

HETEROGENEIDADE PROTEICA EM CICLÍDEOS DA AMAZÔNIA: ESTUDOS COMPARATIVOS.

Mahatma Sonhará A. do Porto¹; Maria de Nazaré Paula da Silva²; Vera Maria Fonseca de Almeida-Val³

¹Bolsista CNPQ/PIBIC; ²Co-Orientadora, Pesquisadora do LEEM-INPA; ³Orientadora (Bolsista do CNPq, Proc. 524525/96-0).

A mais rica fauna de peixes de água doce é encontrada na América, África e Ásia tropical. O sistema amazônico apresenta mais de 1300 espécies, o Zaire (Congo), na África, aproximadamente 700, em comparação com 250 espécies no sistema do Mississipi, na América do Norte, e 192 em toda Europa (Lowe-McConnell, 1999). Para a América do Sul, particularmente para a bacia amazônica, esta estimativa tem mudado todas as vezes que são feitos novos inventários (Val & Almeida-Val, 1999). Os ciclídeos representam cerca de 6% da fauna de peixes de água doce do Brasil; muitas espécies são amplamente distribuídas e são diferentes dos ciclídeos africanos. No entanto, ambos os grupos (tanto os sul-americanos como os africanos) apresentam uma taxa de especiação extremamente rápida, sendo considerados peixes altamente especializados (Kornfield *et al.*, 1979). Farias *et al.* (1999), comparando as espécies neotropicais (América do Sul) com as tropicais (África), sugeriram que as espécies de ciclídeos sul-americanas apresentam taxa evolutiva mais rápida que as espécies encontradas no continente africano. Todas as informações agrupadas em relação aos ciclídeos amazônicos nos levam a sugerir que a ampla distribuição deste grupo é fruto de sua grande capacidade em regular seus perfis metabólicos de acordo com a pressão ambiental (Almeida-Val *et al.*, 1995). Trabalhos recentes em biologia molecular, sugeriram que os ciclídeos neotropicais apresentam uma maior “taxa evolutiva” (maior índice de variação) que os ciclídeos tropicais (africanos) (Farias *et al.*, 1999). Em contrapartida, é instigante o contraste entre o grande potencial adaptativo dessas espécies e a falta de “opções” de variabilidade em seus locos estruturais, como vimos observando através de trabalhos realizados anteriormente (Formiga-Aquino *et al.*, 2000). Para responder questões sobre as divergências genéticas entre populações de uma mesma espécie ou entre populações de espécies diferentes, estudos enzimáticos poderiam ser feitos com espécies de ciclídeos da região amazônica e compará-los com dados descritos na literatura para outras espécies pertencentes a outras regiões. Por meio de estudos eletroforéticos de sistemas iso-zímicos pode-se facilmente diferenciar os genótipos homozigotos dos heterozigotos, permitindo estimar diretamente parâmetros como frequências genotípicas, frequências alélicas e, baseando-se nestas, determinar os coeficientes de diversidade gênica e heterozigocidade. O

presente trabalho apresenta os padrões enzimáticos de uma espécie de ciclídeo, *Satanoperca jurupari*, e sugere as frequências dos principais alelos encontrados na população que habita as cercanias do Lago do Catalão. Os indivíduos da espécie *Satanoperca jurupari* foram conservados em gelo e trazidos para o laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular (LEEM) do INPA em Manaus para posterior retirada dos tecidos. Foram retiradas amostras de músculo esquelético, coração, fígado, olho e cérebro. Estas amostras foram estocadas em congelador a -20°C até o momento das análises. Os tecidos foram descongelados, homogeneizados mecanicamente e centrifugados para a obtenção do extrato, como descrito em Almeida-Val *et al.* (1990). Esses extratos foram submetidos a ensaios eletroforéticos em gel de amido de milho segundo procedimento descrito por Val *et al.* (1981) com base no sistema eletroforético horizontal proposto por Smithies (1955), onde o gel de amido é preparado à concentração de 13%. A corrida eletroforética se dá à temperatura de 4°C . Foram utilizados processos histoquímicos específicos nas colorações enzimáticas para cada sistema isozímico (Shaw & Prasad, 1970). Os vários sistemas enzimáticos foram expostos a reações de oxi-redução, usando-se cofatores específicos para cada substrato (enzima) e elementos transportadores de elétrons. Para a secagem dos géis utilizou-se papel celofane semi-permeável com suportes de madeira (bastidores usados para bordado); o gel foi mantido entre as folhas de celofane, esticadas pelos bastidores até que toda a água fosse totalmente evaporada. Após a coloração e secagem destes géis, foram obtidos os zimogramas, que são o conjunto de bandas reveladas nos próprios géis, onde ficam registradas as isozimas e alozimas resultantes de diferentes genes e alelos (Val *et al.*, 1981; Alfenas *et al.*, 1991). Para a denominação de cada *locus* gênico foi adotada a nomenclatura proposta por Shaklee *et al.* (1989), sendo que a nomenclatura utilizada para os alelos foi aquela postulada por Allendorf & Utter (1979). A partir das análises dos zimogramas fez-se a contagem dos alelos detectados nas eletroforeses. De posse destes números determinou-se as frequências alélicas da população estudada comparando-as com aquelas esperadas pela Lei de Hardy-Weinberg que vão descritas na Tabela 1. Nossos dados mostram que, diferente do observado para outras espécies de ciclídeos por Formiga-Aquino *et al.* (2000), a espécie *Satanoperca jurupari* apresenta um índice de polimorfismo relativamente alto em seus *loci*, ou seja, mais da metade dos locos analisados apresentou-se polimórfica, indicando um alto grau de heterogeneidade protéica em locos estruturais. Por outro lado, o índice de heterozigocidade média (H) apresentou-se menor quando comparado ao de outras espécies de peixes de região temperada (Gillespie, 1996).

