

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

LOCALIZAÇÃO E ORIENTAÇÃO DOS
QUIMIORRECEPTORES DE CO₂ E/OU pH ENVOLVIDOS NO
CONTROLE DOS REFLEXOS CARDIO-RESPIRATÓRIOS E
DA RESPIRAÇÃO AÉREA DE JEJU, *Hoplerythrinus*
***unitaeniatus* (TELEOSTEI, ERYTHRINIDAE)**

CHEILA DE LIMA BOIJINK

SÃO CARLOS – SP

2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

LOCALIZAÇÃO E ORIENTAÇÃO DOS
QUIMIORRECEPTORES DE CO₂ E/OU pH ENVOLVIDOS NO
CONTROLE DOS REFLEXOS CARDIO-RESPIRATÓRIOS E
DA RESPIRAÇÃO AÉREA DE JEJU, *Hoplerythrinus*
***unitaeniatus* (TELEOSTEI, ERYTHRINIDAE)**

CHEILA DE LIMA BOJINK

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutora em Ciências, área de concentração: Fisiologia.

SÃO CARLOS – SP

2004

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar

B678lo

Boijink, Cheila de Lima.

Localização e orientação dos quimiorreceptores de CO₂ e/ou pH envolvidos no controle dos reflexos cardio-respiratórios e da respiração aérea em jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Teleostei, Erythrinidae) / Cheila de Lima Boijink . -- São Carlos : UFSCar, 2004.

82 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2004.

1. Peixe – fisiologia. 2. *Hoplerythrinus unitaeniatus*. 3. Controle cardio respiratório. 4. Quimiorreceptores de CO₂/pH. 5. Respiração aérea.. I. Título.

CDD: 597.01 (20^a)

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Francisco Tadeu Rantin

Ao Valter e Rosely, pela vida

Ao Maurício, pelas recordações

*À Raquel, Luíz Francisco e Leticia, pelas alegrias
e, ao José Fernando, pelo carinho.*

Dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Francisco Tadeu Rantin, pela orientação, confiança e estímulo, meu sincero reconhecimento.

Ao Prof. Dr. William K. Milsom, pelo aprendizado e auxílio na elaboração e execução deste trabalho.

Às Prof^{as} Dra Ana Lúcia Kalinin e Dra Marisa Fernandes pela atenção, carinho e pelas contribuições para que este momento se realizasse.

Ao Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo, pela amizade, sugestões e discussões importantes sobre este trabalho.

Ao Prof. Dr. Gilberto Moraes, pela forma carinhosa que muitas vezes me recebeu, pelas importantes sugestões e pela amizade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da UFSCar.

À CAPES e FAPESP, pelo auxílio financeiro.

Ao técnico de campo Nelson S. A. Matos, pelo auxílio na coleta e manutenção dos peixes.

Aos técnicos José Roberto Sanches e Júlio César Terroni pelas informações, auxílio no laboratório e pela ajuda na manutenção dos equipamentos.

À minha amiga Jane pelo carinho, amizade e ajuda em algumas tarefas.

Aos amigos Cléo, Lenise, Marise, Mônica, Cleoni, Fábio, Guilherme, André, Rosenil, Lyandra, Eliane, Laila, Jeane, Lúcia, Lícia, Luís, Ive, Alexandres, Thiago, Araceli e Cristina pela convivência, carinho e amizade.

À todos professores e funcionários do Departamento de Ciências Fisiológicas, pela convivência, amizade e carinho.

Aos meus pais Valter e Rosely, aos meus irmãos Maurício e Raquel, ao meu cunhado Luíz Francisco e a minha sobrinha Letícia, que me incentivaram nos momentos mais difíceis e que perto ou longe, sempre me apoiaram e me ajudaram a seguir em frente.

Ao amigo José Fernando pelo carinho e incentivo.

A todos que, de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e principalmente para o meu crescimento profissional.

A Deus pela vida e por todos os momentos.

Meus sinceros agradecimentos

ÍNDICE

<u>LISTA DE FIGURAS</u>	i
<u>LISTA DE TABELAS</u>	iv
<u>RESUMO</u>	vi
<u>ABSTRACT</u>	viii
<u>1. INTRODUÇÃO</u>	1
1.1. <u>Objetivos</u>	12
1.2. <u>Aspectos gerais e importância da espécie - Jeju, <i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i> (AGASSIZ, 1829)</u>	13
<u>2. MATERIAL E MÉTODOS</u>	16
2.1. <u>Animais Experimentais</u>	16
2.2. <u>Procedimento Cirúrgico</u>	16
2.3. <u>Protocolo Experimental</u>	19
2.4. <u>Quimiorreceptores CO₂/pH</u>	20
2.4.1. <u>Injeções de CO₂/pH</u>	20
2.4.2. <u>Hipercarbia</u>	21
2.5. <u>Quimiorreceptores H⁺ (pH)</u>	23
2.5.1. <u>Injeções de ácido (HCl)</u>	23
2.5.2. <u>Meio ácido</u>	24
2.6. <u>Frequência de respiração aérea (f_{RA})</u>	24
2.6.1. <u>Hipercarbia</u>	25
2.6.2. <u>Meio ácido</u>	25
2.7. <u>Apresentação dos Dados e Análise Estatística</u>	26
<u>3. RESULTADOS</u>	27
3.1. <u>CO₂</u>	27
3.1.1. <u>Efeito da denervação seletiva nas variáveis cardio-respiratórias em repouso</u>	27

<u>3.1.2. Efeito das injeções de CO₂ interno e externo</u>	28
<u>3.1.3. Efeito da hipercardia</u>	36
<u>3.1.4. Freqüência de respiração aérea</u>	45
<u>3.2. H⁺</u>	47
<u>3.2.1. Efeito das injeções de H⁺ interno e externo</u>	47
<u>3.2.2. Efeito do meio ácido</u>	47
<u>3.2.3. Freqüência de respiração aérea</u>	47
<u>4. DISCUSSÃO</u>	51
<u>4.1. Efeito da denervação seletiva nas variáveis cardio-respiratórias em repouso</u>	51
<u>4.2. Injeções CO₂ e/ou pH</u>	51
<u>4.2.1. Concentrações de CO₂ nas respostas cardio-respiratórias</u>	51
<u>4.2.2. Quimiorreceptores internos <i>versus</i> externos</u>	52
<u>4.2.3. Localização dos quimiorreceptores de CO₂/pH</u>	53
<u>4.2.4. Quimiorreceptores de CO₂ <i>versus</i> H⁺</u>	56
<u>4.3. Hipercardia</u>	57
<u>4.3.1. Respostas cardiovasculares</u>	57
<u>4.3.2. Respostas respiratórias</u>	59
<u>4.4. Meio ácido</u>	60
<u>4.5. Respiração aérea</u>	61
<u>4.6. Quimiorreceptor CO₂ <i>versus</i> O₂ em peixes tropicais</u>	62
<u>5. CONCLUSÕES</u>	66
<u>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	67

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Exemplar de jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus*. **13**
- Figura 2.** Diagrama da disposição das cânulas para obtenção dos registros das variáveis cardio-respiratórias (f_R , V_{AMP} , f_H e P_a) e aplicação de injeções internas e externas para induzir hipercarbia e acidose no jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus*. **18**
- Figura 3.** Área dorsal da câmara branquial esquerda de jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus*. Aspecto geral dos ramos branquiais dos nervos cranianos IX (glossofaringeano) e X (vago). **19**
- Figura 4.** Relação entre pH da água, porcentagem de CO_2 e P_{CO_2} (mmHg) da câmara experimental de *H. unitaeniatus* durante exposição à hipercarbia (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO_2). O pH 6.8 indica a condição de normocarbia. **22**
- Figura 5.** Diagrama do sistema experimental usado para registrar a frequência e tempo de permanência da respiração aérea de jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus*, durante normocarbia, hipercarbia e meio ácido. **25**
- Figura 6.** Efeito das injeções externas enriquecidas com 5% (A e B), 10% (C e D) e 20% de CO_2 (E e F) nas respostas cardíacas (f_H e P_a) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ☆ - Grupo intacto (n = 10); ≡ - Grupo IX (n = 10); ▣ - Grupo G1 (n = 10); π - Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M. **30**
- Figura 7.** Efeito das injeções externas enriquecidas com 5% (A e B), 10% (C e D) e 20% de CO_2 (E e F) nas respostas respiratórias (f_R e V_{AMP}) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ☆ - Grupo intacto (n = 10); ≡ - Grupo IX (n = 10); ▣ - Grupo G1 (n = 10); π - Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M. **33**

Figura 8. Efeito das injeções externas enriquecidas com 5% (A), 10% (B) e 20% de CO₂ (C) na ventilação total (V_{TOT}) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ★ - Grupo intacto (n = 10); ■- Grupo IX (n = 10); ▣ - Grupo G1 (n = 10); π- Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.34

Figura 9. Efeito da hipercarbia gradual (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) sobre a frequência cardíaca (f_H) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ★ - Grupo intacto (n = 10); ■- Grupo IX (n = 10); ▣ - Grupo G1 (n = 10); π- Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (NC = normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.37

Figura 10. Efeito da hipercarbia gradual (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) sobre a pressão arterial (P_a) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ★ - Grupo intacto (n = 10); ■- Grupo IX (n = 10); ▣ - Grupo G1 (n = 10); π- Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (NC = normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.38

Figura 11. Efeito da hipercarbia gradual (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) sobre a frequência respiratória (f_R) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ★ - Grupo intacto (n = 10); ■- Grupo IX (n = 10); ▣ - Grupo G1 (n = 10); π- Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (NC = normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.41

Figura 12. Efeito da hipercarbia gradual (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) sobre a amplitude da ventilação (V_{AMP}) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ★ - Grupo intacto (n = 10); ■- Grupo IX (n = 10); ▣ - Grupo G1 (n = 10); π- Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (NC = normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.42

Figura 13. Efeito da hipercarbia gradual (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) sobre a ventilação total (V_{TOT}) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ★ - Grupo intacto (n = 10); ■- Grupo IX (n = 10); ▣ - Grupo G1 (n = 10); π- Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (NC = normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.43

Figura 14. Efeito da hipercarbia gradual (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) sobre a frequência (f_{RA}) (A) e o tempo de permanência dos eventos de respiração aérea (T_{RA}) (B) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ★ - Grupo intacto (n = 10); ■- Grupo IX (n = 10); ▣ - Grupo G1 (n = 10); π- Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (NC = normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.46

LISTA DE TABELAS

<u>Tabela I. Valores de repouso das variáveis cardio-respiratórias, em jejú (<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>), intacto e denervado (IX, G1 e G4)....</u>	27
<u>Tabela II. Efeito das injeções internas de CO₂ (5, 10, 20% de CO₂) nas variáveis cardio-respiratórias de jejú (<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>) intactos.....</u>	28
<u>Tabela III. Efeito das injeções externas (5, 10, 20% de CO₂) nas variáveis cardiovasculares de jejú (<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>) intactos e denervados.....</u>	31
<u>Tabela IV. Efeito das injeções externas (5, 10, 20% de CO₂) nas variáveis respiratórias de jejú (<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>) intactos e denervados</u>	35
<u>Tabela V. Efeito da exposição à hipercarbia (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) nas variáveis cardiovasculares de jejú (<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>) intactos e denervados</u>	39
<u>Tabela VI. Efeito da exposição à hipercarbia (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) nas variáveis cardiovasculares de jejú (<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>) intactos e denervados</u>	44
<u>Tabela VII. Efeito das injeções internas (pH - 5.12, 4.90 e 3.72) e externas (pH - 5.63, 5.33 e 4.70) de H⁺ nas variáveis cardio-respiratórias em jejú (<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>) intactos.....</u>	48
<u>Tabela VIII. Efeito das injeções internas e externas de H⁺ (30, 40 e 50 mM) nas variáveis cardio-respiratórias, em jejú (<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>) intactos.....</u>	49
<u>Tabela IX. Efeito da exposição ao meio ácido - HCl (pH – 6.0, 5.8, 5.6, 5.3 e 4.7) nas variáveis cardiovasculares de jejú (<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>) intactos.....</u>	50

<u>Tabela X. Efeito da exposição ao meio ácido (1, 2, 3, 4 e 5 mM de HCl) nas variáveis cardiovasculares de jeju (<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>) intactos.....</u>	50
---	-----------

<u>TABELA XI. Localização, inervação e orientação dos quimiorreceptores envolvidos nos reflexos cardio-respiratórios de peixes tropicais.....</u>	65
---	-----------

RESUMO

O presente estudo determinou a localização e orientação dos quimiorreceptores de CO₂ e/ou pH, analisou as respostas cardio-respiratórias e a frequência de respiração aérea em jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) durante hipercarbia gradual (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) e meio ácido (pH ~ 7, 6.0, 5.8, 5.6, 5.3 e 4.7) (1, 2, 3, 4 e 5 mM de HCl). A orientação dos quimiorreceptores foi determinada pela aplicação de uma série de injeções com diferentes soluções hipercárbicas (5, 10 e 20% de CO₂) na veia caudal (interna) e na cavidade bucal (externa). Para distinguir a orientação dos quimiorreceptores de CO₂ e do H⁺, foram aplicadas soluções ácidas (HCl) de mesmo pH encontrado nas soluções hipercárbicas internas (pH 5.1, 4.9 e 3.7) e externas (pH 5.6, 5.3 e 4.7), não havendo resposta significativa em relação à injeção controle. Em outro grupo de animais foram injetadas soluções ácidas (30, 40 e 50 mM de HCl), previamente testadas, que diminuíram o pH extracelular sanguíneo a valores aproximados aos encontrados durante a aplicação das soluções hipercárbicas internas e externas. A localização foi determinada por denervações bilaterais do IX (glosssofaríngeo) e X (vago) nervos cranianos dos arcos branquiais. Durante estes procedimentos foram registradas a frequência cardíaca, pressão arterial, frequência e amplitude ventilatória. Os resultados indicaram que a localização dos quimiorreceptores de CO₂/pH no jeju que controlam as respostas cardio-respiratórias são exclusivamente branquiais e os receptores estão orientados externamente. O jeju responde a hipercarbia de 5% de CO₂ com uma bradicardia, hipertensão e aumento na frequência e na amplitude ventilatória; e concentrações acima de 5% apresentam um efeito anestésico. As respostas cardíacas são mediadas por quimiorreceptores de CO₂/pH localizados nas brânquias, tanto no 1^o arco branquial quanto nos demais e as respostas respiratórias são mediadas preferencialmente por quimiorreceptores localizados no 1^o arco branquial. Além disso, a hipercarbia também induz a respiração aérea em animais intactos e com o 1^o arco branquial denervado. A denervação dos 4 arcos branquiais não aboliu completamente a respiração aérea, o que sugere que os quimiorreceptores envolvidos nesta resposta estão localizados em sítios extrabranquiais. As

mudanças nas concentrações externas e internas de H^+ ou no meio experimental não afetam as respostas cardio-respiratórias e frequência de respiração aérea a menos que acompanhado pela hipercarbica.

ABSTRACT

In the present study we determined the location and orientation of the CO₂ and/or pH chemoreceptors and analyzed the cardio-respiratory responses and the aerial respiration in jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) during graded hypercarbia (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) and acid medium (pH ~ 7, 6.0, 5.8, 5.6, 5.3 e 4.7) (1, 2, 3, 4 e 5 mM de HCl). The chemoreceptors orientation was determined by means of a series of injections of different hypercarbic solutions (5, 10 e 20% de CO₂) in the caudal vein (internal) and buccal cavity (external). To distinguish the orientation of the CO₂ and H⁺ chemoreceptors, acid solutions (HCl) at same pH of the internal (pH 5.1, 4.9, and 3.7) and external (pH 5.6, 5.3, and 4.7) solutions were applied, and significant responses in relation to the control values were not recorded. In another group of fish previously tested acid solutions (30, 40, and 50 mM HCl) were injected. This injections caused a decrease in the extra-cellular blood pH to levels similar to those found during the injections of internal and external hypercarbic solutions. The location of the chemoreceptors was determined by bilateral denervation of branches of the cranial nerves IX (glossopharyngeal) and X (vagus) to the gills. The heart rate, arterial blood pressure, respiratory frequency and ventilation amplitude were recorded for intact and denervated fish. The data indicated that the CO₂/pH chemoreceptors eliciting the cardio-respiratory responses to hypercarbia are exclusively branchial and are externally oriented. Jeju respond to hypercarbia of 5% CO₂ with bradycardia, hypertension and increases in the ventilatory frequency and ventilation amplitude. Concentrations higher than 5% caused anesthetic effect. The cardiac responses are mediated by CO₂/pH chemoreceptors distributed in all gill arches, while the respiratory responses are mediated by chemoreceptors located in the 1st gill arch. Furthermore, hypercarbia also induced aerial respiration in intact fish and in those with the 1st gill arch denervated. The denervation of the four gill arches did not abolish completely the aerial respiration, suggesting that chemoreceptors involved in this response are located in extra-branchial sites. The changes in the internal and external H⁺ concentrations or in the water did not affect the cardio-respiratory responses and aerial respiration frequency, unless if accompanied by hypercarbia.

1. INTRODUÇÃO

Nos ecossistemas aquáticos, a fotossíntese é a fonte primária de energia, gerando material orgânico que serve como alimento básico na cadeia alimentar. Através da fotossíntese, o fitoplâncton produz 50 a 95% do oxigênio da água. No entanto, o plâncton chega a consumir cerca de 50 a 80% do oxigênio em processos respiratórios. Sendo assim, é necessário que haja um equilíbrio entre fotossíntese e a respiração para que as concentrações de O_2 e CO_2 da água se mantenham (BOYD, 1990).

Nos ambientes aquáticos tropicais, em circunstâncias onde a respiração excede a fotossíntese, ocorre um balanço negativo nos níveis de oxigênio dissolvido na água, aumentando assim a concentração de CO_2 . Devido à reação ácida do gás carbônico na água esta causa uma diminuição nos valores de pH. Segundo ESTEVES (1988), não só a respiração dos organismos aquáticos, mas os processos microbiológicos de decomposição da matéria orgânica são também fontes de gás carbônico.

A pressão parcial do CO_2 da água em condições normais é menor que 1 mmHg e no sangue dos peixes de respiração aquática é de aproximadamente 2 - 3 mmHg (HOWELL, 1970; CAMERON & RANDALL, 1972, RANDALL & CAMERON, 1973). Em peixes de respiração aérea obrigatória ou acessória a P_aCO_2 é maior. Por exemplo, em jeju a P_aCO_2 (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) é 10 - 12 mmHg (RANDALL et al., 1978). Em águas naturais a concentração de CO_2 pode apresentar variações normais de 1 a 6 mmHg. Em condições adversas um aumento de 10 mmHg de CO_2 na água inspirada pode acarretar uma redução de 0,4 - 0,5 unidades de pH plasmático (HEISLER, 1984, 1993). O efeito negativo primário desta acidose extracelular é uma diminuição da capacidade do sangue em carregar o O_2 , como uma consequência dos Efeitos Root e Bohr (HEISLER, 1984). A acidose hipercápnica severa causa também uma redução no pH intracelular (pHi), e interfere no metabolismo celular através de alterações nas funções das proteínas sensíveis ao pH (HEISLER, 1984, 1993). Sendo assim, um aumento considerável nos níveis de CO_2 na água ocasionará um estresse fisiológico. Os peixes apresentarão dificuldades respiratórias, perturbações do equilíbrio ácido-base e osmorregulatórios, entre

outros e, associado a isto, atraso no crescimento, redução na eficiência alimentar, aumento na incidência de doenças e mortalidades (BOYD, 1990). Para minimizar a acidose hipercápnica, os teleósteos compensam com ajustes cardio-respiratórios além da regulação íono e osmorregulatória (MCKENZIE et al., 2003).

A principal função do sistema de troca gasosa é satisfazer os requerimentos metabólicos das células com O_2 e remover o CO_2 produzido pelo metabolismo celular. A demanda metabólica dos tecidos abastecidos pelo O_2 e a remoção de CO_2 são amplamente variáveis, e esta variação ocorre também em função das diferentes tensões de O_2 e CO_2 ambiental. Portanto, é essencial que o animal apresente características fisiológicas e/ou morfológicas para sentir e responder às mudanças nos níveis de gases do meio. Assim, as trocas gasosas podem também ser equilibradas em função da demanda do metabolismo (GILMOUR, 2001).

Alguns peixes apresentam adaptações morfológicas e/ou fisiológicas que atuam no sentido de preservar suas funções frente a condições adversas do ambiente. Dentre os exemplos mais conhecidos podemos citar o edema labial reversível, apresentado pelo tambaqui, *Colossoma macropomum*, em resposta à hipóxia ambiental. Peixes de respiração aérea facultativa (ou acessória) e obrigatória, apresentam respiração por meio de câmaras branquiais (muçum, *Symbranchus marmoratus*), vascularizações intestinais (tamboatás, *Hoplosternum* e *Callichthys*), estomacais (*Hypostomus* e *Plecostomus*) (ESTEVES, 1988) ou na bexiga natatória (jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus*) (CARTER & BEADLE, 1931; JOHANSEN, 1970; GRAHAN et al., 1978; RANTIN & KALININ, 1996; KRAMER et al., 1978; MORON et al., 1994).

A respiração aérea é uma adaptação comum em espécies que ocorrem em estuários e águas doces tropicais, onde condições de escassez do oxigênio dissolvido são mais freqüentes (DEHADRAI & TRIPATHI, 1976; GLASS et al., 1986; SAINT-PAUL & SOARES, 1987; ALMEIDA-VAL & VAL, 1990; ALMEIDA-VAL et al., 1993; GRAHAM, 1997). Os órgãos utilizados na respiração aérea são bastante diversificados entre os teleósteos. As modificações desses órgãos indicam que a respiração aérea desenvolveu-se independentemente em várias famílias de teleósteos tropicais. Portanto, são adaptações espécie-específicas (JOHANSEN, 1970; DEHADRAI & TRIPATHI,

1976; KRAMER et al., 1978; HEATH, 1995; VAL & ALMEIDA-VAL, 1995; GRAHAM, 1997).

A bexiga natatória, em muitos peixes fisóstomos apresenta função respiratória, por exemplo, em holósteos e teleósteos. Os dois gêneros de holósteos, *Amia* e *Lepisosteus*, apresentam bexigas natatórias com função respiratória (FANGE, 1973). Por outro lado, na maioria dos teleósteos esta estrutura está mais associada às funções hidrostática, produção e percepção de sons (ALEXANDER, 1966). Apesar disso, a utilização da bexiga natatória como órgão respiratório é amplamente difundida entre os teleósteos, a exemplo de *Gymnotus*, *Umbra*, *Mystus*, *Piabucina*, *Hoplerythrinus*, *Erythrinus* e *Arapaima* (CARTER & BEADLE, 1931; GRAHAM et al., 1977; NATARAJAN, 1979; GEE, 1980; LIEM et al., 1984).

Poucos eventos na história da vida dos vertebrados apresentam tanta importância quanto a transição da vida aquática para a terrestre. Tal transição é inseparável do desenvolvimento dos órgãos de respiração acessória, possibilitando a direta utilização do O₂ do ar atmosférico. Os peixes ocupam crucial posição filogenética a este respeito, demonstrando exemplos numerosos e extremamente variados de como o processo respiratório na água (brânquias) é modificado ou ajudado pelos órgãos de respiração aérea. Por isso, a respiração aérea em peixes merece considerável atenção, não somente porque tem uma profunda importância na evolução direta dos vertebrados, mas por tornar acessível o mecanismo fisiológico das mudanças de gás na água e ar (JOHANSEN, 1966).

Durante períodos de seca em regiões tropicais, algumas espécies de peixes podem ficar confinadas durante semanas ou meses em lagoas marginais com águas hipóxicas e/ou hipercárbicas, e as adaptações morfológicas e/ou fisiológicas aumentam consideravelmente a probabilidade de sobrevivência desses peixes nessas condições (KRAMER et al., 1978). Dessa forma, vivendo em ambientes tão variáveis, as espécies de peixes tropicais tornaram-se adaptadas a condições extremas, iniciando suas respostas adaptativas logo que o animal detecte uma mudança no ambiente, diretamente, por meio de seu sistema neurosensorial, ou indiretamente, pelos efeitos sobre seus processos fisiológicos e bioquímicos (VAL, 1993).

Estudos indicam que a respiração é um dos processos fisiológicos que mais depende das flutuações do O_2 e CO_2 no ambiente, particularmente nos organismos aquáticos, podendo assim ser utilizada como um parâmetro para caracterizar espécies, populações e adaptações individuais ao meio ambiente (WOOD & JOHANSEN, 1972; ALMEIDA-VAL & VAL, 1990; PERRY & LAURENT, 1993).

