

Resposta metabólica aeróbia, anaeróbia e argininolítica do bagre *Genidens genidens*, presentes nos estuários dos rios Grande, Indaiá e Escuro do município de Ubatuba

Metabolic response aerobic, anaerobic and argininolytic of the catfish *Genidens genidens*, in estuaries of the rivers Grande, Indaia and Escuro of the municipality of Ubatuba

ALMEIDA - VICTOR, Rosângela 1
RODRIGUES, Edson 2

1,2 Universidade de Taubaté
Autor para correspondência: rodedson@gmail.com

Recebido em 4 de fevereiro de 2009; aceito em 12 de agosto de 2009

RESUMO

A resposta metabólica do bagre *Genidens genidens* de três estuários (rios Grande, Indaiá e Escuro) do município de Ubatuba (SP), foi estudada comparativamente em relação ao impacto da atividade humana na região. Encéfalo, fígado e músculo epaxial foram utilizados para determinar a atividade específica das enzimas lactato desidrogenase (LDH), malato desidrogenase (MDH) e arginase, como prováveis marcadoras desse impacto. As diferenças entre os níveis teciduais de LDH dos bagres coletados nos três estuários não foram significativamente diferentes, provavelmente, devido a sua capacidade adaptativa, associada à sazonalidade das concentrações de oxigênio nas águas estuarinas. Os níveis de arginase hepática e muscular dos bagres coletados nos estuários dos rios Escuro e Indaiá, respectivamente, foram diferentes em relação aos dois outros estuários. Comportamento semelhante a esse foi constatado em relação aos níveis da enzima MDH, marcadora do potencial gerador de ATP desses tecidos. Nesse sentido, os níveis de arginase e MDH do fígado e músculo epaxial podem estar refletindo o esforço adaptativo metabólico desse bagre às condições ambientais dessas regiões estuarinas.

PALAVRAS-CHAVE Ubatuba, estuário, bagre, *Genidens genidens*, metabolismo energético, biomarcadores.

ABSTRACT

The metabolic response of catfish *Genidens genidens* of the three estuaries (Grande river, Indaia river and Escuro river) in the municipality of Ubatuba (SP), was studied in comparison to the impact of human activity in the region. Brain, liver and epaxial muscle were used to determine the specific activity of the enzymes lactate dehydrogenase (LDH), malate dehydrogenase (MDH) and arginase, as probable responsables for that impact. The differences between the tissues levels of LDH of the catfishes collected in the three estuaries were not significantly different, probably due to its adaptive capacity, associated with the seasonality of the oxygen concentrations in estuarine waters. Arginase levels of liver and muscle of the catfishes collected in estuaries of rivers Escuro and Indaia, respectively, were different in the relation to the other two estuaries. A similar behavior was observed in the levels of the enzyme MDH, marker of the potential generator of ATP of those tissues. Accordingly, the levels of arginase and MDH of the liver and epaxial muscle might reflect the effort of that adaptive metabolic catfish to environmental conditions such estuarine areas.

KEY WORDS: Ubatuba, estuary, catfish, *Genidens genidens*, energy metabolism.

I. INTRODUÇÃO

Regiões estuarinas abrigam pântanos salgados, manguezais e rios na zona entre marés e litorânea, reunindo condições favoráveis para o crescimento e sobrevivência de peixes. As águas estuarinas, normalmente, são ricas em alimentos (quantidade e variedade), contemplando áreas protegidas contra predadores e funcionando como berçário para diversas espécies, incluindo espécies de valor comercial e recreativo (PATERSON; WHITFIELD, 2000; HAJISAMAE; CHOU, 2003).

Os manguezais são ecossistemas únicos e especializados, que se distribuem ao longo de litorais e ilhas, em aproximadamente 75% da faixa intertropical do planeta, onde as temperaturas médias são superiores a 20°C e sem períodos prolongados de seca (VISNADI, 2008). Embora muito produtivos esses

ecossistemas costeiros são extremamente vulneráveis aos efeitos do desenvolvimento econômico e do crescimento desordenado da população humana (SCHAEFFER-NOVELLI ; COELHO JUNIOR; TOGNELLA-DE-ROSA , 2004).

As atividades antropogênicas, seja por meio de resíduos industriais, urbanos, deposição atmosférica ou drenagem terrestre, introduzem nos estuários e águas costeiras adjacentes, xenobióticos e matéria orgânica em geral (KENNISH, 1992). A detecção desses contaminantes e a avaliação dos seus efeitos sobre a vida dos organismos marinhos que habitam as regiões costeiras são consideradas de vital importância para preservação ambiental. Entre as técnicas de avaliação, o uso integrado de análises químicas e bioquímicas, assim como as respostas celulares a poluentes, são os procedimentos mais usuais para a detecção do impacto de contaminantes em ecossistemas aquáticos (FERNANDES; PORTE; BEBIANNO, 2007).

Embora as respostas metabólicas possam diferir em relação à espécie de peixe, habitat e hábito alimentar, a ação de compostos tóxicos e alterações da composição do meio físico-químico, podem promover respostas metabólicas quantitativas como a alteração dos níveis teciduais de enzimas, as quais podem proporcionar valiosas informações de relevância ecológica, indicando a condição de poluição aguda ou crônica de ambientes aquáticos (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003).

