

Influência da agitação da água e do sexo de *Poecilia reticulata* (Peters, 1859) na toxicidade do zinco(*)

Eloisa Pozzi Gianotti (1)

Summary

The objective of this research was to study the influence of some biological variables like sex, total length, total weight and physicochemical variables like agitation of the water, concentration of zinc, total alkalinity and hardness on the toxicity of zinc to "guppies", *Poecilia reticulata*.

The experiments to determine the acute toxicity were static and of short duration (96 hours). The temperature was kept relatively stable at $23 \pm 1^\circ\text{C}$.

The dilution waters, prepared in the laboratory were of two kinds: very soft and soft.

Periodically, at each 4 hours during the day, the dead individuals were taken out of the aquarium and analysed in terms of sex, total length and weight. At the end of the experiments the survivors were sacrificed and also studied.

The calculated effective concentrations of total zinc in raw and filtrated samples of the toxic solutions were determined at the beginning and after 96 hours.

The statistical analysis of the results indicated that among the variables studied, the important ones were the concentration of zinc, sex, alkalinity and hardness.

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo estudar a influência de algumas variáveis biológicas tais como sexo, comprimento total, peso total e variáveis físico-químicas tais como agitação da água, concentração de zinco, alcalinidade e dureza totais na toxicidade do zinco para "guarus", *Poecilia reticulata*.

Os ensaios foram do tipo estático e de curta duração (96 horas) para a determinação da toxicidade aguda. A temperatura foi mantida relativamente constante em $23 \pm 1^\circ\text{C}$.

(*) Trabalho desenvolvido no CRHEA (Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada) da Escola de Engenharia de São Carlos-USP, sob orientação do Prof. Samuel M. Branco.
(1) Ecóloga — Mestre em Hidráulica e Saneamento.

As águas de diluição, preparadas no laboratório, foram de dois tipos: muito mole e mole.

Periodicamente, a cada quatro horas durante o dia, os indivíduos mortos foram retirados dos aquários e analisados em termos de sexo, comprimento e peso totais. Após os ensaios os sobreviventes foram sacrificados e também estudados.

Foram determinadas também as concentrações calculadas efetivas de zinco total em amostras brutas e filtradas das soluções tóxicas, no início e após 96 horas.

A análise estatística dos resultados indicou que, entre as variáveis estudadas, a concentração de zinco, sexo, alcalinidade e dureza foram importantes.

1 Introdução

A proposição do desenvolvimento deste trabalho partiu de um ensaio realizado por Branco (3) com o objetivo de aperfeiçoá-lo através de uma metodologia mais adequada de bioensaios.

Em seu trabalho Branco (3) concluiu que a morte dos peixes submetidos aos metais pesados devido à asfixia provocada pela coagulação do muco sobre as brânquias é acelerada quando é promovida a agitação da água. Verificou que "barrigudinhos" ou "guarus" expostos a uma mesma concentração morriam mais rapidamente nos recipientes onde era promovida a aeração. Admite a hipótese, pois, de que o borbulhar de ar ou o seu emulsão na água teria um efeito de natureza física e não química, aumentando a precipitação dos colóides, sob a ação dos metais. Já Dowdoroff e Katz (9) ao analisarem os trabalhos do Wisconsin State Committee on Water Pollution, estudando o efeito do zinco, acreditam que a aeração diminui a toxicidade do metal, pois a liberação do CO_2 (aumento do pH) faz com que seja diminuído o efeito tóxico do metal por causa de sua precipitação.

Um dos fatores que podem condicionar a resistência de uma população de animais a determinado tóxico,

de acordo com Skidmore (19) é a idade e o tamanho dos indivíduos. Segundo Edwards e Brown (10), alevinos de "trutas arco-iris" no estágio inicial de livre alimentação foram mais vulneráveis do que os indivíduos adultos, enquanto os ovos foram os mais tolerantes; a Cl_{50} de cinco dias foi no mínimo quatro vezes mais alta que a dos adultos.

Bengtsson (1) encontrou um aumento significativo da mortalidade entre "minnows", *Phoxinus phoxinus*, recém nascidos quando comparados com adultos expostos a 0,08 mg/l de Zn^{2+} , indivíduos com menos de um ano foram de sensibilidade intermediária. Bengtsson (2) também encontrou que as porcentagens de mortalidade em indivíduos jovens foram de 10, 22 e 50 em 0,13; 0,2 e 0,31 mg/l de Zn^{2+} (água com dureza média de 70 mg/l de CaCO_3) ao passo que em indivíduos maduros essas porcentagens foram de zero, 10 e 30 respectivamente. Por outro lado, Jones (15) não encontrou diferença significativa na resistência ao zinco entre "sticklebacks" (*Gasterosteus aculeatus*) jovens (18 — 20mm) e sexualmente maduros (45 — 50 mm).

Como na espécie estudada há um dimorfismo sexual em relação ao tamanho dos indivíduos, foi estudada a possível diferença da toxicidade do Zn^{2+} entre machos e fêmeas.

2 Objetivos

a) Determinar a ação física da agitação na coagulação de substâncias protéicas, mais especificamente o muco precipitado nas brânquias pela ação do zinco.

b) Determinar a possível diferença da toxicidade do zinco nos indivíduos de sexos opostos.

3 Materiais e métodos

O peixe utilizado como bioindicador foi o "guaru" ou "barrigudinho" (*Poecilia reticulata*), pertencente à família *Poeciliidae*, descrito por Peters em 1859.

Os indivíduos foram coletados num córrego da região, cujas característi-

cas físico-químicas de sua água foram conhecidas e mantidos por um período de uma semana de aclimação, nas condições dos ensaios, nos laboratórios do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada CRHEA-USP).

A água de diluição foi preparada artificialmente no laboratório com dois níveis diferentes de dureza e alcalinidade, segundo o Standard Methods (21): água mole e muito mole.

Os ensaios foram do tipo estático e de curta duração (96 horas) e a temperatura mantida durante a aclimação e ensaios foi de $23 \pm 1^\circ\text{C}$ de acordo com a norma da ISO (13).

A metodologia básica para a condução dos ensaios seguiu principalmente a orientação do Standard Methods (21) e da ISO (13).