A função das brânquias nos peixes que apresentam órgão acessório para respiração aérea é bastante diversificada. Mas, de qualquer forma, são as brânquias a primeira interface entre o animal e o meio aquático. A difusão das trocas gasosas nas brânquias dos teleósteos é mais dificultada pela excreção de CO_2 do que pela captação de O_2 (PERRY, 1986; PIIPER, 1989; GILMOUR, 1997; TUFTS & PERRY, 1998), pois o coeficiente de difusão branquial é significativamente maior para o CO_2 do que para o O_2 . A habilidade do sangue lamelar realizar o equilíbrio com a água externa é influenciada por muitos fatores. Estes fatores incluem: a alta solubilidade do CO_2 no sangue (SWENSON, 1990), a dependência da excreção de CO_2 e afinidade com a hemoglobina (Efeito Haldane) (PERRY & GILMOUR, 1993; BRAUNER & RANDALL, 1996, 1998; BRAUNER et al., 1996), a baixa diferença de tensão (sangue \rightarrow água) e a conversão do HCO_3^- em CO_2 durante a passagem do sangue pela circulação branquial (JULIO et al., 2000).

Devido à solubilidade do CO_2 na água ser maior do que a do O_2 , acredita-se que os ajustes cardio-respiratórios e a frequência de respiração aérea são primeiramente desencadeados pela taxa de O_2 e secundariamente pelas mudanças de CO_2 e/ou pH. Mas, o fato de que a entrada de O_2 ser regulada pela excreção de CO_2 em peixes sugerem que os ajustes cardio-respiratórios também podem ser desencadeados pelas mudanças de CO_2 e/ou pH. Embora não haja dúvidas de que as respostas cardio-respiratórias em peixes sejam controladas pelo requerimento de O_2 , cada vez mais evidências experimentais sugerem que um significativo controle cardio-respiratório seja desencadeado pelo CO_2 e/ou pH. Por exemplo, respostas hiperventilatórias desencadeadas pelos baixos níveis de O_2 (hipóxia) também ocorrem com o aumento de CO_2 (hipercarbia). Em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) exposta a combinação de hipercarbia e hipóxia ($PCO_2 = 5$ mmHg; $PO_2 = 60$ mmHg) foi observado uma hiperventilação significativamente alta em relação a peixes expostos apenas a

hipóxia (BORCH et al., 1993). Também se observou em truta arco-íris que a hipoventilação apresentada pelos peixes expostos a águas hiperóxicas, foi eliminada pelo aumento da PCO_2 da água hiperóxica (KINKEAD & PERRY, 1991) atingindo-se uma hiperventilação similar às observadas sob condição hipercárbica normóxicas (THOMAS et al., 1983; BURLESON & SMATRESK, 2000). Além disso, a hiperventilação induzida em truta arco-íris por exposição a água de $PCO_2 = 8 - 11$ mmHg pode ser atenuada, mas não eliminada, pelo aumento da PO_2 na água inspirada (SMITH & JONES, 1982). Estas observações demonstram que os peixes também são responsivos ao CO_2/pH .

As respostas ao ambiente hipercárbico podem variar. Por exemplo, a enguia, *Anguilla anguilla* (MCKENDRY, 2000), a carpa, *Cyprinus carpio* (SONCINI & GLASS, 2000), o tambaqui (SUNDIN et al., 2000) e a traíra, *Hoplias malabaricus* (REID, et al., 2000) quanto expostos a 6 mmHg de CO_2 , e o goldfish, *Carassius auratus* (DEJOUR, 1973) exposto a 24 mmHg não apresentam hiperventilação quando expostos à curto prazo. O tambaqui (SUNDIN et al., 2000) e a traíra (REID, et al., 2000), no entanto, hiperventilam quando expostos em água acima de 33 mmHg. A truta arco-íris (BERNIER & RANDALL, 1998) exposta a mais de 37 mmHg de CO_2 compromete seu tamponamento fazendo com que os animais se tornem anestesiados e causando um efeito hipoventilatório. A concentração letal (CL_{50}) para o dióxido de carbono é de 52 - 47 mmHg, para seabass (*Dicentrarchus labrax*) exposto por 48 - 120 h. Os conhecimentos de tolerância e respostas estimuladas pelo aumento CO_2 para diferentes espécies de peixes, são limitados em relação ao O_2 (GROTTUM & SIGHOLT, 1996).

Estudos mostram que as respostas de peixes ao aumento da concentração de CO_2 no ambiente (hipercarbia) têm sido caracterizadas por ajustes ventilatórios, em geral uma hiperventilação (JANSSEN & RANDALL, 1975; THOMAS & LE RUZ, 1982; SMITH & JONES, 1982; REID et al., 2000; BURLESON & SMATRESK, 2000; PERRY & MCKENDRY, 2001; MCKENDRY & PERRY, 2001; MCKENDRY et al., 2001; GILMOUR, 2001; MILSOM et al., 2002a; PERRY & REID, 2002) e ajustes cardiovasculares, incluindo a bradicardia (KENT & PEIRCE, 1978; PERRY et al., 1999; SUNDIN et al., 2000; REID et al., 2000; MCKENDRY & PERRY, 2001; MCKENDRY et al., 2001; PERRY & REID, 2002), assim como um aumento na resistência vascular

sistêmica em salmonídeos e dogfish, *Squalus acanthias* (PERRY et al., 1999; MCKENDRY & PERRY, 2001). A maioria dos estudos, porém, tem dado mais ênfase às conseqüências ventilatórias (GILMOUR, 2001) do que ao sistema cardiovascular. Apesar disso, os dados disponíveis mostram que a bradicardia parece ser a mais consistente resposta cardiovascular induzida pela hipercarbia entre as espécies examinadas (HUGHES & SHELTON, 1962; BURLESON et al., 1992; PERRY et al., 1999; CROCKER et al., 2000; SUNDIN et al., 2000; REID et al., 2000; MCKENDRY et al., 2001). Por muito tempo as respostas respiratórias, talvez o que justifica a grande quantidade de estudos, foram atribuídas a efeitos diretos e indiretos (SMITH & JONES, 1982; RANDALL & TAYLOR, 1991; PERRY et al., 1992). Admitia-se que a hiperventilação poderia ser o resultado de um decréscimo na concentração de oxigênio no sangue (hipoxemia) induzida pela acidose, via efeito Bohr e Root (SMITH & JONES, 1982; ver revisões PERRY & WOOD, 1989; RANDALL, 1990). No entanto, estudos com peixes que não apresentam os efeitos Bohr e Root, mas que apresentam respostas ventilatórias à hipercarbia e vice-versa, ajudaram a esclarecer esta dúvida. Por exemplo, o goldfish, que apresenta efeito Bohr e Root, não hiperventila durante hipercarbia ou exposição em ambiente ácido (DEJOURS, 1973), e elasmobrânquios, que não apresentam efeito Bohr e Root, mostram resposta hiperventilatória durante a hipercarbia (BUTLER & TAYLOR, 1971). Isto sugere que a elevação da concentração de CO₂ é capaz de desencadear respostas cardio-respiratórias diretamente via interação com quimiorreceptores específicos de CO₂/pH, independente da concentração de O₂ no sangue (BUTLER & TAYLOR, 1971; REID et al., 2000; SUNDIN et al., 2000; HEISLER et al., 1988; GRAHAM et al., 1990; KINKEAD & PERRY, 1991; MILSOM, 1995a,b; PERRY & GILMOUR, 1996; GILMOUR, 2001; BURLESON & SMATRESK, 2000). Também foi sugerido que os níveis de catecolaminas circulantes, liberadas em resposta ao ambiente hipercárbico, e injeções internas de ácido, sejam responsáveis pelo aumento da ventilação (RANDALL & TAYLOR, 1991). Alguns estudos mostram que a acidose induz a liberação de catecolaminas e que, em algumas circunstâncias, os níveis de catecolaminas e a ventilação são elevados (BOUTILIER et al., 1986; AOTA et al., 1990). Mas, PERRY et al. (1992) mostraram que o aumento dos níveis de catecolaminas circulante não pode exercer efeito na ventilação e que a

liberação de catecolaminas não é devido à hipercarbia mas sim à correlação com a diminuição de O_2 no sangue. Estas evidências sugerem que a hipercarbia e/ou hipercapnia podem causar aumentos ventilatórios diretos, independente das mudanças na pressão arterial ou nos níveis de catecolaminas no plasma (BUTLER & TAYLOR, 1971; HEISLER et al. 1988; PERRY & KINKEAD, 1989; WOOD et al., 1990; BURLESON et al. 1992).

A respiração aérea também pode ser promovida pela exposição a ambientes hipercárbicos nas espécies que apresentam respiração aérea obrigatória ou acessória, mas não em todas as espécies (SMATRESK & CAMERON, 1982; MILSOM, 2002). A concentração de CO_2 aquático requerido para estimular a respiração aérea é de 2 - 10 % em diferentes espécies (ver MILSOM, 2002). Em algumas espécies, a respiração aérea é estimulada antes de cessar a ventilação branquial (JESSE et al., 1967; HUGHES & SINGH, 1970; GRAHAM et al., 1977). Segundo MILSOM (2002) a natureza das respostas parece depender da eficácia da ventilação branquial em eliminar CO_2 . Na progressão filogenética dos vertebrados aquáticos para terrestres, ou seja, a mudança do meio respiratório (água para o ar) observa-se um aumento da capacidade de difusão de O_2 , acompanhada pelas mudanças na P_aCO_2 , P_aO_2 e pH_a , assim como um aumento da sensibilidade dos animais ao CO_2/pH (SHELTON et al., 1986). Com esta progressão, observou-se a importância dos quimiorreceptores respiratórios responsivos às mudanças de CO_2/pH em vertebrados de respiração aérea obrigatória ou acessória (TENNEY & LEITER, 1995). Mas a grande variabilidade de respostas reflete as adaptações de diferentes espécies em função do ambiente, comportamento e fisiologia (RAHN & HOWELL, 1976; GRAHAM, 1985; KRAMER & GRAHAM, 1976; GRAHAM & BAIRD, 1984; GEE, 1986; HILLMAN & WHITERS, 1987; MILSOM, 2002). Muitas destas respostas surgem da especificidade do estímulo e da sensibilidade dos diferentes quimiorreceptores envolvidos em desencadear esta resposta (MILSOM, 1998).

As informações atuais mostram que a hipercarbia desencadeia respostas respiratórias em peixes, mas os caminhos sensoriais utilizados para detectar e responder às mudanças nas tensões de CO_2 ainda são pouco conhecidos (PERRY & WOOD, 1989; MILSOM, 1995 a,b; REID, et al, 2000). Como visto, os teleósteos podem apresentar diferentes mecanismos

adaptativos, que os capacitam a enfrentar as flutuações ambientais e manterem sua homeostase respiratória. Mas o sucesso ecológico das espécies, neste particular, depende de sua capacidade em detectar as mudanças nos níveis de CO₂ e de utilizar informações sensoriais para efetuar ajustes rápidos e apropriados nas atividades cardio-respiratórias (FRITSCH & NILSSON, 1993). A produção, integração e otimização dos movimentos respiratórios e modulação da frequência cardíaca, são o resultado do processamento central de uma grande variedade de percepções sensoriais provenientes de diferentes grupos de receptores. Isto inclui os quimiorreceptores, que monitoram a tensão dos gases, interna (sangue) e externamente (água) e o equilíbrio ácido-base (MILSOM, 1997). Em vista disso, uma variedade de arcos reflexos tem sido considerada como responsável pela recepção e acionamento de mecanismos de compensação relacionados às oscilações dos níveis de O₂ e do CO₂/pH.

Informações sobre a localização, orientação e o papel fisiológico dos quimiorreceptores periféricos de CO₂ e/ou pH em peixes, comparadas às existentes sobre quimiorreceptores de O₂ (ver revisão de GILMOUR, 2001) são escassas. Das espécies já estudadas podemos citar a truta arco-íris (PERRY et al., 1999; MCKENDRY & PERRY, 2001; PERRY & REID, 2002), o catfish, *Ictalurus punctatus* (BURLESON & SMATRESK, 2000), o tambaqui (SUNDIN et al., 2000), a traíra (REID et al., 2000), o dogfish (MCKENDRY et al., 2001; PERRY & MCKENDRY, 2001) e o salmão do Atlântico, *Salmo salar* (PERRY & MCKENDRY, 2001). A técnica mais utilizada para a localização destes quimiorreceptores é a denervação branquial dos nervos cranianos IX (glossofaríngeo) e X (vago), pois existem fortes evidências de que eles estejam localizados nas brânquias e possam estar envolvidos no controle cardio-respiratório. Secção de nervos foram feitas em diferentes espécies de peixes e tem-se obtido resultados semelhantes. Com a denervação do IX nervo craniano branquial e do X tem-se observado uma eliminação das respostas a hipercarbica em traíra (REID et al., 2000), tambaqui (SUNDIN et al., 2000), catfish (BURLESON & SMATRESK, 2000) e dogfish (MCKENDRY et al., 2001). Os resultados com traíra e tambaqui, indicam que os quimiorreceptores sensíveis ao CO₂/pH envolvidos na produção das respostas ventilatórias e cardiovasculares estão distribuídos ao longo de todos os arcos branquiais e

são inervados pelos nervos cranianos branquiais IX e X. Os dados destes estudos também indicam que possam existir receptores extrabranquiais envolvidos nas respostas cardio-respiratórias. REID et al., (2000) observaram um aumento na amplitude ventilatória em traíra submetida a hipercarbia que não foi completamente abolida pela denervação total em todos os peixes. Como nos quimiorreceptores de O_2 extrabranquiais, o local pode ser a cavidade orobranquial ou sistema nervoso central (BURLESON, 1995; REID et al., 2000). De fato quimiorreceptores palatinos que são sensíveis ao CO_2 e/ou pH apenas foram encontrados em truta arco-íris (YAMASHITA et al., 1989), enguia (YOSHII et al., 1980) e carpa (KONISHI et al., 1969). Tais quimiorreceptores apresentam um papel no sistema gustativo, mas não se sabe se eles também mediam os efeitos cardio-respiratórios.

Segundo PERRY et al., 1999; BURLESON & SMATRESK, 2000; SUNDIN et al., 2000; REID et al., 2000; CROCKER et al., 2000; MCKENDRY & PERRY, 2001; MCKENDRY et al., 2001, existem quimiorreceptores de CO_2 e/ou pH branquiais (periféricos) em peixes, mas ainda existem algumas dúvidas quanto a sua orientação, se estes estão voltados externamente (água) e/ou internamente (sangue), sendo sensíveis às mudanças na PCO_2 tanto da água que banha as brânquias quanto do sangue que perfunde as mesmas. As respostas cardio-respiratórias se iniciam com um aumento da tensão de CO_2 /pH na água inspirada (REID, et al., 2000) sugerindo a existência de pelo menos uma população de receptores orientados externamente. Esta hipótese é sustentada por recentes experimentos com dogfish e salmão do Atlântico (PERRY & MCKENDRY, 2001) e com truta arco-íris (MCKENDRY & PERRY, 2001) onde se observou que as respostas cardio-respiratórias associadas a hipercarbia são mediadas exclusivamente por quimiorreceptores orientados externamente. Injeções internas (sangue) e externas (cavidade bucal) de ácido clorídrico e de diferentes concentrações de CO_2 também têm ajudado a elucidar a orientação destes quimiorreceptores. Desta forma pode-se determinar os sítios sensíveis ao CO_2 e/ou pH que, quando estimulados, enviam informações sensoriais para que ocorra um processamento central e assim se efetuem ajustes apropriados às atividades cardio-respiratórias (MILSOM, 1997).

A presença de quimiorreceptores centrais de CO_2/pH em peixes, principalmente de respiração aérea, também tem sido investigada, devido à sua existência e importante papel no controle da ventilação em vertebrados terrestres (MILSOM, 1995a, b). No entanto, manipulações da PCO_2 e/ou pH no fluido extradural circundante do cérebro de bowfin, *Amia calva*, não tem efeito sobre a ventilação (HEDRICK et al., 1991; MCKENZIE et al., 1991). Também não ocorre hiperventilação durante aplicação de solução hipercárbica no fluido cerebrospinal de arraia, *Raja ocellata* (GRAHAM et al., 1990; WOOD et al., 1990). Uma avaliação mais rigorosa mostrou que o gar, *Lepisosteus osseus*, peixes de respiração aérea acessória, apresenta quimiorreceptores centrais sensíveis ao CO_2/pH que controlam a frequência de respiração aérea, mas não a ventilatória. Esta observação foi possível através do isolamento do cérebro (WILSON et al., 2000). Outra evidência da existência de quimiorreceptores centrais em peixes é relatada por SANCHEZ et al. (2001) com o peixe pulmonado Sul Americano, pirambóia (*Lepidosiren paradoxa*). Perfusões no IV ventrículo cerebral alterando o pH do fluido cerebrospinal causam aumento na ventilação e na frequência respiratória das pirambóias. Embora existam estas evidências para quimiorrecepção central de CO_2 , pelo menos em peixes de respiração aérea (WILSON et al., 2000), admite-se que os receptores branquiais periféricos sejam o local predominante para detectar o CO_2 em peixes (BURLESON & SMATRESK, 2000; SUNDIN et al., 2000; REID et al., 2000; MCKENDRY et al., 2001; PERRY & REID, 2002; GILMOUR, 2001).

Das informações disponíveis sobre respostas fisiológicas em peixes submetidos a hipercarbia persiste a dúvida: Os quimiorreceptores respondem as mudanças na PCO_2 ou ao aumento da $[\text{H}^+]$? MILSOM (1995a) sugere que a hiperventilação decorrente da hipercarbia pode ser uma consequência da interação de mudanças na PCO_2 e pH arterial agindo em receptores separados. Porém, estudos sobre o relativo papel do CO_2 versus pH ($[\text{H}^+]$) demonstram que mudanças nas concentrações externas ou internas de H^+ não afetam a ventilação, a menos que acompanhadas de hipercarbia (JANSSEN & RANDALL, 1975; THOMAS & LE RUZ, 1982). Alguns estudos examinando a contribuição do CO_2 versus H^+ mediando a resposta à hipercarbia salientam quase que exclusivamente o controle ventilatório (JANSSEN & RANDALL, 1975; NEVILLE, 1979; THOMAS & LE RUZ, 1982). Os resultados destes

estudos têm demonstrado que a estimulação da ventilação durante a hipercarbia está relacionada especificamente ao aumento da PCO_2 na água sem a contribuição do pH. As respostas cardio-respiratórias durante hipercarbia têm demonstrado que as mudanças no pH, na ausência das mudanças na PCO_2 , não alteram as respostas cardio-respiratórias em tambaqui (SUNDIN et al., 2000) e traíra (REID et al., 2000). Em salmão, as respostas cardio-respiratórias durante hipercarbia são mais estimuladas pelo aumento da PCO_2 da água do que pelo acompanhado decréscimo do pH. No dogfish, estas respostas são exclusivamente derivadas do estímulo de quimiorreceptores de CO_2 (PERRY & MCKENDRY, 2001).

Com base nas considerações acima, observa-se que as respostas cardio-respiratórias e a frequência de respiração aérea induzidas pelos quimiorreceptores de CO_2 e/ou pH diferem entre as espécies de peixes. Apesar do recente aumento do número de espécies estudadas, o atual conhecimento sobre os quimiorreceptores em peixes ainda é baseado em um número muito pequeno de dados, coletados de poucas espécies. Além disso, o volume de informações sobre espécies tropicais, principalmente de respiração aérea, é muito pequeno, dificultando qualquer tipo de análise comparativa ou uma melhor compreensão sobre aspectos relacionados à sua evolução, filogenia e significâncias adaptativas.

1.1. Objetivos

O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de:

- a) Determinar a localização dos quimiorreceptores de CO₂ e/ou pH no jeju;
- b) Identificar a sensibilidade e orientação (interna *versus* externa) dos quimiorreceptores de CO₂ e/ou pH e a importância desses receptores nos processos cardio-respiratórios;
- c) Avaliar as respostas cardio-respiratórias (frequências cardíaca, pressão arterial, frequência e amplitude respiratórias), frente a aumentos graduais de CO₂ e/ou pH;
- d) Distinguir os efeitos do CO₂ e H⁺ sobre as respostas cardio-respiratórias;
- e) Determinar a frequência de respiração aérea em normocarbica, durante a hipercarbica, e em meio ácido gradual;
- f) Verificar se os quimiorreceptores de CO₂ e/ou pH que estão envolvidos nos reflexos cardio-respiratórios são os mesmos que induzem a respiração aérea nesta espécie.

1.2. Aspectos gerais e importância da espécie - Jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus* (AGASSIZ, 1829)

Na América do Sul são encontrados três gêneros representantes da família Erythrinidae: *Erythrinus* - SCOPOLI, 1777; *Hoplias* - GILL, 1903 e *Hoplerythrinus* - GILL, 1895 (GODOY, 1979), sendo todos de hábito sedentário. *Hoplias* apresenta respiração exclusivamente aquática, enquanto os dois outros gêneros possuem respiração aérea acessória.



Figura 1. Exemplar de jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus*.

A espécie *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Figura 1) segundo classificação sistemática de LAUER & LIEM, 1983 (apud BRITSKI et al., 1988), encontra-se assim caracterizada:

Superordem: Ostariophysi

Série: Otophysi

Ordem: Characiformes

Família: Erythrinidae

Gênero: *Hoplerythrinus*

Espécie: *Hoplerythrinus unitaeniatus*

Segundo AZEVEDO & GOMES (1943), FOWLER et al. (1950) e GODOY (1987) a distribuição geográfica deste gênero abrange o Peru, Bolívia,

Venezuela, Guiana, Paraguai, Regiões Setentrionais, Nordeste do Brasil e Rio Iguaçu.

Hoplerythrinus unitaeniatus, é a única espécie citada para esse gênero (BRITSKI *et al.*, 1988), vulgarmente conhecida por jeju. Pode alcançar um comprimento de 30 cm, e ocorre preferencialmente em ambientes lênticos, águas de inundações temporárias, é carnívoro, predador e não apresenta nadadeira adiposa (SANTOS, 1981; NOMURA, 1984; GODOY, 1987). Indivíduos jovens vivem em pequenos cardumes, alimentando-se de material alóctone. Costumam se mover correnteza abaixo com a queda do nível da água (LOWE-MCCONNELL, 1987).

Há relativamente poucos trabalhos realizados com jeju. Segundo GRAHAN (1997), em 1878 pesquisadores observaram o comportamento de respiração aérea desse eritrínideo. Mais tarde, os trabalhos de CARTER & BEADLE (1931) e WILLMER (1934), mostraram que o jeju suporta águas estagnadas com baixos teores de oxigênio durante a época da seca. LÜLING (1964) observou o comportamento de respiração bimodal no ambiente natural, sugerindo a possibilidade de existir um órgão de respiração suplementar auxiliando-os nos períodos de estiagem. Este órgão foi confirmado como sendo a bexiga natatória em estudos, realizados por WEIBEZAHN (1967) sobre a respiração aérea desta espécie (revisão de GRAHAN, 1997).

Estudos mais detalhados demonstraram que a espécie apresenta a sua bexiga natatória do tipo esponjosa e constituída de duas câmaras: anterior e posterior. A porção anterior da câmara posterior é ricamente vascularizada, apresenta uma superfície aumentada devido à presença de pequenas estruturas cuja organização epitelial a caracteriza como superfície de trocas gasosas. O epitélio é constituído por uma camada de células pavimentosas sob a qual passa o sangue (KRAMER, 1978; MORON *et al.*, 1994; MATTIAS *et al.*, 1996; NAVARRO *et al.*, 1995). Segundo FERNANDES *et al.* (1994) esta espécie também apresenta filamentos branquiais curtos e poucas lamelas secundárias por filamento, resultando numa reduzida área branquial, característica de peixes de respiração aérea acessória.

Esta espécie extrai cerca de 25% de seu requerimento de O₂ através da bexiga natatória quando em águas normóxicas, e em águas hipóxicas a tomada de O₂ passa a ser diretamente do ar atmosférico (STEVENS &

HOLETON, 1978). RIGGS et al. (1978), estudaram as propriedades funcionais da hemoglobina nesta espécie. O mesmo autor relata que a respiração aérea em jeju se torna obrigatória quando o teor de oxigênio da água cai abaixo de 1,5 mL/L, o que corresponde a uma PO_2 de aproximadamente 40 mmHg.

RANDALL et al. (1978) observaram que a brânquia é o órgão predominante para as trocas gasosas quando o jeju está na água, e que quase toda a excreção de CO_2 e 74% do O_2 captado é através das brânquias. Os autores salientam que a ventilação branquial observada na espécie é de 70 a 80 b.p.m, P_aO_2 $30,96 \pm 2,6$ mmHg, P_aCO_2 $11,09 \pm 1,2$ mmHg e o pH_a $7,80 \pm 0,03$.