A hipóxia causada pela eutrofização e poluição orgânica de ambientes marinhos litorâneos está entre os principais problemas de poluição do planeta. O aumento dessas áreas de hipóxia nos oceanos tem reduzido os estoques de peixes e proporcionado prejuízos econômicos (WU, 2002). Essa redução do pescado tem sido relacionada com a resposta ecológica dos organismos marinhos à hipóxia que demanda ajustes moleculares e fisiológicos nos diversos níveis de organização biológica. A capacidade de utilizar o oxigênio molecular como agente oxidante tem sido avaliada pelos níveis teciduais de enzimas do metabolismo energético, em especial no que diz respeito aos níveis da lactato desidrogenase (LDH), citrato sintase (CS) e malato desidrogenase (MDH). Estudos com peixes pelágicos coletados em diferentes profundidades revelaram que os níveis dessas enzimas decresceram exponencialmente em relação ao aumento da profundidade em que as espécies foram coletadas, bem como em relação ao decréscimo do seu consumo de oxigênio (CHILDRESS; SOMERO, 1979; TORRES; SOMERO, 1988 a, b).

Trabalhando com *Hoplosternum littorale*, Falci e Rodrigues (2007) encontram níveis baixos de LDH no fígado dos peixes coletados em ambiente eutrofizado comparado àqueles coletados em ambiente não eutrofizado. Em relação aos níveis de arginase hepática, não foram encontradas alterações significativas entre os peixes coletados nesses dois ambientes. Contudo, o comportamento cinético da arginase hepática foi diferente em relação ao efeito ativador dos cátions metálicos Mn^{2+} , Mg^{2+} , Co^{2+} e Ca^{2+} , como possível mecanismo compensatório à ação inibitória de metais pesados não essenciais.

As arginases são metaloenzimas amplamente distribuídas na natureza, catalisam a reação terminal do ciclo da ureia, no tecido hepático dos animais ureotélicos, e controlam os níveis do aminoácido L-arginina nos tecidos extra-hepáticos (JENKINSON; GRODY; CEDERBAUM, 1996). A importância do aminoácido L-arginina reside na síntese de diversos compostos nitrogenados como as poliaminas e o óxido nítrico (NO) que participam como moduladores de diversas respostas biológicas (WU; MORRIS JR., 1998; LI et al., 2001). A presença de arginase em tecidos extra-hepáticos tem sido associada às necessidades específicas e a adaptação de organismos às condições extremas (RODRIGUES et al., 2009; MINIC ; HERVE, 2003).

Os bagres da família Ariidae apresentam distribuição circumglobal, habitando regiões litorâneas e estuarinas, assim como rios de regiões tropicais e temperadas. A maioria das espécies ocorre em áreas costeiras rasas e em estuários (MARCENIUK, 2005). Estudo sobre a variação sazonal da biomassa, número de espécies e densidade de peixes em três áreas da baía de Paranaguá (PR), revelou o bagre *Genidens genidens* como uma das espécies mais abundantes. Também ficou evidente que a salinidade e o teor de oxigênio da água interferem com a distribuição das espécies nesse ambiente estuarino. Durante o período chuvoso, quando a salinidade e o teor de oxigênio na água sofrem sensível redução na região anterior do estuário, diversas espécies de peixes procuram a região média do estuário onde as condições abióticas são mais estáveis. Contudo, as formas juvenis de *G. genidens* permanecem na região anterior do estuário, evitando a alta concentração de espécies e, conseqüentemente, a maior competição e predação que ocorrem entre os peixes na parte média do estuário (BARLETTA et al., 2008).

O município de Ubatuba (SP) congrega pequenos estuários ao longo da sua região litorânea. O bagre *G. genidens* apresenta ampla distribuição nos estuários dessa região e, inclusive, tem causado lesões em pescadores amadores, profissionais e nadadores, totalizando 48 pacientes num período de 8 anos (HADDAD JR. ; MARTINS, 2006). O estuário do rio Grande, localizado próximo ao mercado de peixes de Ubatuba, recebe o efluente de uma estação de tratamento de esgoto e os dejetos inerentes às atividades do comércio de peixes. Esse estuário também é utilizado como atracadouro de pequenas embarcações responsáveis pela contaminação ao ambiente estuarino com óleos lubrificantes e combustíveis. Esse bagre também ocorre no estuário do rio Indaiá e no estuário formado pelas barras dos rios Comprido e Escuro onde o impacto antropogênico é bem menor (CETESB, 2007). Durante os meses mais chuvosos, pode ocorrer uma diminuição do teor de oxigênio e de salinidade nos estuários da região de Ubatuba, que tem o maior índice pluviométrico do Litoral Norte do Estado de São Paulo (CETESB, 2007), com maior aporte de matéria orgânica e de nutrientes nesses estuários, a exemplo do que acontece na baía de Paranaguá no Paraná (BARLETTA et al., 2008).