O equipamento utilizado constituiu-se de aquários de acrílico imersos em banho térmico e a agitação da água (aeração) foi feita através de ar comprimido filtrado em carvão.

Os indivíduos escolhidos para os ensaios pareciam estar em condições de saúde perfeitamente satisfatórias. Essa escolha foi feita ao acaso nos tanques de aclimação com o cuidado de testar organismos de cada sexo, de tamanhos semelhantes, sendo que o comprimento do menor indivíduo não foi a metade do maior (21).

Com relação aos peixes mortos, foram feitas as seguintes determinações:

- comprimento total em centímetros;
- peso total em gramas;
- sexo.

No final dos ensaios os sobreviventes foram sacrificados e analisados, com o objetivo de estabelecer-se uma possível correlação entre eles e os que morreram durante o ensaio.

Com relação às soluções tóxicas foram realizadas medidas das concentrações de zinco total a partir das soluções cujas concentrações foram calculadas teoricamente (nominais), as quais foram chamadas de concentrações calculadas efetivas. Tais concentrações foram determinadas em amostras brutas e filtradas, coletadas no centro dos aquários após a homogeneização da solução, no início e após 96 horas.

A filtragem das amostras deu-se no equipamento de filtração "Millipore" com filtros de microfibras de vidro ($0,45\mu$) GF/C Whatman.

A técnica utilizada foi a da espectrofotometria de absorção atômica, descrita no Standard Methods (21).

3.1 Análise estatística dos resultados

As variáveis utilizadas na análise dos resultados foram as seguintes: concentração de zinco, dureza e alcalinidade totais da água de diluição, agitação da água, comprimento e peso totais e sexo dos indivíduos mortos durante os ensaios e dos sobreviventes após 160 horas. Como as observações não excederam as 160 horas, sabendo apenas que o tempo de vida dos sobreviventes excedia aquele tempo, foi optado pelo uso da regressão de Cox (5), para avaliar os efeitos das variáveis de interesse.

O modelo de Cox modela o risco relativo, isto é, o quociente das probabilidades de morte em dois instantes ou categorias distintas, supondo-se que exista proporcionalidade de tempo.

Seja $F(t)$ a função de distribuição do tempo de morte de um indivíduo, seja a correspondente densidade $f(t)$, então: $h(t) = f(t) / 1 - F(t)$ representa a taxa de falha ou taxa de mortalidade no instante t de um indivíduo vivo em t .

A regressão de Cox prescreve o modelo:

$$\log_e [h(t) / h(0)] = b_0 + b_1 x_1 + \dots + b_p x_p$$

Isto é, busca modelar o logaritmo de um risco relativo linearmente. O ajuste foi feito por máxima verossimilhança por um argumento condicional.

Os cálculos foram realizados com o SAS (Statistical Analysis System) num computador IBM 4341 do Instituto de Pesquisas Nucleares (Ipen-USP).

4 Resultados

Vários modelos foram ajustados e seu grau de ajuste avaliado estatisticamente pelo teste qui-quadrado.

Foi concluído portanto que apenas as seguintes variáveis foram importantes:

- concentração de zinco — $[\text{Zn}^{2+}]$
- alcalinidade e dureza totais da água de diluição
- sexo

Os parâmetros obtidos estão na equação abaixo:

$$\log_e [h(t) / h(0)] = 0,0923772 \cdot [\text{Zn}^{2+}] + 0,134899 \cdot \text{alcalinidade} + 3,79897 \cdot \text{dureza} + 0,495109 \cdot \text{sexo}$$

É importante notar que tudo o que estimamos é uma constante de proporcionalidade, não os $h(t)$ propriamente. Mas os efeitos de cada fator ficaram bem avaliados.

Tomando-se como base uma situação normal:

- $[\text{Zn}^{2+}] = 0,02 \text{ mg/l}$
- dureza (água muito mole, atribuindo-se o valor um e água mole, atribuindo-se o valor zero)
- alcalinidade = 9 mg/l de CaCO_3
- arbitrariamente o sexo feminino (feminino, atribuindo-se o valor zero e masculino, atribuindo-se o valor um), temos:

$$\log_e [h(t) / h(0)] = 0,092 \cdot ([\text{Zn}^{2+}] - 0,02) + 0,135 (\text{alc.} - 9) + 3,799 \cdot (\text{dur.} - 1) + 0,495 \cdot \text{sexo}$$

Esta função forneceu a capacidade de se conhecer o efeito da concentração de zinco, da alcalinidade, da dureza e do sexo na mortalidade, através dos valores de risco relativo, em relação às condições acima consideradas. Estes valores encontram-se na Tabela 1 e Figura 1.

As Tabelas 2, 3, 4 e 5 mostram as concentrações de Zn^{2+} calculadas, nominais e efetivas, brutas e filtradas no início e no final dos ensaios. Tais medidas estão representadas graficamente em forma de histogramas nas figuras 2, 3, 4 e 5 respectivamente.

5 Discussão

Até o modelo de Cox (5), que forneceu os valores de risco relativo comparado a uma situação normal, expostos na Tabela 1 e Figura 1, foi observado que a probabilidade de morte dos indivíduos do sexo masculino é significativamente maior (pouco mais de uma vez e meia) do que a do sexo feminino, tanto na água mole como na muito mole.

Desde que entre os indivíduos desta espécie existe um dimorfismo sexual em relação ao tamanho, os machos menores que as fêmeas, a maior sensibilidade deles pode estar relacionada com a absorção do tóxico pelo animal. Este fenômeno foi constatado por alguns pesquisadores. Edwards e Brown (10) e Bengtsson (1), (2), observaram maiores porcentagens de mortalidade entre os indivíduos jovens, de menor tamanho, do que entre os adultos. Zitko e Carson (24) encontraram que o nível letal incipiente de zinco para "salmões do Atlântico" aumentou de 0,5 a 1,0 mgZn/l para os indivíduos com 10 meses de idade. Mathiessen e Brafield (18) estudando a influência do peso do corpo na absorção de zinco radiativo em água destilada, numa relação biomassa-volume de tóxico de aproximadamente 1 mg/l (maior do que a mantida nos presentes experimentos), observaram que o logaritmo do Zn^{65} total absorvido individualmente (por unidade de peso) tende a aumentar li-