Outros estudos também foram realizados durante a Expedição Alpha Helix em 1976 ao longo dos rios Amazonas, Solimões e Negro. CAMERON & WOOD (1978) estudaram a função renal e a regulação ácido-base, FARRELL (1978) associou os eventos cardiovasculares com a respiração aérea, FARREL & RANDALL (1978) e KRAMER et al. (1978) observaram os mecanismos de respiração aérea, RANDALL et al. (1978) estudaram o processo de excreção do CO_2 , e STEVENS & HOLETON (1978) analisaram o metabolismo.

Recentemente, OLIVEIRA (2003) estudou os efeitos da temperatura nas respostas cardio-respiratórias e na respiração aérea de jeju e LOPES (2003) determinou a localização e orientação dos quimiorreceptores de O_2 envolvidos no controle dos reflexos cardio-respiratórios e da respiração aérea, em resposta à hipóxia. LOPES (2003) observou uma hiperventilação, bradicardia e hipertensão em resposta à hipóxia, e concluiu que os quimiorreceptores envolvidos na frequência respiratória, frequência cardíaca e respiração aérea do jeju são exclusivamente branquiais e orientados interna e externamente, e os que controlam a amplitude da ventilação são extrabranquiais.

Os fatores determinantes na escolha dessa espécie foram o comportamento de respiração aérea acessória, a resistência da espécie ao meio hipercárbico e ácido durante épocas de estiagem, sua similaridade anatômica com outra espécie da mesma família, a traíra, *Hoplias malabaricus*, de respiração exclusivamente aquática e cujos quimiorreceptores de CO_2/pH já foram devidamente estudados por REID et al. (2000) e dar continuidade aos estudos realizados por OLIVEIRA (2003) e LOPES (2003) com a mesma espécie.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Animais Experimentais

Exemplares de jeju, *Hoplerthrinus unitaeniatus* (AGASSIZ, 1929), pesando $253,5 \pm 5,6$ g e medindo $24,2 \pm 1,3$ cm, foram coletados na Bacia do Rio Paraná próximo à cidade de Bataguáçu – MS, Brasil. No Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparativa do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos, SP, os peixes foram mantidos em tanques de 1000 L, com fluxo de água e aeração constantes, temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo natural. Os peixes foram alimentados, duas vezes por semana, com peixes vivos (pequenos peixes de várias espécies). Antes de cada experimento, os peixes foram privados de alimentos por 48 horas para evitar a eliminação de dejetos no interior do tubo de contenção e da câmara experimental.

2.2. Procedimento Cirúrgico

Para a determinação dos parâmetros respiratórios (frequência respiratória - f_R ; amplitude ventilatória - V_{AMP}), cardíacos (frequência cardíaca - f_H ; pressão arterial - P_a), identificação e orientação dos quimiorreceptores de CO_2 e/ou pH, os animais foram submetidos inicialmente a um processo cirúrgico. Os peixes foram anestesiados em solução de benzocaína ($0,1 \text{ g.L}^{-1}$) até que seus movimentos ventilatórios cessassem. Em seguida, foram transferidos para uma mesa cirúrgica com fluxo contínuo de solução anestésica aerada ($0,05 \text{ g.L}^{-1}$ de benzocaína) passando sobre as brânquias. Foi feita uma incisão lateral (~ 2 cm de comprimento) na região caudal aproximadamente 4 mm abaixo da linha lateral através da qual duas cânulas de polietileno (PE 50) foram implantadas (Figura 2), uma na artéria caudal para medir a frequência cardíaca (f_H) e pressão arterial (P_a) e a outra na veia caudal para aplicar soluções de CO_2 ou HCl preparadas com salina (0,9% NaCl, 100 IU/mL de heparina), com a finalidade de estimular os eventuais receptores orientados internamente. Após o procedimento cirúrgico da incisão, a sutura foi feita com pontos contínuos de

modo que as cânulas ficassem bem presas ao corpo do animal. Para as medidas dos parâmetros respiratórios foram implantadas mais duas cânulas (PE 60) na cavidade bucal através de perfurações na região dorsal do palato (Figura 2). Uma cânula foi utilizada para medir a frequência respiratória (f_R) e amplitude ventilatória (V_{AMP}), e a outra para estimular os possíveis receptores de CO_2 e/ou pH orientados externamente nas brânquias. As perfurações foram feitas com uma furadeira, as cânulas flangeadas foram introduzidas de dentro para fora da boca através do orifício e ajustada com a ajuda de um dispositivo construído com um pedaço de cânula flangeada. A fixação foi feita com cola de secagem rápida.

As variáveis cardio-respiratórias foram medidas antes e após denervação seriada dos ramos branquiais cranianos IX (glossofaringeano) e X (vago), o que possibilitou determinar a localização dos quimiorreceptores de CO_2 e/ou pH. A denervação seguiu o mesmo protocolo descrito por SUNDIN et al. (2000) e REID et al. (2000). Para a secção dos nervos, o opérculo foi flexionado para fora e fez-se uma pequena incisão no epitélio (~ 1 cm) na região dorsal da cavidade opercular próximo ao local onde o 1^o e o 2^o arcos branquiais se encontram no teto da cavidade opercular. Esta incisão permitiu acessar o IX nervo craniano (glossofaringeano) e os ramos pré e pós-tremáticos do X nervo craniano (vago) (Figura 3). Em 10 peixes, apenas o IX foi seccionado (grupo IX) e em outros 10 peixes, o IX e o ramo pré-tremático do X, foram seccionados, denervando completamente o primeiro arco branquial (grupo G1). Em outros 10 peixes o IX e todos os nervos cranianos do X foram seccionados, denervando completamente os quatro arcos branquiais (grupo G4). Para a completa denervação branquial a incisão foi maior (~ 1,5 cm). Os nervos foram cuidadosamente seccionados, livre de tecido conectivo, isolados com um gancho de íris e cortados com uma tesoura oftalmológica, com o auxílio de um microscópio cirúrgico (Opto sm 2001). Tal procedimento deve-se ao fato de que o nervo craniano IX inerva o primeiro arco branquial e cada ramo do X inerva um arco branquial diferente, a saber: Ramo I – 1^o e 2^o arcos branquiais; ramo II – 2^o e 3^o arcos branquiais; Ramo III – 3^o e 4^o arcos branquiais. Os ramos visceral e cardíaco do vago foram preservados em todos os casos. O mesmo processo foi realizado bilateralmente em todas as denervações. O processo cirúrgico teve duração de aproximadamente 20 minutos e todas as secções

foram confirmadas *pos mortem*, por autópsia. O grupo controle (grupo I) incluiu 10 animais em que os nervos não foram expostos ou cortados. Como não houve diferença nos “sham” (previamente testados) em relação ao grupo de animais que não tiveram os nervos branquiais expostos, foram utilizados apenas os dados dos grupos controle. É importante salientar que esta espécie não apresenta pseudobranquias.

Após a cirurgia, os peixes foram reanimados por irrigação das brânquias com água aerada, e em seguida colocados em um tubo plástico individual com furos nas extremidades (tubo de contenção) e transferidos para uma câmara plástica com tampa, com fluxo constante de água aerada e temperatura de 25°C. Os peixes foram mantidos em recuperação por 24 h antes do início dos experimentos.

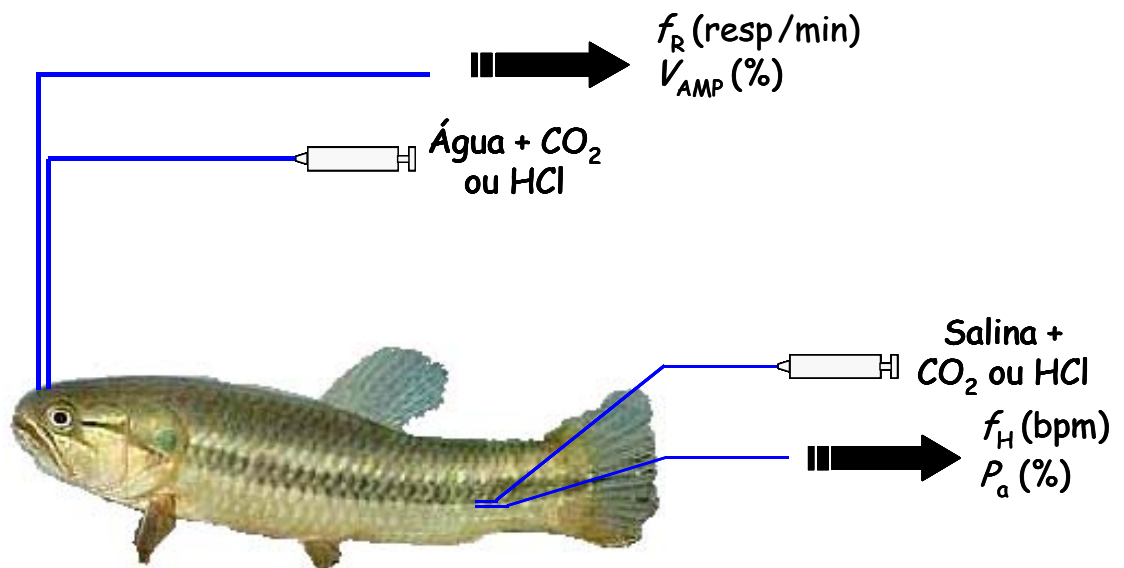


Figura 2. Diagrama da disposição das cânulas para obtenção dos registros das variáveis cardio-respiratórias (f_R , V_{AMP} , f_H e P_a) e aplicação de injeções internas e externas para induzir hipercarbia e acidose no jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus*.

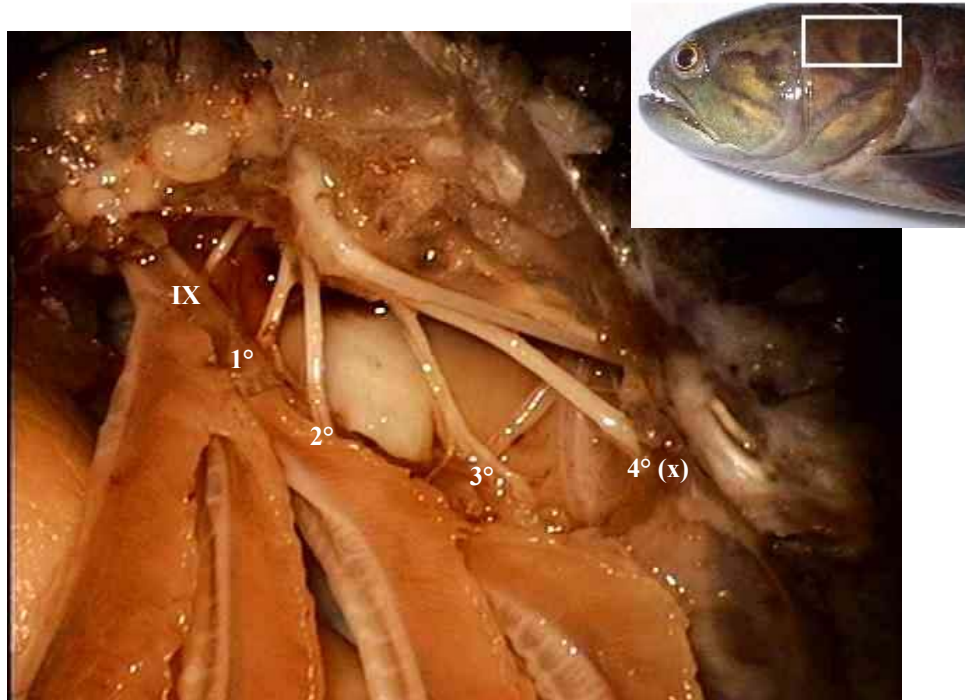


Figura 3. Área dorsal da câmara branquial esquerda de jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatatus*. Aspecto geral dos ramos branquiais dos nervos cranianos IX (glossofaringeano) e X (vago).

2.3. Protocolo Experimental

Após a recuperação, a cânula da artéria caudal foi conectada a um transdutor de pressão de um amplificador conectado a um sistema de aquisição de dados (DI 154 Dataq Instruments) de um computador IBM PC Pentium 166, para registrar a frequência cardíaca (f_H – b.p.m) e pressão arterial (P_a - %). Simultaneamente a cânula bucal foi conectada a um transdutor de pressão de um amplificador conectado a um segundo canal do mesmo sistema de aquisição de dados. Esta serviu para registrar a frequência respiratória (f_R – bat.min⁻¹) e amplitude ventilatória (V_{AMP} - %). Depois de conectadas as cânulas observou-se um tempo até normalizarem-se os parâmetros cardio-respiratórios antes de se dar início aos experimentos.

O pH e a PO_2 da água foram continuamente monitorados. O pH em normocarbina manteve-se em 6.78 e a $PO_2 > 130$ mmHg.

2.4. Quimiorreceptores CO₂/pH

2.4.1. Injeções de CO₂/pH

Cada peixe intacto ou denervado (n = 40) foi submetido a uma série de injeções internas (via cânula implantada na veia caudal) e externas (via cânula bucal) de CO₂. Injeções de salina (interna) e água (externa) serviram de controle. As injeções foram administradas na seguinte ordem: (1) salina interna; (2) salina interna + CO₂ (5, 10 e 20% em 0,3 mL de salina); (3) água externa; (4) água externa + CO₂ (5, 10 e 20% em 1,5 mL de água). Em cada caso, a cânula foi lavada com mais 0,2 mL de salina (interna) ou 0,5 mL de água (externa) para ter certeza da quantidade de CO₂ que estava sendo injetada. Para cada injeção, as variáveis cardio-respiratórias foram registradas por 3 minutos ou até que os níveis ventilatórios, frequência cardíaca e pressão arterial fossem restaurados aos níveis pré-injeção. Cada solução utilizada (salina/água) foi previamente saturada durante um borbulhamento de aproximadamente 15 minutos, com diferentes misturas de CO₂ incorporadas à solução. O pH de cada solução após a saturação foi medido e os valores obtidos da salina e da água equilibrada com 5, 10 e 20% de CO₂ apresentaram pH 5.12 ± 0.07 , 4.90 ± 0.02 , 3.72 ± 0.03 , 5.63 ± 0.02 , 5.33 ± 0.06 , 4.70 ± 0.03 (média \pm S.E.M), respectivamente.

Através de um experimento piloto também foi possível verificar as alterações de pH extracelular sanguíneo na aorta ventral (cânula inserida no segundo arco branquial), após injeções internas e externas. As coletas de sangue (50 μ l) foram feitas pré-injeção e 20 s após cada injeção. Após a injeção interna houve alteração no pH de 7.72 ± 0.04 para 7.61 ± 0.03 apenas na salina equilibrada com 20% de CO₂. Os valores obtidos após as injeções externas apresentaram uma alteração no pH de 7.79 ± 0.03 (normocarbia) para 7.63 ± 0.04 (5% de CO₂), 7.56 ± 0.02 (10% de CO₂) e 7.45 ± 0.05 (20% de CO₂). Injeções de salina e água serviram de controle, mas suas aplicações não causaram alteração no pH extracelular da aorta ventral.

2.4.2. Hipercarbica

Após as injeções internas e externas os mesmos animais foram submetidos a diferentes níveis de hipercarbica no meio, obtidos por borbulhamento de diferentes misturas conhecidas de CO₂, em uma coluna de “dispersão” de gases. Segundo REID et al. (2000) e teste feito antes de iniciar o experimento, águas equilibradas com 0.1, 0.25, 0.5 ou 0.75% de CO₂ não apresentam efeito sobre as variáveis cardio-respiratórias. Portanto, os animais foram expostos as concentrações de 1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂. Testes iniciais (Figura 4) demonstraram que os níveis de CO₂ estão associados com o pH. Sendo assim, a saturação de CO₂ foi monitorada utilizando-se um pHmetro: pH 7.0 - 6.8 (normocarbica), 6.0 (1% CO₂), 5.8 (2.5% CO₂), 5.6 (5% CO₂), 5.3 (10% CO₂) e 4.7 (20% CO₂). A saturação da água com cada concentração de CO₂ deu-se após 15 minutos de borbulhamento antes de contar o tempo experimental. Decorrido este tempo, foram feitos 10 minutos de registro das variáveis cardio-respiratórias (f_R , V_{AMP} , f_H e P_a) em cada concentração hipercarbica (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂). Os valores da PO_2 durante hipercarbica foram: 137 ± 0.05 , 135 ± 0.07 , 130 ± 0.06 , 123 ± 0.05 e 118 ± 0.07 mmHg.

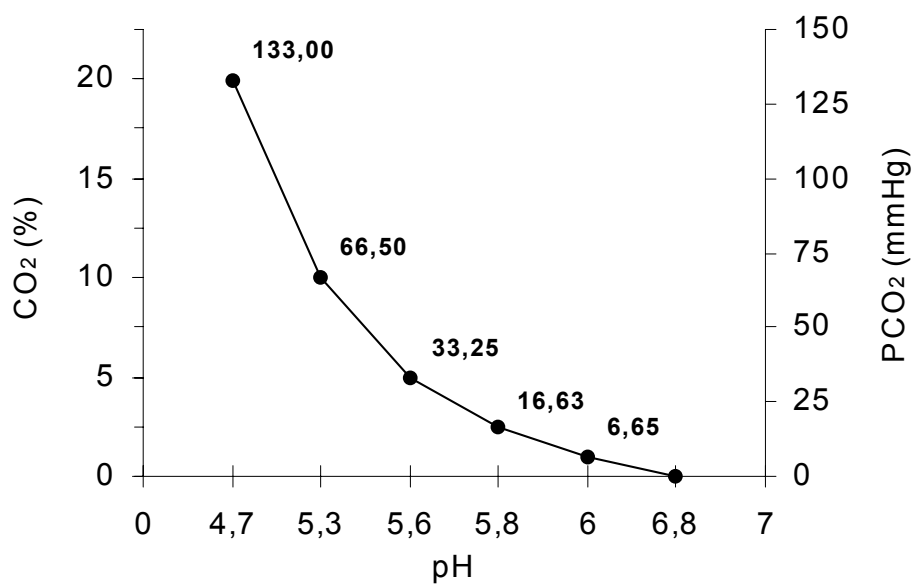


Figura 4. Relação entre pH da água, porcentagem de CO₂ e P_{CO₂} (mmHg) da câmara experimental de *H. unitaeniatius* durante exposição à hipercarbia (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂). O pH 6.8 indica a condição de normocarbia.

Alterações no pH extracelular também foram verificadas através de um experimento piloto durante exposição às concentrações hipercárbicas. As coletas de sangue (50 μ l) foram feitas pré-hipercarbia e 10 min após cada concentração de CO₂. As concentrações de 1 e 2.5% de CO₂ não apresentaram alteração de pH em relação ao inicial, as demais apresentaram uma alteração no pH de 7.75 ± 0.03 (normocarbia) para 7.51 ± 0.05 (5% de CO₂), 7.22 ± 0.03 (10% de CO₂) e 6.63 ± 0.04 (20% de CO₂).

2.5. Quimiorreceptores H⁺ (pH)

2.5.1. Injeções de ácido (HCl)

Para diferenciar os efeitos do CO₂ nas respostas cardio-respiratórias do efeito gerado pelo aumento da [H⁺] observado durante a elevação da concentração de CO₂ no ambiente, foram realizadas injeções internas (salina) e injeções externas (água) com soluções de HCl nos pHs obtidos nas soluções hipercárbicas (pH das injeções internas: 5.1, 4.9 e 3.7; pH das injeções externas: 5.6, 5.3 e 4.7). As soluções foram injetadas nos animais intactos (n = 10) e as respostas foram avaliadas seguindo o mesmo procedimento utilizado para quimiorreceptores de CO₂/pH.

Para excluir a possibilidade de que a [H⁺] não tivesse sido suficiente para estimular os quimiorreceptores utilizou-se soluções de HCl cujas concentrações ocasionassem variações de pH sanguíneo semelhantes àquelas obtidas após as injeções internas e externas de soluções equilibradas com CO₂ (5, 10 e 20%). Os ensaios demonstraram que as soluções ácidas com 30, 40 e 50 mM de HCl acidificam o pH sanguíneo da aorta ventral a valores aproximados aos encontrados após aplicação de solução internas e externas equilibradas com 5, 10 e 20% de CO₂. Sendo assim tanto as injeções internas como as externas foram preparadas com 30, 40 e 50 mM de HCl. Estas soluções ácidas foram aplicadas nos animais intactos (n = 10) e avaliadas seguindo o mesmo protocolo experimental citado anteriormente.

2.5.2. Meio ácido

Após as injeções de soluções ácidas nos dois grupos de animais, estes foram submetidos a uma progressiva redução do pH do meio pela adição de HCl. O primeiro grupo foi submetido aos pHs observados durante a saturação com CO₂ (Figura 4): pH ~ 7 – neutro, 6.0, 5.8, 5.6, 5.3 e 4.7. O segundo grupo foi submetido a concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5 mM de HCl, previamente testadas, que acidificam o pH do sangue a valores aproximados aos encontrados durante a exposição ao meio hipercárbico com 1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂. Após a estabilização do pH da água (~ 15 min), foram feitos 10 minutos de registro das variáveis cardio-respiratórias (f_R , V_{AMP} , f_H e P_a) em cada concentração de HCl.

2.6. Frequência de respiração aérea (f_{RA})

A frequência de respiração aérea (f_{RA}) foi determinada utilizando-se um sistema (Figura 5) especialmente projetado e desenvolvido para esta finalidade. O sistema consta de uma câmara experimental com a parte superior em “funil invertido” em cujo “gargalo” o peixe é forçado a se posicionar para a tomada de O₂ na fase aérea. Nesse “gargalo” está posicionada uma lâmpada oposta a uma célula fotoelétrica. Ao se posicionar, o peixe interrompe o feixe de luz cujo sinal é decodificado por um decodificador/amplificador de sinais que gera uma onda quadrada que, por sua vez, é registrada em um dos canais do sistema de aquisição de dados.

Os diferentes níveis de hipercarbia foram obtidos pelo borbulhamento de diferentes misturas conhecidas de CO₂ na parte inferior da câmara experimental. O pH foi constantemente monitorado por um pHmetro, assim como a PO_2 por um eletrodo de um analisador de O₂. O registro forneceu a f_{RA} e o tempo de permanência em respiração aérea (T_{RA}) em segundos.

Os peixes foram colocados na câmara experimental 24 h antes do início dos experimentos. Os parâmetros cardio-respiratórios avaliados nos experimentos acima (f_H , P_a , f_R e V_{AMP}) não foram avaliados durante o acesso ao ar atmosférico.

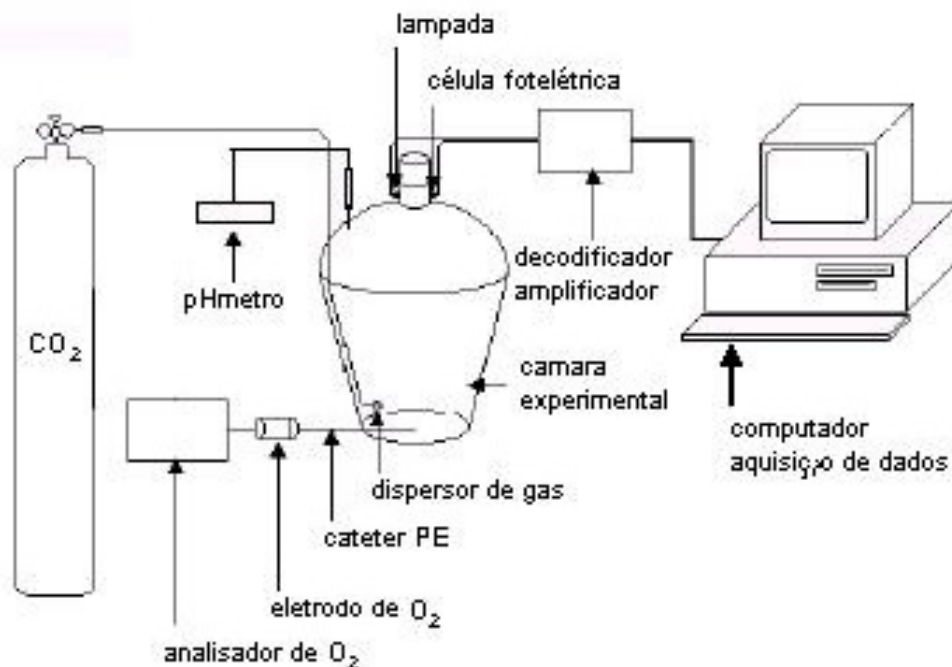


Figura 5. Diagrama do sistema experimental usado para registrar a frequência e tempo de permanência da respiração aérea de jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatatus*, durante normocarbina, hipercarbina e meio ácido.

