

# Heterogeneidade de hemoglobina nos peixes da Amazônia (\*)

Unni E. H. Fyhn (1); Hans Jorgen Fyhn (1); Bonnie J. Davis (2); Dennis A. Powers (3)  
William L. Fink (4); Robert L. Garlick (5)

## Resumo

Os padrões eletroforéticos de hemoglobinas de peixes da Amazônia foram descritos. Os peixes incluíram a pirambóia sul-americana, *Lepidosiren paradoxa*, quatro espécies de raias de água doce do gênero *Potamotrygon* e teleosteos actinopterigeos de 77 gêneros dos quais 75% pertencem à superordem Ostariophysi. Para 97% das faixas, a mobilidade eletroforética das hemoglobinas de peixe foi menor que a de Hb A humana. *Lepidosiren* tinha uma única hemoglobina. Os hemolisados de *Potamotrygon* apresentaram padrões indefinidos com um número médio de 3,8 faixas por fenótipo. Os teleosteos apresentaram um número médio de 4,0 faixas por fenótipo. O número médio de faixas de hemoglobina foi diferente para peixes pertencentes às superordens Ostariophysi ( $3,3 \pm 0,15$ ) e Acanthopterygii ( $6,7 \pm 0,38$ ). Padrões com uma única hemoglobina foram encontrados em 8% dos fenótipos. Dois ou mais padrões de hemoglobina foram encontrados para cerca de 10 espécimes. Contudo, dificuldades taxonômicas e o baixo número de espécimes analisados necessitam de mais estudos para determinarem-se. Estes casos representam polimorfismos genéticos nos loci da hemoglobina. Pela eletroforese gel SDS, os pesos moleculares das cadeias de hemoglobinas desnaturadas de representantes de 50 gêneros foram encontrados ser comparáveis ao peso molecular das cadeias da Hb A humana. Não há nenhuma correlação óbvia entre multiplicidade de hemoglobina e o comportamento do peixe ou preferência de habitat. Esses peixes tropicais têm hemolisados que são tão complexos quanto os dos peixes de zona temperada.

## INTRODUÇÃO

Hemoglobinas múltiplas são comumente freqüentes em hemolisados de peixes (Riggs, 1970; Sharp, 1973; Fyhn e Sullivan, 1975). Além disso, muitas espécies de peixes são geneticamente polimórficos nos seus loci de

hemoglobina (De Ligny, 1969; Fyhn e Sullivan, 1974; 1975; Hjorth, 1974; 1975). O significado biológico desta heterogeneidade não é apressado, mas supõe-se que ela representa uma adaptação para dominar um meio ambiente variável (Sullivan, 1977). Um pré-requisito para que a heterogeneidade de hemoglobina tenha valor adaptativo são as diferenças nas propriedades funcionais dos vários componentes da hemoglobina. Tal heterogeneidade funcional tem sido demonstrada para as hemoglobinas de vários peixes (revisado por Bonaventura *et al.*, 1975; Johansen e Weber, 1976). As diferenças funcionais podem ser de natureza quantitativa, por exemplo, as diferenças na afinidade de oxigênio entre os componentes da hemoglobina do âmia, *Amia calva* (Weber *et al.*, 1976), ou elas podem ser de natureza qualitativa, por exemplo a presença ou ausência do efeito Bohr no componente I e IV, respectivamente, da truta, *Salmo gairdneri* (Brunori *et al.*, 1973), e a presença de um efeito Bohr normal e reverso em dois componentes do *Hoplosternum littorale* (Garlick *et al.* 1978, neste volume). De tal heterogeneidade funcional, pode-se conjecturar que uma espécie com hemoglobinas múltiplas, agindo em sintonia, teria melhor capacidade de transporte de gás sanguíneo durante flutuações ambientais do que teria uma espécie com somente um tipo de hemoglobina em seus eritrócitos. Desse modo, a heterogeneidade de hemoglobina pode ter valor seletivo em ambientes instáveis.

A temperatura, especialmente, tem sido sugerida como uma importante variável ambiental favorecendo a heterogeneidade proteica em peixes (Koehn, 1969; Sullivan, 1977) embora dados contrários a essa hipótese se-

(\*) — Versão original inglesa publicada em *Comp. Biochem. Physiol.* vol. 62 (A). 1979.

(1) — Institute of Zoophysiology, University of Oslo, Blindern, Oslo 3, Norway.

(2) — Department of Biology, San Francisco State University, San Francisco, California 94132, USA.

(3) — Department of Biology, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland 21218, USA.

(4) — Museum of Comparative Zoology, Harvard University, Cambridge, Massachusetts 02138, USA.

(5) — Department of Zoology, University Texas, Austin, Texas 78712, USA.



jam disponíveis (Somero & Soulé, 1974). Muitos estudos da heterogeneidade de hemoglobina em peixes tem sido feitos nas espécies das zonas temperada e boreal onde a instabilidade ambiental é bem documentada. Sentimos um grande interesse em aumentar os dados base das hemoglobinas de peixe com informação de peixes que vivem em condições ambientais estáveis. A faixa tropical de nível baixo representa tal ambiente. Essa área tem um alto grau de estabilidade climática, especialmente em relação à temperatura (Fisher, 1960). No presente trabalho, os hemolisados dos peixes da Amazônia têm sido analisados pela eletroforese em *gel* disco de poliacrilamida para se obter uma visão da heterogeneidade eletroforética dos peixes tropicais de água doce e, particularmente, descrever os padrões da hemoglobina dos peixes da Amazônia. A bacia amazônica tem uma ictiofauna rica e diversa com mais de 1000 espécies de peixes habitando suas águas (Myers, 1947; Lowe-McConnell, 1975). Esta abundância de peixes inclui ambos, teleosteos e elasmobrânquios, bem como a pirambóia sul americana.

#### MATERIAIS

Cerca de 800 espécimes de peixe foram coletados de duas áreas da bacia amazônica, em novembro e dezembro de 1976, durante uma expedição com o R/V "Alpha Helix". As áreas de coleta abrangeram distâncias de cerca de 1.300 km da boca do rio Amazonas: No rio Solimões, a cerca de 50 km rio acima da foz do rio Negro, e no rio Negro, a cerca de 60 km rio acima de Manaus (cf. Fink & Fink, 1978, neste volume, fará descrições detalhadas das áreas de coleta). Na área do Solimões, os peixes foram apanhados ao longo da costa sul do rio e nas costas das ilhas no rio (isso é referido como "A" na coluna de local de coleta na Tabela I), no canal entre o rio Solimões e o lago de Janauacá ("B" na Tabela I), na saída do lago de Janauacá ("C" na Tabela I), numa praia a cerca de 4,8 km no lago de Janauacá ("D" na Tabela I) e numa lagoa isolada e cerca de 2,4 km acima do canal entre o rio Solimões e o lago de Janauacá e cerca de 500 m a oeste do canal ("E" na Tabela I). Na área do rio Negro, os peixes foram apanhados ao longo da costa norte do rio Negro ("G" na Tabela I) e

no canal principal e afluentes do rio Cuieiras a cerca de 8 km de sua foz e o rio Negro ("H" na Tabela I). Os peixes normalmente eram obtidos por arrastão ou malhadeiras mas alguns foram obtidos de um pescador local na área do Solimões ("F" na Tabela I). O período de coleta foi no fim da estação seca e quando o nível da água estava mais baixo no Solimões. Os peixes, portanto, estavam concentrados nos principais canais dos rios e lagos ou estavam presos em poços isolados de água. Durante o período de coleta, a temperatura da água era de 28-30°C em todos os lugares, e o pH variava entre 6,5 e 7,0 na "água branca" do rio Solimões, entre 6,8 e 7,8 na água branca decantada do lago de Janauacá, e entre 5,6 e 6,9 na "água preta" do rio Negro e rio Cuieiras (cf. Fisher, 1978, neste volume, para detalhes das condições ambientais). A lagoa ("E" na Tabela I), que estava repleta de peixe, tinha cerca de 40x60 m de tamanho com uma profundidade de 20-40 cm. Ela estava parcialmente coberta de plantas aquáticas e o fundo era extremamente macio e lamacento. A água estagnada e escura tinha uma temperatura de cerca de 30°C e um conteúdo de oxigênio abruptamente reduzido de cerca de 75% de saturação na superfície para menos de 40% de saturação a 4 cm de profundidade (Wood, comunicação pessoal). Tipicamente, os peixes na lagoa estavam "deslizando" na superfície de água ou estavam respirando ar.

#### MÉTODOS

Os peixes foram sangrados no campo, imediatamente após à coleta, ou foram transportados ao "Alpha Helix" onde se extraiu o sangue nas 4-6 horas após a coleta. A bordo, os peixes eram mantidos num aquário com água corrente do rio. Geralmente, o sangue era obtido por punção percutânea cardíaca sem qualquer anestesia ou dissecação. Amostras padrões de sangue de 1 ml eram extraídas em seringas de vidro heparinizadas e resfriadas (50 µl de neparina por ml, em NaCl a 1,7%). Três a cinco volumes de solução salina refrigerada foram adicionados ao sangue e as células vermelhas do sangue foram centrifugadas a 700 g por 10 min, a 4°C numa centrífuga Sorvall RC2-B. As células foram lavadas três vezes em 10 volumes de solução salina gelada. O



**TABELA I** — Lista das famílias dos gêneros e espécies coletadas com os locais de coleta conforme descrito no texto.

Classe/Ordem/Família/Espécie	N.º de Espécimes	Peso do corpo g	Local (Espécimes)
<b>Classe CHONDRICHTHYES</b>			
Subclasse Elasmobranchii			
Ordem Rajiformes			
Família Potamotrygonidae			
Potamotrygon sp. 1	10	88-843	C(2), D(5), F(2), H(1)
Potamotrygon sp. 2	1	5000	C
Potamotrygon sp. 3	2	210,250	D(1), F(1)
Potamotrygon sp. 4	3	201-782	A(2), B(1)
<b>Classe OSTEICHTHYES</b>			
Subclasse Sarcopterygii			
Ordem Dipteriformes			
Família Lepidosirenidae			
Lepidosiren paradoxa	4	670-2000	F
Subclasse Actinopterygii			
Superordem CLUPEOMORPHA			
Ordem Clupeiformes			
Subordem Clupeiidei			
Família Clupeidae			
Ilisha amazônica	2	—	A
Superordem OSTEOGLOSSOMORPHA			
Ordem Osteoglossiformes			
Subordem Osteoglossidei			
Família Osteoglossidae			
Osteoglossum bicirrhosum	17	147-2000	C(11), E(6)
Arapaima gigas	4	1500-3000	F
Superordem OSTARIOPHYSI			
Ordem Cypriniformes			
Subordem Characoidei			
Família Characidae			
Chalceus sp.	3	14-20	E
Charax sp.	7	29-70	A(3), B(3), D(1)
Colossoma sp.	8	46-850	C(4), E(4)
Mylossoma sp.	31	64-210	A(27), C(4)
Serrasalmus sp. 1	14	80-585	C
Serrasalmus sp. 2	7	260-400	C
Serrasalmus sp. 3	9	14-59	G
Serrasalmus sp. 4	2	18,22	G
Serrasalmus spp.	11	15-574	A(4), B(1), C(4), F(1), H(1)
Tetragonopterus sp.	1	33	H
Triportheus sp.	14	18-104	C(1), D(10), H(3)
Família Erythrinidae			
Hoplias malabaricus	17	392-740	C(3), D(2), E(12)
Hoplerethrinus unitaeniatus	12	62-190	F
Família Cynodontidae			
Cynodon gibbus	7	56-99	H
Raphiodon vulpinus	6	79-237	A(3), B(1), C(1), G(1)
Família Prochilodontidae			
Prochilodus sp.	21	53-533	A(2), D(1), E(18)
Família Curimatidae			
Curimatus sp.	7	18-110	A

TABELA I (Cont.)

Classe/Ordem/Família/Espécie	N.º de Espécimes	Peso do corpo g	Local (Espécimes)
Família Anostomidae			
<i>Leporinus</i> sp.	6	39-283	D(2), G(4)
<i>Rhytidus</i> sp.	8	87-314	A(3), B(2), C(2), G(1)
<i>Schizodon</i> sp.	14	116-445	A(12), B(1), G(1)
Família Hemiodontidae			
<i>Hemiodus</i> sp. 1	8	71-223	A(4), B(4)
<i>Hemiodus</i> sp. 2	5	10-23	H
<i>Hemiodus</i> sp. 3	1	45	H
Subordem Gymnotoidei			
Família Gymnotidae			
<i>Gymnotus carapo</i>	1	—	A
Família Electrophoridae			
<i>Eletrophorus electricus</i>	1	—	F
Família Apterodontidae			
<i>Apterodontus</i> sp.	1	58	B
Família Rhamphichthyidae			
<i>Eigenmannia</i> sp.	9	22-39	B
<i>Rhamphichthys</i> sp.			
Rostro comprido	3	142-180	F
Rostro curto	8	155-233	F(7), G(1)
<i>Sternopygus macrurus</i>	13	120-368	C(12), F(1)
Subordem Siluroidei			
Família Doradidae			
<i>Acanthodoras</i> sp.	4	9-12	H
<i>Anadoras</i> sp.	6	20-35	C
<i>Astroadoras</i> sp.	5	10-20	H
<i>Doras</i> sp.	1	14	A
<i>Hassar</i> sp.	1	61	H
<i>Hemidoras</i> sp.	1	10	D
<i>Opsodoras</i> sp.	7	26-48	A(2), B(1), D(4)
<i>Pseudodoras</i> sp.	3	178-614	C(1), D(2)
<i>Trachydoras</i> sp.	1	13	A
Família Auchenipteridae			
<i>Auchenipterus</i> sp.	5	15-21	D
<i>Trachycorystes</i> sp.	3	19-63	C(2), E(1)
Família Pimelodidae			
<i>Brachyplatystoma</i> sp. 1	2	821	C
<i>Brachyplatystoma</i> sp. 2	2	98,600	G
<i>Hemisorubim</i> sp.	2	16,49	A(1), B(1)
<i>Lelarius</i> sp.	2	—	B
<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	1	487	F
<i>Pimelodella</i> sp.	6	125-1500	A(1), C(2), D(2), G(1)
<i>Pimelodus</i>	29	12-122	A(13), B(5), C(8), D(2), H(1)
<i>Pinirampus</i> sp.	1	772	G
<i>Pseudoplatytoma</i> sp.	1	62	A
<i>Rhamdia</i> sp.	3	122-141	G
<i>Sorubim lima</i>	14	53-300	B(3), F(11)
Família Ageneiosidae			
<i>Ageneiosus</i> sp.	9	16-940	A(3), B(4), C(2)
Família Hypophthalmidae			
<i>Hypophthalmus</i> sp.	9	88-570	B(3), C(2), F(3), H(1)
Família Callichthyidae			
<i>Callichthys</i> sp.	1	11	A
<i>Hoplosternum littorale</i>	14	84-308	E



TABELA I (Cont.)