Concentração de Zn ²⁺ calculada nominal (mg/l)	Riscos relativos (1)			
	Sexo feminino		Sexo masculino	
	M, alc = 29 mg/l de CaCO ₃	MM, alc = 9 mg/l de CaCO ₃	M, alc = 29 mg/l de CaCO ₃	MM, alc = 9 mg/l de CaCO ₃
0,02	0,32	1,00	0,55	1,64
0,40	0,34	1,03	0,57	1,70
0,60	0,34	1,05	0,58	1,73
0,80	0,35	1,07	0,59	1,76
1,00	0,36	1,09	0,60	1,79
1,20	0,36	1,11	0,61	1,83
1,40	0,37	1,13	0,62	1,86
1,60	0,38	1,15	0,63	1,90
1,80	0,38	1,17	0,64	1,93
2,00	0,39	1,19	0,65	1,97
2,20	0,40	1,22	0,67	2,00
2,40	0,41	1,24	0,68	2,04
2,60	0,41	1,26	0,69	2,08
2,80	0,42	1,28	0,70	2,12
3,00	0,43	1,31	0,72	2,16
3,20	0,44	1,33	0,73	2,20
3,40	0,45	1,36	0,74	2,24
3,60	0,45	1,38	0,76	2,28
3,80	0,46	1,41	0,77	2,32
4,00	0,47	1,44	0,79	2,36
4,20	0,48	1,46	0,80	2,41
4,40	0,49	1,49	0,81	2,45
4,60	0,50	1,52	0,83	2,50
4,80	0,51	1,55	0,85	2,53
5,00	0,52	1,58	0,86	2,59
5,20	0,53	1,61	0,88	2,65
5,40	0,54	1,64	0,90	2,69
5,60	0,55	1,67	0,91	2,72
5,80	0,56	1,70	0,93	2,79
6,00	0,57	1,73	0,95	2,82

(1) em relação ao grupo $[Zn^{2+}] = 0,02$ mg/l
 M = água mole Dureza = MM
 MM = água muito mole Alcalinidade = 9 mg/l de CaCO₃
 sexo = feminino

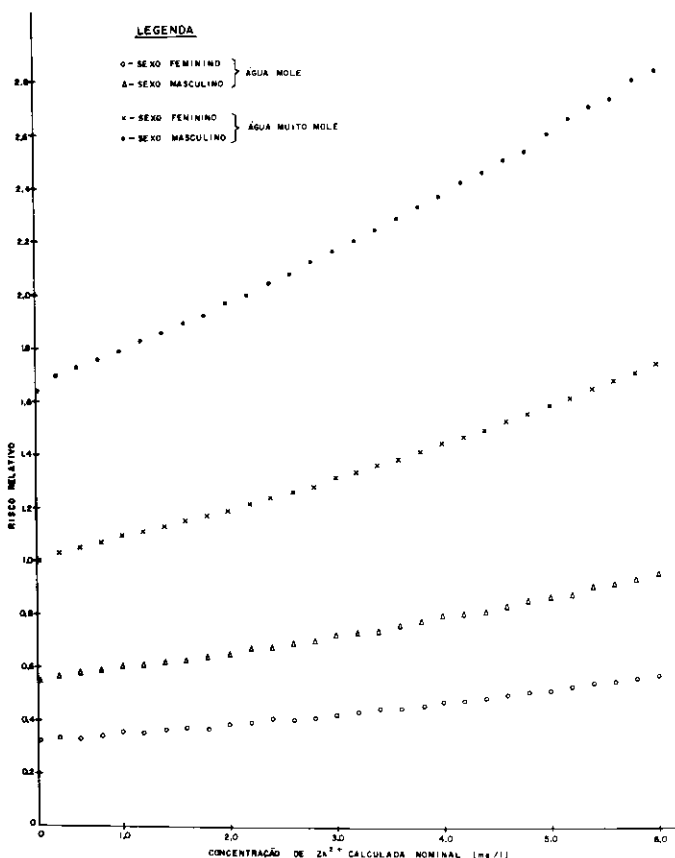


Tabela 1 — Efeitos da concentração de zinco (Zn²⁺), sexo, alcalinidade total e dureza total

Jones (14), (15), (16); Ellis (11); Westfall (22) e Wong et alii (23).

Branco (3) observou que o "peixe vermelho" (*Carassius auratus*) na presença de 40 mg/l de bicarbonato de zinco vinha a morrer em cerca de 15 minutos. Entretanto, retirando-se esse peixe e colocando-o, em seguida, na mesma solução um segundo peixe, esse se mantinha vivo, não demonstrando reação fisiológica em quatro horas de permanência. Observou, ao mesmo tempo, que a solução de zinco tornava-se bastante turva. Filtrando a solução turva verificou a existência de uma espessa mucilagem coagulada que ficava retida no papel de filtro. Testes qualitativos com solução de ferrocianeto de potássio revelaram quase ausência do metal no filtrado, enquanto que davam resultados fortemente positivos na mucilagem retida no papel. Nos presentes ensaios foi observado que as soluções tóxicas de zinco tornaram-se turvas nas concentrações calculadas nominais de 10,24; 20,48 e 40,96 mg/l de Zn²⁺ em água mole.

Através das concentrações calculadas efetivas, obtidas pela espectrofotometria de absorção atômica, expostas nas tabelas 2, 3, 4, 5 e figuras 2, 3, 4, 5, foram observadas as diferenças entre as soluções brutas iniciais e após o ensaio e entre as brutas e filtradas após o ensaio.

As diferenças entre as brutas iniciais e após o ensaio indicam que o zinco que não permaneceu em solução após o ensaio, provavelmente foi absorvido ou retido no muco acumulado nas brânquias ou que envolvia a superfície do corpo do animal.

As diferenças entre as soluções brutas e filtradas após o ensaio indicam que o zinco que restou na solução não estava dissolvido, provavelmente foi complexado com a substância mucilaginosa que envolvia o peixe. Não foi observado, entretanto, acúmulo de muco nas brânquias ou na superfície do corpo; pareceu que o complexo metal-muco permaneceu na solução chegando a turvar a água somente nas concentrações calculadas nominais de 10,24; 20,48 e 40,96 mg/l de Zn²⁺ em água mole, formando inclusive uma espécie de "nata" na superfície do aquário. Jones (14) também constatou a liberação de muco nas soluções tóxicas de cobre, zinco e chumbo. Nessas concentrações foi verificado que as diferenças foram relativamente grandes, principalmente nas duas últimas.