2.6.1. Hipercarbina

A f_{RA} e o T_{RA} durante a hipercarbina gradual dos animais intactos e denervados ($n = 40$) foi registrada por 10 min durante normocarbina e 10 min após a saturação da água com cada uma das concentrações de CO_2 (1, 2.5, 5, 10 e 20%).

2.6.2. Meio ácido

Para determinação da f_{RA} e o T_{RA} em meio ácido utilizou-se as mesmas concentrações dos procedimentos anteriores: um grupo de animais ($n = 10$) foi

submetido aos pHs: 7,0 - neutro, 6,0, 5,8, 5,6, 5,3 e 4,7, e outro grupo (n = 10) as concentrações 1, 2, 3, 4 e 5 mM de HCl. O registro foi de 10 min antes e 10 min após a estabilização de cada pH ou concentração de HCl.

2.7. Apresentação dos Dados e Análise Estatística

As variáveis cardiovasculares e respiratórias foram medidas pelos registros obtidos por 10 s anteriores a cada uma das injeções administradas, e por 10 s nos intervalos de 10, 20, 30, 40, 60, 120 e 180 s posteriores. Nos experimentos de exposição à hipercarbia e ao meio ácido, foram analisados os parâmetros cardio-respiratórios durante 1 min anterior e 1, 5 e 10 min durante a exposição. As medidas de frequência cardíaca (f_H) e frequência respiratória (f_R) foram expressas em valores absolutos. A pressão arterial (P_a), amplitude da ventilação (V_{AMP}) e a ventilação total ($V_{TOT} = V_{AMP} \times f_R$) foram apresentadas em unidades arbitrárias representando a porcentagem de alteração em relação ao controle. A frequência (f_{RA}) e o tempo de permanência da respiração aérea (T_{RA}) foram expressas em valores absolutos no decorrer dos 10 min de exposição.

Os dados são apresentados como média \pm S.E.M. Para se detectar diferenças entre os parâmetros de pré e pós-injeção, assim como, pré e pós-hipercarbia ou meio ácido dentro do mesmo grupo utilizou-se à análise de variância com medidas repetidas (ANOVA) complementada pelo teste de Dunnet de comparações múltiplas, quando necessário. As diferenças entre os valores pré e pós-injeção e pré e pós-hipercarbia de cada variável entre os animais intactos e os dos grupos denervados foram verificadas com o teste Student-Newman-Keuls. Todos os testes estatísticos, incluindo determinação da normalidade e análise de variância, foram executados usando o programa SigmaStat. Foi escolhido como nível de significância máximo de 5% ($P < 0.05$) para estabelecimento das diferenças nos cotados testes.

3. RESULTADOS

3.1. CO₂

3.1.1. Efeito da denervação seletiva nas variáveis cardio-respiratórias em repouso

A secção bilateral dos nervos branquiais elevou significativamente os valores de repouso da f_H e apesar de existir uma tendência na diminuição da P_a com a progressiva denervação branquial, esta não foi significativa.

As variáveis ventilatórias também apresentaram mudanças. A f_R diminuiu e a V_{AMP} aumentou após as seletivas denervações branquiais, mas os valores obtidos no repouso não foram estatisticamente diferentes do grupo intacto (tabela I).

Tabela I. Valores de repouso das variáveis cardio-respiratórias, em jeju (*Hoplerthrinus unitaeniatus*), intacto e denervado (IX, G1 e G4).

Variável	Intacto	IX	G1	G4
f_H (b.p.m)	54.6 ± 3.4	72.0 ± 6.1*	70.2 ± 3.6*	72.0 ± 4.3*
P_a (%)	0.0 ± 0.0	-2.3 ± 10.2	-7.1 ± 12.1	-14.4 ± 9.0
f_R (resp min ⁻¹)	73.2 ± 3.4	69.0 ± 3.3	68.4 ± 4.2	64.2 ± 2.0
V_{AMP} (%)	0.0 ± 0.0	29.3 ± 8.3	38.7 ± 14.4	32.3 ± 16.6
V_{TOT} (%)	0.0 ± 0.0	22.4 ± 11.6	30.5 ± 13.0	12.9 ± 12.2

Os valores estão representados como média ± S.E.M.

* Representa diferença significativa em relação ao grupo intacto ($P < 0,05$).

3.1.2. Efeito das injeções de CO₂ interno e externo

As injeções de salina enriquecidas com 5, 10 e 20% de CO₂ na veia caudal (interna) causaram pequenas e rápidas mudanças nas variáveis cardio-respiratórias: diminuição da f_H e aumento na P_a , f_R , V_{AMP} e conseqüentemente na V_{TOT} . Apesar destas mudanças se acentuarem com o gradual aumento de CO₂, estas não foram diferentes estatisticamente dos valores pré-injeção tanto nos animais intactos (tabela II) quanto nos denervados.

Tabela II. Efeito das injeções internas de CO₂ (5, 10, 20% de CO₂) nas variáveis cardio-respiratórias de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) intactos.

Variáveis	Pré	Pós		
		5% CO ₂	10% CO ₂	20% CO ₂
f_H (b.p.m)	54.6 ± 3.4	52.2 ± 2.8	50.4 ± 2.7	49.8 ± 2.5
P_a (%)	0.0 ± 0.0	2.3 ± 10.2	3.4 ± 9.3	4.6 ± 11.0
f_R (resp.min ⁻¹)	73.2 ± 3.4	76.2 ± 3.1	79.2 ± 3.0	79.8 ± 4.0
V_{AMP} (%)	0.0 ± 0.0	19.4 ± 10.8	16.2 ± 11.6	19.5 ± 10.6
V_{TOT} (%)	0.0 ± 0.0	22.6 ± 12.0	24.8 ± 11.4	27.7 ± 14.6

Pré referisse aos dados imediatamente antes da injeção e pós referisse aos dados 20 s após as injeções.
Os dados estão representados com média ± S.E.M.

RESPOSTAS CARDIOVASCULARES

Os efeitos das injeções de água (externa) enriquecida com 5, 10 e 20% de CO₂ nas respostas cardiovasculares, nos animais com a inervação branquial intacta (I) e os seguidos de vários protocolos de denervação (IX, G1 e G4) estão representados na Figura 6. O grupo intacto, apresentou uma diminuição na f_H que se tornou mais acentuada e duradoura conforme o aumento gradual da concentração de CO₂ (Figura 6 A, C e E). As respostas foram rápidas e apresentaram um pico em 20 s após as injeções e retornaram gradativamente aos níveis basais em aproximadamente 2 min. A pronunciada bradicardia também foi observada durante injeções enriquecidas com 10 e 20% de CO₂ nos grupos denervados IX e G1. Por outro lado, a denervação total das brânquias (G4) aboliu a bradicardia observada nos demais grupos, sendo que este apresentou diferença estatística em relação aos grupos I, IX e G1 nas injeções de 10 e 20% de CO₂ (tabela III).

O efeito das injeções externas enriquecidas com CO₂ na P_a estão ilustrados na Figura 6 B, D e F. Nos grupos I e IX, houve um progressivo aumento da pressão arterial durante a aplicação das injeções enriquecidas com CO₂. A rápida e transitória resposta apresentou também um pico em 20 s nas concentrações de 5 e 10% de CO₂. Em 20% de CO₂ a resposta máxima foi em 30 s após a aplicação da injeção. O grupo G1 somente apresentou resposta significativa com a injeção de 20% de CO₂, sendo que nas demais injeções houve uma tendência que não foi diferente estatisticamente dos valores pré-injeção. No grupo G4, não houve diferença na P_a após as injeções externas com diferentes concentrações de CO₂ em relação aos valores pré-injeção. O G4 apresentou diferença estatística em relação aos demais grupos com 10% de CO₂ (tabela III) e 20% de CO₂ após 30 s da aplicação da injeção.

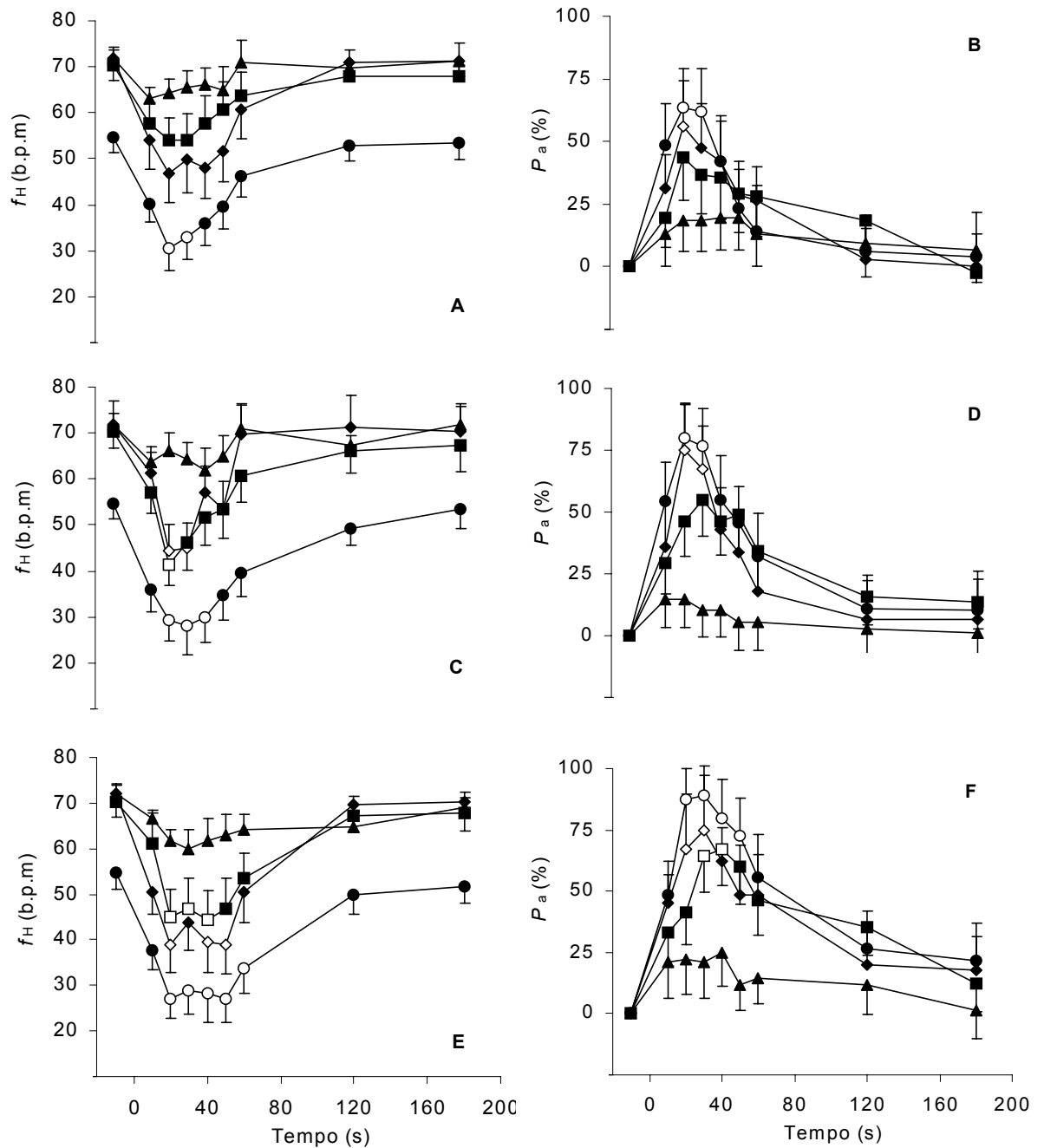


Figura 6. Efeito das injeções externas enriquecidas com 5% (A e B), 10% (C e D) e 20% de CO₂ (E e F) nas respostas cardíacas (f_H e P_a) de jejú (*Hoplerthrinus unitaeniatus*) \star - Grupo intacto (n = 10); \blacksquare - Grupo IX (n = 10); \square - Grupo G1 (n = 10); π - Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (normocarbia). Os pontos são média \pm S.E.M.

Tabela III. Efeito das injeções externas (5, 10, 20% de CO₂) nas variáveis cardiovasculares de jeju (*Hoplerthrinus unitaeniatus*) intactos e denervados.

Variáveis	Conc. de CO ₂	Grupos				
		I	IX	G1	G4	
f_H (b.p.m)	Pré	54.6 ± 3.4	72.0 ± 6.1 ^a	70.2 ± 3.6 ^a	72.0 ± 4.3 ^a	
	Pós	5%	30.6 ± 4.9	46.8 ± 6.5	54.0 ± 5.0 ^a	64.2 ± 3.2 ^a
		10%	29.4 ± 4.7	44.4 ± 5.8	41.4 ± 4.7	66.0 ± 4.1 ^{abc}
		20%	27.0 ± 4.1	39.0 ± 6.1	45.0 ± 5.9 ^a	61.8 ± 2.4 ^{abc}
P_a (%)	Pré	0.0	0.0	0.0	0.0	
	Pós	5%	63.4 ± 15.8	55.8 ± 18.4	43.9 ± 17.6	18.4 ± 12.4 ^{ab}
		10%	79.7 ± 13.9	74.7 ± 19.5	46.3 ± 14.5	14.4 ± 11.5 ^{abc}
		20%	87.6 ± 12.5	67.4 ± 12.4	41.5 ± 13.4	22.4 ± 14.7 ^{ab}

Pré referisse aos dados imediatamente antes da injeção e pós referisse aos dados 20 s após as injeções.

Os dados estão representados com média ± S.E.M.

^{a, b, c} Representa diferença significativa entre os grupos I, IX, G1 e G4 (P < 0.05)

RESPOSTAS RESPIRATÓRIAS

A Figura 7 ilustra os efeitos das injeções externas enriquecidas com 5, 10 e 20% de CO₂ e a denervação branquial na f_R (Figura A, C e E) e V_{AMP} (B, D e F). No grupo intacto aumentou a f_R sendo mais pronunciada com o aumento da concentração de CO₂ nas injeções. O grupo IX também apresentou um aumento significativo na f_R durante aplicação das injeções enriquecidas com 10 e 20% de CO₂. No grupo G1 e G4 não houve aumento significativo em relação aos valores pré-injeção, apesar de haver uma tendência de aumento em G1. Houve diferença significativa entre o I e IX em relação aos grupos G4 em 10 e 20% de CO₂ (tabela IV).

A V_{AMP} aumentou nos grupos I e IX, sendo significativa para todas as injeções no grupo I e no IX a partir de 10% de CO₂. O pico da resposta para V_{AMP} ocorreu aproximadamente em 20 s após a injeção. O grupo G4 e G1 apresentaram diferença estatística em relação ao grupo I e IX em 10 e 20 % de CO₂ (tabela IV).

A V_{TOT} se encontra representada na Figura 8. Assim como ocorreu com a V_{AMP} , houve um aumento significativo nos grupos I e IX, com o pico da resposta em aproximadamente 20 s após a injeção. Apesar de na V_{TOT} o grupo G1 apresentar diferença estatística com os valores pré-injeção, esta variável assim como o G4 foi diferente estatisticamente dos demais grupos I e IX em 10 e 20% de CO₂ (tabela IV).

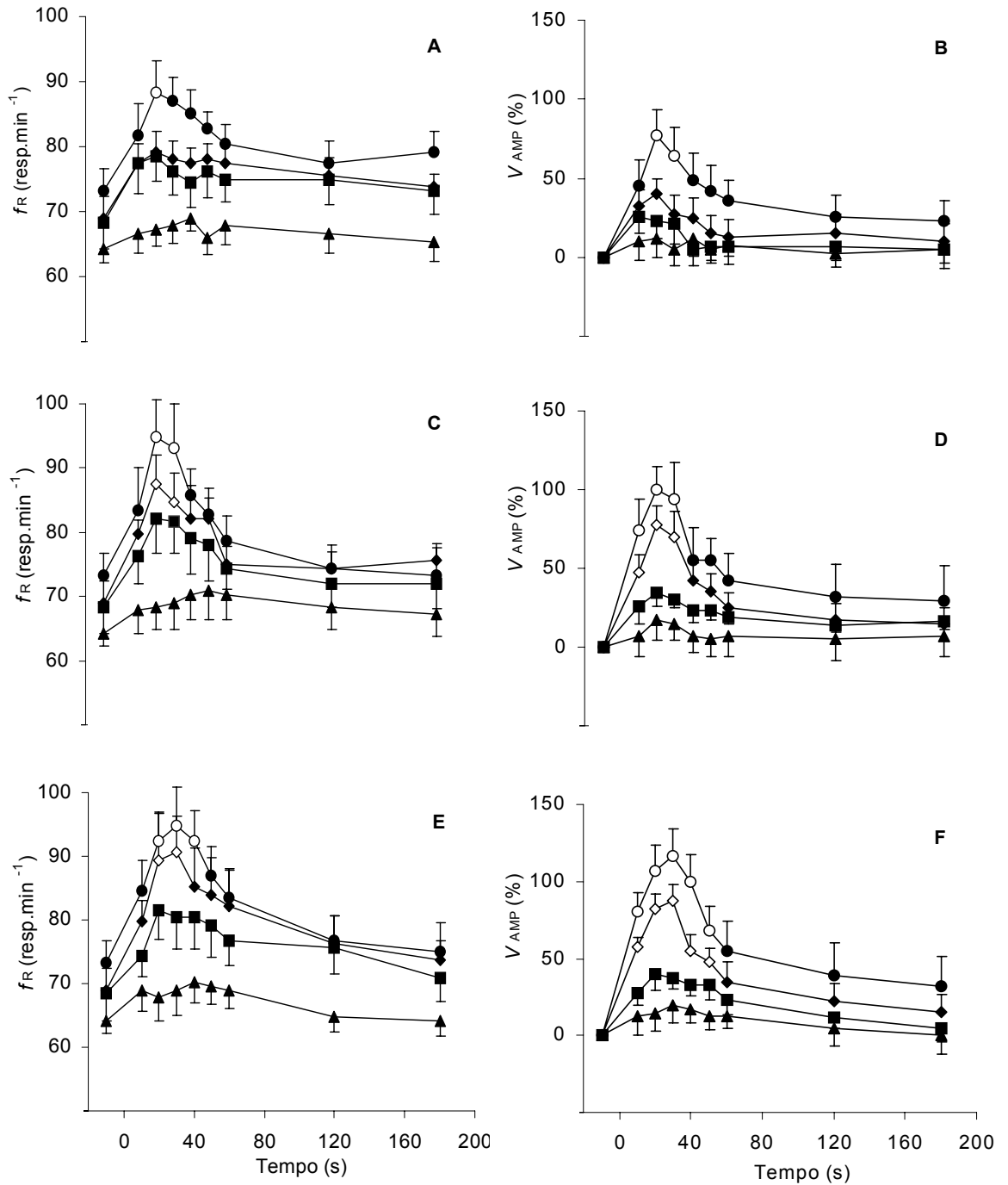


Figura 7. Efeito das injeções externas enriquecidas com 5% (A e B), 10% (C e D) e 20% de CO_2 (E e F) nas respostas respiratórias (f_R e V_{AMP}) de jeju (*Hoplerthrinus unitaeniatus*) * - Grupo intacto (n = 10); ■ - Grupo IX (n = 10); □ - Grupo G1 (n = 10); π - Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (normocarbica). Os pontos são média \pm S.E.M.

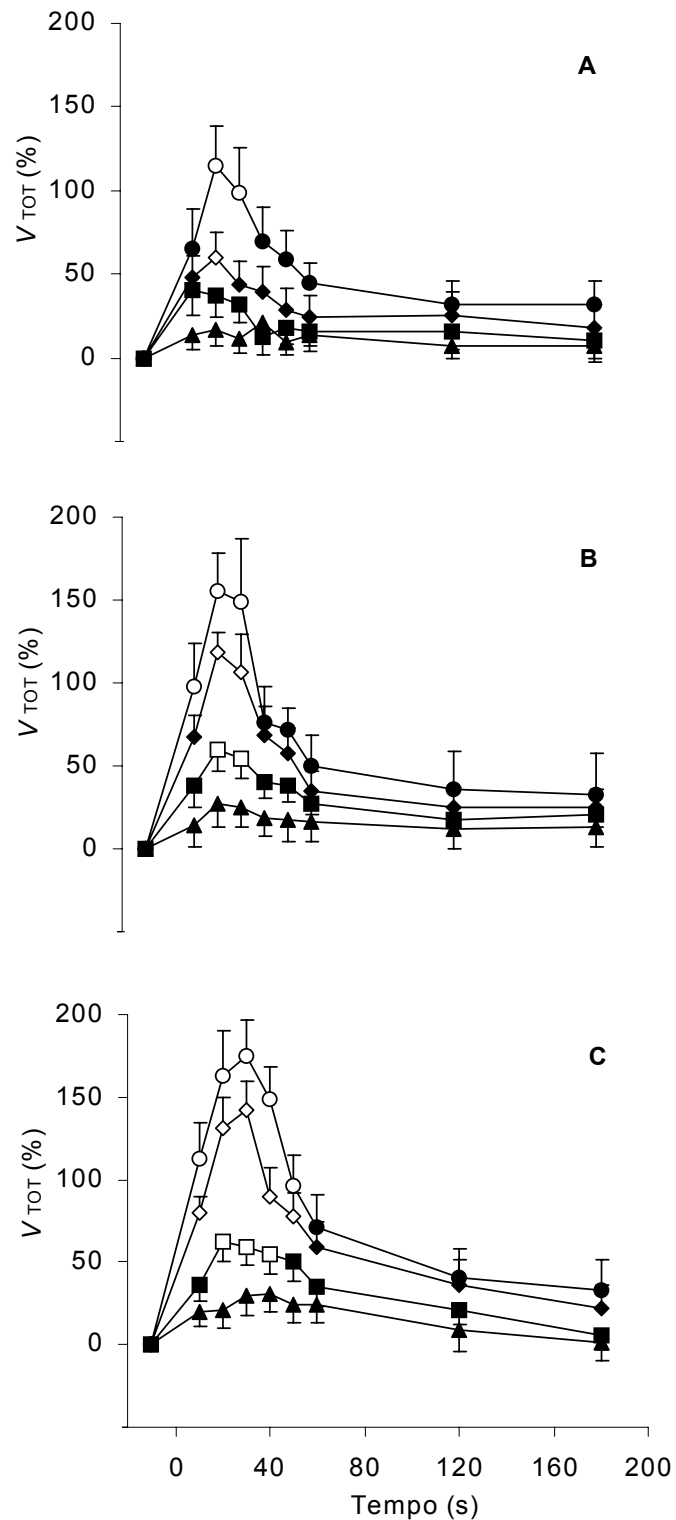


Figura 8. Efeito das injeções externas enriquecidas com 5% (A), 10% (B) e 20% de CO₂ (C) na ventilação total (V_{TOT}) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ★ - Grupo intacto (n = 10); ■ - Grupo IX (n = 10); ◊ - Grupo G1 (n = 10); ▴ - Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (normocarbica). Os pontos são média ± S.E.M.

Tabela IV. Efeito das injeções externas (5, 10, 20% de CO₂) nas variáveis respiratórias de jeju (*Hoplerthrinus unitaeniatus*) intactos e denervados

Variáveis	Conc. de CO ₂	Grupos				
		I	IX	G1	G4	
f_R (resp.min ⁻¹)	Pré	73.2 ± 3.4	69.0 ± 3.3	68.4 ± 4.2	64.2 ± 2.0	
	Pós	5%	88.2 ± 4.9	79.2 ± 3.2	78.6 ± 3.8	67.2 ± 2.5 ^a
		10%	94.8 ± 5.9	87.6 ± 4.4	82.2 ± 5.4	68.4 ± 3.6 ^{ab}
		20%	92.4 ± 4.4	89.4 ± 7.6	81.6 ± 4.6	67.8 ± 3.6 ^{ab}
	V_{AMP} (%)	Pré	0.0	0.0	0.0	0.0
Pós		5%	77.4 ± 16.1	40.0 ± 10.3 ^a	23.3 ± 11.6 ^a	12.2 ± 12.7 ^a
		10%	100.0 ± 14.3	77.0 ± 12.0	34.9 ± 9.0 ^{ab}	17.1 ± 12.5 ^{ab}
		20%	106.5 ± 16.8	82.5 ± 11.2	39.5 ± 10.4 ^{ab}	14.6 ± 12.1 ^{ab}
V_{TOT} (%)		Pré	0.0	0.0	0.0	0.0
	Pós	5%	114.7 ± 23.7	60.2 ± 14.6 ^a	36.9 ± 13.0 ^a	17.2 ± 10.2 ^a
		10%	155.0 ± 23.1	118.9 ± 12.0	59.9 ± 13.1 ^{ab}	27.0 ± 13.8 ^{ab}
		20%	162.4 ± 27.3	130.8 ± 18.8	62.9 ± 12.4 ^{ab}	20.7 ± 10.3 ^{ab}

Pré referisse aos dados imediatamente antes da injeção e pós referisse aos dados 20 s após as injeções.