Tabela 1 - Números de alelos encontrados por *locus* analisados em *S. jurupari* e respectivas frequências.

<i>Enzima</i>	<i>Loci</i>	<i>Alelos</i>	<i>Frequências Alélicas</i>	<i>Heterozigocidade (h)</i>	<i>Total</i>
LDH	LDH-A* LDH-B* LDH-C*		1		30
			1		
			1		
MDH	sMDH-A* sMDH-B ₁ * sMDH-B ₂ *		1		20
			1		
			1		
ADH	ADH*	ADH ₁₀₀	0,708	0,412	12
		ADH ₁₂₅	0,292		
PGI	PGI-A*	PGI-A ₁₀₀	0,841	0,267	22
		PGI-A ₈₀	0,159		
	PGI-B*	PGI-B ₁₀₀	0,933	0,125	
		PGI-B ₁₁₅	0,067		
IDH	IDH*	IDH- ₁₀₀	0,658	0,450	19
		IDH- ₈₀	0,342		
FBP	FBP-1*	FBP-1 ₁₀₀	0,364	0,540	24
		FBP-1 ₆₀	0,068		
		FBP-1 ₁₅₀	0,568		
G6PDH	G6PDH-1*	G6PDH ₁₀₀	0,952	0,091	31
		G6PDH ₈₀	0,048		
	G6PDH-2*		1		
SOD	SOD*	SOD ₁₀₀	0,824	0,290	17
		SOD ₇₅	0,176		
PGM	PGM*	PGM ₁₀₀	0,5	0,665	10
		PGM ₁₁₀	0,15		
		PGM ₁₁₅	0,2		
		PGM ₁₃₀	0,15		
				<i>H</i> = 0,1893	

Alfenas, A.C.; Peters, I.; Brune, W. & Passador, G.C. (1991). Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Universidade Federal de Viçosa. 242pp.

Allendorf, F.M. & Utter, F.M. (1979). Population genetics. In: W. S. Hoar, D. J. Randall; J.R. Brett (eds). Fish Physiology. Academic Press, 8: 407-454pp.

Almeida-Val, V.M.F.; Schwantes, M.L. & Val A.L. (1990). LDH isozymes in Amazon fish. I. Electrophoretic studies on two species from Serrassalmidae family: *Mylossoma duriventris* e *Colossoma macropomum*. Comp. Biochem Physiol 95B: 77-84pp.

- Almeida-Val, V.M.F.; Farias, I.P.; Paula-Silva, M.N.; Duncan, W.P. & VAL A.L. (1995). Biochemical adjustments to hypoxia in amazon cichlids. *J. Med. Biol. Researchs. São Paulo*, v28: 1257-1263.
- Almeida-Val, V.M.F.; Paula-Silva, M.N.; Duncan, W.P.; Lopes, N.P.; Val A.L. & Land, S. (1999). Increase of anaerobic potential during growth of an Amazonian cichlid, *Astronotus ocellatus*. Survivorship and LDH regulation after hypoxia exposure. *In: A.L. Val & V.M.F. Almeida-Val (eds): Biology of Tropical Fishes. Manaus – INPA. 437-448.*
- Farias, I. P.; Ortí, G.; Sampaio, I. (1999). Mitochondrial DNA Phylogeny of the Family Cichlidae: Monophyly and Fast Molecular Evolution of the Neotropical Assemblage. *J. Mol. Evol.* (1999) 48:703-711.
- Formiga-Aquino, K.; Batista, J. S.; Chippari-Gomes, A. R.; Paula-Silva, M.N; Almeida-Val, V.M.F. (2000). Evolution of Physiological and Biochemical Traits in Fish. *In: International Congress on the Biology of Fish. University of Aberdeem, Scotland. July 23-27, 2000.*
- Gillespie, R. B. 1996. Allozyme frequency variation as an indicator of contaminant-induced impact in aquatic populations. *In: Techniques in aquatic toxicology. Ed., Ostrander, G. K. CRC Press, Boca Raton, Flórida. 247-275.*
- Kornfield, I. L.; Ritte, U.; Richler, C. & Wahr, J. (1979). Biochemical and cytological differentiation among cichlid fishes of the sea of Galilee. *Evolution*, 33 (1) : 1-14.
- Lowe-Mcconnell, R. H. (1999). Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais; tradução Anna Emília Vazzoler, Ângelo Agostinho, Patrícia Cunningham – São Paulo: Ed. USP 1999- (Coleção base), pg 19.
- Shaklee, J.B.; Allendorf, F.W.; Morizot, D.C. & Whitt, G.S. (1989). Genetic nomenclature for proteins-coding *loci* in fish: Proposed guidelines. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 118: 218-277pp.
- Shaw, R. R. & Prasad, S. (1970). Starch gel electrophoresis enzymes. A compilation of recipes. *Biochem. Genet.*, 11 (3): 108-118.
- Smithies, O. (1955). Zone electrophoresis in starch gel: group variation in the serum proteins of normal adults. *Biochem. J.*, 71: 629-641.
- Val, A.L.; Schwantes, A.R.; Schwantes, M.L. & De Luca, P.H. (1981) Amido hidrolizado de milho como suporte eletroforético. *Ciência e Cultura*, 33 (7): 992-996.
- Val, A.L. & Almeida-Val, V. M. F. (1999). Volume Overview. *In: A.L. Val & V.M.F. Almeida-Val (eds): Biology of Tropical Fishes. Manaus – INPA. 1-4.*