Diante de tais resultados, pareceu que as diferenças entre as concentrações efetivas de zinco total das soluções brutas iniciais e após o ensaio (zinco incorporado ao peixe) e entre

nearmente com o logaritmo do peso seco. Entretanto, o logaritmo da concentração de Zn⁶⁵ (por grama de peso seco de peixe) diminui linearmente com o logaritmo do peso seco. Várias teorias têm sido propostas desde 1920 para explicar a morte de peixes expostos a concentrações le-

tais agudas de zinco. A primeira delas é a atribuição da morte dos peixes à coagulação ou precipitação de muco nas brânquias provocando a asfixia. Muitos pesquisadores observaram tal fenômeno destacando-se entre eles: Skidmore (19); Branco (3); Carpenter (4); Dilling e Healey (8);

Figura 1 — Efeitos da concentração de zinco (Zn²⁺), sexo, alcalinidade total e dureza total

Concentração de Zn ²⁺ calculada nominal (mg/l)	Concentração de Zn ²⁺ calculada efetiva (mg/l)			
	Bruto no início do ensaio	Filtrado no início do ensaio	Bruto após o ensaio	Filtrado após o ensaio
0,16	0,163	0,147	0,163	0,106
0,32	0,326	0,326	0,326	0,204
0,64	0,612	0,530	0,612	0,449
1,28	1,224	1,224	1,224	1,224
2,56	2,855	2,855	2,855	2,243
5,12	5,710	5,710	5,302	4,079
10,24	12,236	12,236	11,216	9,177
20,48	18,354	18,354	18,354	12,236
40,96	36,709	34,669	32,630	24,472

Tabela 2 — Concentrações de zinco (Zn²⁺) nas soluções com água mole "com agitação"

Concentração de Zn ²⁺ calculada nominal (mg/l)	Concentração de Zn ²⁺ calculada efetiva (mg/l)			
	Bruto no início do ensaio	Filtrado no início do ensaio	Bruto após o ensaio	Filtrado após o ensaio
0,02	0,025	0,024	0,025	0,015
0,04	0,054	0,054	0,054	0,036
0,08	0,107	0,107	0,098	0,089
0,16	0,215	0,215	0,215	0,206
0,32	0,402	0,402	0,402	0,358
0,64	0,626	0,626	0,626	0,626
1,28	1,700	1,700	1,253	0,805
2,56	2,685	2,685	2,685	2,529
5,12	5,581	5,581	4,975	4,475

Tabela 3 — Concentrações de zinco (Zn²⁺) nas soluções com água muito mole "com agitação"

Concentração de Zn ²⁺ calculada nominal (mg/l)	Concentração de Zn ²⁺ calculada efetiva (mg/l)			
	Bruto no início do ensaio	Filtrado no início do ensaio	Bruto após o ensaio	Filtrado após o ensaio
0,16	0,153	-	0,143	0,134
0,32	0,313	-	0,313	0,268
0,64	0,595	-	0,582	0,537
1,28	1,163	-	1,163	1,163
2,56	2,237	-	2,237	2,237
5,12	4,475	-	4,475	4,027
10,24	10,068	-	8,950	7,831
20,48	20,137	-	20,137	15,662
40,96	38,721	-	38,036	29,087

Tabela 4 — Concentrações de zinco (Zn²⁺) nas soluções com água mole "sem agitação"

Concentração de Zn ²⁺ calculada nominal (mg/l)	Concentração de Zn ²⁺ calculada efetiva (mg/l)			
	Bruto no início do ensaio	Filtrado no início do ensaio	Bruto após o ensaio	Filtrado após o ensaio
0,02	0,027	-	0,027	0,027
0,04	0,036	-	0,036	0,036
0,08	0,089	-	0,089	0,089
0,16	0,134	-	0,134	0,134
0,32	0,313	-	0,313	0,224
0,64	0,492	-	0,492	0,403
1,28	0,984	-	0,984	0,805
2,56	2,014	-	2,014	1,790
5,12	4,922	-	4,922	4,027

Tabela 5 — Concentrações de zinco (Zn²⁺) nas soluções com água muito mole "sem agitação"