Os dados estão representados com média ± S.E.M.

^{a, b} Representa diferença significativa entre os grupos I, IX, G1 e G4 (P < 0.05)

3.1.3. Efeito da hipercarbia

RESPOSTAS CARDIOVASCULARES

Os efeitos da hipercarbia (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) na f_H , com inervação intacta e após vários protocolos de denervação (IX, G1 e G4) estão ilustrados na Figura 9. Com a inervação intacta, a exposição de 1 e 2.5% de CO₂ não causou variação significativa na frequência cardíaca em relação aos níveis normocárbicos. No entanto, quando exposto a 5, 10 e 20% de CO₂, a frequência cardíaca diminuiu no grupo I. Esta pronunciada bradicardia foi observada também no grupo G1 a partir da exposição de 5% de CO₂ e nos animais do grupo IX a partir de 10% de CO₂. Por outro lado, a total denervação (G4) aboliu completamente a bradicardia hipercárbica associada à exposição a 5, 10 e 20% de CO₂. O grupo G4 apresentou diferença estatística em relação aos demais grupos (I, IX e G4) a partir da exposição de 5% de CO₂, dados estes observados na tabela V.

O efeito na P_a durante o aumento gradual de CO₂ está ilustrado na Figura 10. No grupo I, ocorreu um progressivo aumento na pressão arterial (aproximadamente 80%) iniciado em 5% de CO₂ e continuando durante a exposição a 10 e 20% de CO₂. Nos grupos IX e G1, a hipercarbia também ocasionou um aumento significativo na P_a em 10 e 20% de CO₂, enquanto que no G4 o efeito na P_a foi abolido. O grupo G4 apresentou diferença estatística em relação ao grupo I a partir da exposição de 5% de CO₂ (tabela V).

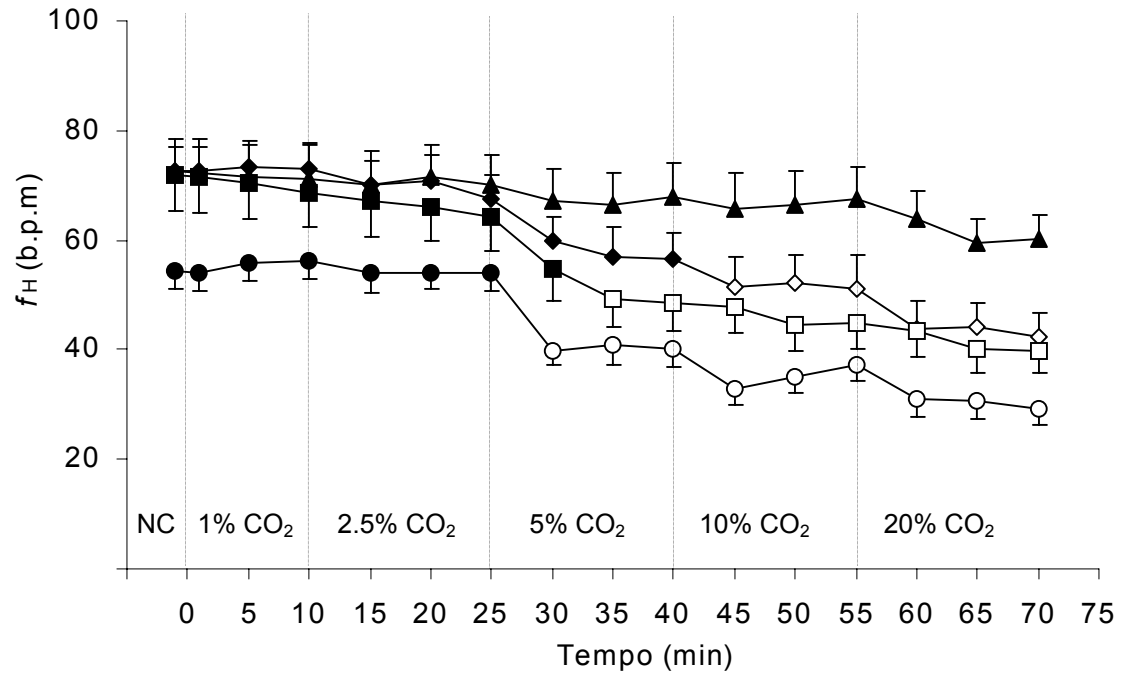


Figura 9. Efeito da hipercarbia gradual (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) sobre a frequência cardíaca (f_H) de jeju (*Hoplerhythrinus unitaeniatus*) ★ - Grupo intacto (n = 10); ■- Grupo IX (n = 10); □ - Grupo G1 (n = 10); ◇ - Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (NC = normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.

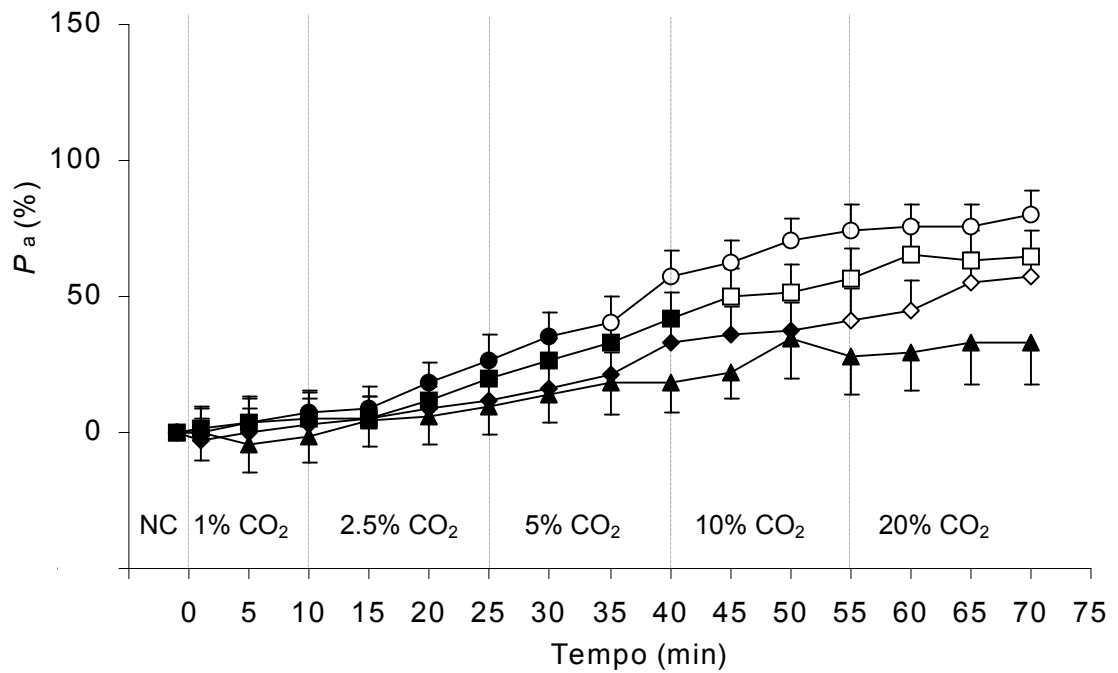


Figura 10. Efeito da hipercarbia gradual (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) sobre a pressão arterial (P_a) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ★ - Grupo intacto (n = 10); ■ - Grupo IX (n = 10); □ - Grupo G1 (n = 10); ▲ - Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (NC = normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.

Tabela V. Efeito da exposição à hipercarbia (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) nas variáveis cardiovasculares de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) intactos e denervados

Variáveis	Conc. de CO ₂	Grupos				
		I	IX	G1	G4	
f_H (b.p.m)	Pré	54.3 ± 3.3	72.6 ± 4.5 ^a	71.8 ± 6.4 ^a	72.5 ± 6.1 ^a	
	Pós	1%	56.0 ± 3.4	73.1 ± 4.6 ^a	68.6 ± 6.3	71.3 ± 6.1 ^a
		2.5%	53.9 ± 3.1	67.5 ± 4.5	64.2 ± 6.0	70.1 ± 5.4 ^a
		5%	40.0 ± 3.0	56.4 ± 4.9	48.5 ± 5.1	67.9 ± 6.1 ^{ac}
		10%	37.4 ± 2.9	51.2 ± 6.2	45.0 ± 4.9	67.5 ± 5.8 ^{abc}
		20%	29.3 ± 2.9	42.4 ± 4.3	39.9 ± 4.0	60.2 ± 4.4 ^{abc}
P_a (%)	Pré	0.0	0.0	0.0	0.0	
	Pós	1%	7.3 ± 8.3	3.2 ± 9.1	5.3 ± 8.1	-1.4 ± 9.8
		2.5%	26.8 ± 8.9	11.7 ± 8.4	19.7 ± 9.3	9.7 ± 10.2
		5%	57.3 ± 9.9	33.0 ± 9.5	42.1 ± 12.7	18.1 ± 10.4 ^a
		10%	74.4 ± 9.1	41.5 ± 11.1	56.6 ± 13.9	27.8 ± 13.5 ^a
		20%	80.5 ± 8.3	57.4 ± 9.7	64.5 ± 13.6	33.3 ± 15.4 ^a

Pré referisse aos dados imediatamente antes da exposição dos animais e pós referisse aos dados 10 min após a exposição em cada concentração.

Os dados estão representados com média ± S.E.M.

^{a, b, c} Representa diferença significativa entre os grupos I, IX, G1 e G4 (P < 0.05)

RESPOSTAS RESPIRATÓRIAS

A Figura 11 representa os efeitos da hipercarbia e da denervação branquial na frequência respiratória. No grupo intacto, bem como nos grupos IX e G1, a frequência respiratória aumentou durante a exposição de 5% de CO₂, sendo este aumento significativo apenas no grupo I e IX. Entre os grupos houve diferença estatística no I e IX em relação ao G1 e G4 (tabela VI). Com a exposição a 10 e 20% de CO₂ ocorreu uma significativa diminuição da f_R nos grupos I, IX e G1. Por outro lado, a f_R no grupo G4 não apresentou diferença estatística em relação aos valores normocárbicos. O grupo G4 apresentou diferença estatística em relação aos demais grupos com a exposição de 20% de CO₂ (tabela VI).

Assim como na f_R houve um aumento significativo da V_{AMP} no grupo I e IX em 5% de CO₂ em relação aos valores normocárbicos (Figura 12). O grupo I foi diferente estatisticamente dos demais grupos e o IX apresentou diferença apenas com relação ao G4 em 5% de CO₂ (tabela VI). Na exposição de 10 e 20% de CO₂ houve uma diminuição significativa no grupo I e nos denervados a diminuição não foi diferente estatisticamente em relação aos valores normocárbicos (Figura 12). O grupo intacto apresentou diferença estatística em relação aos denervados (tabela VI).

A Figura 13 ilustra as mudanças na ventilação total durante hipercarbia. Houve um aumento da V_{TOT} nos grupos I, IX e G1 em 5% de CO₂ em relação aos valores normocárbicos. Entre os grupos houve diferença entre o grupo I em relação aos denervados e o IX em relação aos grupos G1 e G4 (tabela VI). Em 10% de CO₂ houve uma diminuição significativa no grupo I e IX em relação aos valores normocárbicos. Por outro lado, em 20% de CO₂ não houve diferença nos grupos em relação aos valores normocárbicos. Sendo que os valores entre os grupos não foram diferentes estatisticamente em 10 e 20% de CO₂ (tabela VI).

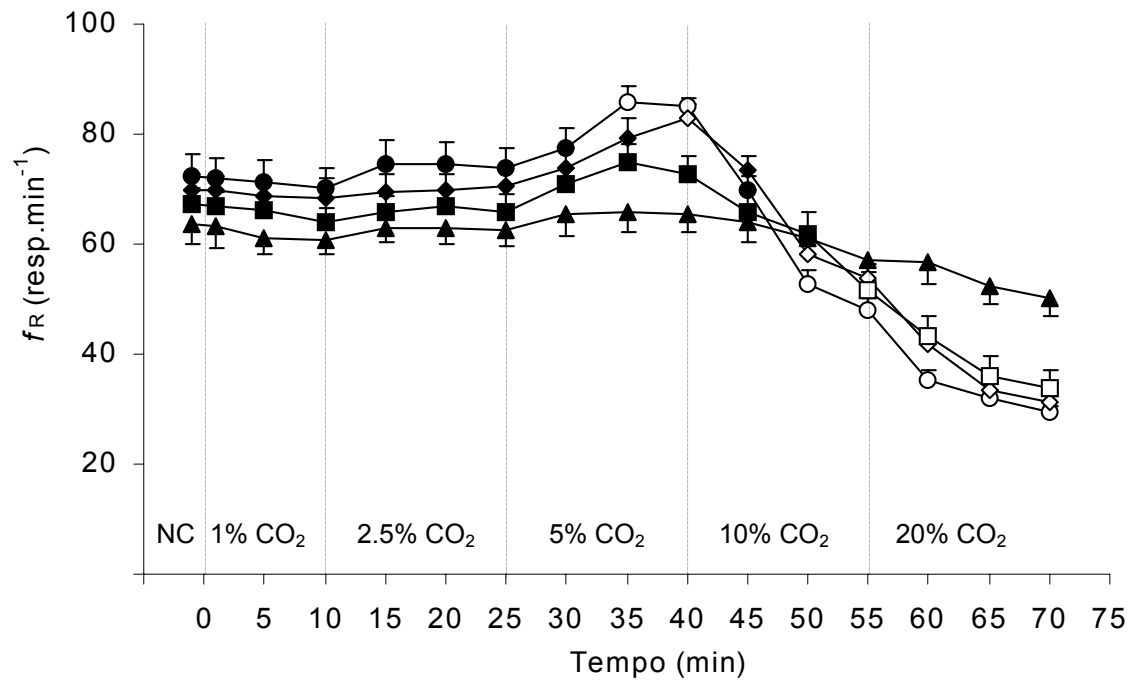


Figura 11. Efeito da hipercarbia gradual (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) sobre a frequência respiratória (f_R) de jeju (*Hopterythrinus unitaeniatus*) ★ - Grupo intacto (n = 10); ■- Grupo IX (n = 10); □ - Grupo G1 (n = 10); π- Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (NC = normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.

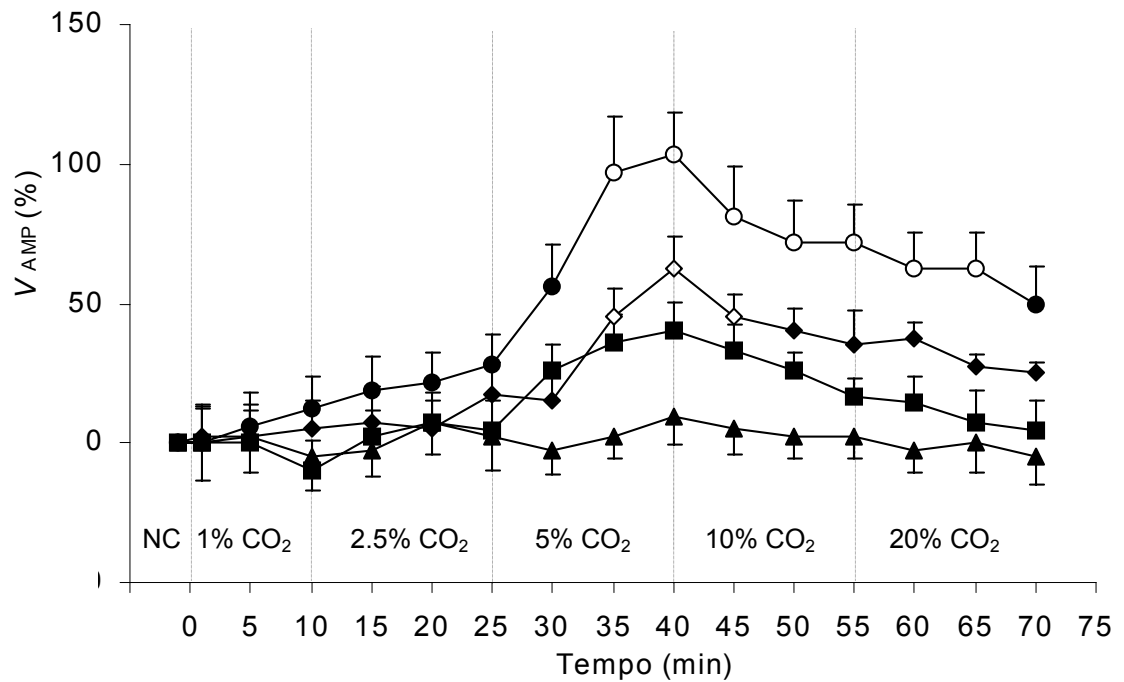


Figura 12. Efeito da hipercarbia gradual (1, 2,5, 5, 10 e 20% de CO₂) sobre a amplitude da ventilação (V_{AMP}) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ★ - Grupo intacto (n = 10); ■- Grupo IX (n = 10); ▣ - Grupo G1 (n = 10); π- Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (NC = normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.

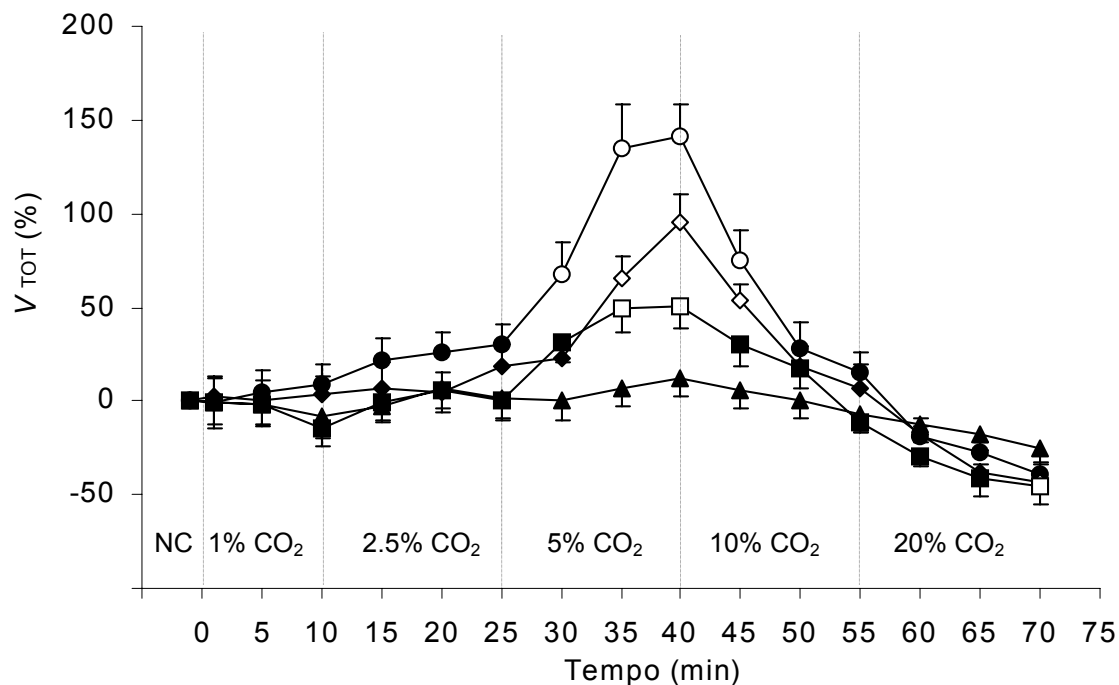


Figura 13. Efeito da hiper carbia gradual (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) sobre a ventilação total (V_{TOT}) de jeju (*Hoplerhythrinus unitaeniatus*) * - Grupo intacto (n = 10); ■- Grupo IX (n = 10); □ - Grupo G1 (n = 10); ▴- Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (NC = normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.

Tabela VI. Efeito da exposição à hipercarbia (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) nas variáveis cardiovasculares de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) intactos e denervados

Variáveis	Conc. de CO ₂	Grupos				
		I	IX	G1	G4	
f_R (resp.min ⁻¹)	Pré	72.2 ± 4.0	70.0 ± 2.6	67.3 ± 2.8	63.3 ± 3.6	
	Pós	1%	70.1 ± 3.7	68.4 ± 3.5	64.0 ± 2.5	60.8 ± 2.7
		2.5%	73.7 ± 3.7	70.7 ± 3.5	65.7 ± 3.4	62.7 ± 3.1
		5%	85.0 ± 1.5	82.9 ± 2.5	72.6 ± 3.4 ^{ab}	65.5 ± 3.3 ^{ab}
		10%	48.0 ± 2.1	53.9 ± 2.6	51.8 ± 3.0	57.0 ± 3.5
		20%	29.3 ± 1.2	31.1 ± 1.2	33.9 ± 3.3	50.2 ± 3.1 ^{abc}
V_{AMP} (%)	Pré	0.0	0.0	0.0	0.0	
	Pós	1%	12.5 ± 11.6	5.0 ± 10.4	-9.5 ± 10.5	-4.9 ± 12.2
		2.5%	28.1 ± 10.8	17.5 ± 11.2	4.8 ± 10.7	2.4 ± 12.4
		5%	103.1 ± 15.6	62.5 ± 11.3 ^a	40.5 ± 9.7 ^a	9.8 ± 10.4 ^{ab}
		10%	71.8 ± 13.3	35.0 ± 12.5 ^a	16.7 ± 6.6 ^a	2.4 ± 7.9 ^a
		20%	50.0 ± 13.0	25.0 ± 3.7	4.8 ± 10.1 ^a	-4.9 ± 9.9 ^a
V_{TOT} (%)	Pré	0.0	0.0	0.0	0.0	
	Pós	1%	8.7 ± 10.8	3.1 ± 10.5	-14.5 ± 9.8	-8.4 ± 11.9
		2.5%	30.5 ± 10.4	18.7 ± 11.2	0.8 ± 10.9	1.8 ± 11.4
		5%	140.8 ± 17.8	95.3 ± 15.0 ^a	50.8 ± 12.5 ^{ab}	12.3 ± 9.4 ^{ab}
		10%	15.3 ± 10.5	6.5 ± 12.9	-11.3 ± 5.9	-6.8 ± 9.7
		20%	-38.7 ± 5.8	-43.8 ± 2.8	-46.0 ± 9.2	-25.0 ± 8.4

Pré referisse aos dados imediatamente antes da exposição dos animais (normocarbia) e pós referisse aos dados 10 min após a exposição em cada concentração.

Os dados estão representados com média ± S.E.M.

^{a, b, c} Representa diferença significativa entre os grupos I, IX, G1 e G4 (P < 0.05)

3.1.4. Freqüência de respiração aérea

O efeito da hipercarbia gradual sobre a freqüência de respiração aérea esta representado na Figura 14A e a duração dos eventos na Figura 14B. Não houve registro de freqüência de respiração aérea em normocarbia, 1, 2.5 e 5% de CO₂. Em 10 e 20% de CO₂ todos os grupos apresentaram f_{RA} significativa, sendo que entre os grupos a diferença ocorreu entre o I em relação aos denervados. No tempo de permanência de respiração aérea a diferença foi entre o I e IX em relação ao G1 e G4.

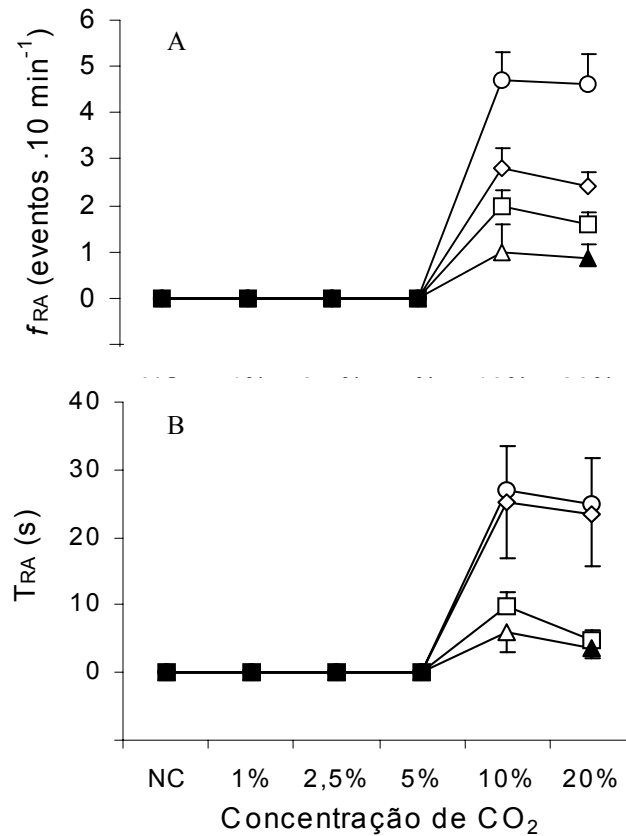


Figura 14. Efeito da hipercarbia gradual (1, 2.5, 5, 10 e 20% de CO₂) sobre a frequência (f_{RA}) (A) e o tempo de permanência dos eventos de respiração aérea (T_{RA}) (B) de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) ☆ - Grupo intacto (n = 10); ■ - Grupo IX (n = 10); □ - Grupo G1 (n = 10); ▴ - Grupo G4 (n = 10). Os símbolos vazios representam diferenças significativas em relação aos valores iniciais (NC = normocarbia). Os pontos são média ± S.E.M.