Classe/Ordem/Família/Espécie	N.º de Espécimes	Peso do corpo g	Local (Espécimes)
Família Loricariidae			
<i>Ancistrus</i> sp.	21	4-280	A(5), F(13), H(3)
<i>Chaetostomus</i> sp.	1	263	C
<i>Hypostomus</i> sp.	36	17-800	A(6), B(1), C(20), F(9)
<i>Loricaria</i> cf. <i>clavipinna</i>	1	19	A
<i>Loricaria</i> sp.	15	8-155	A(3), B(3), C(7), D(2)
<i>Loricariichthys acutus</i>	1	84	D
<i>Loricariichthys</i> cf. <i>maculatus</i>	1	98	A
<i>Loricariichthys nova species</i>	1	141	A
<i>Parahemiodon</i> sp.	5	9-155	A(3), B(1), E(1)
<i>Pterygoplichthys</i> sp. 1	25	70-1000	A(1), C(10), E(3), F(11)
<i>Pterygoplichthys</i> sp. 2	3	45-755	C(1), E(1), F(1)
<i>Spatuloricaria</i> sp.	1	15	B
<i>Sturisoma</i> sp.	4	60-77	A
Subfamília Ancestrinoe			
Espécies não identificadas	2	45,55	A
Superordem ATHERINOMORPHA			
Ordem Atheriniformes			
Subordem Exocoetoidei			
Família Belontiidae			
<i>Potamorhaphis</i>	2	54,65	A(1), B(1)
Superordem ACANTHOPTERYGII			
Ordem Synbranchiformes			
Família Synbranchidae			
<i>Synbranchus marmoratus</i>	7	370-1275	F
Ordem Perciformes			
Subordem Percoidei			
Família Sciaenidae			
<i>Plagioscion</i> sp.	17	64-656	C(1), G(16)
Família Cichlidae			
<i>Acarichthys heckelii</i>	2	10,20	E(1), H(1)
<i>Acaronia nassa</i>	9	7-153	E(5), H(4)
<i>Aequidens tetramerus</i>	1	70	E
<i>Astronotus ocellatus</i>	17	73-382	E
<i>Biotodoma cupido</i>	2	40,41	H
<i>Chaetobranchopsis</i>			
<i>orbicularis</i>	40	17-263	E
<i>Chaetobranchus flavescens</i>	7	60-457	E
<i>Cichla ocellaris</i>	1	113	E
<i>Cichla temensis</i>	14	11-238	H
<i>Cichlasoma bimaculatum</i>	2	40-69	E
<i>Cichlasoma festivum</i>	2	5,32	H
<i>Cichlasoma severum</i>	14	16-428	C(5), E(9)
<i>Geophagus jurupari</i>	1	30	E
<i>Geophagus surinamensis</i>	11	18-367	B(1), H(10)
<i>Pterophylum</i> sp.	5	10-15	E
Ordem Pleuronectiformes			
Subordem Soleoidei			
Família Soleidae			
<i>Achirus</i> sp.	3	—	D
*Ordem Tetraodontiformes			
Família Tetraodontidae			
<i>Colomesus psittacus</i>	6	10-11	C(1), D(5)



último grupo de células foi feito a 3000 g. As células foram lisadas em 3 volumes de Tris 1 mM gelado (pH 8) por uma hora. Um décimo volume de NaCl 1 M foi então adicionado antes da centrifugação a 28000 g por 15 minutos, a 4°C. Os hemolisados foram guardados a 5°C e usados para a eletroforese dentro do espaço de 24 horas.

Eletroforese de disco (pH 8,9 *gel* 7 1/2%) foi feito de acordo com Davis (1964) e Ornstein (1964) e preparação de amostras segundo Fyhn & Sullivan (1974). Acrilamida Bio Rad para pureza eletroforética (161-0100) e N, N'-metileno-bis-acrilamida para pureza eletroforética (161-0200) foram usados para os *geis*. O hemolisado foi misturado com glicerol e o tampão do eletrodo superior com 0,1 M de  $\beta$ -mercaptoetanol e continha uma pequena quantidade de ditonito, para obter-se uma concentração final de hemoglobina por volta de 1 mg/ml. A mistura foi borbulhada com monóxido de carbono e aplicada imediatamente ao *gel*. Foram aplicados 5-25  $\mu$ l da mistura dependendo do número de componentes de hemoglobina no hemolisado. 0,002-0,003 mg de soro albumínico bovino BSA (Sigma A-4378) dissolvidos em glicerol e o tampão do eletrodo superior (5  $\mu$ l) foram aplicados em cada *gel* como um marcador de referência.

Os *geis* foram corados por cerca de três horas com azul brilhante R (Sigma B-0630) a 0,25% e descoradas por difusão. Comparações prévias entre as varreduras por densitômetro em *geis* não corados (a 416 nm) e *geis* corados com azul brilhante mostraram que proteínas diferentes das hemoglobinas, geralmente não eram observadas em discos de *gel* de hemolisados preparados como descrito aqui. Dos discos de *gel* regulares a proporção da distância de migração de um componente da hemoglobina à distância de migração do BSA no mesmo *gel* foi calculado e usado para comparar a mobilidade dos componentes da hemoglobina em *geis* de diferentes corridas. Essas proporções são referidas como mobilidades relativas. Por esse método, a hemoglobina A humana teve uma mobilidade relativa de 0,66. Quando disponíveis, cinco *geis* de cada fenótipo foram medidos para calcular as mobilidades relativas. Um registro do *gel* foi efetuado a 560 nm com um registrador de *gel*

de Gilford anexado a um monocromador DU de Beckman e conectado a um registrador Tarkan ww 600. A planimetria foi feita, manualmente pela determinação dos traços registrados em picos individuais. Um a cinco *geis* de cada fenótipo foram registrados para calcular-se a distribuição de hemoglobina entre as faixas.

Os pesos moleculares das cadeias de hemoglobinas desnaturadas foram determinados por eletroforese em *gel* de dodecil sulfato de sódio (SDS) segundo Weber & Osborn (1969) exceto a solução de incubação que foi de 6 em uréia e 0,1 em  $\beta$ -mercaptoetanol. Transferina humana (Sigma T-2252), de soro albumina bovino (Sigma A-4378), ovalbumina (Sigma A-5378),  $\alpha$ -quimotripsinogenio A de pâncreas bovino (Sigma C-4878) e mioglobina de baleia (Sigma 0380) foram usados como pesos moleculares padrões.

## RESULTADOS

Os padrões de hemoglobina encontrados pela eletroforese em *gel* de pH regularmente alto dos hemolisados de peixes da Amazônia estão diagramaticamente ilustrados nas Figs. 1-10, e alguns padrões são ilustrados mais adiante por fotografias (Figs. 11, 12). Dado o conhecimento incompleto da taxonomia dos peixes da Amazônia, muitos dos peixes examinados não puderam ser identificados além do nível genérico. Os peixes assim identificados por seus nomes genéricos podem representar mais de uma espécie. Informações ulteriores na sistemática e biologia geral de vários peixes são dados por Fyhn & Fyhn (1978). Comumente, os padrões de hemoglobina foram reproduzíveis quando os hemolisados foram retestados após a conservação por 1-2 semanas a 5°C. As exceções estão anotadas no texto. Os fenótipos de cada espécie, o número de espécimes de cada fenótipo, e a distribuição quantitativa da hemoglobina entre as dos fenótipos são dados nas Tabelas II-IX. Os padrões da hemoglobina amplamente indefinidos não puderam ser calculados. As mobilidades relativas das faixas de um fenótipo foram compatíveis de *gel* a *gel* e de corrida a corrida com variações dentro de 0,02 unidades. Do mesmo modo, os traços do densitô-



metro forneceram resultados consistentes para a distribuição quantitativa de hemoglobina entre as faixas de um fenótipo com as percentagens calculadas variando dentro dos 5%. Exceções com variabilidade significativamente maiores são relatados no texto. Um padrão de hemoglobina específico foi classificado como um fenótipo quando o padrão foi reproduzível em corridas repetidas e/ou foi consistentemente encontrado em vários hemolisados de uma espécie. Padrões com faixas alinhadas com pequenas e consistentes diferenças na distribuição de hemoglobina entre as faixas, foram classificados como variantes de um fenótipo. Em alguns casos, contudo, padrões com faixas alinhadas mas com grandes e consistentes diferenças na distribuição de hemoglobina foram classificados como diferentes fenótipos, por exemplo, *Colossoma*, *Anadoras*, *Ancistus*, *Astronotus*.

ELETROFORESE EM GEL DE pH  
REGULARMENTE ALTO

Classe OSTEICHTHYES  
Ordem DIPTERIFORMES

Família **Lepidosireneidae** (Fig. 1, Tabela II). Os hemolisados dos espécimes de *Lepidosiren paradoxa* apresentaram uma faixa de hemoglobina com uma mobilidade relativa idêntica à da hemoglobina A humana (0,66). A hemoglobina do *Lepidosiren* tinha uma mobilidade eletroforética mais alta do que muitas outras hemoglobinas de peixe testadas no presente estudo (Figs. 1-10).

Ordem CLUPEIFORMES

Família **Clupeidae** (Fig. 1, Tabela II). Os hemolisados de *Ilisha amazonica* apresentaram um padrão de hemoglobina de três faixas migrando juntos. Uma adicional e muito vagarosa faixa de menor migração (mobilidade relativa 0,06) que compreendia 6% da hemoglobina, estava presente em ambos os hemolisados.

Ordem OSTEOGLOSSIFORMES

Família **Osteoglossidae** (Fig. 1, Tabela II). Duas espécies da família Osteoglossidae fo-

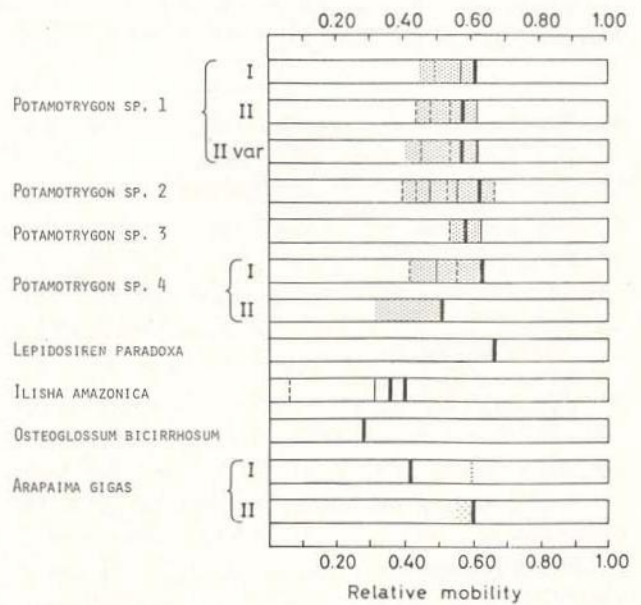


Fig. 1 — Uma representação diagramática dos padrões eletroforéticos das hemoglobinas das espécies das famílias Potamotrygonidae, Lepidosireneidae, Clupeidae e Osteoglossidae. Os algarismos romanos referem-se aos vários fenótipos encontrados para uma espécie. A mobilidade relativa se refere à distância de migração da faixa de hemoglobina comparada com a distância de migração da soro albumina de bovino no mesmo gel. O ânodo está à direita.

ram estudadas. Os hemolisados dos espécimes de *Osteoglossum bicirrhosum* apresentaram uma faixa de hemoglobina com uma baixa mobilidade eletroforética (mobilidade relativa de 0,28). Os espécimes com pesos de 147 a 200 g apresentaram fenótipos idênticos.

Os hemolisados de *Arapaima gigas* apresentaram dois fenótipos. O fenótipo I (encontrado em três espécimes de peso 2,5-3 kg) tinha uma faixa maior e uma menor, mais uma faixa anódica. Um hemolisado do fenótipo I foi testado imediatamente após a preparação e apresentou quase que exclusivamente a faixa maior. A faixa menor compreendeu menos que 1% da hemoglobina. Quando o hemolisado foi deixado, após 24 horas de conservação a 5°C, a faixa menor foi distinta e calculada em 35% da hemoglobina. Nenhuma mudança adicional ocorreu quando o hemolisado foi reexaminado, três semanas mais tarde. Os dois



TABELA II — Sumário dos padrões de hemoglobina para Potamotrygonidae, Lepidosirenidae, Clupeidae e Osteoglossidae. A distribuição em porcentagem corresponde às faixas dos mesmos fenótipos mostrados na Fig. 1 com a maior parte da faixa anódica dirigida à direita.

Família/Espécie	Fenótipo	Espécimes	Distribuição de Hemoglobina, %	SDS
Potamotrygonidae				
Potamotrygon sp. 1	I	6	indefinido	
	II	3	indefinido	
	II var.	1	indefinido	
Potamotrygon sp. 2	I	1	indefinido	
Potamotrygon sp. 3	I	2	indefinido	
Potamotrygon sp. 4	I	2	indefinido	
	II	1	indefinido	
Lepidosirenidae				
Lepidosiren paradoxa	I	4	100	
Clupeidae				
Ilisha amazonica	I	2	6 14 40 40	
Osteoglossidae				
Osteoglossum bicirrhosum	I	17	100	+
Arapaima gigas	I*	3	99 1	+
	II	1	100	+

\* Variações: 99-64, 1-36.

outros hemolisados do fenótipo I foram testados, 24 horas após a preparação, e, em ambos, a faixa menor compreendeu 35% da hemoglobina. Provavelmente, por conseguinte, logo após a hemólise, cerca de um terço da hemoglobina do fenótipo I foi transformado em uma forma migrante mais veloz. O hemolisado do fenótipo II (encontrado em um espécime de peso 1,5 kg) foi testado, imediatamente após a preparação da amostra e apresentou uma faixa maior com um rastro indefinido. A faixa maior estava alinhada com a faixa menor do fenótipo I. O padrão estava inalterado quando o hemolisado foi reexaminado, 3 dias depois. Os fenótipos I e II podem fazer parte de um polimorfismo alélico com cada um dos fenótipos encontrados, sendo um homozigoto.

Ordem CYPRINIFORMES  
Subordem CHARACOIDEI

Os fenótipos da hemoglobina de várias espécies da subordem CHARACOIDEI apresentaram muitas semelhanças. Um padrão fixo periódico foi um conjunto de três e cinco faixas de migração próxima com mobilidades re-

lativas de 0,30-0,50. Adicionalmente, uma faixa menor, de mobilidade relativa por volta de 0,20, foi encontrada em muitos fenótipos. Frequentemente, seguido de uma faixa maior, com mobilidade relativa de 0,40 ou 0,50, contém faixas menores que variavam no aparecimento.

Família **Characidae** (Fig. 2, Tabela III). Os hemolisados de sete gêneros da família Characidae foram estudados. Muitas espécies tinham padrões de hemoglobina com faixas múltiplas.

*Chalceus* sp. foi o único caracídeo testado que apresentava uma única faixa de hemoglobina, nos hemolisados.

Os hemolisados de sete espécimes de *Charax* sp. coletados em vários locais na área do Solimões apresentaram o mesmo fenótipo de hemoglobina.

Os hemolisados de *Colossoma* sp. apresentaram 3 fenótipos e uma variante (II var, Tabela III). As faixas alinhadas nos três fenótipos, mas de diferenças quantitativas grandes e consistentes na distribuição da hemoglobina entre as faixas pareciam justificar a classificação dos padrões em diferentes fenó-



tipos. O fenótipo I foi encontrado em um espécime coletado na lagoa, com peso de 136 g. Os fenótipos II e II var. já foram encontrados em espécimes coletados na lagoa com pesos de 46-95 g. O fenótipo III foi encontrado em espécimes coletados na saída do lago de Janauacá com peso de 510-850 g. A faixa mais vagarosa e a mais veloz do fenótipo III variaram em intensidade do débil para o ausente.

Os hemolisados dos espécimes de *Mylossoma* sp. apresentaram um fenótipo de hemoglobina com uma variante. Os espécimes de fenótipo I foram coletados no rio Solimões enquanto que os da variante foram coletados na saída do lago de Janauacá. Ambos os padrões tinham uma faixa maior compreendida por volta de 90% da hemoglobina. A banda maior se alinhou com a banda do *Chalceus*. No fenótipo I, a mobilidade relativa da faixa menor variou entre 0,13 e 0,17 enquanto que no fenótipo I

var. foi de 0,21. Em *geis* sobrecarregados do fenótipo I, uma mancha compreendendo cerca de 10% da hemoglobina foi observada entre duas faixas.

Os hemolisados dos espécimes do gênero *Serrasalmus* tinham padrões de hemoglobina com duas a quatro faixas. Na maioria das vezes, as faixas estavam migrando conjuntamente com uma mobilidade relativa das faixas maiores variando entre 0,27 e 0,42. Alguns dos padrões estavam indefinidos. Uma das faixas menores (mobilidade relativa 0,21) nos padrões de *Serrasalmus* sp. 1 foi variável em intensidade e compreendia de 3% a 9% da hemoglobina. Os hemolisados do *Serrasalmus* sp. 2 apresentaram dois padrões de hemoglobina sendo indicativos de um polimorfismo genético. Os hemolisados de onze espécimes identificados do gênero *Serrasalmus*, mas não pertencentes as espécies 1-4, apresentaram 6

TABELA III — Sumário dos padrões de hemoglobina para Characidae. A distribuição em porcentagem corresponde às faixas dos mesmos fenótipos mostrados na Fig. 2 com a maior parte da faixa anódica dirigida à direita.