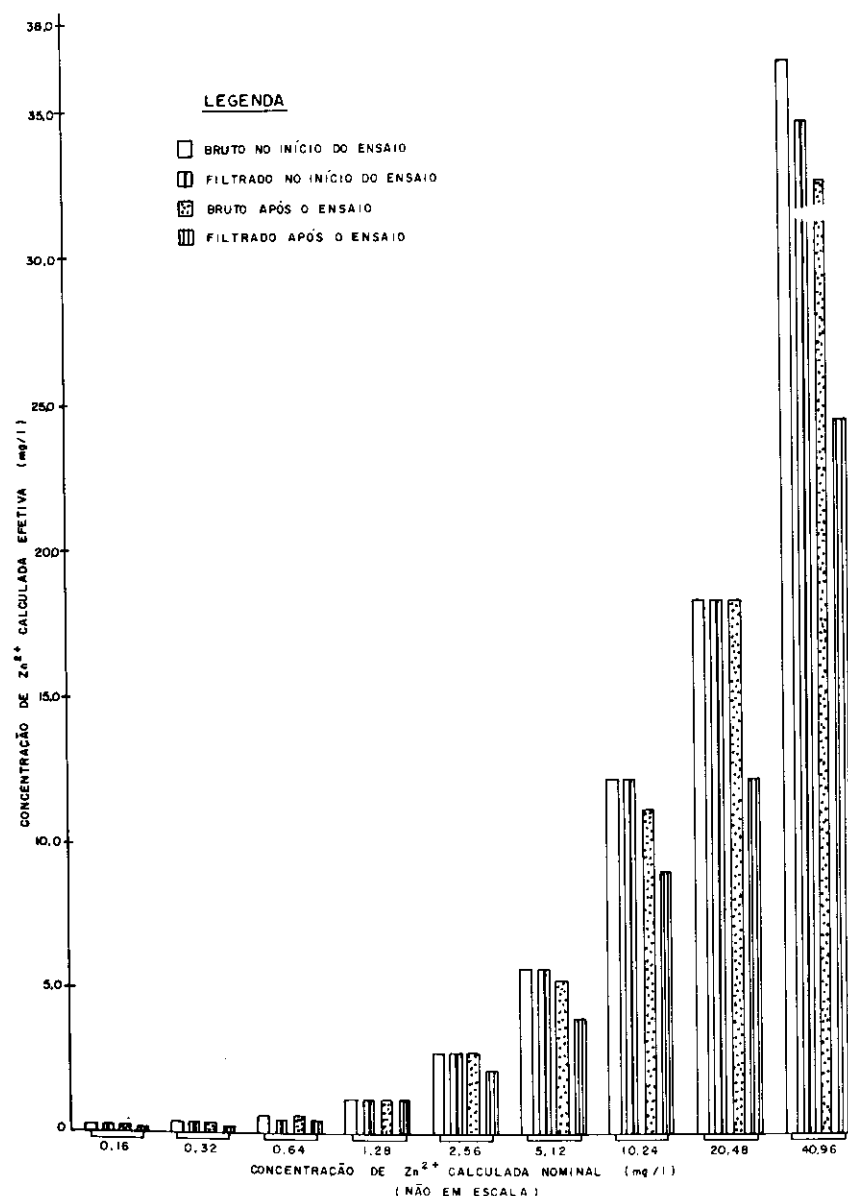


Figura 2 — Concentrações de zinco (Zn²⁺) calculadas efetivas das soluções tóxicas com água mole "com agitação"

as brutas e filtradas após o ensaio (zinco complexado com muco) tenderam a um maior aumento, com a concentração, em água mole do que em água muito mole nas condições "com agitação" ou "sem agitação". Além disso pareceu que a agitação tende a favorecer tais diferenças. Entretanto o número de dados é muito pequeno para se chegar a uma conclusão melhor.

Branco (3) verificou ainda que a solução filtrada, com uma quantidade de zinco insuficiente para produzir qualquer reação fisiológica nos peixes em quatro horas de permanência, uma vez arejada, em presença de um peixe, tornava-se novamente tóxica causando sua morte em 30 minutos. "Guarus" colocados em solução de cloreto de zinco a 5 mg/l sem arejamento não sofreram alterações em uma semana de exposição ao tóxico, enquanto que em solução com arejamento morreram em aproximadamente 24 horas.

O autor discute que o aumento da ação tóxica com o arejamento não se deve à elevação do nível de sensibilidade fisiológica do animal, mas sim a um provável fenômeno de natureza coloidal. O muco sendo um colóide, sua coagulação é facilitada pela agitação, a qual aumenta a frequência dos contatos entre as micelas que o constituem. Dessa forma, o borbulhamento de ar ou o seu emulsionamento na água teria um efeito de natureza física e não química, aumentando a precipitação dos colóides, sob a ação dos metais (3).

Através dos presentes resultados modelados por Cox (5) foi observado, entretanto, que a agitação não teve

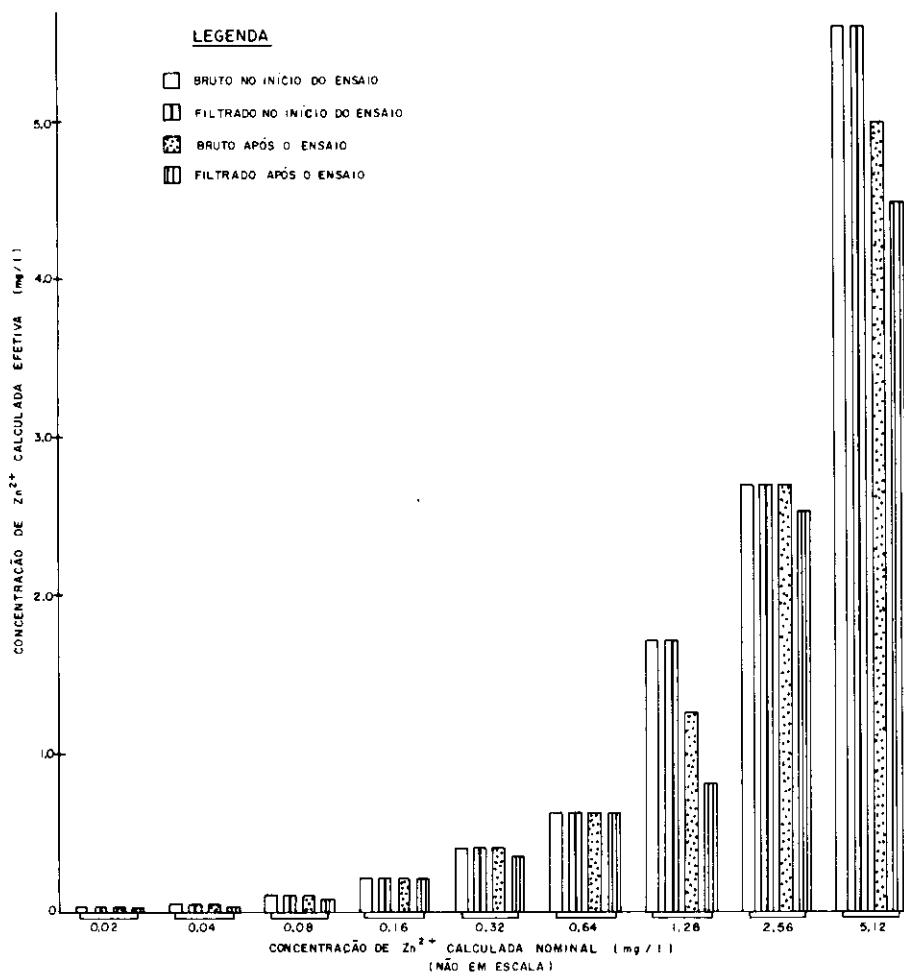


Figura 3 — Concentrações de zinco (Zn²⁺) calculadas efetivas das soluções tóxicas com água muito mole "com agitação"

uma influência significativa na toxicidade do zinco.