Assim, o presente estudo objetivou comparar os níveis das enzimas LDH, MDH e arginase, do fígado, músculo epaxial e encéfalo do bagre *G. genidens*, coletados nos estuários dos rios Grande, Indaiá e Comprido/Escuro, como possíveis marcadores da condição ambiental desses estuários, no contexto dos metabolismos aeróbio, anaeróbio e do aminoácido L-arginina. A escolha dos tecidos levou em consideração a importância dos sistemas digestório, locomotor e nervoso na manutenção de funções vitais, tais como a alimentação, predação e coordenação de funções fisiológicas. A escolha do bagre *G. genidens* como espécie alvo, levou em consideração a sua abundância na região e o fato dos peixes apresentarem mais vantagens do que desvantagens quando comparados com muitos invertebrados como bioindicadores ambientais (WHITFIELD; ELLIOT 2002).

II. MÉTODOS

Os bagres *Genidens genidens*, de comprimento entre 145 a 255 mm, foram coletados com linha e anzol nos estuários dos rios Grande (n=10), Indaiá (n=7) e Comprido/Escuro (n=7), localizados na região litorânea do município de Ubatuba (SP), no mês de março de 2008, quando há um aumento da pluviosidade. Esses estuários estão geograficamente referenciados pelas coordenadas 23° 25' 52" S e 45° 04' 11" O; 23° 25' 00" S e 45° 03' 14" O; e 23° 29' 34" S e 45° 09' 53" O, respectivamente (figura 1).

Os peixes foram transportados com aeração até o laboratório de biologia marinha da UNITAU em Ubatuba, dissecados e os tecidos fígado, músculo epaxial e encéfalo, foram congelados e transportados em nitrogênio líquido para o laboratório de bioquímica da UNITAU em Taubaté (SP).

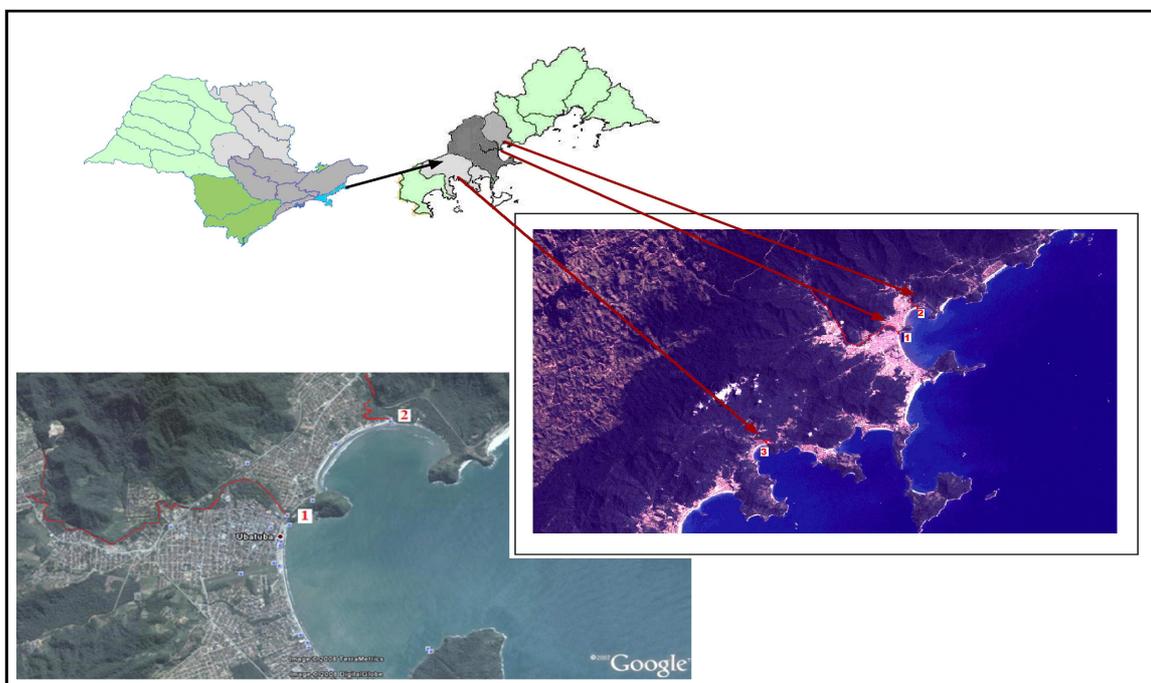


Figura 1. Mapa do Estado de São Paulo, mapa da UGRHI 3 - Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos da CETESB e imagem de satélite com os estuários do rio Grande de Ubatuba (1), do rio Indaiá (2) e dos rios Comprido/Escuro (3), cedida por Tiago Agostinho do Lageo Unitau: Landsat 7/ETM Órbita/Ponto: 218/76 de 12/03/2002 UTM SAD 69. Abaixo e à esquerda, a imagem do Google Earth permite visualizar a ocupação urbana no entorno do rio Grande (1) e do rio Indaiá (2).

Os tecidos congelados foram homogeneizados em "Potter-Elvehjem", na proporção de 1 grama de tecido para 5 mL de tampão HEPES 20 mM (pH 7,4) contendo trimetilamina-N-óxido 1 mM, fosfato monobásico de potássio 5 mM e sacarose 250 mM. Os homogeneizados foram sonicados durante 15 segundos, centrifugados a 11.000 x g durante 10 minutos e os sobrenadantes imediatamente utilizados para determinação das atividades específicas das enzimas arginase, MDH e LDH. Todas as etapas desse processo foram conduzidas em temperaturas de 4° C.