Espécie	Fenótipo	Espécime	Distribuição de Hemoglobina %	SDS
<i>Chalceus</i> sp.	I	3	100	+
<i>Charax</i> sp.	I	7	24 6 47 12 8 3 2	+
<i>Colossoma</i> sp.	I	1	9 17 34 21 20	+
	II	2	3 11 20 25 41	+
	II var.	1	8 7 23 9 54	
<i>Mylossoma</i> sp.	III	4	3 12 36 36 10 3	
	I	27	11 89	+
	I var.	4	10 90	
<i>Serrasalmus</i> sp. 1	I	14	6 5 77 13	
<i>Serrasalmus</i> sp. 2	I	6	9 10 71 12	+
	II	1	91 9	
<i>Serrasalmus</i> sp. 3	I	9	9 63 20 9	
<i>Serrasalmus</i> sp. 4	I	2	indefinido	
<i>Serrasalmus</i> sp.	I	2	18 48 26 8	
	II	5	13 68 19	
	III	1	9 63 21 7	
	IV	1	5 48 37 9	
	V	1	42 49 9	
	VI	1	7 75 19	
<i>Tetragonopterus</i> sp.	I	1	24 65 9 2	
<i>Triportheus</i> sp.	I	2	indefinido	
	II	8	indefinido	
	III	1	indefinido	+
	III var. 1	1	16 5 13 52 15	
	III var. 2	2	11 15 36 37 1	+



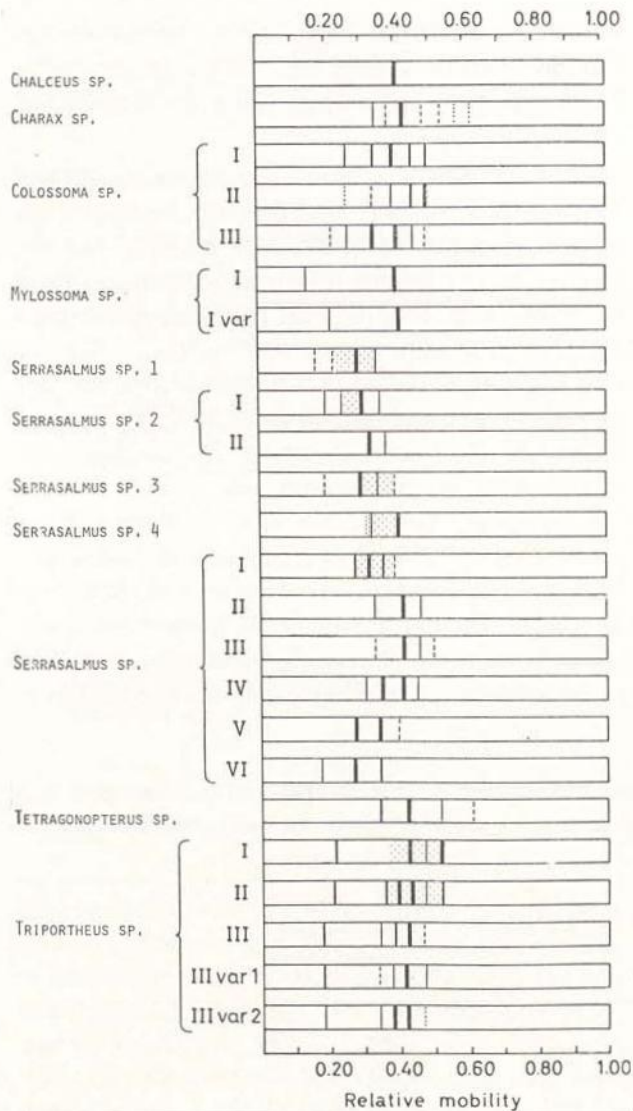


Fig. 2 — Uma representação diagramática das espécies da família Characidae. Os símbolos são conforme os da Figura 1.

fenótipos que eram diferentes dos padrões de hemoglobina dos espécimes 1-4. Os fenótipos I-V foram encontrados em espécimes coletados na área do Solimões, enquanto o fenótipo VI foi encontrado num espécime do rio Cuieiras. Nas amostras do rio Solimões, não houve correlações óbvias entre a ocorrência do fenótipo de hemoglobina e o local de coleta ou o peso dos animais.

O padrão de hemoglobina dos hemolisados do *Tetragonopterus* sp. apresentou 4 faixas bem separadas. As quatro faixas se alinharam perfeitamente com as faixas do fenótipo de *Charax*.

Os hemolisados dos espécimes de *Triporthesus* sp. apresentaram três fenótipos com duas variantes. Os fenótipos I-III foram encontrados em espécimes coletados na área do Solimões enquanto variantes I e II do fenótipo III foram encontrados em espécimes do rio Cuieiras.

**Família Erythrinidae** (Fig. 3, Tabela IV). Duas espécies da família Erythrinidae apresentaram padrões de hemoglobina indefinidos. Aumentando-se a concentração de acrilamida nos geis de 7,5% a 10% não melhorou significativamente a resolução. Uma das espécies (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) tinha hemolisados polimórficos.

Os hemolisados de *Hoplias malabaricus* coletados em vários locais na área do Solimões apresentaram o mesmo padrão. Quando os hemolisados foram retestados após conservação por 7 dias a 5°C, a maior parte da faixa anódica em alguns geis apresentaram-se como que uma faixa dupla difusa. Um padrão indefinido de cinco faixas da hemoglobina foi encontrado para *Hoplias malabaricus* do Sul do Brasil pela eletroforese em gel de amido de hemoglobinas na forma cianometá (Reischl, 1976).

Os hemolisados de *Hoplerythrinus unitaeniatus* apresentaram dois fenótipos de hemoglobina com três faixas alinhadas. Os padrões foram indefinidos mas reproduzíveis após conservação dos hemolisados por 3 semanas a 5°C.

**Família Cynodontidae** (Fig. 3, Tabela IV). Os hemolisados de dois gêneros da Família Cynodontidae tiveram padrões eletroforéticos simples com uma faixa maior alinhada. Essa faixa (mobilidade relativa de 0,41-0,42) se alinhava com a faixa maior do padrão da hemoglobina de várias espécies caracídeas.

Os hemolisados de *Cynodon gibbus* apresentaram uma faixa maior com um rastro indefinido. Numa variante do fenótipo I duas faixas menores foram observadas na mancha.

Os hemolisados de *Rhaphiodon vulpinus* apresentaram dois fenótipos com duas faixas alinhadas. O fenótipo I foi encontrado em espécimes coletados em vários locais na área do Solimões, enquanto que o fenótipo II foi



encontrado em um espécime coletado no rio Negro. Mais estudos são necessários para mostrar se esse polimorfismo tem uma base genética.

Família **Prochilodontidae** (Fig. 3, Tabela IV). Os hemolisados de *Prochilodus* sp. apresentaram três fenótipos e uma variante. O fenótipo I tinha uma faixa maior e uma faixa menor com migração mais vagarosa e difusa. Dois hemolisados apresentaram duas faixas fracas seguindo a faixa maior. Os fenótipos II mostraram essas faixas menores claramente mas não obtiveram a faixa mais vagarosa do fenótipo I. O fenótipo III tinha faixas alinhadas com as faixas do fenótipo II, mas a distribuição da hemoglobina entre as faixas foi significativamente diferente nos dois fenótipos.

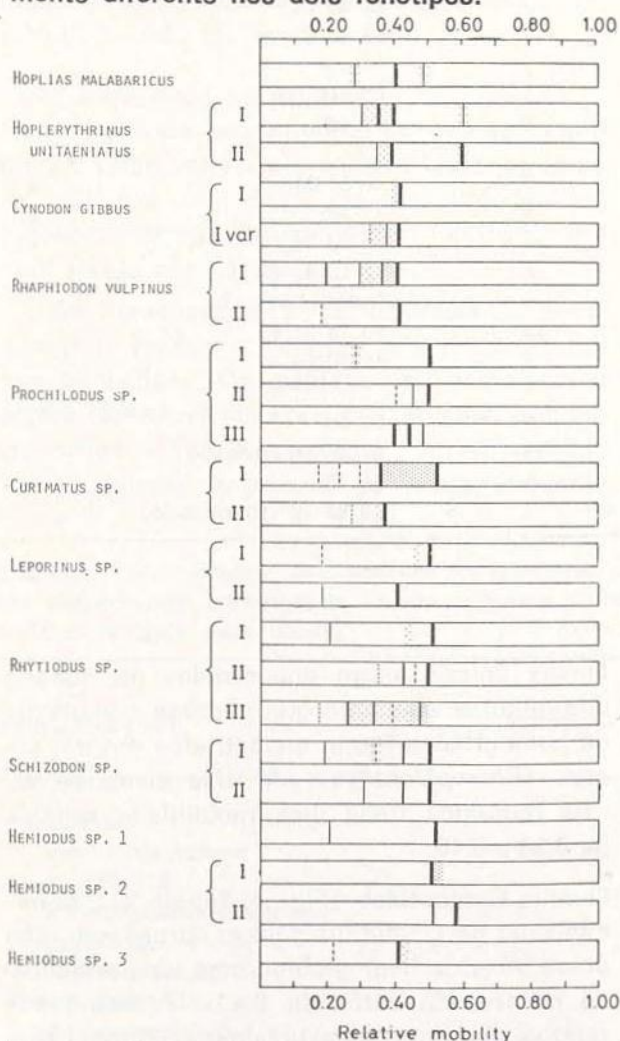


Fig. 3 — Uma representação diagramática dos padrões eletroforéticos das hemoglobinas das espécies das famílias da subordem Characoidei. Os símbolos são como os da Figura 1.

Família **Curimatidae** (Fig. 3, Tabela IV). Dois fenótipos indefinidos ocorreram nos hemolisados dos espécimes de *Curimatus* sp. O fenótipo I foi encontrado em 5 espécimes com pesos de 18-85 g. O fenótipo II foi encontrado em dois espécimes de peso maior (110 e 145 g).

Família **Anostomidae** (Fig. 3, Tabela IV). Os hemolisados de três gêneros da família Anostomidae apresentaram padrões eletroforéticos de hemoglobina simples com faixas largamente separadas. A faixa mais veloz na maioria dos padrões tinha uma mobilidade eletroforética (mobilidade relativa 0,50) idêntica à da faixa maior de *Prochilodus* sp.

Os hemolisados de *Leporinus* sp. apresentaram dois fenótipos com duas faixas principais. O fenótipo I foi encontrado nos espécimes coletados no lago de Janauacá e o fenótipo II foi encontrado nos espécimes coletados no rio Negro. No fenótipo I, uma ou duas faixas menores difusas, de intensidade variável, foram observadas seguindo de perto a faixa maior.

Os hemolisados dos espécimes de *Rhytiodus* sp., coletados na área do Solimões, apresentaram dois fenótipos (I e II) enquanto que espécimes coletados no rio Negro apresentaram um outro fenótipo (III). A ocorrência do fenótipo não se correlaciona com a área de coleta na área do Solimões ou com o peso dos animais. O fenótipo I tinha uma faixa difusa com intensidade variável entre suas duas faixas. O fenótipo II tinha duas faixas menores na zona da faixa difusa do fenótipo I. Juntas essas duas faixas do fenótipo II somavam cerca de 30% do total de hemoglobina mas a distribuição da hemoglobina entre as faixas variavam entre as amostras e com a idade do hemolisado (Tabela IV).

Os hemolisados de *Schizodon* sp. apresentaram dois fenótipos. O fenótipo I foi encontrado em espécimes coletados na área do Solimões e o fenótipo II foi encontrado em um espécime do rio Negro.

Família **Hemiodontidae** (Fig. 3, Tabela IV). Os hemolisados do gênero *Hemiodus* apresentaram padrões de hemoglobina simples com uma ou duas faixas. *Hemiodus* sp. 1 apresentou uma faixa maior somando 86% da hemoglobina e uma faixa menor de migração lenta vagarosamente migrante.



TABELA IV — Sumário dos padrões de hemoglobina para as famílias da subordem Characoidei. A distribuição em porcentagem corresponde às faixas dos mesmos fenótipos mostrados na Fig. 3 com a maior parte da faixa anódica dirigida para direita.

Família/Espécie	Fenótipo	Espécime	Distribuição de Hemoglobina, %	SDS
<b>Erythrinidae</b>				
<i>Hoplias malabaricus</i>	I	17	16 60 23	+
<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>	I	11	10 40 40 13	+
<b>Cynodontidae</b>				
<i>Cynodon gibbus</i>	I	4	100	+
	I var.	3	15 25 60	+
<i>Rhaphiodon vulpinas</i>	I	5	13 7 28 53	
	II	1	8 92	+
<b>Prochilodontidae</b>				
<i>Prochilodus</i> sp.	I	14	8 92	+
	I var.	2	6 5 8 81	+
	II	3	11 23 66	+
	III	2	39 41 20	
<b>Curimatidae</b>				
<i>Curimatus</i> sp.	I	5	indefinido	+
	II	2	4 96	
<b>Anostomidae</b>				
<i>Leporinus</i> sp.	I	2	7 27 66	+
	II	4	17 83	+
<i>Rhytioidus</i> sp.	I	2	15 32 54	+
	II*	5	1 15 16 68	
	III	1	indefinido	
<i>Schizodon</i> sp.	I	13	10 14 31 49	
	II	1	10 40 50	
<b>Hemiodontidae</b>				
<i>Hemiodus</i> sp. 1	I	8	14 86	+
<i>Hemiodus</i> sp. 2	I	1	80 20 (manchado)	
	II	4	44 56	
<i>Hemiodus</i> sp. 3	I	1	10 80 10 (manchado)	

\* Variações das faixas: 4-31, 30-3.

O padrão foi muito similar ao fenótipo I do *Leporinus* sp. e *Rhytioidus* sp. Os hemolisados do *Hemiodus* sp. 2 apresentaram dois fenótipos que podem ser a expressão de um polimorfismo alélico. Um hemolisado do *Hemiodus* sp. 3 tinha uma faixa menor alinhada com uma faixa menor e vagarosa do padrão do *Hemiodus* sp. 1 e uma faixa maior que tinha um atraso relativo à faixa maior dos fenótipos do *Hemiodus* sp. 1 e sp. 2.

#### Subordem GYMNOTOIDEI

Os padrões de hemoglobina de várias espécies da subordem GYMNOTOIDEI variavam significativamente entre os gêneros e famílias.

Faixas únicas foram encontradas na maioria dos gêneros enquanto que padrões complexos de hemoglobina foram encontrados em um gênero (*Rhamphichthys*). A faixa maior de vários fenótipos tinha uma mobilidade relativa de 0,30 a 0,40.

Família **Gymnotidae** (Fig. 4, Tabela V). O hemolisado de *Gymnotus carapo* apresentou uma única faixa de hemoglobina com uma mobilidade relativa de cerca de 0,40. A mobilidade relativa pode ser superficialmente remota desde que a amostra corresse sem BSA aplicado ao gel e a faixa da hemoglobina tivesse que ser comparada ao BSA em outros geis na mesma corrida.



Família **Electrophoridae** (Fig. 4, Tabela V). O hemolisado de *Electrophorus electricus* apresentou uma faixa de hemoglobina maior e uma faixa débil e mais vagarosamente móvel compreendendo 4% da hemoglobina. A amostra correu sem BSA aplicada ao gel e a mobilidade relativa das faixas foi calculada pela comparação com a faixa BSA em outros geis na mesma corrida. Reischl & Tondo (1974) usando eletroforese em gel de amido de hemoglobinas na forma cianometá encontraram 7 e 8 faixas, respectivamente para *Electrophorus electricus* e *Gymnotus carapo* coletados na região amazônica brasileira. A razão dessa discrepância em nossos achados é obscura.

Família **Apteronotidae** (Fig. 4, Tabela 5). O hemolisado de *Apteronotus* sp. apresentou um padrão de três faixas.

Família **Rhamphichthyidae** (Fig. 4, Tabela V). Os padrões de hemoglobina da família Rhamphichthyidae variaram significativamente entre os gêneros testados. Os hemolidados de *Eigenmannia* sp. apresentaram dois fenótipos com faixas não alinhadas.