3.2. H⁺

3.2.1. Efeito das injeções de H⁺ interno e externo

As injeções tituladas com HCl até atingir o pH das soluções hipercárbicas internas (pH 5.12, 4.90 e 3.72) e externas (pH 5.63, 5.33 e 4.70), não apresentaram efeito significativo nas respostas cardio-respiratórias (tabela VII).

A tabela VIII apresenta os valores obtidos após 20 s de aplicação de soluções ácidas (30, 40 e 50 mM de HCl) internas (veia caudal) e externas (cavidade bucal). Apesar destas soluções alterarem o pH extracelular a valores próximos aos obtidos durante a aplicação das injeções enriquecidas de CO₂, os resultados obtidos não apresentaram efeito significativo nas variáveis observadas.

3.2.2. Efeito do meio ácido

A gradual titulação da água com HCl (pH – 6.0, 5.8, 5.6, 5.3 e 4.7) até atingir os pHs observados nas diferentes concentrações hipercárbicas não induziu alterações nas variáveis cardio-respiratórias (tabela IX). Da mesma forma a acidificação da água (1, 2, 3, 4 e 5 mM de HCl) que alterou o pH extracelular a valores aproximados aos encontrados durante hipercarbia gradual, também não produziu efeito significativo nas variáveis cardio-respiratórias (tabela X).

3.2.3. Frequência de respiração aérea

As duas condições de meio ácido testadas no presente estudo não induziram a frequência de respiração aérea em jejum. Durante a exposição à estas condições os animais permaneciam parados no fundo da câmara experimental, não apresentando nenhum tipo de movimento.

Tabela VII. Efeito das injeções internas (pH - 5.12, 4.90 e 3.72) e externas (pH - 5.63, 5.33 e 4.70) de H⁺ nas variáveis cardio-respiratórias em jejum (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) intactos.

<i>INJEÇÕES INTERNAS</i>				
Variáveis	Pré	Pós		
		pH - 5.12	pH - 4.90	pH - 3.72
f_H (b.p.m)	55.8 ± 2.5	54.0 ± 2.9	52.8 ± 2.8	54.6 ± 2.6
P_a (%)	0.0 ± 0.0	1.9 ± 5.7	2.8 ± 7.2	4.7 ± 6.6
f_R (resp.min ⁻¹)	75.0 ± 4.0	74.4 ± 3.9	75.6 ± 3.7	75.4 ± 3.5
V_{AMP} (%)	0.0 ± 0.0	5.1 ± 4.4	5.8 ± 5.1	5.7 ± 4.1
V_{TOT} (%)	0.0 ± 0.0	3.4 ± 6.3	7.2 ± 6.1	8.6 ± 7.2
<i>INJEÇÕES EXTERNAS</i>				
Variáveis	Pré	Pós		
		pH - 5.63	pH - 5.33	pH - 4.70
f_H (b.p.m)	55.8 ± 2.5	57.1 ± 2.8	55.6 ± 2.0	53.2 ± 2.2
P_a (%)	0.0 ± 0.0	1.9 ± 3.7	3.8 ± 4.2	4.7 ± 5.8
f_R (resp.min ⁻¹)	75.0 ± 4.0	77.4 ± 2.6	76.2 ± 2.4	76.8 ± 2.5
V_{AMP} (%)	0.0 ± 0.0	5.4 ± 5.0	5.7 ± 6.7	6.4 ± 5.8
V_{TOT} (%)	0.0 ± 0.0	8.3 ± 5.1	7.3 ± 6.6	8.2 ± 6.5

Pré referisse aos dados imediatamente antes da injeção e pós referisse aos dados 20 s após as injeções.
Os dados estão representados com média ± S.E.M.

Tabela VIII. Efeito das injeções internas e externas de H^+ (30, 40 e 50 mM) nas variáveis cardio-respiratórias, em jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) intactos.

INJEÇÕES INTERNAS				
Variáveis	Pré	Pós		
		30 mM	40 mM	50 mM
f_H (b.p.m.)	52.6 ± 3.2	50.8 ± 2.7	54.2 ± 3.1	50.2 ± 2.6
P_a (%)	0.0 ± 0.0	3.7 ± 6.1	3.0 ± 4.3	5.9 ± 5.4
f_R (resp.min ⁻¹)	69.6 ± 4.2	70.2 ± 2.4	71.4 ± 3.0	73.8 ± 2.7
V_{AMP} (%)	0.0 ± 0.0	6.0 ± 4.8	6.3 ± 5.0	6.7 ± 4.6
V_{TOT} (%)	0.0 ± 0.0	8.2 ± 6.4	7.4 ± 5.3	11.7 ± 4.8
INJEÇÕES EXTERNAS				
Variáveis	Pré	Pós		
		30 mM	40 mM	50 mM
f_H (b.p.m.)	52.6 ± 3.2	51.0 ± 3.1	49.8 ± 2.8	50.4 ± 3.2
P_a (%)	0.0 ± 0.0	5.7 ± 6.6	3.3 ± 5.9	6.7 ± 7.1
f_R (resp.min ⁻¹)	69.6 ± 4.2	78.0 ± 5.0	76.2 ± 4.2	76.8 ± 5.4
V_{AMP} (%)	0.0 ± 0.0	9.4 ± 3.7	8.1 ± 4.8	9.6 ± 6.2
V_{TOT} (%)	0.0 ± 0.0	7.8 ± 6.6	8.5 ± 5.9	9.7 ± 6.3

Pré referisse aos dados imediatamente antes da injeção e pós referisse aos dados 20 s após as injeções.
Os dados estão representados com média \pm S.E.M.

Tabela IX. Efeito da exposição ao meio ácido - HCl (pH – 6.0, 5.8, 5.6, 5.3 e 4.7) nas variáveis cardiovasculares de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) intactos.

Variáveis	Pré	Pós				
		pH - 6.0	pH - 5.8	pH - 5.6	pH - 5.3	pH - 4.7
f_H (b.p.m.)	56.1±2.2	57.8±3.8	54.9±3.4	55.7±2.8	54.7±3.7	53.4±2.4
P_a (%)	0.0±0.0	1.8±5.7	0.9±5.6	6.4±5.5	8.3±3.3	8.5±3.1
f_R (resp.min ⁻¹)	74.2±2.9	73.2±3.6	73.5±3.4	73.0±3.9	76.2±3.5	79.4±3.7
V_{AMP} (%)	0.0±0.0	5.3±6.8	7.6±7.3	7.9±6.1	7.9±5.1	10.5±6.6
V_{TOT} (%)	0.0±0.0	2.8±7.1	3.5±7.8	7.8±8.1	10.9±9.1	9.2±8.8

Pré referisse aos dados imediatamente antes da injeção e pós referisse aos dados 20 s após as injeções.
Os dados estão representados com média ± S.E.M.

Tabela X. Efeito da exposição ao meio ácido (1, 2, 3, 4 e 5 mM de HCl) nas variáveis cardiovasculares de jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) intactos.

Variáveis	Pré	Pós				
		1 mM	2 mM	3 mM	4 mM	5 mM
f_H (b.p.m.)	54.2±3.0	56.6±2.8	55.6±3.4	56.7±3.1	52.0±2.7	51.9±3.5
P_a (%)	0.0±0.0	1.6±3.2	2.8±4.6	6.7±2.9	8.7±4.3	9.3±5.9
f_R (resp.min ⁻¹)	69.4±3.8	68.8±4.2	71.9±2.8	73.7±4.6	75.8±3.2	78.4±4.0
V_{AMP} (%)	0.0±0.0	5.6±4.3	7.9±5.1	7.8±3.9	9.0±4.8	11.5±5.6
V_{TOT} (%)	0.0±0.0	2.3±5.9	3.0±6.1	3.6±5.6	11.8±7.3	13.9±6.8

Pré referisse aos dados imediatamente antes da injeção e pós referisse aos dados 20 s após as injeções.
Os dados estão representados com média ± S.E.M.

4. DISCUSSÃO

4.1. Efeito da denervação seletiva nas variáveis cardio-respiratórias em repouso

Em geral, a progressiva denervação conduz a um aumento na f_H no repouso sob condição de normóxia e normocarbica (SUNDIN et al., 1999; REID et al., 2000), o que ocorreu no presente estudo. As denervações realizadas não retiram apenas as aferências, mas também as eferências nervosas das brânquias. Deste modo, é difícil determinar se o aumento da f_H está ligado à diminuição do controle da resistência vascular branquial, ou a uma ausência de parte das informações sensoriais deste órgão que iriam influenciar a modulação da f_H ou, o que seria mais provável, ambas.

Assim como ocorreu em traíra (SUNDIN et al., 1999; REID et al., 2000), os parâmetros respiratórios avaliados neste estudo não apresentaram diferença estatística nos animais em repouso, seguidos dos protocolos de denervações seletivas. Assim, os dados sugerem que as constâncias das f_R seguidas das denervações, descartam a possibilidade de inibição do controle respiratório.

4.2. Injeções CO₂ e/ou pH

4.2.1. Concentrações de CO₂ nas respostas cardio-respiratórias

Os resultados deste estudo indicam que, no jeju, as injeções externas enriquecidas com CO₂ (5, 10 e 20%) estimulam bradicardia, hipertensão e hiperventilação e estas respostas foram concomitantes e progressivamente acentuadas com o aumento gradual das concentrações de CO₂. As injeções internas de salina enriquecidas com CO₂ (5, 10 e 20%) não estimulam respostas cardio-respiratórias.

As respostas observadas após a aplicação das injeções externas enriquecidas com CO₂ parecem ser consistente com as obtidas com dogfish e salmão do Atlântico. Por outro lado, as concentrações de CO₂ requeridas para

obter as respostas hipercárbicas (bradicardia, hipertensão e hiperventilação) nas espécies de clima temperado foram 2 e 4% de CO₂ (PERRY & MCKENDRY, 2001). Concentrações abaixo de 5% de CO₂, entretanto, não são responsivas para o jeju, conforme observações feitas em experimentos prévios. Talvez isto seja em função de que os peixes neotropicais tais como o tambaqui, a traíra e o jeju vivem em águas extremamente ácidas (pH ~ 3.5) e hipercárbicas em algumas épocas do ano (SIOLI, 1984).

4.2.2. Quimiorreceptores internos *versus* externos

O exato mecanismo com que o CO₂/pH exerce seus efeitos nas funções cardiovasculares e ventilatórias não é conhecido, mas o presente estudo sugere que há o envolvimento de receptores orientados externamente no jeju.

Estudos recentes usando a técnica de denervação branquial *in vivo* em dogfish (MCKENDRY et al., 2001), catfish (BURLESON & SMATRESK, 2000), tambaqui (SUNDIN et al., 2000) e traíra (REID et al., 2000), identificaram que as brânquias são o local dos quimiorreceptores de CO₂/pH. Entretanto estes estudos não distinguiram a orientação (interna e externa) dos quimiorreceptores.

Outros estudos identificaram a presença de receptores sensíveis ao CO₂/pH orientados externamente em peixes (KONISHI et al., 1969; YOSHII et al., 1980; YAMASHITA et al., 1989; PERRY et al., 1999), sendo que estes não avaliaram a presença de quimiorreceptores orientados internamente.

Assim como no presente estudo, PERRY & MCKENDRY (2001) demonstraram que os quimiorreceptores branquiais de CO₂ estão externamente orientados e que monitoram a composição de CO₂ na água inspirada. A mesma dificuldade de interpretação dos dados obtidos por PERRY & MCKENDRY (2001), foram encontradas no presente estudo, pois o CO₂ da água da injeção externa, que banhou a superfície das brânquias, pode ter se difundido para o interior das mesmas e, com isso, estimulando tanto os quimiorreceptores orientados externamente quanto os orientados internamente. Similarmente, a injeção de salina enriquecida com CO₂ na circulação poderia potencialmente ativar ambos os receptores, internos e externos, devido a adicional excreção de CO₂ na água ventilada. Apesar da improbabilidade de

estimular exclusivamente uma simples população de quimiorreceptores (interna ou externa), parece que a estimulação preferencial de receptores ocorreu no presente estudo.

MCKENDRY & PERRY (2001) utilizaram a acetazolamida, inibidora da anidrase carbônica, inibindo desta forma a excreção de CO_2 , induzindo, assim, um aumento na PCO_2 arterial e correspondente diminuição no pH. Estes resultados não indicam um papel para os quimiorreceptores de CO_2/pH internos nas respostas cardiovasculares associadas com a hipercarbia.

Comentários feitos por MILSOM, 2002 (PERRY, MILSOM, REID, RANTIN e GILMOUR em preparação) mostram que injeção de acetazolamida no tambaqui conduz a uma significativa retenção de CO_2 sem nenhum efeito na ventilação. Os animais foram ainda capazes de responder a hipercarbia aquática indicando que a acetazolamida não afeta a função dos quimiorreceptores. Observaram também que quando os animais são expostos a hipercarbia aquática e rapidamente reintroduzidos em água normal, a ventilação retorna aos seus níveis normais, independente do fato de que a PCO_2 permaneça elevada. Finalmente, observaram que enquanto os peixes demonstram uma resposta ativa a uma injeção de CO_2 equilibrada com água na cavidade bucal (10% de CO_2), eles não respondem a injeções de salina equilibradas com 20% de CO_2 na veia caudal ou na aorta ventral. Estes dados indicam que as respostas hipercárbicas para esta espécie são estimuladas por mudanças de PCO_2 do ambiente, ou seja, os quimiorreceptores estão orientados externamente. No presente estudo, também não houve resposta significativa quando injetamos na veia caudal salina enriquecida com CO_2 . O que também se pode sugerir é que os resultados destes estudos, podem estar relacionados a uma resposta diferente dos quimiorreceptores externos e internos de CO_2 . Os quimiorreceptores internos podem apresentar uma inércia maior do que os externos. Visto que a hipercarbia aquática pode ser uma resposta rápida e imediata e a hipercapnia uma resposta lenta e a longo prazo em função dos mecanismos tamponantes dos fluídos corpóreos.

4.2.3. Localização dos quimiorreceptores de CO_2/pH

Varias técnicas têm sido empregadas para localização dos quimiorreceptores em peixes, incluindo a seletiva irrigação dos arcos branquiais (SMITH & JONES, 1978; DAXBOECK & HOLETON, 1978), remoção dos arcos branquiais (SMITH & JONES, 1978) e a denervação parcial ou total das brânquias (SMITH & JONES, 1978; SMITH & DAVIE, 1984; BURLESON & SMATRESK, 1990; SUNDIN et al., 1999; SUNDIN et al., 2000; REID et al., 2000; MCKENDRY et al., 2001).

A maioria dos estudos feitos com exposição ao meio hipercárbico ou com aplicação de injeções enriquecidas com CO₂ mostram fortes evidências, de que os peixes apresentam pelo menos quimiorreceptores periféricos responsivos as mudanças de CO₂/pH *per se*. Estes receptores estão presentes primariamente nas brânquias, são inervados pelos nervos cranianos IX e X, e respondem primariamente as mudanças de CO₂ na água do que as mudanças na PCO₂ arterial (REID et al., 2000; SUNDIN et al., 2000; MCKENDRY et al., 2001; MCKENDRY & PERRY, 2001).

No jejú, a denervação seletiva dos nervos cranianos (IX e X) indica que os quimiorreceptores de CO₂/pH estão localizados nas brânquias, pois a denervação total dos arcos branquiais aboliu todas as respostas cardio-respiratórias avaliadas. Estes resultados claramente demonstram a existência de quimiorreceptores de CO₂/pH branquiais em jejú. Ainda observou-se que as respostas cardíacas são mediadas por quimiorreceptores situados além do primeiro arco branquial. Porém, estes dados não nos permitem dizer que os quimiorreceptores estão distribuídos em todos os arcos branquiais, apesar de acreditamos que isto seja provável. Os dados indicam também que, as respostas ventilatórias são mediadas por quimiorreceptores localizados no primeiro arco branquial. Isto difere dos resultados obtidos por SUNDIN et al. (2000) que demonstraram que a bradicardia hipercárbica em tambaqui foi mediada exclusivamente por receptores no primeiro arco branquial, enquanto que as respostas ventilatórias foram provavelmente causadas pela estimulação dos quimiorreceptores em todos os arcos branquiais. A elevação da pressão arterial durante a hipercarbia em tambaqui pareceu envolver a estimulação de receptores extrabranquiais, pois as respostas persistiram após a denervação de todos os arcos (SUNDIN et al., 2000).

Estudo recente de MILSOM et al. (2002a), revelam que os quimiorreceptores de CO₂/pH nas brânquias de tambaqui são responsáveis por toda a amplitude da ventilação e por parte do aumento da frequência respiratória durante hipercarbia hiperóxica. Um grupo, ou grupos, destes receptores podem estar externamente orientados na cavidade orobranquial. Estes podem contribuir para o aumento da frequência respiratória em resposta a hipercarbia hiperóxica. Também existe a possibilidade da presença de receptores sensíveis ao CO₂ que inibem a frequência respiratória, possivelmente no epitélio olfativo.

REID et al. (2000), no entanto, evidenciaram que, em traíra, os quimiorreceptores específicos de CO₂/pH que mediam a frequência respiratória e a bradicardia estão presentes nas brânquias, além do primeiro arco branquial. A amplitude da ventilação, no entanto, não foi abolida nos animais G4, indicando a presença de quimiorreceptores extrabranquiais.

Segundo MCKENDRY & PERRY (2001) e PERRY & REID (2002), na truta arco-íris a bradicardia e o aumento na amplitude da ventilação causados pela hipercarbia inicia-se predominantemente em receptores confinados no primeiro arco branquial. Em outros estudos a técnica de denervação para identificar quimiorreceptores branquiais de CO₂ como em catfish (BURLESON & SMATRESK, 2000) e dogfish (MCKENDRY et al., 2001), as brânquias foram totalmente denervadas e não foi possível descrever o papel do primeiro arco branquial, mas sabe-se que estão localizados exclusivamente nas brânquias.

Poucos são os estudos feitos até o presente momento que sugerem que os quimiorreceptores de CO₂ e/ou pH extrabranquiais envolvidos nas respostas ventilatórias sejam centrais. HUGHES & SHELTON (1962), explorando esta questão no tench (*Tinca tinca*), após constatarem que a denervação branquial não elimina as respostas ventilatórias hipercárbicas, injetaram solução ácida (pH 7.6) dentro de áreas posteriores da medula e encontraram locais onde as injeções aumentaram a amplitude dos movimentos respiratórios bem como os movimentos da boca. Concluíram, então, que embora estes dados possam não contar como uma resposta hipercárbica ventilatória nos peixes, indicam que existem células quimiossensíveis dentro da medula. ROVAINEN (1977) também explorou esta questão usando cérebro isolado de lampreia (*Lampetra*). Observou que aumentando a concentração de bicarbonato do fluido

cerebrospinal diminui a frequência respiratória. SANCHEZ et al. (2001) verificaram a existência de quimiorreceptores centrais em pirambóia (*Lepidosiren paradoxa*) que quando estimulados com soluções de diferentes pHs causam aumentos na ventilação e na frequência respiratória. Outras tentativas em demonstrar o papel dos quimiorreceptores de CO₂ e/ou pH centrais na regulação da respiração aquática em peixes teleósteos não tiveram sucesso. Por exemplo, a arraia (*Raja ocellata*) que responde fortemente a hipercarbia (GRAHAM et al., 1990), o aumento na ventilação não está correlacionado com mudanças na P_aCO₂, com o pH cerebrospinal ou pH_i do tecido cerebral (WOOD et al., 1990). Outros pesquisadores que fizeram perfusão nos ventrículos cerebrais ou no cérebro com soluções ácidas, alcalinas ou hipercárbicas no fluido cerebrospinal de bowfin, truta e tambaqui também não observaram alterações significativas nas respostas cardio-respiratórias (HEDRICK et al., 1991; BURLESON et al., 1992; MILSOM et al., 2002a).

4.2.4. Quimiorreceptores de CO₂ versus H⁺

No presente estudo as distintas aplicações de injeções de CO₂ e H⁺ mostraram que o aumento da [H⁺], sem a contribuição de um aumento da P_{CO₂}, não alteram os parâmetros cardio-respiratórios. Da mesma forma que experimentos destinados a separar os efeitos dos íons H⁺ daqueles do CO₂ tem sugerido que, para salmonídeos, as mudanças nas concentrações externas ou internas de H⁺ não afetam a ventilação branquial, a menos que acompanhadas de hipercarbia (JANSSEN & RANDALL, 1975; NEVILLE, 1979; THOMAS & LE RUZ, 1982). A administração de injeções de H⁺ externo e interno na aorta ventral também não produziu nenhum efeito nas variáveis cardio-respiratórias de traíra (REID, et al., 2000) e tambaqui (SUNDIN et al., 2000). MCKENDRY et al. (2001) demonstraram que injeções de água do mar equilibrada com 2% (15mmHg) ou 4% (30mmHg) de CO₂ dentro da boca (injeção externa) do dogfish ou do salmão do Atlântico causou uma pronunciada resposta cardio-respiratória (aumento da f_R , da V_{AMP} e bradicardia). Estas mesmas respostas não foram observadas quando a água do mar foi titulada com HCl para valores de pH equivalentes (7.0 e 6.3,

respectivamente). Embora nossos resultados e os de MCKENDRY et al. (2001) sugiram que mudanças no pH externo *per se* não desencadeiem respostas cardio-respiratórias, o papel dos íons H^+ nas respostas a hipercarbia não pode ser excluído. É provável que a produção de H^+ dentro da célula quimiorreceptora, seguido da entrada de CO_2 por difusão, seja o mecanismo principal para as respostas cardio-respiratórias a hipercarbia (MCKENDRY et al., 2001). Visto que, o CO_2 , mas não o H^+ , atravessa facilmente a membrana celular, estes receptores podem também monitorar as mudanças no pH intracelular que é mais sensível às mudanças na PCO_2 do que as mudanças no pH extracelular.

Por faltarem às medidas dos gases sanguíneos e do pH intracelular, não podemos afirmar que no jeju, os íons H^+ não tenham sido responsáveis por iniciar as respostas cardio-respiratórias. Mas, descartamos a possibilidade de que os quimiorreceptores de jeju sejam estimulados pelas mudanças no pH extracelular *per se*. De acordo com COSTA (1995), a PCO_2 , conteúdo total de CO_2 , pH extracelular e o pH intracelular do sangue do tambaqui não mudam significativamente em um intervalo de pH da água de 4 a 8.

4.3. Hipercarbia

Assim como na maioria das espécies estudadas a estimulação dos quimiorreceptores de jeju desencadeou respostas cardio-respiratórias, incluindo hiperventilação e bradicardia, com o objetivo de minimizar a extensão dos distúrbios ácido-base (PERRY & GILMOUR, 2002).

4.3.1. Respostas cardiovasculares

No presente estudo o aumento gradual da hipercarbia desencadeou uma bradicardia, também observada em estudos como os de KENT & PEIRCE (1978), PERRY et al. (1999), MCKENDRY & PERRY (2001), MCKENDRY et al. (2001), PERRY & REID (2002). Em outras espécies, como o catfish (BURLESON & SMATRESK, 2000), esturjão branco, *Acipenser transmontanus* (CROCKER et al., 2000) e enguia Americana, *Anguilla rostrata* (ver PERRY & GILMOUR, 2002) os animais não apresentaram bradicardia em resposta a

hipercarbica. Estes resultados mostram, mais uma vez, que a bradicardia não pode ser considerada uma resposta universal a hipercarbica (PERRY & REID, 2002).

Sabe-se que o aumento na pressão de CO₂ arterial, e concomitante diminuição do pH, são inevitáveis durante hipercarbica, mecanismo este utilizado para alterar o gradiente de difusão entre o sangue e a água, diminuindo desta forma a PCO₂ final. Em adição, a redução da frequência cardíaca pode ser teoricamente para aumentar o tempo de residência do sangue nas brânquias, aumentando a eficiência de transferência de CO₂ e amenizando a extensão do desequilíbrio ácido-base induzido pela hipercarbica (PERRY & GILMOUR, 2002).