Outra hipótese foi apresentada por Jones (16), (17) e outros pesquisadores, sugerindo que o zinco pode causar a coagulação do protoplasma celular. Porém, é conhecido que o zinco pode ser absorvido por moluscos, peixes e outros animais aquáticos em concentrações letais e não letais, sem a coagulação do protoplasma.

Estudos histológicos têm mostrado que o zinco certamente causa danos nas brânquias, os quais podem reduzir a capacidade de difusão do oxigênio levando o peixe à morte.

Skidmore e Tovell (20) expõem "trutas arco-íris" a 40 mg/l de Zn²⁺ em água com dureza total de 45 a 50 mg/l de CaCO₃ observaram as seguintes fases no comportamento que precederam à morte: subida do peixe à superfície (após 60% do tempo de sobrevivência estimado), transtorno do animal e imobilidade dos opérculos.

Observaram que os danos iniciais que ocorreram no tecido branquial são típicos de uma reação inflamatória.

Na primeira fase ocorreu a separação do epitélio no lado côncavo da la-

mela e o espaço subepitelial formado foi preenchido com um fluido de composição desconhecida. O epitélio que cobre o filamento branquial não pareceu afetado.

A distância entre a margem lamelar e a superfície do filamento foi reduzida de 20%. Nenhuma mudança foi observada na distribuição do sangue nos espaços das células lamelares, somente uma pequena dilatação do canal marginal. O seio filamentosso estava sem células sanguíneas. Não foi observada a formação de muco.

Na segunda fase ocorreu a oclusão parcial dos espaços centrais de sangue, mas os canais marginal e proximal foram dilatados e preenchidos com sangue. Houve uma separação do epitélio do sistema de células pilares, exceto ao longo do canal marginal e uma dilatação do espaço subepitelial o qual se formou nos dois lados da lamela. A altura lamelar reduziu-se para 50%. Ocorreu acúmulo de muco frequentemente visto a olho nu na pele e nos opérculos. Microscopicamente o muco cobrindo a superfície das brânquias pareceu normal.

Na terceira fase a lamela secundária tornou-se bastante espessa. O epitélio foi elevado seguido de uma considerável dilatação do espaço subepitelial aumentando a distância de difusão da água para o sangue. O fluxo de sangue que passa pelas lamelas foi alterado, apareceram granulócitos em grande número nos espaços de sangue lamelar e no fluido do espaço subepitelial. Finalmente a circulação do sangue lamelar parou terminando em colapso respiratório e morte do animal.

Outra teoria proposta para explicar a morte dos peixes pela ação do zinco é o acúmulo do metal podendo provocar alterações fisiológicas e metabólicas nos tecidos internos, principalmente nas concentrações subletais.

Crandall e Goodnight (6) não observaram danos nas brânquias de "guarus", *Lebistes reticulatus*, expostos a 1,15 ou 2,3 mg/l de zinco por 58 a 70 dias, embora houvesse intensa deterioração do fígado, rins, coração, músculos, gônadas e pele. Além disso verificaram que os baixos níveis de zinco inibem o crescimento e a maturação, possivelmente pela inadequada ingestão do alimento ou, se ingerido, mal utilizado.

Hiltbran (12) observou que em "bluegills" (*Lepomis macrochirus*) expostos a níveis baixos de zinco, 3,3 . 10⁻² micromoles/ml, foi alterada significativamente a absorção de oxigênio pelas mitocôndrias do fígado e aumentou a hidrólise de ATP. Portanto o zinco pode romper a produção de oxigênio intracelular constituindo uma causa de morte dos peixes, especialmente "bluegills". O autor discute ainda que a absorção de íons metálicos e talvez de outros tóxicos e seus efeitos no metabolismo intracelular podem ser mais importantes que efeitos não específicos tal como a precipitação de muco nas brânquias.

Crespo et alii (7) expõem "peixes cachorros" (*Scyliorhinus canicula*) à concentração letal (80 mg/l de Zn²⁺ por 24 horas) e subletal (10 mg/l de Zn²⁺ por 3 semanas), observaram que, nos indivíduos expostos ao nível letal, o zinco acumulou-se nas brânquias, enquanto que não foi constatado um aumento significativo nos rins e intestino. Nos expostos ao nível subletal foi encontrado aumento nas brânquias, rins e intestino.

Os autores sugerem que o aumento de zinco nas brânquias (o mesmo ocorreu com o cobre) pode ser devido à excreção via brânquia quando os rins e intestino estão sobrecarregados. Houve um aumento no número das células de cloreto, sugerin-