Os hemolidados de *Rhamphichthys* apresentaram fenótipos complexos com várias faixas alinhadas. Os padrões de hemoglobina foram reproduzíveis após conservação dos hemolidados a 5°C. O fenótipo I foi encontrado em espécimes da área do Solimões, enquanto

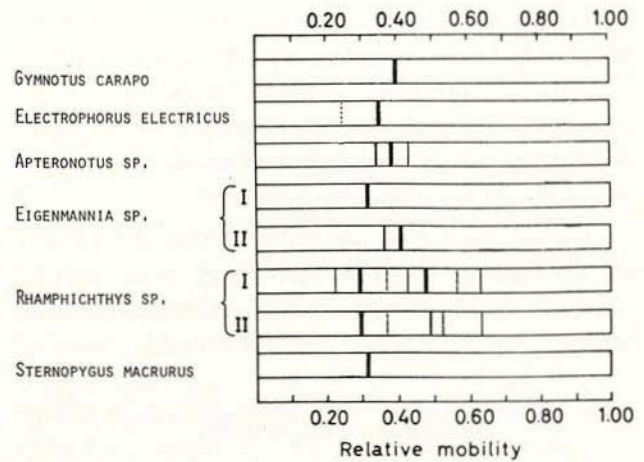


Fig. 4 — Uma representação diagramática dos padrões eletroforéticos das hemoglobinas das espécies das famílias da subordem Gymnotoidei. Os símbolos são como os da Figura 1.

que o fenótipo II foi encontrado nos espécimes de ambas as áreas do Solimões e rio Cuieiras. Os espécimes de *Rhamphichthys* sp. apresentaram um dimorfismo morfológico. Alguns tinham rostros compridos e outros rostros curtos. O padrão de hemoglobina dos espécimes de rostro comprido foi o fenótipo I, enquanto que o padrão para os espécimes de rostro curto foi o fenótipo II. Os pesos sobrepuseram-se nos dois grupos. Os sexos dos animais não foram determinados. Os dois tipos morfológicos são classificados como uma espécie

TABELA V — Sumário dos padrões de hemoglobina para famílias da subordem Gymnotoidei. A distribuição em porcentagem corresponde às dos mesmos fenótipos mostrados na Fig. 4 com a maior parte da faixa anódica dirigida para direita.

Família/Espécie	Fenótipo	Espécime	Distribuição de Hemoglobina, %	SDS
Gymnotidae				
<i>Gymnotus carapo</i>	I	1	100	
Electrophoridae				
<i>Electrophorus electricus</i>	I	1	4 96	+
Apteronotidae				
<i>Apteronotus</i> sp.	I	1	23 69 8	
Rhamphichthyidae				
<i>Eigenmannia</i> sp.	I	8	100	+
	II	1	46 54	
<i>Rhamphichthys</i> sp.	I	3	10 51 3 8 18 4 7	
	II	8	62 4 22 3 8	+
<i>Sternopygus macrurus</i>	I	13	100	+



(Ellis, 1913). Embora o número de espécimes estudados fosse pequeno, os resultados eletroforéticos podem indicar que os tipos de rostro comprido e rostro curto de *Rhamphichthys* pertencem a diferentes populações alimentares, possivelmente espécies diferentes.

Os hemolisados de *Sternopygus macrurus* apresentaram um fenótipo com uma única faixa de hemoglobina que se alinhou com a faixa do fenótipo I de *Eigenmannia* sp.

#### Subordem SILUROIDEI

Os padrões de hemoglobina encontrados em várias espécies da subordem SILUROIDEI variavam grandemente entre as famílias e gêneros. Uma exceção foram as espécies da Família **Pimelodidae** que apresentavam fenótipos de hemoglobina regulares. As espécies siluróides usualmente apresentaram padrões de hemoglobina claros com faixas múltiplas. Muitas espécies, contudo, apresentaram faixas de hemoglobina únicas, e padrões indefinidos ocorreram em alguns gêneros.

Família **Doradidae** (Fig. 5, Tabela VI). Os padrões eletroforéticos dos hemolisados das espécies da família Doradidae variaram grandemente entre os nove gêneros testados. Dois gêneros (*Opsodoras* e *Pseudodoras*) tinham uma ou principalmente uma faixa de hemoglobina. Uma faixa com mobilidade relativa de 0,52 foi encontrada em vários fenótipos de Doradidae.

Os hemolisados de *Acanthodoras* sp. apresentaram um padrão de três faixas próximas.

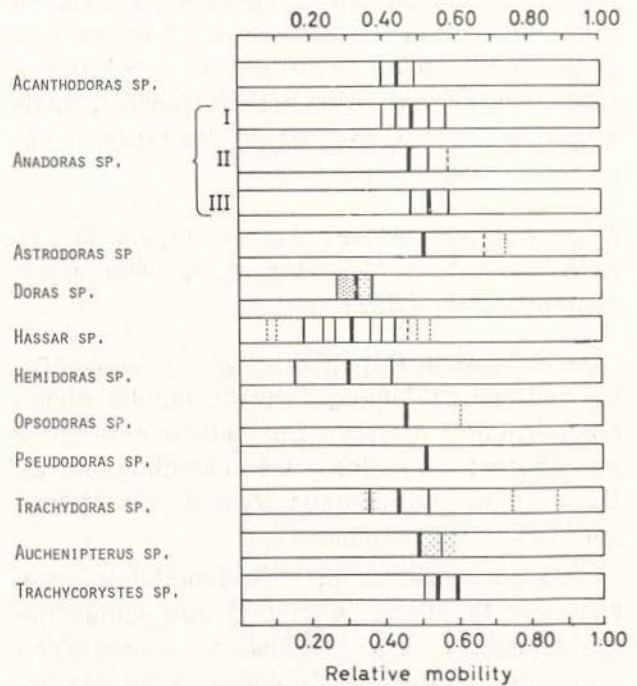
Três fenótipos de hemoglobina foram encontrados em seis hemolisados de *Anadoras* sp. coletados no mesmo local. Nenhuma correlação óbvia foi encontrada entre peso e fenótipo de hemoglobina. As três faixas de mobilidade mais lenta do fenótipo I alinharam-se com as faixas do padrão de *Acanthodoras*. As três faixas do fenótipo II e III se alinharam com a maioria das faixas anódicas do fenótipo I. A distribuição quantitativa da hemoglobina diferiu significativamente entre as faixas do fenótipo II e III.

Os hemolisados de *Astrodoras* sp. apresentaram um padrão de hemoglobina com uma

faixa maior compreendendo 91% da hemoglobina e duas faixas menores e rapidamente migrantes.

O hemolisado de *Doras* sp. forneceu um padrão indistinto com três faixas.

O hemolisado de *Hassar* sp. apresentou um padrão de hemoglobina complexo. O padrão consistiu de 4 zonas repetidas, cada uma com



**Fig. 5** — Uma representação diagramática dos padrões eletroforéticos das espécies das famílias Doradidae e Auchenipteridae. Os símbolos são como os da Figura 1.

um padrão tri-enfaixado que consistia de uma faixa proeminente seguida de uma faixa menor "geminada".

O hemolisado de *Hemidoras* sp. apresentou um fenótipo de três faixas que quase se alinharam com as três faixas proeminentes do padrão de *Hassar*.

Os hemolisados de *Opsodoras* sp. apresentaram principalmente uma faixa com uma mobilidade relativa de 0,46. Uma faixa débil e mais anódica compreendendo 1-2% de hemoglobina apareceu na maioria dos *geis*.

Os hemolisados de *Pseudodoras* sp. apresentaram uma faixa única de hemoglobina com uma mobilidade relativa de 0,52.



O hemolisado de *Trachydoras* sp. apresentou um padrão de hemoglobina com três faixas bem separadas com uma distribuição até mesmo uniforme da hemoglobina entre elas. Duas faixas menores (5% do hemolisado) de mobilidade eletroforética muito alta (mobilidade relativa de 0,75 e 0,88) apareceram no gel.

Família **Auchenipteridae** (Fig. 5, Tabela VI). Os hemolisados de *Auchenipterus* sp. apresentaram um padrão indefinido com duas faixas.

Os hemolisados de *Trachycorystes* sp. apresentaram um padrão com três faixas proxima-mente espaçadas mas distintas.

Família **Pimelodidae** (Fig. 6, Tabela VII). Os padrões eletroforéticos dos hemolisados da maioria das espécies tratadas dos pimelodídeos foram notavelmente uniformes. Um padrão de três faixas de migração próxima parecia ser típico. Essas faixas tinham mobilidades relativas de cerca de 0,45, 0,50 e 0,55. Várias espécies, mesmo de diferentes gêneros tinham padrões de hemoglobina idênticos, e outras espécies tinham padrões diferindo somente em um pequeno desvio na distribuição da hemoglobina entre as faixas. Três dessas espécies testadas (*Brachyplatystoma* sp. 1, *Hemisorubim* sp., *Phractocephalus hemiliopterus*) tinham uma faixa única de hemoglobina.

Os hemolisados de *Leiarius* sp. tinham o mesmo padrão como o fenótipo I de *Pimelodella* sp. (vide abaixo). Os hemolisados foram eletroforisados sem BSA aplicado aos geis e as mobilidades relativas das faixas de hemoglobina foram calculadas pela comparação com a faixa BSA em outros geis na mesma corrida.

Os hemolisados de *Pimelodella* sp. apresentaram um padrão tri-enfaixado que era muito parecido com o padrão de hemoglobina de muitos outros pimelodídeos. O padrão consistia de duas faixas maiores e uma menor, mais uma faixa anódica. No fenótipo I, encontrado em espécimes coletados em vários locais na área do Solimões bem como no rio Negro, a hemoglobina estava distribuída com 55%, 38% e 6% entre as faixas dando um padrão escuro, claro respectivamente. Numa variante do fenótipo I (I var), encontrada em três espécimes da área do Solimões, muito da hemoglobina estava concentrado numa faixa mais vagarosamente migrante dando um padrão escuro — médio — claro.

Os hemolisados de *Pimelodus* sp. apresentaram três fenótipos. O fenótipo I foi idêntico ao fenótipo I de *Pimelodella* sp. e foi encontrado em 27 hemolisados de espécimes coletados em vários locais da área do Solimões e rio

**TABELA VI** — Sumário dos padrões de hemoglobina para Doradidae e Auchenipteridae. A distribuição em porcentagem corresponde às faixas dos mesmos fenótipos mostrados na Fig. 5 com a maior parte da faixa anódica dirigida à direita.

Família/Espécie	Fenótipo	Espécime	Distribuição de Hemoglobina, %	SDS
<b>Doradidae</b>				
<i>Acanthodoras</i> sp.	I	4	25 62 14	
<i>Anadoras</i> sp.	I	4	7 16 31 26 20	+
	II	1	66 27 7	
	III	1	33 47 20	
<i>Astroodoras</i> sp.	I	5	91 5 4	
<i>Doras</i> sp.	I	1	13 68 19	+
<i>Hassar</i> sp.	I	1	2 2 13 11 10 21 9 15 2 2 2	
<i>Hemidoras</i> sp.	I	1	24 48 28	+
<i>Opsodoras</i> sp.	I	7	98 2	+
<i>Pseudodoras</i> sp.	I	3	100	+
<i>Trachydoras</i> sp.	I	1	31 42 27	
<b>Auchenipteridae</b>				
<i>Auchenipterus</i> sp.	I	5	indefinido	
<i>Trachycorystes</i> sp.	I	3	16 49 39	



Cuieiras. O fenótipo II e III foram encontrados cada um em espécime do local B na área do Solimões.

Os hemolisados de *Pinirampus* sp. coletados no rio Negro apresentaram um fenótipo idêntico ao fenótipo I de *Pimelodella* sp.

O hemolisado de *Pseudoplatystoma* sp. tinha um padrão de hemoglobina um tanto desviado do padrão de *Pimelodella*. As duas bandas maiores foram iguais em intensidade e alinhadas com as bandas maiores dos fenótipos de *Pimelodella*. A maior parte da faixa anódica, contudo, foi omitida e substituída por uma faixa menor e mais vagorosamente móvel.

Dois hemolisados de *Rhamdia* sp. coletados no rio Negro apresentaram um fenótipo idêntico ao fenótipo I de *Pimelodella* sp. O padrão de um terceiro hemolisado (fenótipo I var) tinha uma distribuição de hemoglobina entre as três faixas similar à do fenótipo I var de *Pimelodella* sp.

Os hemolisados de *Sorubim lima* apresentaram dois fenótipos complexos com poucas

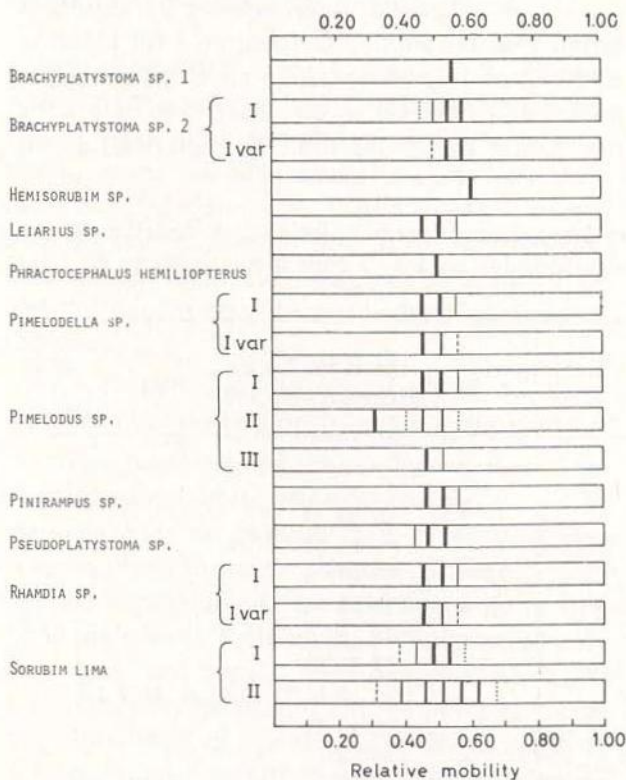


Fig. 6 — Uma representação diagramática dos padrões eletroforéticos das hemoglobinas das espécies da família Pimelodidae. Os símbolos são como os da Figura 1.

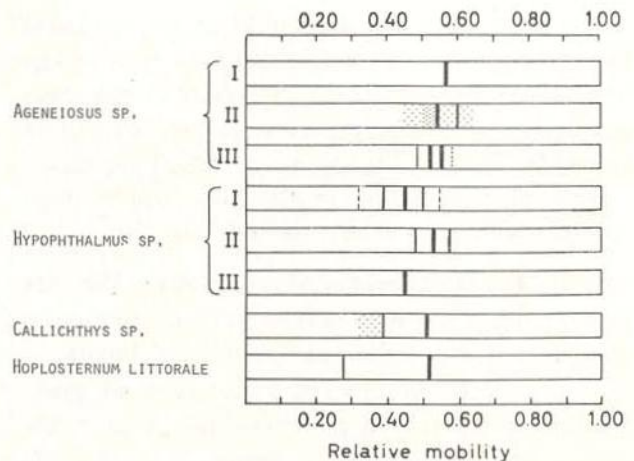


Fig. 7 — Uma representação diagramática dos padrões eletroforéticos das hemoglobinas das espécies das famílias Ageneiosidae, Hypophthalmidae e Callichthyidae. Os símbolos são como os da Figura 1.

faixas alinhadas. A sistemática do gênero *Sorubim* é problemática e embora várias espécies tenham sido descritas (Gosline, 1945) muitos autores reconhecem somente uma espécie.

**Família Ageneiosidae** (Fig. 7, Tabela VII). Os hemolisados de *Ageneiosus* sp. apresentaram três fenótipos com faixas não alinhadas. O fenótipo I em hemolisados frescos tinham uma faixa de hemoglobina com uma mobilidade relativa de 0,56. Depois da conservação das amostras a 5°C uma faixa menor e mais vagorosamente migrante (mobilidade relativa 0,43) foi observada nos *geis*. O fenótipo II apresentou um padrão bi-enfaixado indistinto e o fenótipo III apresentou quatro faixas claramente separadas de migração próxima.

**Família Hypophthalmidae** (Fig. 7, Tabela VII). Os hemolisados de *Hypophthalmus* sp. apresentaram três fenótipos. O fenótipo I e II foram encontrados em espécimes da área do Solimões enquanto que o fenótipo III ocorreu em um espécime do rio Negro. Os especialistas divergem se há uma ou mais espécies de *Hypophthalmus* (Fink & Fink, 1978).

**Família Callichthyidae** (Fig. 7, Tabela VII). Um espécime de *Callichthys* sp. apresentou um padrão de hemoglobina bi-enfaixado com um rastro indefinido. A maior parte da faixa anódica era constituída de 57% da hemoglobina.



Os hemolisados de *Hoplosternum littorale* apresentaram um fenótipo com duas faixas largamente separadas. A mobilidade relativa da faixa mais vagarosamente migrante variou de 0,24 a 0,31. A faixa mais veloz se alinhou com a faixa correspondente ao padrão de *Callichthys*.