A bradicardia hipercárbica em 5% de CO₂ observada em jeju também foi observada em outras espécies de peixes neotropicais como a traíra (REID et al., 2000) e o tambaqui (SUNDIN et al., 2000). Concentrações mais elevadas como as testadas no presente estudo, 10 e 20% de CO₂ ainda não foram testadas em outras espécies, o que impossibilita uma avaliação de sensibilidade das espécies neotropicais ao CO₂ em relação às respostas cardíacas.

A exposição ao ambiente hipercárbico também desencadeou uma hipertensão a partir da exposição a 5% de CO₂, assim como foi observado em tambaqui (SUNDIN et al., 2000), diferentemente da traíra (REID et al., 2000) que apresentou uma hipotensão apenas no grupo intacto a partir de 2.5% de CO₂. Acredita-se que o aumento da P_a é uma forma hábil de aumentar a residência vascular sistêmica durante a hipercarbica, observações estas que foram registradas no trabalho de PERRY et al. (1999) com a truta arco-íris. Estas observações comprovam que existe uma variação inter-específica quanto a pressão arterial em resposta a hipercarbica (PERRY & GILMOUR, 2002). MCKENDRY & PERRY (2001) também observaram em truta arco-íris que o aumento na pressão arterial e na resistência sistêmica induzidos pela hipercarbica, não são atribuídos a nenhuma ação direta do CO₂ no sistema vascular e que os efeitos cardiovasculares são atribuídos à hipercarbica e não à hipercapnia.

Sugere-se que a hipertensão também esteja envolvida com as trocas gasosas nas brânquias *via* recrutamento lamelar. Estudos mostraram que o

aumento na pressão sanguínea pode ser causado pelo recrutamento lamelar iniciado pela perfusão de mais lamelas distais nos filamentos bem como pela alteração do padrão de fluxo dentro de cada lamela (BOOTH, 1978, 1979a,b; FARREL et al., 1979; SOIVIO & TUURALA, 1981).

4.3.2. Respostas respiratórias

Os resultados deste estudo mostraram que a f_R , V_{AMP} e a V_{TOT} aumentaram significativamente durante a hipercarbia de 5% de CO_2 . Estes resultados estão de acordo com outros estudos sobre uma variedade de espécies, tais como, o dogfish, *Scyliorhinus stellaris* (HEISLER et al., 1988), arraia (GRAHAM et al., 1990; WOOD et al., 1990), truta arco-íris (KINKEAD & PERRY, 1991; GILMOUR & PERRY, 1994; PERRY et al., 1999), traíra (REID et al., 2000), catfish (BURLESON & SMATRESK, 2000), dogfish (MCKENDRY et al., 2001) e tambaqui (SUNDIN et al., 2000; MILSOM et al., 2002a).

O jeju apresenta hiperventilação durante a exposição a 5% de CO_2 e uma hipoventilação significativa em 10 e 20% de CO_2 . Estudos prévios com peixes teleósteos também demonstraram uma hiperventilação durante a hipercarbia (truta arco-íris; GILMOUR & PERRY, 1994; traíra; REID et al., 2000; SUNDIN et al., 2000), e concentrações elevadas de CO_2 apresentam um efeito anestésico (truta arco-íris; BERNIER & RANDALL, 1998) o que faz com que ocorra uma diminuição na f_R e da V_{AMP} .

Embora a hiperventilação seja uma resposta comum em resposta à hipercarbia (GILMOUR, 2001), a sensibilidade varia entre as espécies, alguns peixes, por exemplo a truta, exibem alto grau de sensibilidade (THOMAS, 1983) e outras, como a carpa, exibem relativa insensibilidade (SONCINI & GLASS, 2000).

A variação de sensibilidade também pode ser observada em relação ao efeito anestésico do CO_2 que apresenta como uma das conseqüências a hipoventilação. Como visto no presente estudo, o jeju iniciou esta resposta em concentrações acima de 10% de CO_2 (~ 66 mmHg). Enquanto que para carpa foi necessário uma PCO_2 da água de 50 - 250 mmHg para causar um efeito anestésico, para a truta arco-íris foram necessários 37 - 125 mmHg, para o

coho, *Oncorhynchus kisutch*, e para o chinook, *Oncorhynchus tshawytscha* apenas 18 - 44 mmHg (ver BRAUNER & RANDALL, 1998).

Em síntese, no presente estudo podemos observar que a hipercarbia desencadeou ajustes cardiovasculares e ventilatórios em jejum sem acesso ao ar atmosférico. No entanto, ainda são necessários outros estudos para entendermos melhor o significado fisiológico destas mudanças cardio-respiratórias. Mas estes e outros estudos já mostraram que o CO_2/pH é um importante modulador das funções cardio-respiratórias em peixes.

4.4. Meio ácido

Em peixes expostos a águas ácidas é comum observar-se distúrbios iono-regulatório e ácido-base (WOOD & MCDONALD, 1982) além de danos no epitélio branquial resultantes da elevada concentração de íons H^+ na água (LAURENT & PERRY, 1991; PERRY & LAURENT, 1993). Nos peixes, a manutenção do equilíbrio ácido-base mediante ajustes ventilatórios são reduzidas. Em contrapartida, estes animais apresentam um elaborado sistema de troca iônica, troca gasosa e regulação ácido-base localizado no epitélio branquial (HEISLER, 1989). A magnitude das alterações depende principalmente do tempo de exposição e da taxa de acidificação (WOOD & MCDONALD, 1982).

Apesar das condições nitidamente contrastantes das águas amazônicas em relação à zona temperada, pouco se tem discutido sobre as respostas fisiológicas dos peixes frente às oscilações no pH da água e tampouco sobre quimiorreceptores de H^+ . WOOD et al. (1998) expôs o tambaqui a baixos pHs entre 6.5 e 3.0. Estes autores observaram que a glicose do plasma, o cortisol e os níveis de amônia total mantiveram-se constantes mesmo em pH 3,0 indicando o alto grau de tolerância ao meio ácido. WILSON et al., (1999) também expuseram o tambaqui à água com baixo pH e demonstraram a insensibilidade do sistema ionoregulatório do tambaqui ao baixo pH. Segundo FREDA & MCDONALD (1988), a habilidade para limitar a permeabilidade branquial e a capacidade dos trocadores iônicos em resistir ou recuperar-se da inibição provocada pelo excesso de H^+ é uma característica dos peixes ácido-resistentes.

O presente estudo mostrou que o jejum não apresenta alterações cardio-respiratórias quando submetido ao meio ácido (pH ~ 7, 6.0, 5.8, 5.6, 5.3 e 4.7 e 1, 2, 3, 4 e 5mM de HCl). Isto nos leva a crer que os tampões corporais atuaram para a manutenção da homeostase iônica, para compensar a acidose. Deve-se levar em consideração que o tamponamento do pH extracelular em peixes é mantido por mecanismos que permitem a acumulação de HCO_3^- no plasma (HEISLER, 1984).

Quanto à existência de quimiorreceptores de H^+ em jejum não foi verificada, talvez pelo tempo de exposição ou pela taxa de acidificação, o que não é provável, pois experimentos pilotos mostraram que o tempo e a quantidade de ácido utilizada no presente estudo foram suficientes para alterar o pH extracelular. Mas não se pode afirmar a inexistência destes quimiorreceptores, pois não foram efetuadas medidas do pH intracelular.

4.5. Respiração aérea

A exposição a hipercarbia aquática estimula a respiração aérea em muitas espécies de peixes, mas não em todas (SMATRESK & CAMERON, 1982; MILSOM, 2002). Segundo MILSOM (2002), a natureza da resposta da frequência de respiração aérea depende da eficácia da ventilação branquial na excreção de CO_2 . Em algumas espécies, a respiração aérea é estimulada antes de cessar a ventilação. Os níveis de CO_2 aquático requeridos para a inibição da ventilação branquial é de 2 a 10% e, dependendo da espécie, tais níveis podem estimular a respiração aérea (ver revisão de MILSOM, 2002).

Em jejum observou-se que a respiração aérea iniciou-se nas concentrações hipercárbicas de 10 e 20% de CO_2 , sendo que a frequência de subida foi reduzida, mas não abolida, pelas denervações, o que indica que esta resposta é mediada por quimiorreceptores branquiais e extrabranquiais. A localização dos quimiorreceptores de CO_2 e as aferências que induzem os reflexos da respiração aérea ainda são incertos. Porém, o presente estudo mostra que pelo menos parte das aferências destes quimiorreceptores estão localizados nas brânquias e relacionados aos nervos glossofaríngeo e vago.

Assim como WILSON et al. (2000) observaram no gar a presença de quimiorreceptores centrais de CO₂/pH relacionados à frequência de respiração aérea é possível que o jeju também tenha estes quimiorreceptores.

Para a tomada de O₂ no meio aéreo, o jeju apresentou movimentos de subida vertical até a superfície da lâmina d'água, tomada de ar pela boca, e em seguida, retornando novamente ao fundo. O tempo que a espécie permaneceu na superfície tomando ar foi maior na exposição de 10% de CO₂, diminuindo em 20%, que pode ter sido em função do efeito anestésico do CO₂. Na natureza os fatores que afetam a duração de respiração aérea são: concentração dos gases na água, o nível de claridade, período do dia e profundidade em que vive o peixe (próxima da superfície). A presença de toxinas na água também aumenta a frequência de respiração aérea (KULAKKATTOLICKAL & KRAMER, 1988).

Em algumas espécies, a presença de desvios ("shunts") é capaz de reduzir ou eliminar a circulação do sangue pela superfície branquial ou mesmo através da pele, como forma de evitar a perda de O₂ (WHITE & HICKS, 1987). A presença de "shunts" pode ter sido utilizada pelo jeju durante a exposição a hipercarbia e meio ácido, devido ao seu comportamento praticamente imóvel durante a maior parte do tempo durante as exposições. Desta forma os animais evitaram a perda de O₂ através das brânquias com o fechamento dos opérculos e o sangue sendo direcionado para os arcos branquiais 3 e 4, onde as lamelas secundárias são menores e os filamentos branquiais reduzidos (FARRELL, 1978).

Através do presente estudo também foi observado que o meio ácido não estimulou a frequência de respiração aérea em jeju. O que indica que esta espécie não apresenta quimiorreceptores especificamente de H⁺ orientados externamente. A falta de estudos com esta abordagem nos impossibilita uma discussão mais pormenorizada sobre estes dados.

4.6. Quimiorreceptor CO₂ versus O₂ em peixes tropicais

A questão da existência de quimiorreceptores em peixes neotropicais responsivos às mudanças de CO₂/pH e de O₂ na água ou sangue está sendo cada vez mais elucidada. A Tabela XI sumariza os dados do presente estudo e

outros recentes dados com estudos de denervação com jeju (quimiorreceptores de O_2 - LOPES, 2003), traíra (CO_2 - REID et al., 2000, O_2 - SUNDIN et al., 1999) e tambaqui (CO_2 e O_2 - MILSOM et al., 2002a, SUNDIN et al., 2000).

Em jeju, os dados sugerem que os receptores envolvidos na indução da bradicardia hipóxica e hipercárbica são encontrados nas brânquias, em todos os arcos branquiais. A orientação dos quimiorreceptores que mediam a bradicardia hipóxica estão orientados interna e externamente (LOPES, 2003) e os que mediam a bradicardia hipercárbica estão orientados apenas externamente. Em traíra, existem receptores no primeiro arco branquial que reflexivamente mediam a bradicardia em resposta às mudanças de O_2 e CO_2 bem como receptores nos outros arcos branquiais sensíveis ao CO_2 apenas, que também produzem esta resposta (REID et al., 2000; SUNDIN et al., 1999). Em tambaqui, a distribuição dos quimiorreceptores é inversa. Os receptores envolvidos em produzir a bradicardia hipercárbica estão confinados no primeiro arco enquanto que aqueles envolvidos em produzir a bradicardia hipóxica estão localizados possivelmente em todos os arcos e orientados interna e externamente (MILSOM et al., 2002a; SUNDIN et al., 2000).

O aumento da frequência respiratória em resposta à hipóxia em jeju é mediado por quimiorreceptores localizados nas brânquias em todos os arcos e orientados interna e externamente. Os quimiorreceptores envolvidos no aumento da amplitude ventilatória durante hipóxia são extrabranquiais (LOPES, 2003). Diferente dos receptores envolvidos em produzir as respostas ventilatórias (f_R e V_{AMP}) à hipercarbia em jeju, que estão localizados exclusivamente no 1º arco branquial e orientados externamente. Os receptores envolvidos em produzir o aumento da frequência respiratória na traíra em resposta a hipercarbia parecem ter uma similar distribuição daqueles envolvidos em produzir um aumento na frequência respiratória em resposta a hipóxia (REID et al., 2000; SUNDIN et al., 1999). Em tambaqui, no entanto, existe também um grupo de receptores sensíveis ao CO_2 que estimula a frequência respiratória em resposta a hipercarbia que parece estar localizado nas brânquias e cavidade orobranchial (MILSOM et al., 2002a).

Os receptores envolvidos em produzir aumento na amplitude ventilatória em resposta a hipercarbia também parecem ter uma similar distribuição daqueles envolvidos em produzir o aumento da amplitude em resposta a

hipóxia em traíra (REID et al., 2000) mas não em tambaqui (SUNDIN et al., 2000). A amplitude em resposta da hipercarbia em tambaqui é variável mas alguns indivíduos exibiram marcantes respostas. Estas respostas surgem exclusivamente de receptores branquiais enquanto a amplitude em resposta a hipóxia em tambaqui também envolve receptores extrabranquiais (MILSOM et al., 2002a; SUNDIN et al., 2000).

O controle da frequência de respiração aérea em jeju é monitorado por quimiorreceptores exclusivamente branquiais durante hipóxia (LOPES, 2003), diferente dos quimiorreceptores de CO_2/pH que são branquiais e também extrabranquiais.

Estes dados apresentam indícios de que as populações de quimiorreceptores possam ser distintas para as respostas à hipóxia e hipercarbia. Nos casos onde apenas as respostas hipóxicas ou as hipercárbicas podem ser iniciadas em um particular local indiretamente sustenta a possibilidade de lá haver quimiorreceptores distintos de CO_2 e O_2 em peixes. Por outro lado, nos casos onde as respostas hipóxicas e hipercárbicas surgem de receptores no mesmo local (sobreposição), existe a possibilidade de que haja uma população comum de receptores, que podem ser estimulados tanto pelas mudanças de O_2 quanto de CO_2 .

TABELA XI. Localização, inervação e orientação dos quimiorreceptores envolvidos nos reflexos cardio-respiratórios de peixes tropicais

	JEJU		TRAÍRA		TAMBAQUI	
	Hipóxia	Hipercarbia	Hipóxia	Hipercarbia	Hipóxia	Hipercarbia
Bradycardia						
Localização	Todos os arcos	Todos os arcos	1° arco	Todos os arcos	Todos os arcos	1° arco
Orientação	Interno/externo	Externo	Interno	???	Interno/externo	???
Aumento da f_R						
Localização	Todos os arcos	1° arco	Todos os arcos	Todos os arcos	Todos os arcos	Todos os arcos + extrabranquial
Orientação	Interno/externo	Externo	Externo	???	Interno/externo	Externo
Aumento da V_{AMP}						
Localização	Todos os arcos + extrabranquial	1° arco	Todos os arcos + extrabranquial	Todos os arcos + extrabranquial*	Todos os arcos + extrabranquial	Todos os arcos*
Orientação	Interno/externo	Externo	externa	???	Interno/externo	Externo

Tabela publicada por MILSOM et al., (2002b) modificada. * apenas alguns peixes

5. CONCLUSÕES

Os dados obtidos no presente estudo permitem concluirmos que:

- a) A localização dos quimiorreceptores de CO_2/pH que desencadeiam os ajustes cardio-respiratórias no jeju é exclusivamente branquial e os receptores estão orientados externamente (monitorando a água da corrente ventilatória).
- b) As respostas cardíacas são mediadas por quimiorreceptores de CO_2/pH localizados nas brânquias, tanto no 1º arco branquial quanto nos demais e as respostas respiratórias são mediadas preferencialmente por quimiorreceptores localizados no 1º arco branquial.
- c) O jeju sem acesso ao ar atmosférico responde a hipercarbia gradual até 5% de CO_2 com uma bradicardia, hipertensão e aumento da frequência e da amplitude respiratórias, e concentrações acima de 5% causam um efeito anestésico.
- d) A hipercarbia (10 e 20% de CO_2) induz a respiração aérea e os quimiorreceptores envolvidos nesta resposta estão localizados em sítios branquiais e extrabranquiais.
- e) As mudanças nas concentrações externas e internas de H^+ ou no meio ácido não afetam as respostas cardio-respiratórias e frequência de respiração aérea a menos que acompanhadas pela hipercarbia.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, R.M. (1966). Physical aspects of swim bladder function. *Biol. Rev.*, v.41, p.141-176.
- ALMEIDA-VAL, V.M.F., VAL, A.L. (1990). Adaptação bioquímica em peixes da Amazônia. *Ciência Hoje*, 11, 62-67.
- ALMEIDA-VAL, V.M.F., VAL, A.L., HOCHACHKA, P.W. (1993). Hypoxia tolerance in Amazon fishes: Status of an under-explored biological "goldmine". In: *Surviving hypoxia: Mechanisms of control and adaptation* (Ed. Hochachka P. W., et al.) CRC Press Inc., Boca Ration, pp. 435-445.
- AOTA, S., HOLMGREN, K.D., GALLAUGHER, P., RANDALL, D.J. (1990). A possible role for catecholamines in the ventilatory responses associated with internal acidosis or external hypoxia in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Exp. Biol.* 151, 57-70.
- AZEVEDO, P., GOMES, A.L. (1943). Contribuição ao estudo da traíra *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1974). *Boletim de Indústria Animal*, 5:15-64.
- BERNIER, N.J., RANDALL, D.J. (1998). Carbon dioxide anaesthesia in rainbow trout: effects of hypercapnic level and stress on induction and recovery from anaesthetic treatment. *J. Fish Biol.*, 52, 621-637.
- BOOTH, J.H. (1978). The distribution of blood flow to the gills of fish: Application of a new technique to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Exp. Biol.* 73, 119-129.
- BOOTH, J.H. (1979a). Circulation in trout gills: the relationship between branchial perfusion and the width of the lamellar blood space. *Can. J. Zool.* 57, 2183-2185.
- BOOTH, J.H. (1979b). The effects of oxygen supply, epinephrine and acetylcholine on the distribution of blood flow in trout gills. *J. Exp. Biol.* 83, 31-39.

- BORCH, K., JENSEN, F.B., ANDERSEN, B.B. (1993). Cardiac activity, ventilation rate and acid-base regulation in rainbow trout exposed to hypoxia and combined hypoxia and hypercapnia. *Fish Physiol. Biochem.* 12, 101-110.
- BOUTILIER, R.G., HEMING, T.A., IWAMA, G.K. (1986). Acute extracellular acidosis promotes catecholamine release in rainbow trout (*Salmo gairdneri*): interaction between red cell pH and Hb-O₂ carrying capacity. *J. Exp. Biol.* 123, 145-157.
- BOYD, C.E. (1990). *Water quality in ponds for aquaculture*. Alabama Agricultural Experiments Station, Auburn University, Alabama, U.S.A., 482 p.
- BRAUNER, C.J., GILMOUR, K.M., PERRY, S.F. (1996). Effect of hemoglobin oxygenation on Bohr proton release and CO₂ excretion in the rainbow trout. *Resp. Physiol.* 106, 65-70.
- BRAUNER, C.J., RANDALL, D.J. (1996). The interaction between oxygen and carbon dioxide movements in fishes. *Comp. Biochem. Physiol. A* 113, 83-90.
- BRAUNER, C.J., RANDALL, D.J. (1998). *The linkage between oxygen and carbon dioxide transport*. In: Perry, S.F., Tufts, B.L. (Eds.), *Fish Respiration*. Academic, San Diego, pp. 283-319.
- BRITSKI, H.A. (1988). Manual de Identificação de Peixes da Região de Três Marias: com chave de identificação para os peixes da Bacia do São Francisco. CODEVASF, 3° ed., 115p.
- BURLESON, M.L. (1995). Oxygen availability: Sensory systems. In: Hochachka, P.W., Mommsen, T.P. (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes, 5. Environmental and Ecological Biochemistry*. Elsevier, Amsterdam, pp. 1-18.
- BURLESON, M.L., SMATRESK, N.J. (1990). Effects of sectioning cranial nerves IX and X on cardiovascular and ventilatory reflex responses to hypoxia and NaCN in channel catfish. *J. Exp. Biol.* 154, 407-420.

- BURLESON, M.L., SMATRESK, N.J. (2000). Branchial chemoreceptors mediate ventilatory responses to hypercapnic acidosis in channel catfish. *Comp. Biochem. Physiol. A* 125, 403–414.
- BURLESON, M.L., SMATRESK, N.J., MILSOM, W.K. (1992). Afferent inputs associated with cardioventilatory control in fish. In: Hoar, W.S. & Randall, D.J. (Ed.), *Fish Physiology*, Vol. XII, p. 389-426
- BUTLER, P.J., TAYLOR, E.W. (1971). Responses of the dogfish (*Scyliorhinus canicula* L.) to slowly induced and rapidly induced hypoxia. *Comp. Biochem. Physiol. A* 39, 307-323.
- CAMERON, J.N., RANDALL, D.J. (1972). The effect of increased ambient CO₂ on arterial CO₂ tension, CO₂ content and pH in rainbow trout. *J. Exp. Biol.* 57, 759-769.
- CAMERON, J.N., WOOD, C.M. (1978). Renal function and acid-base regulation in two Amazonian erythrinid fishes: *Hoplias malabaricus*, a water breather, and *H. unitaeniatus*, a facultative air breather. *Can. J. Zool.*, 56, 917-930.
- CARTER, G.S., BEADLE, L.C. (1931). *The fauna of the swamps of the Paraguayan Chaco in relation to its environments: III Respiratory adaptation in the fishes.* J. Limn. Soc., 37:327-366.
- COSTA, O.T.F. (1995). Efeito do pH da água sobre os parâmetros hematológicos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico do sangue arterial de *Colossoma macropomum* (Characiformes, Serrasalminidae). Manaus, AM, 1995, 108p. *Dissertação de Mestrado*, INPA.
- CROCKER, C.E., FARRELL, A.P., GAMPERL, A.K., CECH, J.J. (2000). Cardiorespiratory responses of white sturgeon to environmental hypercapnia. *Am. J. Physiol.* 279, R617 -R628.
- DAXBOECK, C., HOLETON, G.F. (1978). Oxygen receptors in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Can. J. Zool.* 56, 1254-1259.

- DEHADRAI, P.V., TRIPATHI, S.D. (1976). Environment and ecology of freshwater air-breathing teleosts. In: Hughes, G.M. (Ed.), *Respiration of Amphibious Vertebrates*. Academic Press, London, p. 39-72.
- DEJOURS, P. (1973). Problems of control of breathing in fish. In: *Comparative Physiology*. Bolis, I. Maddrell, S., Schimidt-Nielsen, K. (Eds), Elsevier, Amsterdam, p. 117-133.
- ESTEVEES, F.A. (1988). *Fundamentos de Limnologia*. Ed. Interciência. 575 p.
- FANGE, R. (1973). The physiology of the swimbladder. In: Bolis, L.; Schimidt-Nielsen, K.; Maddrell, S.H.P. *Comparative Physiology*, North-Holland Publ. Co., New York, p.135-159.
- FARRELL, A.P. (1978). Cardiovascular events associated with air-breathing in two teleosts, *Hoplerythrinus unitaeniatus* and *Arapaima gigas*. *Can. J. Zool.*, 56, 953-958.
- FARRELL, A.P., DAXBOECK, C., RANDALL, D.J. (1979). The effect of input pressure and flow on the pattern and resistance to flow in the isolate perfused gill of a teleost fish. *J. Comp. Physiol.* 133, 233-240.
- FARRELL, A.P., RANDALL, D.J. (1978). Air-breathing mechanisms in two Amazonian teleosts, *Arapaima gigas* and *Hoplerythrinus unitaeniatus*. *Can. J. Zool.*, 56, 939-945.
- FERNANDES, M.N., RANTIN, F.T., KALININ, A.L., MORON, S.E. (1994). Comparative study of gill dimensions of three erythrinid species in relation to their respiratory function. *Can. J. Zool.* 72, 160-165.
- FOWLER, F., ALMEIDA TOLEDO, L.F., TOLEDO FILHO, S.A. (1950). Os Peixes de Água Doce do Brasil. *Arq. Zool. Estado de São Paulo*, 6:205-404.
- FREDA, J., MCDONALD, D. (1988). Physiological correlates of interspecific variation in acid tolerance in fish. *J. Exp. Biol.* 136: 243-258.