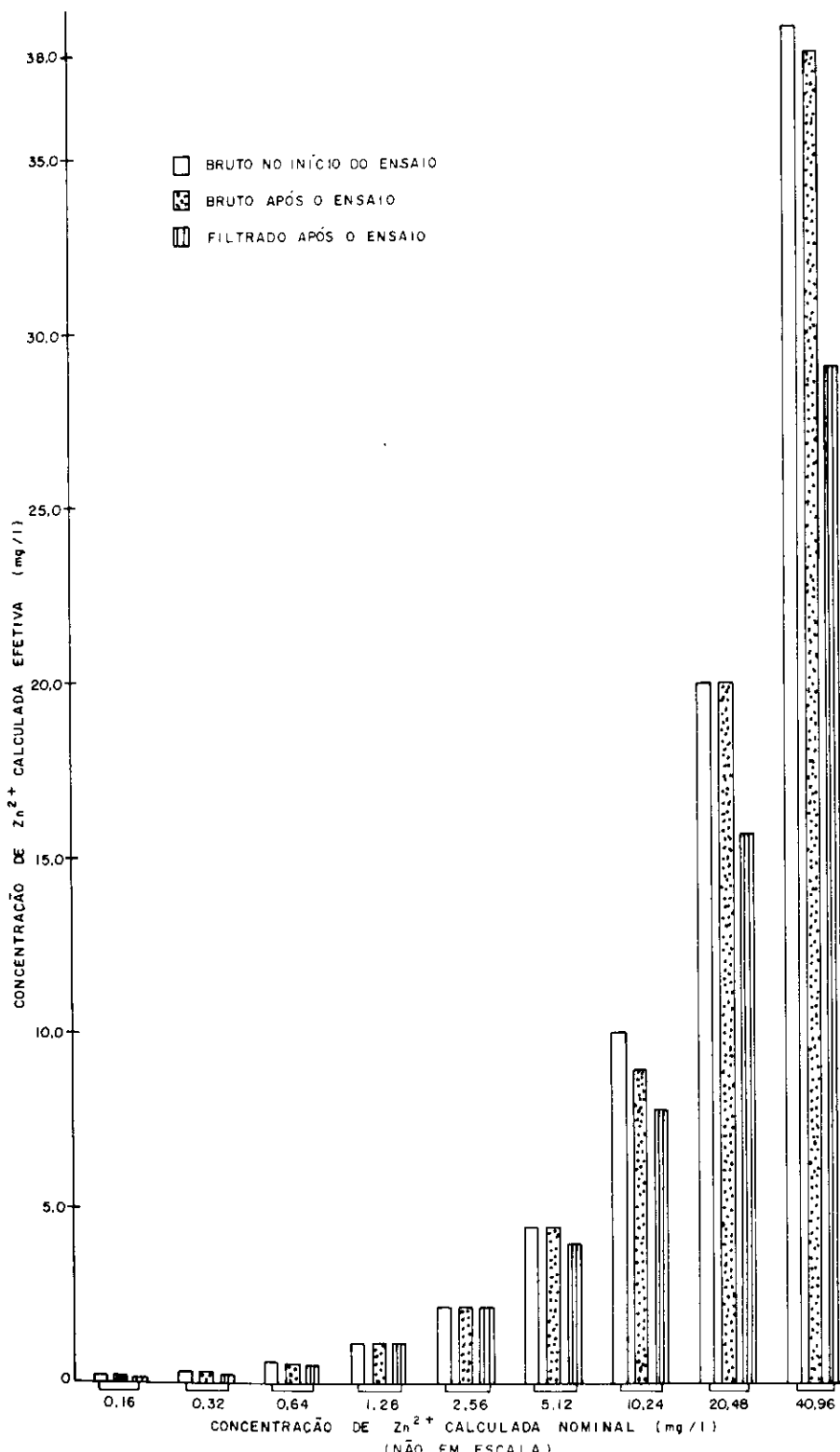


Fig. 4 — Concentrações de zinco (Zn²⁺) calculadas efetivas das soluções tóxicas com água mole "sem agitação"

o que podem excretar íons bivalentes quando os animais são expostos a um excesso de sais bivalentes.

Diante desses estudos sobre efeitos do zinco em concentrações letais agudas e crônicas envolvendo várias espécies de peixes, foi observado que provavelmente o modo de ação desses íons é diferente entre as diferentes espécies. Entretanto parece

que a hipoxia a nível de tecidos, seja pelos danos causados nas brânquias e/ou pelo acúmulo ou precipitação de substância mucilaginosa, constitui a hipótese mais aceita pelos pesquisadores quando os indivíduos são expostos a concentrações letais agudas. Porém quando expostos a concentrações letais crônicas, parece que mudanças metabólicas decorren-

tes de alterações fisiológicas internas são as principais causas da morte dos peixes.

6 Conclusões

- A ação física da agitação da água não interferiu na toxicidade do zinco tanto em água muito mole como em água mole.
- Não foi observado acúmulo de muco na região branquial ou na superfície do corpo. Somente em água mole, nas concentrações elevadas de 10,24; 20,48 e 40,96 mg/l de Zn²⁺, é que as soluções apresentaram um aspecto leitoso.
- A toxicidade do zinco aumentou com a diminuição dos níveis de alcalinidade e dureza da água.
- Os indivíduos machos foram mais vulneráveis à ação do poluente do que as fêmeas.

7 Referências bibliográficas

- BENGTSSON, B. E. — Effects of zinc on growth of the minnow (*Phoxinus phoxinus* L.). *Oikos*, 25(3):370-373, 1974.
- BENGTSSON, B. E. — Effekten av långtidesexponering i zink på överlevnad och tillväxt hos elritsa (*Phoxinus phoxinus* L.) 1972. Apud. ALABASTER, J. S. & LLOYD, R. *Water Quality Criteria for freshwater Fish*. 2.ª ed. London, FAO, 1982. 159-182p.
- BRANCO, S. M. — Observações sobre o comportamento de peixes em presença de certos compostos metálicos dissolvidos em água. *DAE*, 21 (37): 38-41, 1960.
- CARPENTER, K. E. — The lethal action of soluble metallic salts of fishes. *J. Exp. Zool.*, 4:378-390, 1927.
- COX, D. F. — The analysis of Binary Data. Londres, Matheuen, 1970.
- GRANDALL, C. A. & GOODNIGHT, C. J. — The effects of sublethal concentration of several toxicants to the common guppy, *Lebistes reticulatus*. *Trans. Am. Microscop. Soc.*, 82:59-73, 1963.
- CRESPO, S. et alii — Zinc and copper distribution in excretory organs of the dogfish, *Scyliorhinus canicula* and chloride cell response following treatment with zinc sulphate. *Mar. Biol.*, 65(2):117-124, 1981.
- DILLING, W. J. & HEALEY, C. W. — Experiments on the effects of lead on the growth of plaice (*Pleuronectes platessa*). *Ann. Appl. Biol.*, 13 (2): 168-176, 1926.
- DOUDOROFF, P. & KATZ, M. — Critical review of literature on the toxicity of industrial wastes and their components of fish II. The metal, as salts. *Sew. and Ind. Wastes*, 25: 801-839, 1953.
- EDWARDS R. W. & BROWN, V. M. — Pollution and fisheries: A progress report. *J. Inst. Wat. Pollut. Control Lond.*, 66: 63-78, 1967.