A atividade da enzima LDH foi determinada em sistema de reação contendo tampão Tris-HCl 100 mM (pH 7,4), KCl 100 mM, NADH+H⁻ 140 µM e piruvato de sódio 1 mM. A reação teve início pela adição do

homogeneizado (10 a 50 μL) e foi acompanhada espectrofotometricamente a 340 nm pela oxidação do $\text{NADH}+\text{H}^+$. A atividade enzimática foi calculada utilizando coeficiente de extinção molar (ϵ) de $6,22 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para o $\text{NADH}+\text{H}^+$ (JAVED et al., 1995).

A atividade da enzima MDH foi determinada em sistema de reação contendo tampão Tris/HCl 100 mM (pH 7,4), MgCl_2 20 mM, oxaloacetato 0,4 mM e $\text{NADH}+\text{H}^+$ 150 μM . A reação foi iniciada pela adição do homogeneizado (10 a 50 μL) e a reação enzimática acompanhada a 340 nm pela oxidação do $\text{NADH}+\text{H}^+$. A atividade enzimática foi calculada utilizando coeficiente de extinção molar (ϵ) de $6,22 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para o $\text{NADH}+\text{H}^+$ (CHILDRESS; SOMERO, 1979).

A atividade arginínolítica foi determinada em tampão Glicina 20 mM (pH 9,5), contendo L-arginina 100 mM e MnCl_2 5 mM. A reação foi iniciada pela adição do homogeneizado tecidual (10 a 30 μL), interrompida pela adição do reativo ácido TDMU e a ureia formada na reação quantificada pelo método descrito por Geyer e Dabich (1971).

As atividades específicas da arginase, LDH e MDH foram expressas em Unidade Internacional por miligrama de proteína presente nos homogeneizados (moles de substrato convertido em produto, no tempo de um minuto, por miligrama de proteína) a temperatura de 25°C . A concentração de proteínas totais foi determinada pelo método de Bradford (1976), utilizando Soro Albumina Bovina (SAB) como padrão proteico. As diferenças entre as médias das atividades enzimáticas dos peixes dos estuários dos rios Grande, Indaiá e Escuro, foram comparadas utilizando o teste ANOVA "one-way", seguido pelo pós-teste de Tukey. Os valores foram considerados significativos para $p < 0,05$.

III. RESULTADOS

As atividades específicas da LDH do fígado, músculo epaxial e encéfalo, dos espécimes de *G. genidens* coletados nos estuários dos rios Grande, Indaiá e Comprido/Esuro, estão apresentadas na figura 2. As diferenças encontradas entre atividades da LDH, tecido específico, de bagres coletados em diferentes estuários, não foram significativas ($p < 0,05$). Foram observados níveis hepáticos de LDH menores nos bagres dos rios Comprido/Esuro, enquanto LDH no músculo e encéfalo foram superiores nos bagres do rio Indaiá.

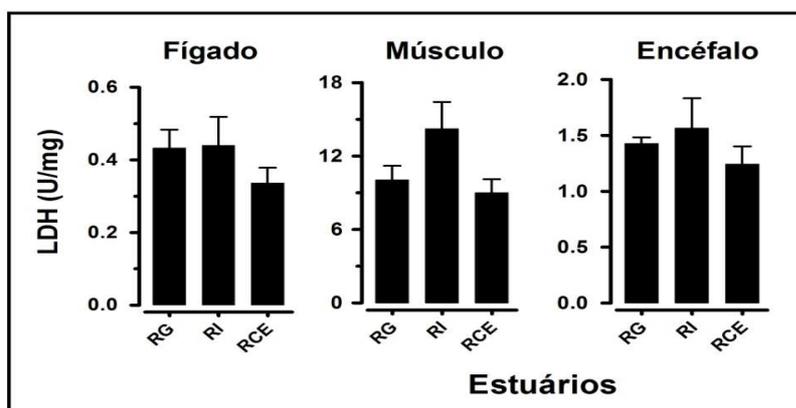


Figura 2. Atividade específica da enzima lactato desidrogenase do fígado, músculo e encéfalo do bagre *G. genidens* coletados nos estuários dos rios Grande de Ubatuba (RG), Indaiá (RI) e Comprido/Esuro (RCE). Os valores estão representados pela média \pm SEM.

Os fígados dos bagres coletados nos três estuários não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) em relação aos níveis da enzima MDH. Contudo, o fígado dos bagres dos rios Comprido/Escuro apresentou níveis mais elevados dessa enzima, como uma possível tendência do potencial gerador de ATP mais elevado (figura 3). A atividade específica da MDH muscular dos espécimes coletados no rio Indaiá foi significativamente diferente daquelas encontradas nos espécimes dos outros dois estuários. Embora as diferenças não sejam significativas ($p > 0,05$) o encéfalo dos bagres coletados no rio Grande apresentou níveis de MDH mais elevado em relação àqueles dos outros dois estuários.