Família **Loricariidae** (Fig. 8, Tabela VIII). Os hemolisados de 10 gêneros da família Loricariidae foram estudados. Grandes variações inter-genéricas bem como intra-genéricas foram encontradas nos padrões de hemoglobina. A maioria dos fenótipos tinha de uma a três faixas maiores próximas com um número variável de faixas menores. Os hemolisados de *Loricaria*, *Loricariichthys* e *Parahemiodon*, na maioria das vezes, apresentaram padrões de hemoglo-

bina indefinidos. As espécies da subfamília **Ancestrinae** tinham especialmente hemoglobinas de migração rápida enquanto que uma espécie de *Loricariichthys* e um fenótipo de *Loricaria* tinham faixas de migração extraordinariamente lentas.

Os hemolisados de 21 espécimes de *Ancestrus* sp. apresentaram sete fenótipos de hemoglobina. Os fenótipos I-V foram encontrados em espécimes coletados em vários locais na área do Solimões enquanto que os fenótipos VI e VII foram encontrados em espécimes coletados em cavidades de toros mortos e submersos no rio Cuieiras. A maioria dos fenótipos incluía uma faixa com uma mobilidade relativa de 0,36 e três faixas mais velozes migrando juntas.

TABELA VII — Sumário dos padrões de hemoglobina para famílias da subordem Siluroidei. A distribuição em porcentagem corresponde às faixas dos mesmos fenótipos mostrados nas Figs. 6 e 7 com a maior parte da faixa anódica à direita.

Família/Espécie	Fenótipo	Espécime	Distribuição de Hemoglobina, %	SDS
<i>Brachyplatystoma</i> sp. 1	I	2	100	
<i>Brachyplatystoma</i> sp. 2	I	1	2 10 47 42	
	I var.	1	3 31 66	
<i>Hemisorubim</i> sp.	I	2	100	+
<i>Leiarius</i> sp.	I	2	52 43 6	+
<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	I	1	100	
<i>Pimelodella</i> sp.	I	3	55 38 6	+
	I var.	3	68 28 4	+
<i>Pimelodus</i> sp.	I	27	51 39 10	+
	II	1	56 5 21 16 1	
	III	1	85 15	
<i>Pinirampus</i> sp.	I	1	44 46 10	
<i>Pseudoplatysoma</i> sp.	I	1	10 49 41	
<i>Rhamdia</i> sp.	I	2	55 38 8	+
	I var	1	72 24 3	
<i>Sorubim lima</i>	I	13	5 14 38 42 2	+
	II	1	6 19 21 21 17 12	
Ageneiosidae				
<i>Ageneiosus</i> sp.	I	5	100	
	II	3	indefinido	+
	III	1	6 51 40 3	
<i>Hypophthalmus</i> sp.	I	4	5 19 46 24 7	
	II	4	29 50 21	
	III	4	100	
Callichthyidae				
<i>Callichthys</i> sp.	I	1	43 57	
<i>Hoplosternum littorale</i>	I	14	31 69	



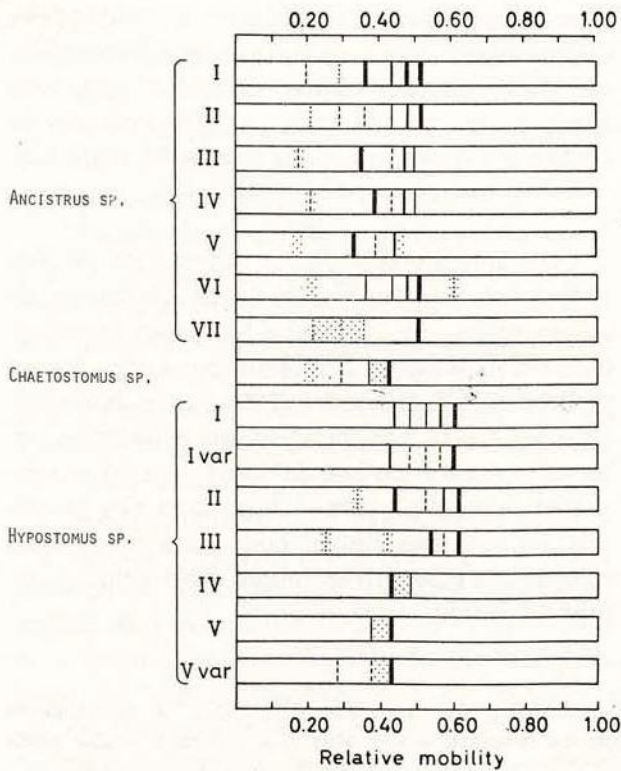


Fig. 8a — Uma representação diagramática dos padrões eletroforéticos das hemoglobinas das espécies da família Loricariidae. Os símbolos são como os da Figura 1.

Os hemolisados de *Chaetostomus* sp. apresentaram um padrão indefinido com uma faixa anódica maior somando 87% da hemoglobina.

Os hemolisados de *Hypostomus* sp. apresentaram cinco fenótipos e duas variantes. Os fenótipos I-III e I var foram encontrados em espécimes (peso de 17-70 g) coletados no rio Solimões e fenótipos IV, V e V var foram encontrados em espécimes (peso de 58-800 g) coletados na saída do lago de Janauacá. Os fenótipos I-III e I var tinham padrões de hemoglobina similares com 5 faixas bem separadas que muitas vezes se alinhavam. Os fenótipos IV e V var foram de um tipo simples com uma faixa maior em associação com uma mancha. A faixa menor do fenótipo V variou de quase zero a 24% da hemoglobina. No fenótipo V var, uma faixa menor distinta (mobilidade relativa de 0,28, 3% do hemolisado) foi observada. Essa faixa foi significativamente mais nítida no aparecimento do que outras faixas de hemoglobina encontradas no presente estudo. Os hemolisados foram prepa-

rados de acordo com o procedimento básico de extração a fresco, sangue não coagulado e o aparecimento de uma faixa mais nítida foi reproduzível quando o hemolisado foi retestado após conservação do hemolisado a 5°C.

Os padrões eletroforéticos dos hemolisados de *Loricaria* sp. apresentaram uma grande variação. Dezesesseis hemolisados apresentaram 12 fenótipos. A maioria dos padrões foi indetificada. Aumentando-se a concentração de acrilamida, nos geis de 7,5% a 10% não melhorou significativamente o processo. A maioria dos padrões não permitiu que as varreduras por densitômetro fossem determinados em picos

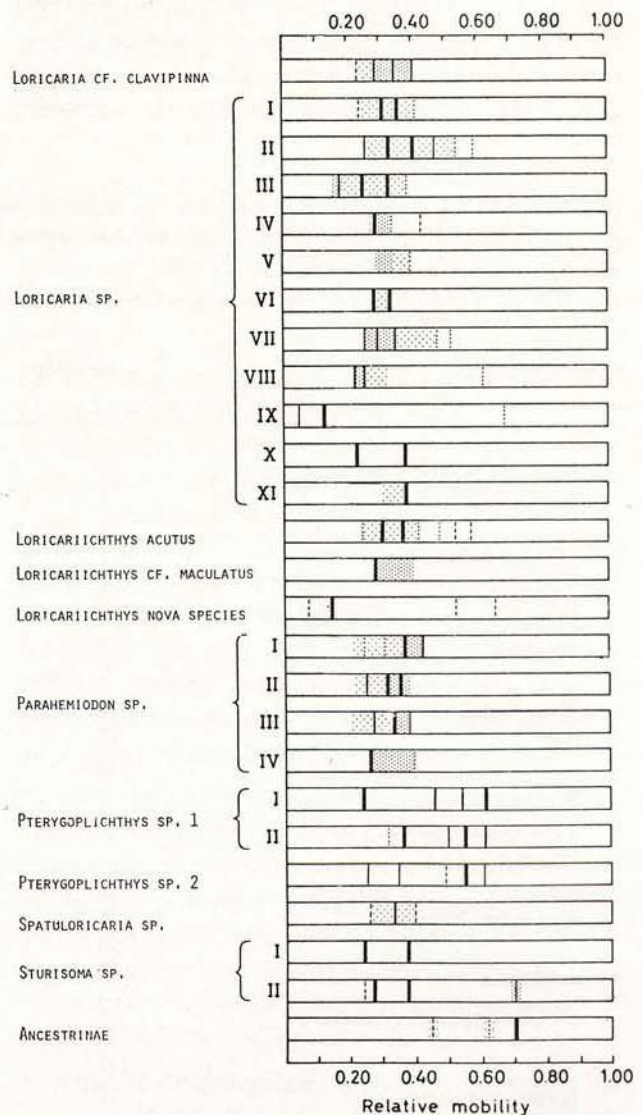


Fig. 8b — Uma representação diagramática dos padrões eletroforéticos das hemoglobinas das espécies da família Loricariidae. Os símbolos são como os da Figura 1.



TABELA VIII — Sumário dos padrões de hemoglobina para Loricariidae. A distribuição em porcentagem corresponde às faixas dos mesmos fenótipos mostrados na Fig. 8 com a maior parte da faixa anódica para a direita.

Espécie	Fenótipo	Espécime	Distribuição de Hemoglobina, %	SDS
Ancistrus sp.	I	4	5 3 19 12 28 33	
	II	1	2 4 5 19 24 45	
	III	1	indefinido	
	IV	1	7 30 7 49 7	
	V	11	indefinido	
	VI	2	4 7 17 26 41 4	
	VII	1	14 13 8 65	
Chaetostomus sp.	I	1	2 12 87	
Hypostomus sp.	I	3	23 11 13 22 31	
	I var.	1	29 8 10 11 42	
	II	1	9 35 9 18 29	
	III	2	4 10 40 9 37	
	IV	6	86 14	+
	V*	11	14 86	+
	V var.	12	3 14 83	
Loricaria cf. clavipinna	I	1	indefinido	+
Loricaria sp.	I	1	indefinido	
	II	1	indefinido	
	III	1	indefinido	
	IV	1	indefinido	
	V	1	indefinido	
	VI	2	indefinido	
	VII	1	indefinido	
	VIII	1	indefinido	
	IX	2	23 72 5	
	X	3	56 44	
	XI	1	100	
Loricariichthys ocutus	I	1	indefinido	
Loricariichthys cf. maculatus	I	1	indefinido	
Loricariichthys nova espécie	I	1	18 69 8 4	
Parahemiodon sp.	I	1	indefinido	
	II	1	indefinido	
	III	2	indefinido	+
	IV	1	indefinido	+
Pseudoloricaria	I	1	18 69 8 4	
Pterygoplichthys sp. 1	I**	24	41 14 17 29	+
	II	1	5 29 13 35 18	
Pterygoplichthys sp. 2	I***	3	14 12 11 50 13	
Spatuloricaria sp.	I	1	indefinido	
Sturisoma sp.	I	3	47 53	
	II	1	5 36 22 36	
Ancestrinae				
Espécies não identificadas	I	2	9 5 86	

\* Variação: 6-24, 94-76.

\*\* Variação: 15-59, 7-19, 9-26, 17-35.

\*\*\* Variação: 6-19, 6-30, 8,14, 32-61, 11-17.



individuais. Os padrões foram reproduzíveis quando os hemolisados foram retestados após conservação dos hemolisados a 5°C. No fenótipo V, nenhuma faixa nítida foi observada pela técnica aplicada. O fenótipo IX apresentou duas faixas de mobilidade extraordinariamente lentas juntas a uma faixa rapidamente migrante. A faixa maior compreendia 72% da hemoglobina.

Os hemolisados de três espécies do gênero *Loricariichthys* apresentaram padrões similares a alguns dos fenótipos de *Loricaria* sp. O hemolisado de *Loricariichthys acutus* apresentou um padrão similar ao fenótipo II de *Loricaria* sp. O hemolisado de *Loricariichthys* cf. *maculatus* apresentou um padrão similar ao fenótipo IV de *Parahemiodon* sp. (vide abaixo) com uma banda maior e uma mancha. O hemolisado de uma espécie não descrita de *Loricariichthys* (Isbrücker & Nijssen, 1977) apresentou um padrão similar ao fenótipo IX de *Loricaria* sp. com duas faixas muito vagarosamente migrantes e duas menores rapidamente migrantes. A faixa maior e lenta compreendia 69% e 72% da hemoglobina, respectivamente, em dois fenótipos.

Os hemolisados de *Parahemiodon* sp. apresentaram quatro padrões de hemoglobina indefinidos e variáveis similares aos fenótipos I-VIII de *Loricaria* sp. As faixas de vários fenótipos não se alinharam.

Os hemolisados de *Pterygoplichthys* sp. 1 apresentaram dois fenótipos com algumas faixas alinhadas. O fenótipo I foi caracterizado por quatro faixas proeminentes e largamente separadas. A distribuição da hemoglobina entre as faixas apresentou uma variação incomum entre espécimes diferentes (Tabela VIII) e não foi consistente em corridas repetidas do mesmo hemolisado. O fenótipo II tinha cinco faixas bem separadas. As duas faixas anódicas alinharam-se em fenótipos I e II e os dois fenótipos podem ser a expressão de um polimorfismo alélico. Dois hemolisados de *Pterygoplichthys* sp. 2 apresentaram um padrão penta-enfaixado similar ao fenótipo II de *Pterygoplichthys* sp. 1. A distribuição de hemoglobina entre as faixas de *Pterygoplichthys* sp. 2 foi variável.

O hemolisado de *Spatuloricaria* sp. apresentou dois fenótipos de hemoglobina. O fenó-

tipo I foi idêntico ao fenótipo X de *Loricaria* sp. O fenótipo II tinha quatro faixas, duas das quais alinhadas com faixas do fenótipo I.

O padrão de hemoglobina dos hemolisados de dois espécimes pertencentes à subfamília **Ancestrinae** foi caracterizado por uma banda maior com uma mobilidade eletroforética mais alta (mobilidade relativa 0,70) do que a encontrada na maioria das outras hemoglobinas deste estudo. Duas faixas mais lentas e difusas contaram, juntas, 14% da hemoglobina.

#### Ordem ATHERINIFORMES

Família **Belonidae** (Fig. 9, Tabela IX). Os hemolisados de *Potamorhaphis* sp. apresentaram um padrão tri-enfaixado. A faixa maior somava 84% da hemoglobina. Em hemolisados preparados a fresco uma mancha precedia a faixa maior. Conservando-se o hemolisado a 5°C a mancha desapareceu resultando num padrão eletroforético mais claro. Nenhuma quantidade significativa de precipitado foi observada nos hemolisados.

#### Ordem SYNBRANCHIFORMES

Família **Synbranchidae** (Fig. 9, Tabela IX). Os hemolisados de *Synbranchus marmoratus* apresentaram padrões complexos de seis a nove faixas de hemoglobina. Três fenótipos foram encontrados nos sete hemolisados testados indicando um alto grau de polimorfismo. Os padrões foram reproduzíveis quando os hemolisados foram retestados após conservação a 5°C exceto pelo desaparecimento em alguns *geis* das faixas mais vagarosas em cada fenótipo. Nenhuma quantidade significativa de precipitado foi observado nos hemolisados. Os fenótipos I e III tinham padrões indefinidos que não permitiram que as varreduras por densitômetro fossem determinados em picos individuais. O fenótipo II tinha faixas mais claramente separadas com nenhuma faixa somando mais que 25% da hemoglobina. As faixas de hemoglobina de *Synbranchus* apresentaram uma larga distribuição nos *geis* com mobilidades relativas estendendo-se de 0,28 a 0,81. Todos os fenótipos tinham faixas maiores com uma mobilidade relativa de 0,70 que era excepcional entre os hemolisados testados no presente estudo.



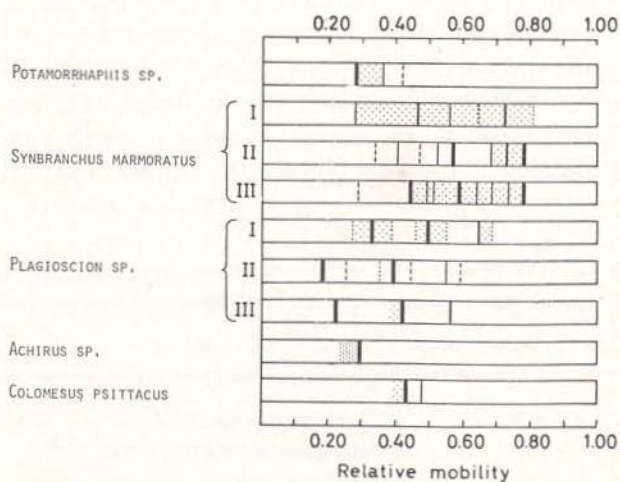


Fig. 9 — Uma representação diagramática dos padrões eletroforéticos das hemoglobinas das espécies das superordens Atherinomorpha e Acanthopterygii. Os símbolos são como os da Figura 1.