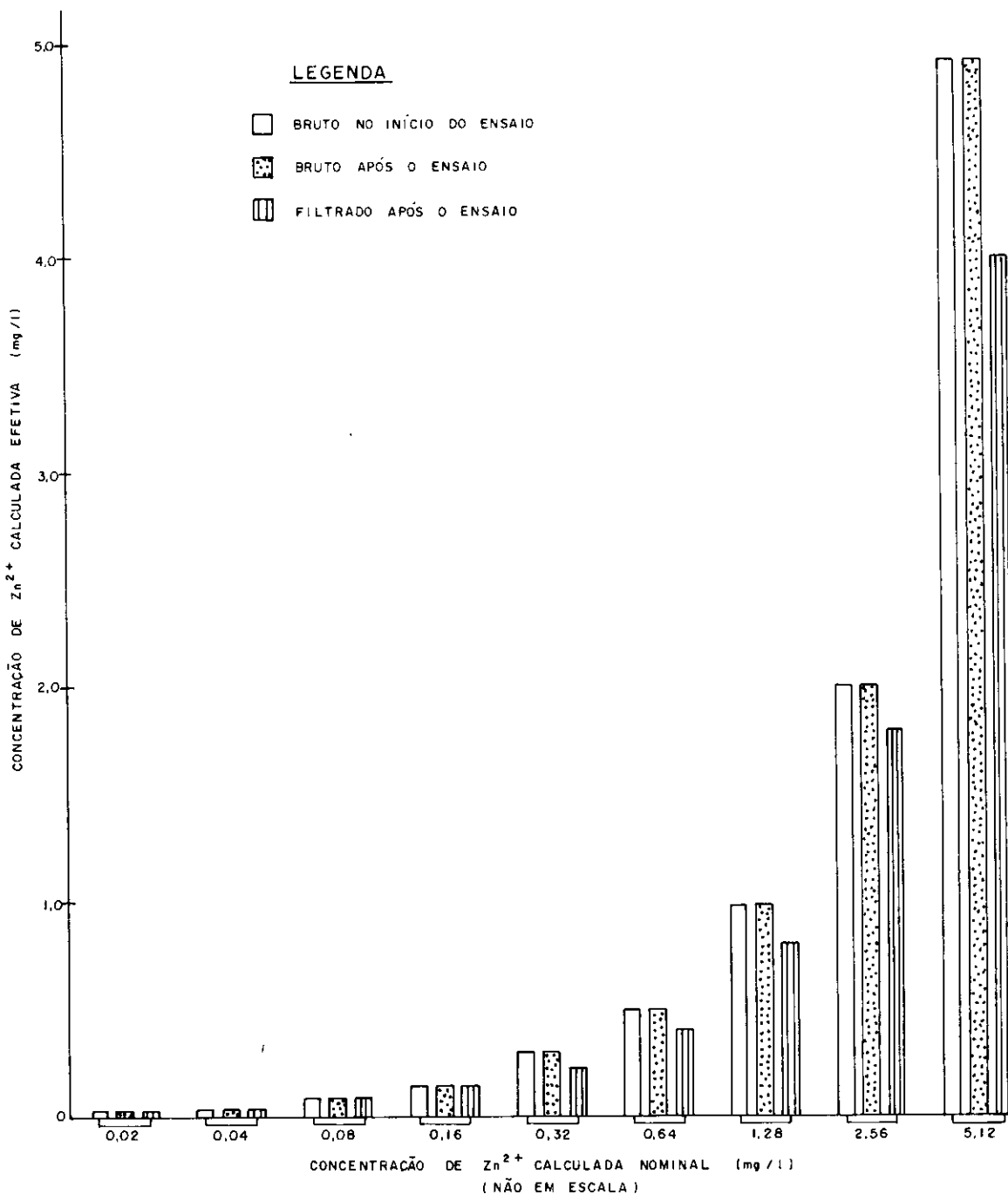


Figura 5 — Concentrações de zinco (Zn²⁺) calculadas efetivas das soluções tóxicas com água muito mole "sem agitação"

- (11) ELLIS, M. M. — Detection an measurement of stream pollution. **U. S. Bureau of Fisheries Bull.**, n.º 22, 48: 365-437, 1937.
- (12) HILTBRAN, R. C. — Effects of Cd, Zn, Mg e Ca on oxygen and phosphate metabolism of bluegill liver mitochondria. **J. Wat. Pollut. Cont. Fed.**, 43:818-823, 1971.
- (13) INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO) — Draft International Standard. ISO/DIS 7346/1, 1982.
- (14) JONES, J. R. E. — The toxic action of heavy metal salts on the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*, L.). **J. Exp. Biol.**, 12:165-173, 1935.
- (15) JONES, J. R. E. — The relative toxicity of salts of lead, zinc and copper to the stickleback (*Gasterosteus aculeatus*, L.) and the effect of calcium on the toxicity of lead and zinc salts. **J. Exp. Biol.**, 15: 394-407, 1938.
- (16) JONES, J. R. E. — The relation between the electrolytic solution pressures of the metals and their toxicity to the stickleback (*Gasterosteus aculeatus*, L.) **J. Exp. Biol.**, 16:425-437, 1939.
- (17) JONES, J. R. E. — A further study the relation between toxicity and solution pressure with *Polycelis nigra* as test animal. **J. Exp. Biol.**, 17: 408-415, 1940.
- (18) MATTHIESSEN, P. & BRAFIELD, A. E. — Uptake and loss of dissolved zinc by stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. **J. Fish. Biol.**, 10:399-410, 1977.
- (19) SKIDMORE, J. F. — Toxicity of zinc compounds to aquatic animals, with special reference to fish. **Quart. Rev. Biol.** 39(3):227-248, 1964.
- (20) SKIDMORE, J. F. & TOVELL, P. W. A. — Toxic effects of sulphate on the gills of rainbow trout. **Wat. Res.**, 6:217-230, 1972.
- (21) STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER — 14.º ed. Washington, APHA-AWWA-WPCF, 1976. 615-743 p.
- (22) WESTFALL, B. A. — Coagulation film anoxia in fishes. **Ecology**, 26(3): 283-287, 1945.
- (23) WONG, M. H.; LUK, K. C. & CHOI, K. Y. — The effects of zinc and copper on *Cyprinus carpio* and *Ctenopharyngodon idellus*. **Acta Anat.**, 99:450-454, 1977.
- (24) ZITKO, V. & CARSON, W. G. — Seasonal and development variation in the lethality of zinc to juvenile Atlantic Salmon (*Salmo salar*). **J. Fish. Res. Bd. Can.**, 34:139-141, 1977.