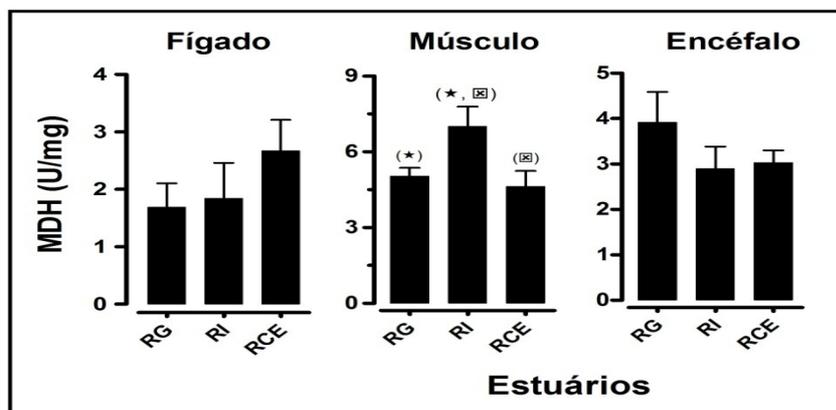


Figura 3. Atividade específica da enzima malato desidrogenase do fígado, músculo e encéfalo do bagre *G. genidens* coletados nos estuários dos rios Grande de Ubatuba (RG), Indaiá (RI) e Comprido/Escuro (RCE). Os valores estão representados pela média \pm SEM. As diferenças entre as médias das atividades musculares de MDH foram significativamente diferentes entre os rios Grande e Indaiá (*) e Indaiá e Escuro (⊠).

Os níveis de arginase hepática foram significativamente ($p < 0,05$) maiores (4,4 vezes) nos exemplares coletados no estuário do rio Indaiá em relação aos bagres coletados no estuário dos rios Comprido/Escuro (figura 4). A diferença entre os níveis de arginase hepática dos espécimes coletados no rio Grande e os outros dois estuários não foi estatisticamente diferente.

Por outro lado, o tecido muscular apresentou comportamento distinto do fígado, com atividade argininolítica significativamente ($p < 0,05$) maior (4,9 vezes) nos bagres do rio Grande em relação aos do rio Indaiá. A diferença da atividade argininolítica muscular dos bagres estuarinos dos rios Indaiá não foi estatisticamente diferente em relação aos bagres dos rios Comprido/Escuro, que foi 3,8 vezes maior em relação à do rio Indaiá. Embora não significativa ($p > 0,05$), a atividade argininolítica do encéfalo foi menor nos bagres estuarinos do rio Grande e maior nos bagres estuarinos dos rios Comprido/Escuro (figura 4).

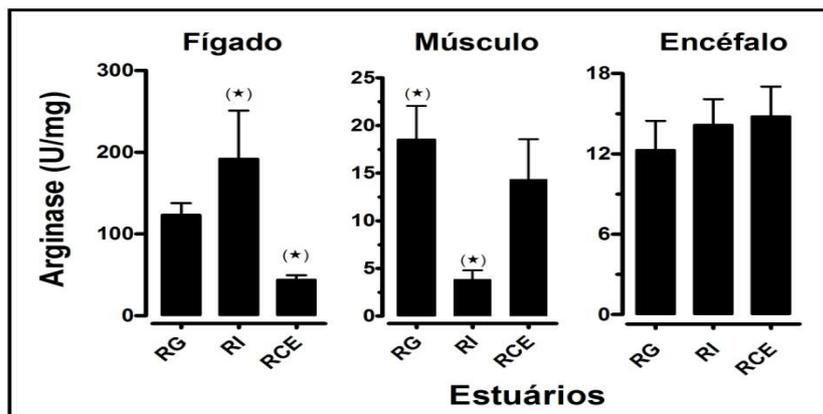


Figura 4. Atividade específica da enzima arginase do fígado, músculo e encéfalo do bagre *G. genidens* coletados nos estuários dos rios Grande de Ubatuba (RG), Indaiá (RI) e Comprido/Escuro (RCE). Os valores estão representados pela média \pm SEM. As diferenças entre as médias das atividades argininolíticas foram

significativamente diferentes (*) no fígado e músculo dos espécimes coletados nos rios Indaiá e Escuro, bem como nos rios Grande e Indaiá, respectivamente.

IV- DISCUSSÃO

O município de Ubatuba, localizado no litoral norte do Estado de São Paulo, apresenta população residente de 75.008 habitantes (IBGE, 2007) e flutuante que ultrapassa 450.000 turistas na temporada de verão. O turismo representa a principal atividade econômica, seguida da atividade pesqueira (IBGE, 2007). Aproximadamente 23% das residências da região tem o seu esgoto tratado e o restante é descartado in natura. O município apresenta cinco estações de tratamento de esgoto, que utilizam os rios Grande e Acaraú como corpos receptores desse tratamento (CETESB, 2007).

O entorno da região estuarina do rio Grande apresenta elevada densidade populacional e abriga a Ilha dos Pescadores, os quais utilizam esse estuário para desembarque do pescado e manutenção das pequenas embarcações, descartando no local os subprodutos da pesca e contaminando o estuário com óleo e combustível. O rio Indaiá abriga nos seus arredores uma pequena comunidade de pescadores e alguns bairros frequentados pela população flutuante do município. O estuário dos rios Comprido/Escuro apresenta em suas proximidades uma baixa densidade populacional, vegetação bem preservada e, comparado aos estuários anteriormente mencionados, foi considerado de baixo impacto antropogênico.

