoesteróides é considerada uma resposta primária ao estresse que dispara uma ampla variedade de alterações bioquímicas e fisiológicas, denominadas coletivamente de respostas secundárias ao estresse (Thomas, 1990). Os efeitos metabólicos podem incluir: hiperglicemia, depleção das reservas teciduais de glicogênio, lipólise e inibição da síntese protéica. Esta resposta endócrina generalizada, que resulta em rápida mobilização de reservas energéticas, pode ser considerada um mecanismo adaptativo que permite ao organismo um aumento na demanda energética durante a exposição aguda a fatores estressantes. Ao contrário, peixes cronicamente expostos a contaminantes químicos podem apresentar uma redução da glicemia, provavelmente devido à combinação de alguns efeitos como depleção do glicogênio hepático, redução da alimentação e até perda de glicose na urina (Heath, 1987). Por exemplo, Haux *et al.* (1981) observaram que trutas expostas ao chumbo, durante 16 semanas apresentaram redução da glicemia. No presente trabalho os lambaris provenientes dos locais potencialmente mais contaminados apresentaram redução da glicemia (Figura 5b). Este quadro hipoglicêmico pode representar o resultado de um estresse crônico em virtude da qualidade da água do ribeirão Cambé e córrego Capivara.

A grande diversidade do quadro hematológico encontrado entre os peixes pode ser explicada pela ampla distribuição ecológica e geográfica deste grupo (Silva, 1987). Assim sendo, a estimativa de valores normais dos parâmetros hematológicos (por exemplo, conteúdo de hemoglobina) para uma dada espécie de peixe é uma tarefa muito difícil, considerando-se que estes parâmetros podem ser influenciados por vários fatores, tais como: estação do ano, doenças, método de captura do animal, além das alterações ambientais (Heath, 1987). Segundo alguns autores, peixes dulcícolas de ambientes lânticos apresentam valores de concentração de hemoglobina menores que espécies de ambientes lóticos e migradoras (Silva, 1987). Paiva *et al.* (2000), estudando espécies de peixes de valor comercial da planície de inundação do rio Paraná, determinaram os maiores valores de conteúdo de hemoglobina (de 9,7 a 7,3 mg/dL) para espécies migradoras tais como *Prochilodus lineatus*, *Serrasalmus marginatus* e *Pimelodus maculatus*, enquanto os menores valores de [Hb] foram observados para alguns siluriformes de hábitos sedentários (de 4,6 a 4,0 mg/dL). Outros autores registraram concentração de hemoglobina em peixes de água doce de ambientes lânticos de 6,6

g/dL e ao redor de 13 g/dL para espécies de ambientes lóticos e migradoras (Pitombeira, 1972; Ribeiro, 1978; Ranzani-Paiva e Godinho, 1985). Desta forma, os lambaris coletados no ribeirão Cambé e córrego Capivara, de acordo com os valores médios de conteúdo de hemoglobina registrados (6,02 e 5,53 mg/dL, respectivamente), poderiam ser enquadrados dentre as espécies de ambiente lântico. De fato, estes animais foram coletados em pequenos lagos formados pelo ribeirão Cambé ou pelo córrego Capivara, com características típicas de ambientes lânticos.

A exposição a poluentes químicos ou a hipóxia ambiental também pode induzir alterações nestes parâmetros hematológicos. No presente trabalho, a comparação do conteúdo de hemoglobina dos lambaris coletados no Cambé e no Capivara não indicou diferença significativa, entretanto observou-se um pequeno decréscimo deste parâmetro nos animais provenientes do córrego Capivara (Figura 6). Esta redução poderia estar relacionada à presença de chumbo, visto que concentrações elevadas deste metal ($509.9 \pm 71.4 \mu\text{g Pb/L}$) já foram determinadas para a água deste córrego (Yabe e Oliveira, 1998). Além disto, os valores de pH relativamente baixos, determinados para este local (Tabela 2) facilitariam a incorporação de chumbo pelos peixes, visto que os íons metálicos em pH baixos tendem a permanecer em solução. Sabe-se que este metal inibe a enzima δ aminolevulinato desidratase (δ ALAD) que é necessária nos estágios iniciais da síntese de hemoglobina nos tecidos hematopoiéticos. A exposição ao chumbo causa um decréscimo dose - dependente na atividade da δ ALAD eritrocitária em peixes, aves e mamíferos, através da inibição direta desta enzima (Johansson - Sjobeck e Larsson, 1978).