## Ordem PERCIFORMES

### Subordem PERCOIDEI

Família **Sciaenidae** (Fig. 9, Tabela IX). Os hemolisados de *Plagioscion* sp. apresentaram três fenótipos com faixas não alinhadas. Os fenótipos foram caracterizados por três faixas maiores largamente separadas que estavam ou não acompanhadas por manchas e faixas débeis. Os padrões foram reproduzíveis após conservação dos hemolisados a 5°C.

Família **Cichlidae** (Fig. 10, Tabela IX). Os hemolisados de 11 gêneros da família **Cichlidae** apresentaram padrões de hemoglobina complexos com quatro a nove faixas bem separadas. Muitos dos espécimes da área do Solimões foram coletados na lagoa, mas alguns foram coletados numa pequena enseada que apareceu após um forte temporal na saída do lago de Janauacá. Os espécimes do rio Cuieiras foram coletados ao longo das praias do rio principal e seus afluentes. Várias espécies, mesmo de diferentes gêneros, tinham padrões de hemoglobina similares com faixas alinhadas mas com proporções diferentes de hemoglobina entre as faixas. As faixas variaram grandemente em sua mobilidade eletroforética. A maioria das espécies tinha faixas de hemoglobina com mobilidades relativas variando

entre 0,15 e 0,65. Várias das espécies identificadas apresentaram padrões de hemoglobina polimórficos, porém mais estudos são necessários para se determinar a base genética desses polimorfismos.

Os dois hemolisados de *Acarichthys heckelii* apresentaram, cada um, um diferente fenótipo de hemoglobina. O fenótipo I (encontrado na amostra do Solimões) tinha nove faixas bem separadas. Nenhuma faixa somou mais de 22% da hemoglobina. O fenótipo II, encontrado na amostra do rio Cuieiras, tinha sete faixas, das quais algumas se alinhavam com faixas do fenótipo I.

Os hemolisados de *Acaronia nassa* apresentaram um padrão de hemoglobina tetra-enfaixado que era mais simples que a maioria de outros ciclídeos. Um fenótipo e uma variante foram encontrados. Os dois padrões tinham faixas alinhadas mas uma distribuição diferente da hemoglobina entre as faixas. O fenótipo I ocorreu em espécimes (peso de 82-153 g) coletados na lagoa e a variante ocorreu em espécimes (7-15 g) coletados no rio Cuieiras.

O hemolisado de *Aquidens tetramerus* apresentou um padrão simples de quatro faixas bem separadas com a hemoglobina uniformemente distribuída entre elas. Uma das faixas se alinhou com uma faixa de *Acaronia nassa*.

Os hemolisados dos espécimes de *Astrototus ocellatus* eram polimórficos, apresentando dois fenótipos complexos. Os fenótipos tinham faixas alinhadas com uma distribuição da hemoglobina significativamente diferente entre as faixas proeminentes somavam, cada uma, 25%-29% da hemoglobina. As nove faixas eram alinhadas com as faixas do fenótipo I de *Acarichthys*, mas a distribuição da hemoglobina entre as faixas era diferentes nos dois gêneros.

Os hemolisados de *Biotodoma cupido* apresentaram um fenótipo de nove faixas bem separadas. Nenhuma faixa somou mais que 26% da hemoglobina. As faixas alinharam-se com as faixas do fenótipo I de *Acarichthys* e *Astrototus ocellatus*, mas a distribuição de hemoglobina entre as faixas diferiu entre os gêneros.

Os hemolisados de *Chaetobranchopsis orbicularis* apresentaram três fenótipos dos



quais o fenótipo I ocorreu em 38 dos 40 espécimes estudados. O fenótipo I tinha um padrão de nove faixas idêntico ao fenótipo I de *Acarichthys heckelii*. Em *geis* na maioria dos hemolisados de fenótipo I, as faixas de mobilidades relativas de 0,50 e 0,54 tinham intensidades

desiguais (compreendendo 14% e 5% da hemoglobina, respectivamente), enquanto que em *geis* de nove hemolisados a intensidade dessas faixas foi igual. Em um caso, uma mudança de duas faixas desiguais para duas iguais foi observada após a conservação do

TABELA IX — Sumário dos padrões de hemoglobina para as famílias da superordem Atherinomorpha e Acanthopterygii. A distribuição em porcentagem corresponde às faixas dos mesmos fenótipos mostrados nas Figs. 9 e 10 com a maior parte da faixa à direita.

Família/Espécie	Fenótipo	Espécime	Distribuição de Hemoglobina, %	SDS
Belonidae				
<i>Potamorhaphis</i> sp.	I	2	84 12 4	+
Synbranchidae				
<i>Synbranchus marmoratus</i>	I			
	II	3	3 7 3 10 19 13 21 24	
	III	2	indefinido	
Sciaenidae				
<i>Plagioscion</i> sp.	I	1	3 29 4 5 34 6 17 2	+
	II	10	30 5 1 41 6 13 5	
	III	6	40 41 19	
Chichlidae				
<i>Acarichthys heckelii</i>	I	1	6 10 7 14 22 16 5 11 8	+
	II	1	25 5 51 8 10 1 2	
<i>Acaronia nassa</i>	I	5	66 5 26 3	+
	I var.	4	77 3 16 4	+
<i>Aequidens tetramerus</i>	I	1	26 31 20 23	+
<i>Astronotus ocellatus</i>	I	8	4 25 28 9 15 9 3 5 3	+
	II	9	14 29 16 14 14 5 5 3 2	+
<i>Biotodoma cupido</i>	I	2	4 11 9 20 25 13 8 7 3	
<i>Chaetobranchopsis orbicularis</i>	I	38	5 10 6 14 24 15 5 12 9	+
	II	1	22 29 19 8 13 7	
	III	1	4 10 15 5 21 15 8 14 7	
<i>Chaetobranchus flavescens</i>	I	7	5 14 11 11 20 18 1 10 9	+
<i>Cichla ocellaris</i>	I	1	5 17 28 20 17 8 5	
<i>Cichla temensis</i>	I	14	4 13 10 10 23 21 16 4	+
<i>Cichlasoma bimaculatum</i>	I	2	7 19 17 18 27 7 3 3	+
<i>Cichlasoma festivum</i>	I	2	4 18 24 18 19 10 7	
<i>Cichlasoma severum</i>	I	13	9 22 18 7 14 9 6 8 8	+
	II	1	indefinido	
<i>Geophagus jurupari</i>	I	1	indefinido	
<i>Geophagus surinamensis</i>	I	1	indefinido	+
	II	2	20 23 23 17 12 6	
	III	2	45 42 4 8 1 1	
	IV	3	1 23 3 62 11	
	V	1	7 35 45 9 4	
	VI	1	21 19 36 18 6	
<i>Pterophyllum</i> sp.	I	5	8 27 24 4 15 14 3 4	+
Soleidae				
<i>Achirus</i> *sp.	I	3	100	
Tetraodontidae				
<i>Colomesus psittacus</i>	I	6	90 10	



hemolisado a 5°C. Provavelmente, por essa razão, a variação nessas duas faixas foi um artefato do mesmo tipo. No fenótipo II, quatro faixas se alinharam com as faixas do fenótipo I. As duas faixas mais proeminentes somavam juntas 50% da hemoglobina. O fenótipo III tinha nove faixas com uma distribuição mais uniforme da hemoglobina entre as faixas. Uma faixa menor do fenótipo III tinha uma mobilidade eletroforética alta (mobilidade relativa de 0,73). Os padrões podem encaixar-se num polimorfismo alélico.

Os hemolisados de *Chaetobranchus flavescens* apresentaram um padrão com nove faixas com a hemoglobina uniformemente melhor



Fig. 10 — Uma representação diagramática dos padrões eletroforéticos das hemoglobinas das espécies da família Cichlidae. Os símbolos são como os da Figura 1.

distribuída entre as faixas. Nenhuma faixa somou mais de 20% da hemoglobina. As faixas alinharam-se com as faixas do fenótipo I de *Acarichthys hecklii*, mas a distribuição da hemoglobina entre as faixas diferiu entre os gêneros.

O hemolisado de *Cichla ocellaris* apresentou um padrão de sete faixas. Nenhuma faixa somou mais que 28% da hemoglobina. Os hemolisados de *Cichla temensis* tinham um padrão muito similar ao padrão das hemoglobinas de *Cichla ocellaris* exceto pela faixa "geminada" de mobilidade relativa de 0,33-0,34 encontrada no padrão de *Cichla temensis*.

Os hemolisados de *Cichlasoma bimaculatum* apresentaram um padrão de hemoglobina de oito faixas em *geis* de hemolisados preparados a fresco. A hemoglobina estava uniformemente melhor distribuída entre as quatro faixas proeminentes e nenhuma faixa somou mais que 27% da hemoglobina. Duas faixas menores (mobilidade relativa de 0,54 e 0,58) estavam ausentes quando os hemolisados foram retestados após conservação a 5°C. Nenhuma quantidade significativa de precipitado foi observado. Os hemolisados de *Cichlasoma festivum* apresentaram um padrão de sete faixas. Houve quatro faixas proeminentes sem nenhuma faixa somando mais que 24% da hemoglobina. Os padrões eram similares ao padrão de *Cichla ocellaris*. Os hemolisados de *Cichlasoma severum* apresentaram dois fenótipos indefinidos portanto desviando-se dos padrões de hemoglobina nítidos da maioria dos outros ciclídeos. O fenótipo I tinha nove faixas no *gel* de hemolisados preparados a fresco. As três faixas mais anodais haviam desaparecido quando os hemolisados foram retestados após três a cinco dias de conservação a 5°C. No fenótipo II a faixa mais vagorosamente migrante foi a mais proeminente. A maior faixa anódica pode ser uma faixa dupla.

O hemolisado de *Geophagus jurupari* apresentou um padrão com cinco faixas. Os hemolisados de *Geophagus surinamensis* apresentaram um alto grau de polimorfismo. Os hemolisados de 10 espécimes coletados no rio Cuieiras apresentaram cinco fenótipos (I-V), e um espécime coletado na área do Solimões apresentou um sexto fenótipo (VI). O fenótipo I foi um padrão indefinido de sete faixas alter-



nadas em maiores e menores. Os fenótipos II-V tinham 5-6 faixas claramente separadas das quais algumas alinhavam-se com faixas do fenótipo I. Os fenótipos I-V podem ajustar-se num polimorfismo alélico com o fenótipo I como um heterozigoto e os fenótipos II-V como homozigotos para vários alelos segregados. Algumas das faixas dos fenótipos VI não se alinharam com faixas de outros fenótipos e o fenótipo VI não se ajusta facilmente num tal polimorfismo.

#### Ordem PLEURONECTIFORMES

Família **Soleidae** (Fig. 9, Tabela IX). Os hemolisados de *Achirus* sp. coletados na área do Solimões apresentaram um fenótipo de hemoglobina com uma faixa vagarosamente migrante e um rastro indefinido.

#### Ordem TETRAODONTIFORMES

Família **Tetraodontidae** (Fig. 9, Tabela IX). Os hemolisados de *Colomesus psittacus* apresentaram um fenótipo de hemoglobina consistindo de uma faixa maior com um rastro indefinido e uma faixa menor. A faixa maior somava 90% da hemoglobina.

#### COMPARAÇÃO DOS DADOS ELETRÓFORÉTICOS

Pela comparação do número e mobilidade eletroforética das faixas de hemoglobina de vários fenótipos, vários pontos surgiram. Muitas faixas, ambas: maior e menor, tinham mobilidades relativas entre 0,25 e 0,55. Nenhuma diferença existiu entre peixes ostariofíseos e acantopterígeos nesse respeito. Comparada à hemoglobina A humana, menos que 3% de todas as faixas e menos que 1% das faixas menores tinham uma mobilidade eletroforética mais alta excluindo-se *Synbranchus marmoratus*. Esta espécie foi excepcional no sentido de ter várias faixas de hemoglobina maiores com uma mobilidade eletroforética mais alta que a Hb A humana.

A respeito do número de faixas de hemoglobina dos fenótipos, uma distribuição significativamente diferente foi encontrada entre peixes das superordens Ostariophysi e Acanthopterygii (Fig. 13). Os peixes ostariofíseos

tinham um valor modal de três faixas com uma distribuição positivamente inclinada, enquanto que os peixes acantopterígeos tinham um valor modal de nove faixas e uma distribuição negativamente inclinada. Hinegardner & Rosen (1972) encontraram similarmente uma distribuição positivamente inclinada para o número haplóide de cromossomo entre peixes ostariofíseos e uma distribuição negativamente inclinada entre peixes acantopterígeos. O que essa inclinação significa é obscuro.

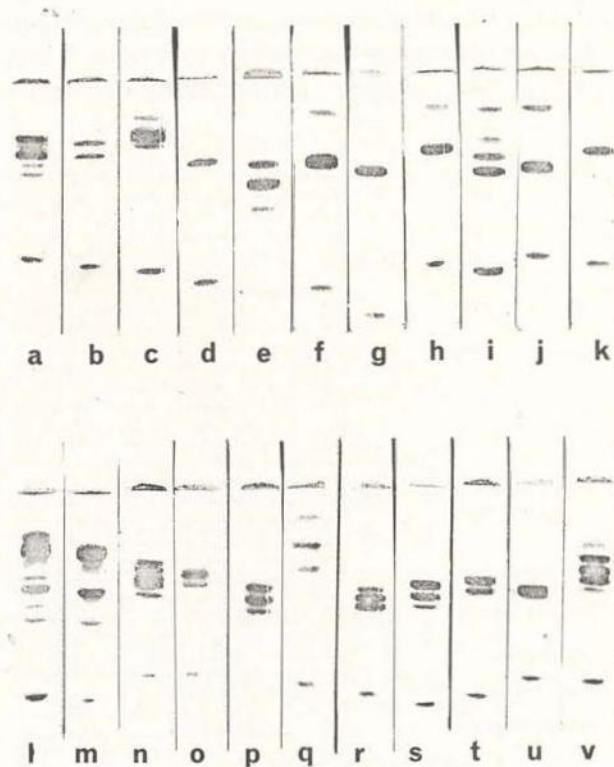


Fig. 11 — Geis de policrilamida de hemolisados dos peixes da Amazônia: (a) *Charax* sp.; (b) *Colossoma* sp., fenótipo III; (c) *Serrasalmus* sp. 1; (d) *Serrasalmus* sp., fenótipo II; (e) *Tetragonopterus* sp.; (f) *Rhaphiodon vulpinus*, fenótipo II; (g) *Cyodon gibbus*, fenótipo I; (h) *Leporinus* sp., fenótipo II; (i) *Schizodon* sp., fenótipo I; (j) *Hemiodus* sp. 1; (k) *Hemiodus* sp., 3; (l) *Rhamphichthys* sp., fenótipo I; (m) *Rhamphichthys* sp., fenótipo II; (n) *Anadoras* sp., fenótipo I; (o) *Anadoras* sp., fenótipo II; (p) *Anadoras* sp., fenótipo III; (q) *Hemidoras* sp.; (r) *Brachyplatystoma* sp. 2, fenótipo I; (s) *Pimelodella* sp., fenótipo I; (t) *Pimelodella*, fenótipo I var.; (u) *Ageneiosus* sp., fenótipo I; (v) *Hypophthalmus* sp., fenótipo I. Os geis são de diferentes corridas. A maior parte da faixa anódica em cada gel é a albumina de soro bovino. Os ânodos estão dirigidos ao fundo da figura.