O regime de chuvas e a atividade antropogênica são fatores que interferem nas propriedades físico-químicas do meio abiótico estuarino, alterando salinidade e a concentração do oxigênio dissolvido (BARLETTA et al., 2008). Essas alterações antropogênicas não se limitam à eutrofização, mas também ao aporte de xenobióticos e metais pesados (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; YOUNG; BALLUZ; MALILAY, 2004).

Geralmente, as alterações do meio abiótico são acompanhadas de ajustes metabólicos capazes de garantir a sobrevivência dos organismos. A tolerância dos organismos à hipóxia varia de forma ampla e, geralmente, demanda ajustes do metabolismo energético aeróbio e anaeróbio (HOCHACHKA; LUTZ, 2001). Diferente do comportamento metabólico do *H. littorale* de ambientes eutrofizado e não eutrofizado (FALCI; RODRIGUES, 2007), a atividade específica da LDH hepática do bagre *G. genidens* não apresentou diferença significativa em relação à região estuarina de origem, embora nos bagres coletados no estuário dos rios Comprido/Escuro (de menor impacto antropogênico) tenha se apresentado menor do que os dos rios Grande e Indaiá (impacto antropogênico mais acentuado). Nesse sentido, o comportamento da expressão gênica da LDH muscular do *H. littorale* e a do bagre *G. genidens*, foram semelhantes, ao expressarem valores menores nos ambientes de baixa eutrofização, embora essas diferenças não sejam significativas.

O comportamento metabólico anaeróbio do *G. genidens*, ao contrário do *H. littorale*, pode estar relacionado com o sucesso adaptativo desse bagre às regiões estuarinas, onde a concentração de oxigênio varia sazonalmente em função do aporte de água doce nas cabeceiras dos rios (BARLETTA et al., 2008). Isto é, os níveis teciduais da LDH do bagre *G. genidens* variaram em função do ambiente estuarino, mas não de forma expressiva, considerando que a expressão da LDH, imposta pela hipóxia, pode ter origem na eutrofização natural do ecossistema, envolvendo chuva e o deslocamento sazonal desse bagre pelos diversos ambientes que compõe esses estuários.

Estudos com músculo branco de 24 espécies de peixes pelágicos revelaram que a atividade das enzimas LDH e MDH diminuiu exponencialmente em relação à profundidade mínima de captura da espécie (CHILDRESS; SOMERO, 1979), indicando que o metabolismo energético desses peixes está naturalmente ajustado à disponibilidade de oxigênio do habitat. Algo semelhante, também pode estar ocorrendo com o bagre *G. genidens* nos estuários do município de Ubatuba, onde a disponibilidade sazonal de oxigênio na água pode ter ajustado o metabolismo desses peixes à essa condição abiótica, expressando níveis teciduais de LDH compatíveis com as suas necessidades metabólicas.

Por outro lado, a resposta metabólica aeróbia do bagre *G. genidens* não seguiu o mesmo perfil da anaeróbia. Os níveis de MDH no fígado foram crescentes no sentido do ambiente de maior para o de menor impacto (RG<RI<RCE) (Figura 3), embora essas diferenças não sejam significativas ($p>0,05$) entre os espécimes coletados nos diferentes estuários. Como a MDH forma complexa com enzimas do ciclo de Krebs e da gliconeogênese, canalizando substratos para essas duas importantes vias metabólicas (MORGUNOV; SRERE, 1998; GIBSON; McALISTER-HENN, 2003), os níveis teciduais de MDH devem ser interpretados no contexto de um metabolismo energético baseado em proteínas (RODRIGUES et al., 2009).

Assim, os níveis elevados da MDH muscular dos bagres estuarinos do rio Indaiá, em relação àqueles coletados nos estuários dos rios Grande e Comprido/Escuro, provavelmente estão relacionados com o sucesso adaptativo desses peixes e/ou com poluentes específicos, que estariam elevando a demanda energética desse tecido. A MDH muscular, diferentemente do fígado, forma complexos com outras enzimas e canaliza substratos para gliconeogênese, garantindo os níveis de ATP para a manutenção de suas atividades, como a captura do alimento e a fuga de predadores (KIRCHNER et al., 2005).

Por outro lado, as necessidades energéticas do encéfalo são relativamente estáveis e independentes do momento fisiológico. Por isso, os níveis de MDH elevados no encéfalo dos bagres do estuário do rio Grande, em relação aos bagres coletados nos outros dois estuários, podem estar relacionados com a ação

antropogênica (figura 3). Como essa diferença não foi estatisticamente significativa, novos estudos devem ser conduzidos para verificar se os níveis encefálicos de MDH poderiam ser utilizados como biomarcador.

A atividade relativamente elevada da arginase hepática de peixes tem sido postulada como essencial para o controle dos níveis do aminoácido L-arginina, normalmente presente nas proteínas da dieta dos animais (RODRIGUES; RIBEIRO; BACILA, 2006). Com exceção de alguns peixes pulmonados, a grande maioria é amoniotética e excreta cerca de 10 a 30% do seu nitrogênio na forma de ureia, como produto derivado das atividades uricolítica e arginolítica (SAHA; RATHA, 1998). Como o fígado é a porta de entrada de nutrientes provenientes do intestino, esse tecido acaba sendo de vital importância para a manutenção dos constituintes sanguíneos.