A maior incidência de alterações histológicas e fisiológicas nos lambaris procedentes do lago Igapó IV (ribeirão Cambé) e do córrego Capivara indica claramente o comprometimento da saúde destes peixes e da qualidade da água destes locais, provavelmente em função de uma maior concentração de agentes tóxicos. Estes resultados demonstram que estas áreas impactadas exigem ações mais efetivas no que se refere ao controle da emissão de cargas poluidoras e ao planejamento urbano. Além disto, este trabalho mostra o potencial para utilização de espécies de peixes nativas, como espécies sentinelas, e parâmetros morfofisiológicos, como biomarcadores, em programas de monitoramento ambiental.

Agradecimentos

Os autores são gratos ao IAP (Instituto Ambiental do Paraná) e aos Srs. Edson Santana da Silva e Aparecido de Souza pelo auxílio nas coletas de lambaris, à FINEP pelo auxílio financeiro e ao CNPq/RHAE pela concessão de bolsas IC para E.U.Winkaler e A.G. Silva e bolsa DTI para H.C.Galindo.

Referências

- ADAMS, S.M. *et al.* Application of bioindicators in assessing the health of fish populations experiencing contaminant stress. In: MCCARTHY, J.F.; SHUGART, L.R. (Ed.). *Biomarkers of environmental contamination*. Boca Raton: Lewis Publishers, 1990, p. 333-353.
- AGOSTINHO, C.A. *et al.* Ciclo reprodutivo e primeira maturação sexual de fêmeas do lambari, *Astyanax bimaculatus* (L.) (Osteichthyes - Characidae) do Rio Ivaí, Estado do Paraná. *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, v.44, no.1, p.31-36, 1984.
- BROWN, J. A. Endocrine responses to environmental pollutants. In: RANKIN, J. C.; JENSEN, F. B. (Ed.). *Fish Ecophysiology*. London: Chapman & Hall, 1993, p. 276-296.
- CHRISTENSEN, G. *et al.* The effect of methylmercuric chloride, cadmium, chloride and lead nitrate on six biochemical factors of the brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, Orlando, v.45, p.523-531, 1977.
- GARUTTI, V., BRITSKI, H.A. Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da Bacia do Alto Rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. *Comum. Mus. Ciênc. Tecnol. PUCRS. Ser. Zool.*, Porto Alegre, v.13, p.65-88, 2000.
- GRANEY, R.L. *et al.* Field studies. In: Rand, G.M. (Ed.). *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment*. Washington: Taylor and Francis, 2. ed., 1995, c.9, p. 257-306.
- HAUX, C.; SJOBECK, M.; Larsson, A. Some toxic effects of lead on fish. In: PICKERING, A. D. (Ed.). *Stress and fish*. New York: Academic Press, 1981.
- HEATH, A. G. *Water pollution and fish physiology*. Boca Raton: CRC Press, 1987.
- HINTON, D.E. *et al.* Histopathologic biomarkers. In: HUGGET, R.J. *et al.* (Ed.). *Biomarkers. Biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress*. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992, p. 155-209.
- JOBLING, M. Human impacts on aquatic environments, In: JOBLING, M. (Ed.) *Environmental biology of fishes*, London: Chapman & Hall, 1995.
- JOHANSSON-SJOBECK, M.; LARSSON, A. The effect of cadmium on the hematology and on the activity of delta aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) in blood and hematopoietic tissues of the flounder, *Pleuronectes flesus* L. *Environ. Res.*, Orlando, v.17, p.191, 1978.
- KARNAKY JR., K.J. Osmotic and ionic regulation. In: EVANS, D.H. (Ed.) *The physiology of fishes*. 2.ed. Boca Raton: CRC Press. c.7, p.157-176. 1998.