Pela média do número de faixas de hemoglobina por fenótipo, numa base familiar, a distribuição demonstrada na Fig. 14 é obtida. A organização das famílias e a taxa mais alta nessa figura está numa ordem que vai da generalizada à especializada segundo Greenwood *et al.* (1966). Parece que uma boa correlação existe entre o número principal de faixas maiores de hemoglobina (isto é, faixas de três concentrações mais altas nas Figs. 1-10) e todas as faixas de hemoglobina para a maioria das famílias. Dentro da superordem Ostariophysi a maioria das famílias apresenta um número razoavelmente regular de faixas de hemoglobina. A disposição encontrada nas famílias da subordem Gymnotoidei pode ser devida ao número baixo de espécies aqui testadas. Há uma tendência, especialmente para as faixas maiores, para um decréscimo na multiplicidade de hemoglobina com aumento da especialização de peixes dentro das subordens Characoidei e Siluroidei. Similarmente, para o conteúdo celular de DNA de peixes, uma tendência tem sido notada em relação a um declínio no conteúdo de DNA com aumento da especialização dos peixes (Hinegardner & Rosen, 1972). Dos peixes amazonenses, dentro da superordem Acanthopterygii, um número mais alto de faixas de hemoglobina foi encontrado para Synbranchidae (ordem Synbranchiformes) e para as duas famílias Sciaenidae e Cichlidae da ordem Perciformes. Os baixos valores para Soleidae (ordem Pleuronectiformes) e Tetraodontidae (ordem Tetraodontiformes) contam com uma única espécie de cada família e pode não ser típico para os grupos. Nos membros marinhos de Pleuronectiformes (família Pleuronectidae) nós encontramos cinco faixas de hemoglobina (Fyhn & Fyhn, resultados não publicados) e num membro marinho de Tetraodontidae padrões complexos de 5-11 faixas foram encontrados (Sullivan, comunicação pessoal). Nesses estudos, a mesma técnica de eletroforese em disco de *gel* foi usada.

A Tabela X mostra o número médio de faixas de hemoglobina para os teleósteos estudados. Os peixes de cinco superordem foram analisados mas a maioria dos peixes (cerca de 75% do gênero bem como dos fenótipos) pertencem à superordem Ostariophysi. Isso reflete a abundância de peixes ostariofíseos no



Fig. 12 — Geis de poliacrilamida de hemolisados de peixes da Amazônia: (a) *Loricaria* sp., fenótipo XI; (b) *Hypostomus* sp., fenótipo V; (c) *Hypostomus* sp. fenótipo II; (d) *Hypostomus* sp., fenótipo I; (e) *Pterygoplichthys* sp. 1, fenótipo I; (f) *Potamorhaphis* sp.; (g) *Plagioscion* sp., fenótipo I; (h) *Acarichthys heckelii*, fenótipo I; (i) *Acaronia nassa*, fenótipo I; (j) *Chaetobranchus flavescens*; (k) *Aequidens tetramerus*; (l) *Astronotus ocellatus*, fenótipo II; (m) *Chaetobranchopsis orbicularis*, fenótipo I; (n) *Chaetobranchopsis orbicularis*, fenótipo III; (o) *Cichlasoma bimaculatum*; (p) *Geophagus surinamensis*, fenótipo II; (q) *Geophagus surinamensis*, fenótipo IV; (r) *Pterophyllum* sp. Os geis são de diferentes corridas. A maior parte da faixa anódica em cada gel é albumina de soro bovino. O ânodo está dirigido ao fundo da figura.

rio Amazonas (Fink & Fink, 1978, neste volume). Um número médio de 4,0 faixas de hemoglobina por fenótipo foi encontrado pela média de todos os fenótipos. Para estimar o número de faixas de hemoglobina por espécie, dados para identificar espécie (por exemplo *Hemiodus* sp. 1) e do gênero com padrões de hemoglobina monomórficos foram usados. Um valor médio de 3,9 faixas de hemoglobina por espécie experimentada foi alcançado. Uma boa concor-



dância entre o número de faixas de hemoglobina por fenótipo e por espécie experimentada foi também encontrada para peixes das superordens.

Os peixes das superordens Ostariophysi e Acanthopterygii foram grupados de acordo com o seu local de coleta (Tabela I) e nível de atividade (Fink & Fink, 1978), e o número médio de faixas de hemoglobina por fenótipo para cada grupo é dado na Tabela XI. Dentro de cada superordem, um número médio de faixas está sobreposta entre os peixes coletados na água branca (área do Solimões) e na água preta (rio Negro e rio Cuieiras), entre peixes coletados em água estagnada (a lagoa) e na água corrente (rio Solimões e o canal do lago de Janauacá), e entre peixes ativos e vagarosos. Nenhum peixe acantopterígeo ativo foi estudado.

Em relação à multiplicidade da hemoglobina dos peixes que respiram ar, não é possível tirar qualquer conclusão definida desde que informação específica da habilidade para a respiração de ar seja disponível para algumas espécies somente (Carter & Beadle, 1931; Johansen, 1970; Kramer & Graham, 1976; Fink & Fink, 1978). Parece, contudo, não haver qualquer diferença na multiplicidade de hemoglobina entre peixes amazonenses de respiração aérea e respiração aquática. Os de respiração facultativa (*Ancistus*, *Doras*, *Gymnotus*, *Hoplerythrinus*, *Hypostomus*, *Synbranchus*) têm hemolisados que variam de um a oito componentes de hemoglobina (média 4,2). Os peixes que obrigatoriamente respiram ar, têm hemolisados com um ou dois componentes: *Lepidosiren* tem uma única hemoglobina, *Arapaima* e *Electrophorus* têm principalmente um componente (99% e 96% da hemoglobina, respectivamente), e *Callichthys* e *Hoplosternum* têm dois componentes. Essa falta de multiplicidade pode ser uma coincidência desde que um outro peixe que obrigatoriamente respire ar, a pirambóia africana, *Protopterus aethiopicus*, que é muito parecido com *Lepidosiren*, tem quatro componentes (Delaney *et al.*, 1976).

Faixas de hemoglobina vagarosas (mobilidade relativa  $\leq 0,27$ ) que somaram 15% ou mais da hemoglobina, foram procuradas em fenótipos de peixes ostariofíseos ativos e vagarosos. Dos 25 fenótipos tendo tais faixas, 45%

foram de peixes ativos e 55% de peixes vagarosos. Além disso, 24% dos fenótipos dos peixes ativos (11 fora dos 45 fenótipos) e 22% dos fenótipos dos peixes vagarosos (14 fora dos 64 fenótipos) apresentaram tais faixas. Uma falta similar de correlação entre a presença de faixas vagarosas e o nível de atividade do peixe foi encontrada, incluindo-se todas as faixas vagarosas (mobilidade relativa  $\leq 0,27$ ) sem levar em conta a percentagem de hemoglobina em comparação.

#### ELETROFORESE *gel* SDS

Os pesos moleculares das cadeias de hemoglobina desnaturadas foram determinadas pela eletroforese *gel* SDS para representantes de 50 gêneros (Tabelas II-IX). Os pesos moleculares variaram entre 14.200 e 17.200 com uma média de 15.000. Isso foi comparável ao peso molecular de 14.600 encontrado para as cadeias de hemoglobina desnaturadas da Hb A humana. Nenhuma espécie apresentou cadeias adicionais de pesos moleculares mais altos em quantidades significativas.

TABELA X — Número médio de faixas de hemoglobina em hemolisados dos peixes da Amazônia.

Superordem	Gênero (N)	Número de faixas por	
		Fenótipo (N)	Espécies Analisadas (N)
Clupeomorpha	1	4,0 (1)	4,0 (1)
Osteoglossomorpha	2	1,3 (3)	1,3 (2)
Ostariophysi	58	3,3±0,15* (124)	3,1±0,27 (50)
Atherinomorpha	1	3,0 (1)	3,0 (1)
Acanthopterygii	15	6,7±0,38 (33)	6,5±0,56 (18)
<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>4,0±0,18 (162)</b>	<b>3,9±0,30 (72)</b>

\* Erro padrão.



TABELA XI — Número de faixas de hemoglobina (média  $\pm$  S.E.) por fenótipo dos peixes ostariófi-seos e acantopterígeos relacionados com vários pa-râmetros ambientais e biológicos.

	Ostario- physi (N)	Acanthop- terygii (N)
Habitat		
Água branca	3,4 $\pm$ 0,15 (104)	6,8 $\pm$ 0,52 (22)
Água preta	3,5 $\pm$ 0,46 (25)	6,2 $\pm$ 0,50 (12)
Água estagnada	3,3 $\pm$ 0,45 (10)	7,5 $\pm$ 0,52 (14)
Água corrente	3,5 $\pm$ 0,20 (65)	6,3 $\pm$ 1,60 (4)
Nível de Atividade		
Ativo	3,2 $\pm$ 0,22 (45)	—
Vagaroso	3,5 $\pm$ 0,23 (64)	6,7 $\pm$ 0,38 (33)

## DISCUSSÃO

O presente estudo revelou uma heterogeneidade eletroforética considerável nas hemoglobinas de peixes tropicais de água doce. Um número médio de 4,0 faixas de hemoglobinas ocorreram em fenótipos de teleósteos de 77 gêneros representando cinco superordens e uma média de 3,8 faixas foram encontradas em raias de água doce do gênero *Potamotrygon*. Padrões polimórficos de hemoglobina ocorreram em cerca de 10 espécies. A razão para essa heterogeneidade não é facilmente reconhecida.

Sullivan (1977) sugeriu que as flutuações na temperatura da água poderia ser uma força de seleção promovendo a heterogeneidade de hemoglobina nos peixes de zona temperada. Hemoglobinas polimórficas e múltiplas poderiam ser uma estratégia adaptativa para se adequar às grandes variações sazonais da temperatura nessa região. Desses estudos em

peixes de zona temperada, usando o mesmo método eletroforético como no presente estudo, Sullivan (1977) relatou um número médio de 5,0 e 4,2 componentes de hemoglobina nos hemolisados de mais de 160 espécies de peixes de água doce e do mar, respectivamente. Esses números não são muito diferentes do valor médio de 4,0 faixas de hemoglobina encontradas nos peixes amazonenses. Um fator complicado em comparação é a dificuldade taxonômica associada aos peixes da Amazônia. A maioria dos peixes, no presente estudo, não puderam ser identificados além do nível genérico, e em um caso não além do nível de subfamília, por exemplo, Ancestrinae. O número médio de faixas de hemoglobina dos peixes da Amazônia é assim calculado pela média de todos os fenótipos. O número de faixas de hemoglobina por espécie foi estimado pela média das espécies identificadas, reconhecidas mas as espécies não identificadas, e o gênero com padrões monomórficos da hemoglobina. Uma boa concordância foi obtida entre o número de faixas de hemoglobina por fenótipo e por espécie experimental (4,0 versus 3,9, Tabela X). Assimilabilidade no número de faixas de hemoglobina entre esses peixes tropicais da Amazônia que vivem num ambiente termoestável e peixes de zona temperada que vivem num ambiente altamente termoinstável parece fazer da temperatura como que uma causa primeira menos provável no estabelecimento da heterogeneidade nos peixes de todas as zonas climáticas. Uma precaução deve ser tomada, contudo, quando essa inferência foi feita. Os peixes pertencentes às diferentes superordens podem diferir em seu número de componentes de hemoglobina, por exemplo, Ostariophysii versus Acanthopterygii (Figs. 13 e 14). Se esse fenômeno mostra ser um caráter geral entre os peixes, cuidados devem ser tomados quando se comparar heterogeneidade de hemoglobina de peixes pertencentes a diferentes tributos. Os peixes estudados por Sullivan e colaboradores pertencem principalmente aos acantopterígeos da ordem Perciformes (Sullivan, comunicação pessoal) e não podem portanto, *a priori*, ser comparáveis aos peixes do presente estudo que pertencem principalmente à superordem Ostariophysii.



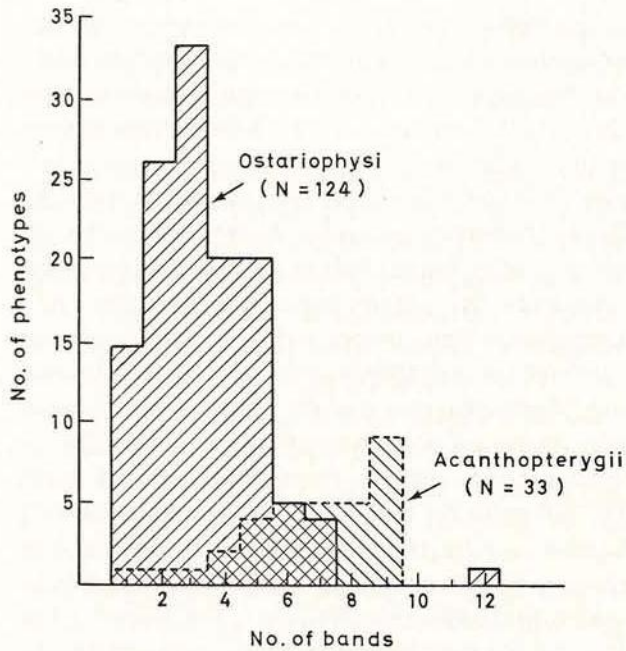


Fig. 13 — Distribuição dos genótipos com vários números de faixas de hemoglobina dos peixes ostariófiseos e acantopterígeos do Amazonas.

Embora a temperatura da água, na região do Amazonas, seja anualmente estável, outros parâmetros ambientais, especialmente pH da água e pressão do oxigênio, são notoriamente variáveis. O pH da água varia entre 4,5 e 5,5 na água preta dos rios Negro e Cuieiras (Reiss, 1977) e entre 6,5 e 7,5 na água branca do rio Solimões (Schmidt, 1972) com picos diurnos de pH 8,5-9,0 devidos à intensa atividade fotossintética nos lagos de água branca (Schmidt, 1973). Grandes gradientes na pressão de oxigênio ocorrem especialmente durante a estação seca quando a redução no nível da água promove a formação de enseadas estagnadas e pequenos corpos de água isolados com condições hipóxicas. Condições hipóxicas para anóxia são também encontradas durante a estação chuvosa, tipicamente nas camadas mais profundas dos lagos amazônicos (Schmidt, 1973; Reiss, 1977). Os presentes dados, contudo, (Tabela X) não revelam qualquer correlação entre o número de faixas de hemoglobina dos peixes dentro de Osteriophysii (a única superordem com espécies suficientes que permite uma comparação) e a pressão de oxigênio ou do pH da água.

A diversidade de biotas tropicais como exemplificado pela abundância de espécies de peixes no Amazonas intensifica a competição interespecífica. A seleção nos trópicos, portanto, parece ser mais devida ao trabalho interorganísmico do que a influência do ambiente físico (Fisher, 1960). Nesse contexto, é concebível que a diferenciação funcional usualmente encontrada entre os componentes de um padrão de hemoglobina múltiplo (Bonaventura *et. al.*, 1975) pode dotar as espécies com vantagens biológicas. Os peixes do rio Amazonas estão ameaçados de sufocação durante a estação seca e uma habilidade para respirar o ar atmosférico ocorre em várias espécies (cf. Fink & Fink, 1978, neste volume). No presente material, contudo, nenhuma correlação foi encontrada entre o método respiratório dos peixes e o número de faixas de hemo-

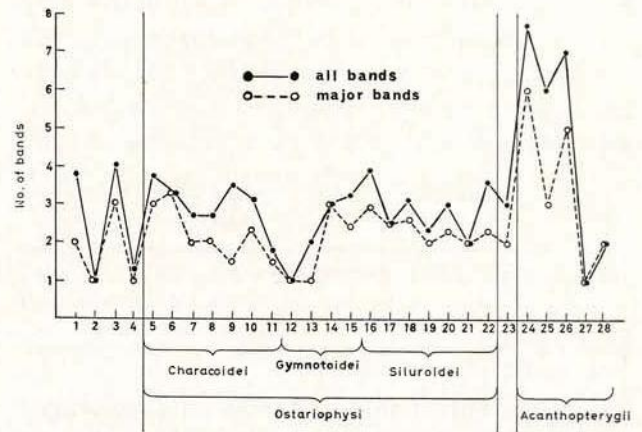


Fig. 14 — Número médio de faixas de hemoglobina para famílias dos peixes da Amazônia. As famílias e as taxas mais altas estão arranjadas ao longo da abscissa numa ordem filogenética que vai do generalizado ao especializado de acordo com Greenwood *et. al.*, (1966). As respectivas famílias com número de fenótipos em parêntesis são: 1 — Potamotrygonidae (6), 2 — Lepidosirenidae (1), 3 — Clupeidae (1), 4 — Osteoglossidae (3), 5 — Characidae (21), 6 — Erythrinidae (3), 7 — Cynodontidae (3), 8 — Prochilodontidae (3), 9 — Curimatidae (2), 10 — Anostomidae (7), 11 — Hemiodontidae (4), 12 — Gymnotidae (1), 13 — Electrophoridae (1), 14 — Apterontidae (1), 15 — Rhamphichthyidae (5), 16 — Doradidae (11), 17 — Auiheripteridae (2), 18 — Pimelodidae (14), 19 — Ageneiosidae (3), 20 — Hypophthalmidae (3), 21 — Callichthyidae (2), 22 — Loricariidae (37), 23 — Belonidae (1), 24 — Synbranchidae (3), 25 — Sciaenidae (3), 26 — Cichlidae (25), 27 — Soleidae (1), 28 — Tetraodontidae (1).



globina. Nem o número de faixas se correlacionou com outras qualidades biológicas como nível de atividade (Tabela X) ou ausência e presença de um efeito Root (Farmer *et al.*, 1978 neste volume). Os peixes com um efeito Root pronunciado tinham faixas de hemoglobina de  $4,0 \pm 0,5$  enquanto que os peixes que não apresentavam o efeito Bohr tinham faixas de  $3,4 \pm 0,5$ .