- FRITSCHÉ, R., NILSSON, S. (1993). Cardiovascular and ventilatory control during hypoxia. In: Rankin, J.C. & Jensen, F.B., *Fish Ecophysiology*. Chapman & Hill, London, p. 180-206.
- GEE, J.H. (1980). Respiratory patterns and antipredator responses in the central mudminnow, *Umbra limi*, a continuous facultative air-breathing fish. *Can. J. Zool.*, v.58, p.819-827.
- GEE, J.H. (1986). Buoyancy control of four species of eleotrid fishes during aquatic surface respiration. *Environ. Biol. Fishes*. 16, 269-278.
- GILMOUR, K.M. (1997). *Gas exchange*. In: Evans, D.H. (Ed.), *The Physiology of Fish*. CRC, Boca Raton, pp. 101-127.
- GILMOUR, K.M. (2001). The CO₂/pH ventilatory drive in fish. *Comp. Biochem. Physiol.A* 130, 219 -240.
- GILMOUR, K.M., PERRY, S.F. (1994). The effects of hypoxia, hyperoxia or hypercapnia on the acid-base disequilibrium in the arterial blood of rainbow trout. *J. Exp. Biol.* 192, 269 -284.
- GLASS, M.L., ISHIMATSU, A., JOHANSEN, K. (1986). Responses of aerial ventilation to hypoxia and hypercapnia in *Channa argus*, na air-breathing fish. *J. Comp. Physiol.*, 156(B):425-430.
- GODOY, M.P. (1979). *Rio Iguaçu, Paraná, Brasil: Reconhecimento da ictiofauna, modificações ambientais e usos múltiplos dos reservatórios*. Eletrosul.
- GODOY, M.P. (1987). *Peixes do estado de Santa Catarina*. Florianópolis: Editora da UFSC, Co-edição Eletrosul e FURB.
- GRAHAM, J.B. (1985). Seasonal and environmental effects on the blood hemoglobin concentrations of some Panamanian air-breathing fishes. *Environ. Biol. Fishes*. 12, 291-301.
- GRAHAM, J.B. (1997). *Air-Breathing Fishes*. Academic Press, California, 299 p.

- GRAHAM, J.B., BAIRD, T.A. (1984). The transition to air breathing in fishes: III. Effects of body size and aquatic hypoxia on the aerial gas exchange of the swamp eel *Synbranchus marmoratus*. *J. Exp. Biol.* 108, 357-375.
- GRAHAM, J.B., KRAMER, D.L., PINEDA, E. (1977). Respiration of the air breathing fish *Piabucina festae*. *J. Comp. Physiol.*, 122(B): 295-310.
- GRAHAM, J.B., KRAMER, D.L., PIMEDA, E. (1978). Comparative respiration of an air-breathing and a non-air-breathing characoid fish and the evolution of aerial respiration in characins. *Phjysiol. Zool.*, 51:279-288.
- GRAHAM, M.S., TURNER, J.D., WOOD, C.M. (1990). Control of ventilation in the hypercapnic skate, *Raja ocellata*. I. Blood and extradural fluid chemistry. *Respir. Physiol.* 80,259 -277.
- GROTTUM, J.A., SIGHOLT, T. (1996). Acute toxicity of carbon dioxide on European Seabass (*Dicentrarchus labrax*): Mortality and effects on plasm ions. *Comp. Biochem. Physiol. A* 115, 323-327.
- HEATH, A.G. (1995). *Environmental Hypoxia*. In: Water Pollution and Fish Physiology, 2nd Editon. CRC Press, Boca Raton, FL, U.S.A., 359 p.
- HEDRICK, M.S., BURLESON, M.L., JONES, D.R., MILSOM, W.K. (1991). An examination of central chemosensitivity in an air-breathing fish (*Amia calva*). *J. Exp. Biol.* 155, 165-174.
- HEISLER, N. (1984). Acid-base regulation in fishes. In *Fish Physiology* Vol. 10A (ed. W. S. Hoar and D.J. Randall), pp. 315-401. New York: Academic Press.
- HEISLER, N. (1989). Interaction between gas exchange, metabolism, and ion transport in animals: an overview. *Can.J. Zool.*, 67: 2923-2935.
- HEISLER, N. (1993). Acid-base regulation. In *The Physiology of Fishes* (ed. D. H. Evans), pp. 343-378, Boca Raton: CRC Press.
- HEISLER, N., TOEWS, D.P., HOLETON, G.F. (1988). Regulation of ventilation and acid-base status in the elasmobranch *Scyliorhinus stellaris* during hyperoxia induced hypercapnia. *Respir. Physiol.* 71, 227 -246.

- HILLMAN, S.S., WITHERS, P.C. (1987). Oxygen consumption during aerial activity in aquatic and amphibious fish. *Copeia*, pp. 232-234.
- HOWELL, B.J. (1970). Acid-base regulation in the transition from water breathing to air breathing. *Fed. Proc.* 29, 1130-1134.
- HUGHES, G.M., SHELTON, G. (1962). Respiratory mechanisms and their nervous control in fish. *Adv. Comp. Physiol. Biochem.*, 1, p. 275-364.
- HUGHES, G.M., SINGH, B.N. (1970). Respiration in air-breathing fish, the climbing perch *Anabas testudineus*. II. Respiratory patterns and the control of breathing. *J. Exp. Biol.* 53, 281-298.
- JANSSEN, R.G., RANDALL, D.J. (1975). The effects of changes in pH and PCO_2 in blood and water on breathing in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Respir. Physiol.* 25, 235-245.
- JESSE, M.J., SHUB, C., FISHMAN, A.P. (1967). Lung and gill ventilation of the African lungfish. *Resp. Physiol.* 3, 267-287.
- JOHANSEN, K. (1966). Air Breathing in the teleost *Symbranchus marmoratus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 18, 383-395.
- JOHANSEN, K. (1970). Air Breathing in Fishes. In: Hoar, W.S. & Randall, D.J., *Fish Physiology*. Vol. IV., Academic Press, New York, p. 361-411.
- JULIO, A.E., DESFORGES, R., PERRY, S.F. (2000). Apparent diffusion limitations for CO_2 excretion in rainbow trout are relieved by injection of carbonic anhydrase. *Resp. Physiol.* 121, 53-64.
- KENT, B., PEIRCE, E.C.I. (1978). Cardiovascular responses to changes in blood gases in dogfish shark, *Squalus acanthias*. *Comp. Biochem. Physiol. C* 60, 37-44.
- KINKEAD, R., PERRY, S.F. (1991). The effects of catecholamines on ventilation in rainbow trout during external hypoxia or hypercapnia. *Respir. Physiol.* 84, 77-92.

- KONISHI, J., HIDAKA, I., TOYOTA, M., MATSUDA, H. (1969). High sensitivity of the palatal chemoreceptors of the carp to carbon dioxide. *Jpn. J. Physiol.* 19, 327-341.
- KRAMER, D.L. (1978). Ventilation of the gas bladder in *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Pisces, Characoidei, Erythrinidae). *Can. J. Zool.*, 56, 931-938.
- KRAMER, D.L., GRAHAM, J.B. (1976). Synchronous air breathing, a social component of respiration in fishes. *Copeia*, pp. 689-697.
- KRAMER, D.L., LINDSEY, C.C., MOODIE, G.E.E., STEVENS, E.D. (1978). The fishes and aquatic environments of the Central Amazon Basin, with particular reference to respiratory patterns. *Can. J. Zool.*, 56:717-729.
- KULAKKATTOLICKAL, A.T., KRAMER, D.L. (1988). The role of air breathing in the resistance of bimodally respiring fish to waterborne toxins. *J. Fish Biol.* 32, 119-127.
- LAURENT, P., PERRY, S.F. (1991). Environmental effects on fish gill morphology. *Physiol. Zool.*, 64: 4-25.
- LOPES, J.M. (2003). Localização e orientação dos quimiorreceptores de O₂ envolvidos no controle dos reflexos cardio-respiratórios e da respiração aérea acessória de jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Teleostei, Erythrinidae) em resposta à hipóxia ambiental. São Carlos, SP, 2003, 80p. *Tese (Doutorado em Ciências)* – PPGCF, Universidade Federal de São Carlos.
- LOWE-MCCONNELL, R.H. (1987). *Ecological studies In tropical fish communities*. Cambridge University Press, Cambridge, 382 pp.
- LIEM, K.F., ECLANCHER, B., FINK, W.L. (1984). Aerial respiration in the banded knife fish *Gymnotus carapo* (Teleostei: Gymnotoidei). *Physiol. Zool.*, v.57, p.185-195.
- MATTIAS, A.T., MORON, S.E., FERNANDES, M.N. (1996). Aquatic respiration during hypoxia of the facultative air-breathing *Hoplerythrinus unitaeniatus*. A

- comparison with the water-breathing *Hoplias malabaricus*. In: *Physiology and Biochemistry Fishes of the Amazon* (Val, A.L., et al.), Manaus, pp. 203-211.
- MCKENDRY, J.E. (2000). CO₂ chemoreception and the cardioventilatory effects of hypercarbia in fish. *M.Sc. Thesis*, Univesity of Ottawa.
- MCKENDRY, J.E., MILSOM, W.K., PERRY, S.F. (2001). Branchial CO₂ receptors and cardiorespiratory adjustments during hypercarbia in Pacific spiny dogfish (*Squalus acanthias*). *J. Exp. Biol.* 204,1519 -1527.
- MCKENDRY, J.E., PERRY, S.F. (2001). Cardiovascular effects of hypercapnia in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a role for externally oriented chemoreceptors. *J. Exp. Biol.* 204, 115–125.
- MCKENZIE, D.J., AOTA, S., RANDALL, D.J. (1991). Ventilatory and cardiovascular responses to blood pH, plasma PCO₂, blood O₂ content and catecholamines in an air-breathing fish, the bowfin (*Amia calva*). *Physiol. Zool.* 64, 432-450.
- MCKENZIE, D.J., PICCOLELLA, M., DALLA VALLE, A.Z., TAYLOR, E.W., BOLIS, C.L., STEFFENSEN, J.F. (2003). Tolerance of chronic hipercapnia by the European eel *Anguilla anguilla*. *J. Exp. Biol.* 206, 1717-1726.
- MILSOM, W. K. (1995a). Regulation of respiration in lower vertebrates: role of CO₂/pH chemoreceptors. In: *Advances in Comparative and Environmental Physiology*, Vol. 22 (ed. N. Heisler), pp. 62-104. Berlin: Springer-Verlang.
- MILSOM, W.K. (1995b). The role of CO₂/pH chemoreceptors in ventilatory control. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 28, 1147-1160.
- MILSOM, W.K. (1997). Control of breathing in fish: role of chemoreceptors. In: *Physiology and Biochemistry of the Fishes of the Amazon*. (ed. A. L. Val, et al.), pp. 359-377, Manaus.
- MILSOM, W.K. (1998). Phylogeny of respiratory chemoreceptor function in vertebrates. *Zoology.* 101, 316-332.

- MILSOM, W.K. (2002). Phylogeny of CO₂/H⁺ chemoreception in vertebrates. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 131, 29-41.
- MILSOM, W.K., REID, S.G., RANTIN, F.T., SUNDIN, L. (2002a). Extrabranchial chemoreceptors involved in respiratory reflexes in the neotropical fish *Colossoma macropomum* (the tambaqui). *J. Exp. Biol.* 205, 1765-1774.
- MILSOM, W.K., SUNDIN, L., REID, S.G., RANTIN, F.T. (2002b). Peripheral CO₂ chemoreceptors in fish do they really exist?. In: *Cardiorespiratory Responses to Oxygen and Carbon Dioxide in Fish*. Milson et al. (eds) Vancouver, Canada. p 1-5.
- MORON, S.E., MATTIAS, A.T., FERNANDES, M.N. (1994). Structural and ultrastructural differentiation of the gills of two erythrinid species. In: *International Symposium Physiology and Biochemistry of the Fishes of the Amazon*, Manaus, AM, Abstracts p. 66.
- NATARAJAN, G.M. (1979). Observations on the oxygen consumption in indian air-breathing fishes. III. Oxygen consumption in the fresh water catfish, *Mystus gulio*. *Comp. Physiol. Ecol.*, v.4, p.38-40.
- NAVARRO, D.G., MORON, S.E., MATTIAS, A.T., FERNANDES, M.N. (1995). Organização estrutural da bexiga natatória de jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Erythrinidae). Resumos XI Encontro Brasileiro de Ictiologia - Campinas/SP.
- NEVILLE, C.M. (1979). Ventilatory responses of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increased H⁺ ion concentration in blood and water. *Comp. Biochem. Physiol. A* 63, 373-376.
- NOMURA, H. (1984). *Dicionário dos peixes do Brasil*. Editora Editorial Ltda., Brasília. 482p.
- OLIVEIRA, R.C. (2003). Efeito da temperatura nos reflexos cardio-respiratórios e na respiração aérea acessória de jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Erythrinidae) aclimatados a 15, 20, 25 e 30°C e submetidos a variações de

- O₂ ambiental. São Carlos, SP, 2003, 77p. *Tese (Doutorado em Ciências)* – PPGERN, Universidade Federal de São Carlos.
- PERRY, S.F. (1986). Carbon dioxide excretion in fish. *Can. J. Zool.* 64, 565-572.
- PERRY, S.F., FRITSCH, R., HOAGLAND, T., DUFF, D.W., OLSON, K.R. (1999). The control of blood pressure during external hypercapnia in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.* 202,2177 -2190.
- PERRY, S.F., GILMOUR, K.M. (1993). An evolution of factors limiting carbon dioxide excretion by trout red blood cells in vitro. *J. Exp. Biol.* 180, 39–54.
- PERRY, S.F., GILMOUR, K.M. (1996). Consequences of catecholamine release on ventilation and blood oxygen transport during hypoxia and hypercapnia in an elasmobranch (*Squalus acanthias*) and a teleost (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.* 199, 2105–2118.
- PERRY, S.F., GILMOUR, K.M. (2002). Sensing and transfer of respiratory gases at the fish gill. *J. Exp. Zool.* 293, 249–263.
- PERRY, S.F., KINKEAD, R. (1989). The role of catecholamines in regulating arterial oxygen content during acute hypercarbic acidosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Resp. Physiol.* 77, 365-378.
- PERRY, S.F., KINKEAD, R., FRITCHE, R. (1992). Are circulating catecholamines involved in the control of breathing by fishes? *Rev. Fish Biol. Fish.* 2, p. 65-83.
- PERRY, S.F., LAURENT, P. (1993). Environmental effects on fish gill structure and function. In: Rankin, J.C., Jensen, F.B., *Fish Ecophysiology*. Chapman & Hall, London, p. 231-264.
- PERRY, S.F., MCKENDRY, J.E. (2001). The relative roles of external and internal CO₂ versus H⁺ in eliciting the cardiorespiratory responses of *Salmo salar* and *Squalus acanthias* to hypercarbia. *J. Exp. Biol.* 204,3963 -3971.

- PERRY, S.F., REID, S.G. (2002). Cardiorespiratory adjustments during hypercarbia in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* are initiated by external CO₂ receptors on the first gill arch. *J. Exp. Biol.* 205, 3357-3365.
- PERRY, S.F., WOOD, C.M. (1989). Control and coordination of gas transfer in fishes. *Can. J. Zool.* 67, 2961-2970.
- PIIPER, J. (1989). Factors affecting gas transfer in respiratory organs of vertebrates. *Can. J. Zool.* 67, 2956-2960.
- RAHN, H., HOWELL, B.J. (1976). Bimodal gas exchange. In: *Respiration of amphibious vertebrates*. (Ed.) G. M. Hughes. Academic Press, New York. pp.271-285.
- RANDALL, D.J. (1990). Control and coordination of gas exchange in water breathers. In: *Advances in Comparative and Environmental Physiology*, Vol. 6 (ed. R. G. Boutilier), pp. 253-378. Berlin: Springer-Verlang.
- RANDALL, D.J., CAMERON, J.N. (1973). Respiratory control of arterial pH as temperature changes in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Am. J. Physiol.* 225, 997-1002.
- RANDALL, D.J., FARRELL, A.P., HASWELL, N.S. (1978). Carbon dioxide excretion in the jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus*, a facultative air-breathing teleost. *Can. J. Zool.* 56, 970-973.
- RANDALL, D.J., TAYLOR, E.W. (1991). Evidence of a role for catecholamines in the control of breathing in fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 1, p. 139-157.
- RANTIN, F.T., KALININ, A.L. (1996). Cardiorespiratory function and aquatic surface respiration in *Colossoma macropomum* exposed to graded and acute hypoxia. In: *Physiology and Biochemistry of the Fishes of the Amazon*, Val, A.L., et al. (Ed.), Editora do INPA, Manaus, AM, p. 169-180.
- REID, S.G., SUNDIN, L., KALININ, A.L. RANTIN, F.T., MILSOM, W.K. (2000). Cardiovascular and respiratory reflexes in the tropical fish, traíra (*Hoplias malabaricus*): CO₂/pH chemoresponses. *Respir. Physiol.* 120, 47-59.

- RIGGS, A., FYHN, H.J., FYHN, U.E.H., NOBLE, R.W. (1978). Estudo das propriedades funcionais da hemoglobina de *Hoplias malabaricus* e *Hoplerythrinus unitaeniatus*. *Acta Amazônica*, 8(4): 251-257.
- ROVAINEN, C.M. (1977). Neural control of ventilation in the lamprey. *Fed. Proc.* 36, 2386-2389.
- SAINT-PAUL, U., SOARES, G.M. (1987). Diurnal distribution and behavioral responses of fishes to extreme hypoxia in an Amazon floodplain lake. *Environ. Biol. Fishes*, 20, 91-104.
- SANCHEZ, A.P., HOFFMANN, A., RANTIN, F.T., GLASS, M.L. (2001). Relationship between cerebro-spinal fluid pH and pulmonary ventilation of the South American lungfish, *Lepidosiren paradoxa* (Fitz.). *J. Exp. Zool.* 1290, 421-425.
- SANTOS, E. (1981). *Peixes da Água Doce – Zoologia Brasileira*. Ed. Itatiaia Ltda. v.II. 562p.
- SHELTON, G., JONES, D.R., MILSON, W.R. (1986). Control of breathing in ectothermic vertebrates. In: *Handbook of Physiology - The Respiratory System*, Geiger, S.R., et al. (Eds), Baltimore, Waverly Press, p 857-909.
- SIOLI, H. (1984). The Amazon and its main affluents: hydrography, morphology of the river courses, and river types. In: *The Amazon: liminology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin*, 127-165 (Ed. H. Sioli), Dr. W. Junk Publisher, Boston.
- SMATRESK, N.J., CAMERON, J.N. (1982). Respiration and acid-base physiology of the spotted gar, a bimodal breather. I. Normal values and the response to severe hypoxia. *J. Exp. Biol.* 96, 263-280.
- SMITH, F.M., DAVIE, P.S. (1984). Effects of sectioning cranial nerves IX and X on the cardiac response to hypoxia in the coho salmo, *Oncorhynchus kisutch*. *Can. J. Zool.* 62, 766-768.

- SMITH, F.M., JONES, D.R. (1978). Localization of receptors causing hypoxic bradycardia in trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Zool.* 56, 1260-1265.
- SMITH, F.M., JONES, D.R. (1982). The effect of changes in blood oxygen-carrying capacity on ventilation volume in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Exp. Biol.* 97, 325-334.
- SOIVIO, A. TUURALA, H. (1981). Structural and circulatory responses to hypoxia in the secondary lamellae of *Salmo gairdneri* gills at two temperature. *J. Comp. Physiol.* 145, 37-43.
- SONCINI, R., GLASS, M.L. (2000). Oxygen and acid-base status related drives to gill ventilation in carp. *J. Fish Biol.*, 56, 528-541.
- STEVENS, E.D., HOLETON, G.F. (1978). The partitioning of oxygen uptake from air and from water by erythrinids. *Can. J. Zool.* 56, 965-969.
- SUNDIN, L., REID, S.G., KALININ, A.L., RANTIN, F.T., MILSOM, W.K. (1999). Cardiovascular and respiratory reflexes: the tropical fish, traíra (*Hoplias malabaricus*) O₂ chemoresponses. *Respir. Physiol.* 116. 181-199.
- SUNDIN, L., REID, S.G., RANTIN, F.T., MILSOM, W.K. (2000). Branquial receptors and cardiorespiratory reflexes in the neotropical fish, Tambaqui (*Colossoma macropomum*). *J. Exp. Biol.* 203, 1225-1239.
- SWENSON, E.R. (1990). *Kinetics of oxygen and carbon dioxide exchange*. In: Boutilier, R.G. (Ed.), *Advances in Comparative and Environmental Physiology*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 163-210.
- TENNEY, M.S., LEITER, J.C. (1995). The control of breathing: a uninhibited survey from the perspective of comparative physiology. *Lung Biol. Health Dis.* 79, 3-36.
- THOMAS, S. (1983). Changes in blood acid-base balance in trout (*Salmo gairdneri* Richardson) following exposure to combined hypoxia and hypercapnia. *J. Comp. Physiol.* B 152, 53-57.

- THOMAS, S., FIEVET, B., BARTHELEMY, L., PEYRAUD, C. (1983). Comparation of the effects of exogenous and endogenous hipercapnia on ventilation and oxygen uptake in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *J. Comp. Physiol.* 151, 185-190.
- THOMAS, S., LE RUZ, H. (1982). A continuous study of rapid changes in blood acid–base status of trout during variations of water PCO_2 . *J. Comp. Physiol.* 148, 123-130.
- TUFTS, B.L., PERRY, S.F. (1998). *Carbon dioxide transport and excretion*. In: Perry, S.F., Tufts B.L. (Eds.), *Fish Respiration*. Academic Press, New York, pp. 229-281.
- VAL, A.L. (1993). Adaptations of fishes to extreme conditions in freshwaters. In: Bicudo, J.E.P.W. (Ed.). *The Vertebrate Gas Transport Cascade: Adaptation to Environment and Mode of Life*. CRC Press, Boca Raton, USA., p 43-53.
- VAL, A.L., ALMEIDA-VAL, V.M.F. (1995). *Fishes of the Amazon and their environment*. Physiological and Biochemical Features. Springer-Verlag, Heidelberg. Zoophysiology, v.32, Springer Verlag, Berlin, p.224.
- WHITE, F.N., HICKS, J.W. (1987). Cardiovascular implications of the transition from aquatic to aerial respiration. In: Dejours, P. et al. *Comp. Physiology: life in water and on land*. Padora: Liviana Press, Springer Verlag. 9, 93-105.
- WILSON, R.W., WOOD, C.M., GONZALEZ, R.J., PATRICK, M.L., BERGMAN, H.L., NARAHARA, A., VAL, A. (1999). Ion and acid-base balance in three species of Amazonian fish during gradual acidification of extremely soft water. *Physiol. Biochem. Zool.* 72, 277-285.
- WILSON, R.J.A., HARRIS, M.B., REMMERS, J.E., PERRY, S.F. (2000). Evolution of air-breathing and central CO_2/H^+ respiratory chemosensitivity: new insights from and old fish? *J. Exp. Biol.* 203, 3505-3512.
- WOOD, C., JOHANSEN, W. (1972). Adaptation to hypoxia by increased HbO_2 affinity and decreased red cell ATP concentration. *Nature.* 237, 278-279.

- WOOD, C.M., MCDONALD, D.G. (1982). Physiological mechanisms of acid toxicity to fish. In: *Acid rain/fisheries*. (Ed. R. E. Johnson). *American Fisheries Society*, Bethesda, MD. 197-226.
- WOOD, C.M., TURNER, J.D., MUNGER, R.S., GRAHAM, M.S. (1990). Control of ventilation in the hypercapnic skate *Raja ocellata*. II. Cerebrospinal fluid and intracellular pH in the brain and other tissues. *Respir. Physiol.* 80, 279-297.
- WOOD, C.M., WILSON, R.W., GONZALEZ, R.J., PATRICK, M.L., BERGMAN, H.L., NARAHARA, A., VAL, A. (1998). Responses of an Amazonian teleost, the tambaqui (*Colossoma macropomum*) to low pH in extremely soft water. *Physiol. Zool.* 71, 658-670.
- YAMASHITA, S., EVANS, R.E., HARA, T.J. (1989). Specificity of the gustatory chemoreceptors for CO₂ and H⁺ in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46, 1730-1734.
- YOSHII, K., KASHIWAYANAGI, M., KURIHARA, K., KOBATAKE, Y. (1980). High sensitivity of the eel palatine receptors to carbon dioxide. *Comp. Biochem. Physiol.* 66A, 327-330.