Os baixos níveis de arginase no fígado e músculo, dos bagres coletados nos estuários dos rios Comprido/Escuro e Indaiá, respectivamente, coincidiram com os níveis elevados de MDH, nos mesmos tecidos e nas mesmas condições ambientais (figuras 3 e 4). Considerando que a MDH é uma das enzimas chaves do metabolismo energético e reflete o potencial gerador de ATP dos tecidos (CHILDRESS; SOMERO, 1979; TORRES; SOMERO, 1988 a, b), os níveis elevados de MDH nesses tecidos podem estar relacionados com uma maior demanda energética.

Como a atividade arginolítica tecidual dos animais não ureotéticos e não ureogênicos está associada ao controle da concentração de L-arginina nos tecidos, a síntese de poliaminas e NO, moduladores metabólicos derivados da L-arginina, está indiretamente relacionada com a atividade da arginase. Assim, parece razoável supor que as condições ambientais estuarinas dos rios Comprido/Escuro e Indaiá, marcadas pelo aumento da MDH no fígado e músculo do bagre *G. genidens*, respectivamente, também foram acompanhadas pela redução nos níveis de arginase, responsável indiretamente pela modulação de funções fisiológicas importantes e dependentes do metabolismo L-arginina.

Concluindo, a atividade específica da LDH do fígado, músculo epaxial e encéfalo do *G. genidens*, enquanto enzima marcadora de hipóxia, não foi capaz de evidenciar e diferenciar os níveis de eutrofização (antrópica e/ou natural) dos estuários dos rios Grande, Indaiá e Escuro. A condição natural de hipóxia tem sido observada durante períodos chuvosos, uma vez que o aporte de matéria orgânica e de nutrientes aumenta sensivelmente em algumas regiões dos estuários (BARLETTA et al., 2008).

Por outro lado, os níveis de MDH e arginase podem estar refletindo o esforço metabólico adaptativo desse bagre. Embora pouco conhecida, a resposta molecular à hipóxia pode induzir um estado hipometabólico, com redução na síntese de proteínas e modulação do potencial gerador de ATP, ajustando o metabolismo às necessidades fisiológicas de sobrevivência em condições de hipóxia (WU, 2002). Os níveis relativamente elevados da MDH hepática e muscular, dos bagres coletados nos estuários dos rios Comprido/Escuro e Indaiá, respectivamente, refletem o potencial gerador de ATP desses tecidos e a sua provável demanda energética para manutenção de funções vitais, tais como crescimento e locomoção. Os níveis relativamente baixos de MDH no fígado e músculo dos bagres coletados no estuário do rio Grande podem estar relacionados com as condições ambientais desfavoráveis impostas pela atividade antropogênica na região.

Considerando que o NO e as poliaminas controlam uma ampla faixa de processos fisiológicos, fisiopatológicos e sinalizam respostas metabólicas disparadas por NO, superóxidos e hipóxia (WU; MORRIS, 1998; PFEILSCHIFTER; EBERHARDT; BECK, 2001), parece razoável admitir que as diferenças entre as atividades arginolíticas hepática e muscular, dos bagres dos três estuários, podem estar modulando importantes processos fisiológicos adaptativos.

V. REFERÊNCIAS

- BARLETTA, M. et al. Factors affecting seasonal variations in demersal fish assemblages at the ecocline in a tropical-subtropical estuary. *J. Fish Biol.*, Dumfries, v. 73, p. 1314-1336, 2008.
- BRADFORD, M. M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.
- CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, Relatório de Qualidade das Águas Litorâneas no Est. S. Paulo Balneabilidade das Praias 2006, 2007. Disponível em: < <http://www.cetesb.sp.gov.br/>>. Acessos em: 03 jun.2007 e 29 jan.2009.
- CHILDRESS, J. J.; SOMERO, G. N., Depth-Related Enzymic Activities in Muscle, Brain and Heart of Deep-Living Pelagic Marine Teleosts. *Mar. Biol.*, Kiel, v. 52, p. 273-283, 1979.
- FALCI, T.C.A.F.C; RODRIGUES, E., Metabolismo anaeróbico da glicose e da arginina em *Hoplosternum littorale* (Callichthyidae;Teleostei) como biomarcador de eutrofização ambiental, *Rev. Biociên. Taubaté*, Taubaté, v. 13, p. 71-78, 2007.
- FERNANDES, D.; PORTE, C.; BEBIANNO, M.J., Chemical residues and biochemical responses in wild and cultured European sea bass, (*Dicentrarchus labrax* L). *Environ. Res.*, Baltimore, v. 103, n.2, p. 247-256, 2007.