Desde que *Catostomus clarkii* deva continuar a nadar ativamente em seu *habitat* aquático, de correnteza, tem sido proposto que seu componente de hemoglobina catódica que é destituído do efeito Bohr, é um sistema garantido para o levantamento do oxigênio às brânquias durante as condições de acidez transitória do sangue (Powers, 1972). Os componentes de hemoglobina lentos ou catódicos têm sido freqüentemente encontrados dado um efeito (Powers, 1972; Brunori *et al.*, 1973) ou ter um efeito Bohr reverso (Weber *et al.*, 1976b, 1979). Gostaríamos de saber se as faixas de hemoglobina que são lentas numa eletroforese em *gel* de pH regularmente alto estavam correlacionadas com o nível de atividade dos peixes amazonenses. A presença de faixas eletroforéticamente baixas foi observada nos fenótipos de espécies ativas e vagarosas dos peixes ostariofíseos. Faixas com uma mobilidade relativa de 0,27 ou menos foram registradas como lentas desde que as faixas mais lentas de *Hoplosternum* e *Pterygoplichthy* apresentaram, ambas, um efeito Bohr reverso (Glick *et al.*, 1978; Weber & Wood, 1978), e tinham mobilidades relativas de 0,27 e 0,24, respectivamente. Os pontos isoelétricos dessas faixas são: 7,8 para *Hoplosternum* (Bunn, comunicação pessoal) e 8,8 para *Pterygoplichthys* (Weber & Wood 1978). Os dados para os peixes ostariofíseos amazonenses não apresentaram uma correlação entre nível de atividade e presença de uma faixa de hemoglobina lenta. Os fenótipos com tais faixas foram igualmente distribuídos entre peixes ativos e vagarosos, e proporções similares dos peixes ativos e vagarosos tinham faixas de hemoglobina vagarosas em seus fenótipos. Assim, se faixas lentas de hemoglobina propiciaram uma vantagem ao seu possuidor, essa vantagem parece ser igualmente importante para os peixes ativos e vagarosos.

A heterogeneidade eletroforética de hemoglobina dos peixes da Amazônia não parece estar correlacionada com aparentes parâmetros físicos ou biológicos do animal. Pode bem ser, contudo, que estratégias adaptativas variem da sua dependência da heterogeneidade de hemoglobina em diferentes peixes. Quando se tira a média de grande número de espécies, como no presente estudo, diferenças nas estratégias adaptativas poderiam levar a neutralizar cada um, ocultando, assim, qualquer correlação. Por exemplo, uma significativa observação pode ser o alto número relativo de espécies de peixes da Amazônia com somente um único componente de hemoglobina em seus hemolisados: 13 fenótipos (de 13 diferentes gêneros) de 162 fenótipos estudados (8%) tinham uma única hemoglobina. Em 5 fenótipos adicionais (de 5 gêneros) um componente compreendeu mais de 95% da hemoglobina. Em contraste, Riggs (1970) em sua revisão de hemoglobinas de peixes, principalmente para espécies de peixes temperados e boreais, determinou que "hemolisados com somente um único componente são quase que excepcionais". Uma descoberta similar foi feita por Sullivan (comunicação pessoal) em seus estudos de espécies de zona temperada. Talvez a alta incidência de hemoglobinas únicas seja característica das espécies de peixes que vivem em *habitats* tropicais. Pelo menos, em algumas propriedades funcionais do sangue, isto é, afinidade de oxigênio, cooperativismo, efeito Bohr e sensibilidade à temperatura, somente pequenas diferenças foram encontradas entre os peixes da Amazônia com uma hemoglobina única ou com múltiplas (Powers *et al.*, 1978a, b). Somero (1975) sugeriu duas estratégias evolucionárias para proteínas catalíticas, adaptando-se a condições variáveis: uma tem seleção favorecendo uma enzima capaz de funcionar sob as condições das mais adversas. A segunda tem seleção favorecendo a aquisição de enzimas variantes adicionais cada uma com pequenas e diferentes sensibilidades para as condições de atuação. A descoberta de ambos os padrões de hemoglobina única e padrões de hemoglobina múltipla em hemolisados de peixes da Amazônia pode ser um caso típico de tal dualismo de estratégia adaptativa.



## AGRADECIMENTOS

A parte experimental do trabalho foi executada a bordo do R/V "Alpha Helix" e foi amparada pela subvenção PCM75-06451 da "National Science Foundation". Estamos em dívida com o povo americano pela sua generosidade no apoio a essa oportunidade única de pesquisa.

Agradecemos ao Dr. Bolling Sullivan pelas críticas e sugestões úteis e por permitir-nos a referência aos seus estudos não publicados. Nossos agradecimentos também aos Drs. W. E. Kerr e W. Junk do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus pela sua ajuda com a remessa de peixes e agradecemos especialmente ao Dr. H. Btritski, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. Agradecemos ao Sr. J. Isbrücker e ao Dr. H. Nijssen, Universidade de Amsterdam pela identificação dos peixes *Loricaria* cf. *clavipinna*, *Loricariichthys acutus*, *L. cf. maculatus*, *L. nova species* e peixe nº 295, subfamília Ancistrinae. O Dr. B. J. Davis agradece o patrocínio da viagem pela "Joseph Henry-Marsh Fund da National Academy of Sciences" e pela "San Francisco State University", o Dr. D. A. Powers agradece o patrocínio suplementar da subvenção DEB76-19877 do NSF e a subvenção do "National Geographic Society", e Drs. U.E.H. Fyhn e H. J. Fyhn agradecem o patrocínio das viagens pelo "Norwegian Research Council for Science and the Humanities".

## SUMMARY

The electrophoretic patterns of hemoglobins from Amazonian fishes have been described. The fishes include the South American lungfish, *Lepidosiren paradoxa*, four species of fresh water rays of the genus *Potamotrygon*, and actinopterygian teleosts from 77 genera of which 75% belong to the superorder Ostariophysi. For 97% of the bands the electrophoretic mobility of the fish hemoglobins was less than that of human Hb A. *Lepidosiren* has a single hemoglobin. Hemolysates from *Potamotrygon* showed blurred patterns with a mean number of 3.8 bands per phenotype. The teleosts showed a mean number of 4.0 bands per phenotype. The mean number of hemoglobin bands was different for fishes belonging to the superorders Ostariophysi ( $3.3 \pm 0.15$ ) and Acanthopterygii ( $6.7 \pm 0.38$ ). Patterns with a single hemoglobin were found in 8% of the phenotypes. Two or more hemoglobin

patterns were found for about 10 species. However, taxonomic difficulties and the low number of specimens tested necessitate more studies to ascertain whether these cases represent genetic polymorphisms at the hemoglobin loci. By SDS gel electrophoresis the molecular weights of denatured hemoglobin chains from representatives of 50 genera were found to be comparable to the molecular weight of human Hb A chains. There are no obvious correlations between hemoglobin multiplicity and the fish behaviour or habitat preference. These tropical fishes have hemolysates which are as complex as those from temperate zone fishes.

## BIBLIOGRAFIA

- BONAVENTURA, J. BONAVENTURA, C. & SULLIVAN, B.  
1975 — Hemoglobins and hemocyanins: comparative aspects of structure and function. *J. Exp. Zool.*, 194: 155-174.
- BRUNORI, M.; BONAVENTURA, J. BONAVENTURA, C.; GIARDINA, B.; BOSSA, F. & ANTONINI, E.  
1973 — Hemoglobins from trout: structural and functional properties. *Mol. Cell. Biochem.*, 1: 189-196.
- CARTER, G.S. & BEADLE, L.C.  
1931 — The fauna of the swamps of the Paraguayan Chaco in relation to its environment. — II. Respiratory adaptations in the fishes. *Linn. J. Zool.*, 37: 327-368. 23 plates.
- DAVIS, B.J.  
1964 — Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121: 404-427.
- DELANEY, R.G.; SHUB, C. & FISHMAN, A.P.  
1976 — Hematologic observations on the aquatic and estivating African lungfish, *Protopterus aethiopicus* Copeia, pp. 423-434.
- DELIGNY, W.  
1969 — Serological and biochemical studies on fish populations. *Ann. Rev. Oceanogr. Mar. Biol.*, 7: 411-513.
- ELLIS, M.M.  
1913 — The gymnotid eels of tropical America. *Memoirs Carnegie Mus.*, 6:109-195. plates XV-XXV.
- FARMER, M.; FYHN, H.J.; FYHN, U.E.H. & NOBLE, R.W.  
1978 — Ocorrência de hemoglobinas de efeito Root em peixes amazônicos. *Acta Amazonica* 8(4): Suplemento. (Este volume).
- FINK, W.L. & FINK, S.  
1978 — A Amazônia Central e seus peixes *Acta Amazonica* 8(4): Suplemento. (Este volume).
- FISHER, A.G.  
1960 — Latitudinal variations in organic diversity. *Evolution*, 14: 64-81.



- FISHER, T.R.  
1978 — Plâncton e produção primária em sistemas aquáticos da bacia da Amazônia Central. *Acta Amazonica* 8(4): Suplemento. (Este volume).
- FYHN, U.E.H. & SULLIVAN, B.  
1974 — Hemoglobin polymorphism in fishes. I. complex phenotypic patterns in the toadfish, *Opsanus tau*. *Biochem. Genet.*, 11: 373-385.  
1975 — Elasmobranch hemoglobins: dimerization and polymerization in various species. *Comp. Biochem. Physiol.*, 50B: 119-129.
- GARLICK, R.L.; BUNN, H.F.; FYHN, H.J.; FYHN, U.E.H.; MARTIN, J.P.; NOBLE, R.W. & POWERS, D.A.  
1978 — Estudos funcionais na hemoglobina de componentes separados de um bagre de respiração aérea, *Hoplosternum littorale* (Hancock). *Acta Amazonica* 8(4): Suplemento. (Este volume).
- GOSLINE, W.A.  
1945 — Catalogo dos Nematognatos de água doce da América do Sul e Central. *Boletim do Museu Nacional, Zoologia*, 33: 1-138.
- GREENWOOD, P.H.; ROSEN, D.E.; WEIZMAN, S.H. & MYERS, G.S.  
1966 — Phyletic studies of teleostean fishes, with a provisional classification of living forms. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 131: 339-455.
- HINEGARDNER, R. & ROSEN, D.E.  
1972 — Cellular DNA content and the evolution of teleostean fishes. *Am. Nat.*, 106: 621-644.
- HJORTH, J.P.  
1974 — Genetics of *Zoarcetes* populations VII. Fetal and adult hemoglobins and a polymorphism common to both. *Hereditas*, 78: 69-72.  
1975 — Molecular and genetic structure of multiple hemoglobins in the eelpout, *Zoarcetes viviparus* L. *Biochem. Genet.*, 13: 379-391.
- ISBRÜCKER, I. & NIJSSSEN, H.  
1977 — In the press.
- JOHANSEN, K.  
1970 — Air breathing in fishes. In: *Fish Physiology* (ed. HOAR, W.S. & RANDALL, D.J.) New York, Academic Press. 4: 361-411.
- JOHANSEN, K. & WEBER, R.E.  
1976 — On the adaptability of haemoglobin function to environmental conditions. In: *Perspectives in Experimental Biology* (ed. DAVIES, P.S.) Oxford, Pergamon Press. (Zoology), 1: 219-234.
- KOEHN, R.K.  
1969 — Biochemical polymorphism: a population strategy. *Rapports Et. Procès Verbaux*, 161: 147-153.
- KRAMER, D.L. & GRAHAM, J.B.  
1976 — Synchronous air breathing, a social component of respiration in fishes. *Copeia*, pp. 689-697.
- LOWE-MCCONNELL, R.H.  
1975 — *Fish Communities in Tropical Freshwaters*. New York, Longman Group Ltd.. 337 p.
- MYERS, G.S.  
1947 — The Amazon and its fishes. *Aquarium J.*, 18(3-8): 4-9; 13-20; 6-13, 32; 8-19, 34.
- ORNSTEIN, L.  
1964 — Disc electrophoresis. I. background and theory. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121: 321-349.
- POWERS, D.A.  
1972 — Hemoglobin adaptation for fast and slow water habitats in sympatric catostomid fishes. *Science*, 177: 360-362.
- POWERS, D.A.; FYHN, H.J.; FYHN, U.E.H.; MARTIN, J.P.; GARLICK, R.L. & WOOD, S.C.  
1978a — Estudo comparativo de equilíbrio de oxigênio no sangue de 40 gêneros de peixes da Amazônia. *Acta Amazonica* 8(4): Suplemento. (Este volume).
- POWERS, D.A.; MARTIN, J.P.; GARLICK, R.L.; FYHN, U.E.H.  
1978b — O efeito da temperatura sobre os equilíbrios de oxigênio das hemoglobinas de peixe em relação à variabilidade térmica ambiental. *Acta Amazonica* 8(4): Suplemento. (Este volume).
- REISCHL, E.  
1976 — The hemoglobins of the freshwater teleost *Hoplias malabarica* (Bloch, 1794): heterogeneity and polymerization. *Comp. Biochem. Physiol.*, 55B: 255-257.
- REISCHL, E. & TONDO, C.V.  
1974 — Multiple hemoglobins in fish. I. electrophoretic heterogeneity. *Rev. Brasil. Biol.*, 34: 331-336.
- REISS, F.  
1977 — Qualitative and quantitative investigations on the macrobenthic fauna of Central Amazon Lakes. I. Lago Tupé, a black water lake on the lower Rio Negro. *Amazoniana*, 4: 203-235.
- RIGGS, A.  
1970 — Properties of fish hemoglobins. In: *Fish Physiology*, (ed. HOAR, W.S. & RANDALL, D.J.) New York, Academic Press. 4: 209-252.



- SCHMIDI, G.W.  
 1972 — Amounts of suspended solids and dissolved substances in the middle reaches of the Amazon over the course of one year (August, 1969-July, 1970). *Amazoniana*, 3: 208-223.  
 1973 — Primary production of phytoplankton in three types of Amazonian waters II. The limnology of a tropical flood-plain lake in Amazonia (Lago do Castanho) *Amazoniana*, 4: 139-203.
- SHARP, G.D.  
 1973 — An electrophoretic study of hemoglobins of some scombrid fishes and related forms. *Comp. Biochem. Physiol.*, 44B: 381-388.
- SOMERO, G.N.  
 1975 — The roles of isozymes in adaptation to varying temperatures. In: *Isozymes* (ed. Markert, C.L.), vol. 2: 221-234. International Conference in Isoenzymes, III. New York, Academic Press.
- SOMERO, G.N. & SOULÉ, M.  
 1974 — Genetic variation in marine fishes as a test of the niche-variation hypothesis. *Nature*, 249: 670-672.
- SULLIVAN, B.  
 1977 — Hemoglobin variation and its significance in fish. US-USSR Workshop on Physiology and Biochemistry of Aquatic Animals. Georgetown, South Carolina.
- WEBER, K. & OSBORN, M.  
 1969 — The reliability of molecular weight determination by dodecyl sulfate-polycrylamide electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 244: 4406-4412.
- WEBER, R.E.; LYKKEBO, G. & JOHANSEN, K.  
 1976 — Physiological properties of eel hemoglobin: hypoxic acclimation, phosphate effects and multiplicity. *J. Exp. Biol.*, 64: 75-88.
- WEBER, R.E.; SULLIVAN, B.; BONAVENTURA, J. & BONAVENTURA, C.  
 1976 — The hemoglobin system of the primitive fish, *Amiocalva*: isolation and functional characterization of the individual hemoglobin components. *Biochem. Biophys. Acta*, 434: 18-31.
- WEBER, R.E. & WOOD, S.C.  
 1978 — Efeito de nucleosídeo trifosfato eritrócito no equilíbrio de oxigênio de hemoglobinas completas e fracionadas de *Hypostomus* e *Pterygoplichthys*. *Acta Amazonica* 8(4): Suplemento. (Este volume).