- LACHER JR., T.E.; GOLDSTEIN, M.I. Tropical ecotoxicology: status and needs. *Environ. Toxicol. Chem.*, Pensacola, v.16, p.100-111, 1997.
- LAURENT, P.; PERRY, S.F. Environmental effects on fish gill morphology. *Physiol. Zool.*, Chicago, v.64, p. 4-25. 1991.
- MALLAT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, Ottawa, v.42, p. 630. 1985.
- MAYER, F.L. et al. Physiological and nonspecific biomarkers. In: HUGGETT, R.J. et al. (Ed.) *Biomarkers - Biochemical, physiological, and histological markers of antropogenic stress*. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992. c.1, p.5-85.
- MEYERS, T.R.; HENDRICKS, J.D. Histopathology. In: RAND G.M.; PETROCELLI, S.R. (Ed.) *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*. Washington, D.C.: Hemisphere Publishing Corporation. p.283-331. 1985.
- ORLANDO, E.F. et al. A comparison of the reproductive physiology of the largemouth bass, *Micropterus salmoides*, collected from the Escambia and Blackwater rivers in Florida. *Environ. Health Perspect.*, Washington, D.C., v.107, no.3, p.199-204, 1999.
- PAIVA, M.J.T.R. et al. Hematological evaluation in commercial fish species from the floodplain of the upper Paraná River, Brazil. *Acta Scientiarum*, Maringá, v.22, no.2, p.507-513, 2000.
- PITOMBEIRA, M.S. *Hematologia do apaiari, Astronotus ocellatus (Cuvier, 1829) peixe teleosteo*. Aspectos morfológicos e fisiológicos. 1972. Tese (Doutorado em Fisiologia) - Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo, 1972.
- RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*. Washington, D.C.: Hemisphere, 1985.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T.; GODINHO, H.M. Estudos hematológicos em curimatá, *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes, Prochilodontidae). *Série Vermelha. Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v.12, no.2, p.25-35, 1985.
- RIBEIRO, W.R. *Contribuição ao estudo da hematologia de peixes: morfologia e citoquímica das células do sangue e dos tecidos hematopoéticos do mandi amarelo, Pimelodus maculatus Lacépède, 1803*. 1978. Tese (Doutorado em Fisiologia) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1978.
- SCHWAIGER, J. et al. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recovery*, Dordrecht, v.6, no.1, p.75-86. 1997.
- SILVA, A.T. *Ecologia molecular de hemoglobinas de Leporinus steindachneri (Eigenmann, 1907) (Anostomidae, Characiformes) de dois lagos do Vale do Rio Doce, MG*. 1987. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- STAGG, R.M. et al. Na^+ , K^+ -ATPase activity in the gills of the flounder (*Platichthys flesus* L.) in relation to mercury contamination in the Firth of Forth. *Environ. Res.*, Orlando, v.33, p.255-266. 1992.
- THOMAS, P. Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring. In: ADAMS, S.M. (Eds.) *Biological indicators of stress in fish*. Maryland: American Fisheries Society. 1990, p. 9-28.
- WALKER, C. H. et al. *Principles of ecotoxicology*. London: Taylor & Francis, 1996.
- YABE, M.J.S.; OLIVEIRA, E.O. Metais pesados em águas superficiais como estratégia de caracterização de bacias hidrográficas. *Química Nova*, v.21, p.551-556, 1998.
- ZAR, J.H. *Biostatistical analysis*. 4 ed. New Jersey: Prentice Hall. 4.ed. 1999.

Received on January 26, 2001.

Accepted on March 25, 2001.