- GEYER, J. W.; DABICH, D., Rapid Method for Determination of Arginase Activity in Tissue Homogenates. *Anal. Biochem.*, New York, v. 39, p. 412-417, 1971.
- GIBSON, N.; McALISTER-HENN, L., Physical and Genetic Interactions of Cytosolic Malate Dehydrogenase with Other Gluconeogenic Enzymes. *J. Biol. Chem.*, Bethesda, v. 278, p. 25628-25636, 2003.
- HADDAD Jr., V.; MARTINS, I.A.; Frequency and gravity of human envenomations caused by marine catfish (suborder siluroidei): a clinical and epidemiological study, *Toxicon*, Glasgow, v. 47, p. 838-843, 2006.
- HAJISAMAE, S.; CHOU, L. M., Do shallow water habitats of and impacted coastal strait serve as nursery grounds for fish? *Estuar. Coast Shelf Sci.*, Stirling, v. 56, p. 281-290, 2003.
- HOCHACHKA, P.W.; LUTZ, P.L., Mechanism, origin and evolution of anoxia tolerance in animals, *Comp. Biochem. Physiol.-B, Biochem. Mol. Biol.*, Ottawa, v. 130, p. 435-459, 2001.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, cidade de Ubatuba, contagem da população até 2007. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 28 jan. 2009.
- JAVED, M. et al. Purification and properties of lactate dehydrogenase from liver of *Uromastix hardwickii*, *Comp. Biochem. Physiol.*, Ottawa, v. 111 B, n. 1, p. 27-34, 1995.
- JENKINSON, C. P.; GRODY, W.W.; CEDERBAUM, S.D., Comparative Properties of Arginases. *Comp. Biochem. Physiol.*, Ottawa, v. 114 B, n. 1, p. 107-132, 1996.
- KENNISH, M. J. *Ecology of Estuaries: anthropogenic effects*. N.York : CRC Press, 1992.
- KIRCHNER, S. et. al. Effects of low protein intake on extra-hepatic gluconeogenic enzyme expression and peripheral glucose phosphorylation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol.*, Ottawa, Part B, v. 140, p. 333-340, 2005.
- LI, H. et al. Regulatory role of arginase I and II in nitric oxide, polyamine, and proline syntheses in endothelial cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, Toronto, v. 280 (E), p.75-82, 2001.
- MARCENIUK, A. P., Chave para identificação das espécies de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) da Costa Brasileira. *Bol. Inst. Pesca*, São Paulo, v.31, n.2, p. 89-101, 2005.
- MINIC, Z.; HERVE, G.; Arginine Metabolism in the Deep Sea Tube Worm *Riftia pachytila* and Its Bacterial Endosymbiont. *J. Biol. Chem.*, Bethesda, v. 278, p. 40527-40533, 2003.
- MORGUNOV, I.; SRERE, P. A., Interaction between Citrate Synthase and Malate Dehydrogenase, Substrate Channeling of Oxaloacetate. *J. Biol. Chem.*, São Carlos, v. 273, p. 29540-29544, 1998.
- PATERSON, A.W.; WHITFIELD, A.K., Do Shallow-water Habitats Function as Refugia for Juvenile Fishes? *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, Stirling, v. 51, p. 359-364, 2000.
- PFEILSCHIFTER, J.; EBERHARDT, W.; BECK, K. F., Regulation of gene expression by nitric oxide, *Pflügers Archiv. European Journal of Physiology*, Heidelberg, v. 442, p. 479-486, 2001.
- RODRIGUES, E., RIBEIRO, A.C.M.T.; BACILA, M., L-arginine metabolism in mitochondria isolated from the liver of Antarctic fish *Notothenia rossii* and *Notothenia neglecta*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 49, p. 825-833, 2006.
- RODRIGUES, E. et. al. Arginine metabolism of the Antarctic Bivalve *Laternula elliptica* (KING e BRODERIP, 1831): an ecophysiological approach. *Polar Biol.*, Kiel, v.32,p.691-702, May 2009.
- SAHA, N.; RATHA, B.K., Ureogenesis in Indiana ir-breathing teleosts: adaptation to environmental constraints. *Comp. Biochem. Physiol.*, Ottawa, Part A, v. 120, p.195-208, 1998.
- SCHAEFFER-NOVELLI, Y., COELHO JUNIOR, C.; TOGNELLA-DE-ROSA, M. *Manguezais*, São Paulo:Ática, 2004.p.1-48
- TORRES, J. J.; SOMERO, G. N., Vertical distribution and metabolism in Antarctic mesopelagic fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, Ottawa, v. 90B, n.3,p. 521-528, 1988 a.

_____. Metabolism, enzymic activities and cold adaptation in Antarctic mesopelagic fishes, *Mar. Biol.*, Heidelberg, v. 98, p. 169-180, 1988 b.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E., Review article Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, Amsterdam, v. 13, p. 57-149, 2003.

VISNADI, S.R., Marchantiophyta e Bryophyta de manguezais do estado de São Paulo, Brasil. *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi, Ciências Naturais*, Belém, v. 3, n. 1, p. 69-80, 2008.

WHITFIELD, A. K.; ELLIOT, M. Fishes as indicators of environmental and ecological changes within estuaries: a review of progress and some suggestions for the future, *J. Fish Biol.*, Dumfries, v.61, p. 229-250, 2002.

WU, G.; MORRIS JR., S. M. Arginine Metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem. J.*, Auckland, v. 336, p. 1-17, 1998.

WU, R. S. S. Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses. *Mar. Pollut. Bull.*, Coventry, v. 45, p. 45-35, 2002.

YOUNG, S.; BALLUZ, L.; MALILAY, J., Natural and technologic hazardous material releases during and after natural disasters: a review. *Sci Total Environ*, Ann Arbor, v.322, p.3-20, 2004.