

METABOLISMO RESPIRATÓRIO DE PEIXES DE RESPIRAÇÃO AÉREA

(*Lepidosiren paradoxa* Fitz)

Paulo Sawaya

(Laboratório de Fisiologia Geral e Animal —
Departamento de Zoologia da Universidade de
São Paulo).

Durante as pesquisas sôbre a respiração de peixes neotrópicos, encetadas em 1944, em Belém do Pará, apenas foi possível avaliar o consumo de oxigênio que o animal retirava da água e do ar. Os resultados das experiências efetuadas naquela cidade e em São Paulo, recentemente publicados (SAWAYA 1946, p. 268/269, tab. II e III), demonstraram que *L. paradoxa* utiliza o oxigênio dissolvido na água e o do ar, correspondendo aquê a cêrca de 2% do total de gás absorvido. Em quasi tôdas as experiências as percentagens de saturação foram de nível médio, i. é, entre 75 e 80%, o que corresponde à saturação habitual da água corrente da torneira.

O prosseguimento das experiências em São Paulo conduziu à determinação do consumo de gás em relação ao tempo e ao peso do animal, dando em média 41, 96 ml/kg/hora.

Ô aparelho utilizado em tais experiências foi o respirômetro de SMITH (1930, p. 127; SAWAYA 1946, p. 262) ligeiramente modificado, o qual apenas permitiu a avaliação do consumo de oxigênio. Recentemente, graças à grande gentileza dos Exmos. Srs. Drs. JOSÉ BERNARDINO ARANTES e FRANCISCO BERTI, respectivamente Diretor do Instituto Butantan e Chefe da Secção de Química do mesmo, consegui, por empréstimo, um aparelho de van SLYKE e NEILL, que me permitiu determinar o CO₂ liberado. Assim, aproveitando a existência dos exemplares trazidos em 1944 de Belém do Pará, aqui no laboratório prossegui no estudo do metabolismo respiratório dêste Dipnoico.

Para remover algumas dificuldades técnicas verificadas anteriormente, procurei construir um novô respirômetro que permitisse manter constantes, dentro da câmara, a pressão e o volume, e que será adeante descrito.

A publicação recente (SAWAYA, 1946) contem informação sôbre a biologia de *L. paradoxa* e várias observações sôbre o comportamento dêste peixe no cativoiro, ao lado dos resultados experimentais. No presente trabalho tive em mira completar aquele estudo, restringindo-me ao metabolismo respiratório.

Técnica do respirômetro para animais anfíbios

E' sabido que a Traira-boia é capaz de permanecer longo tempo fóra d'água, mas não dispensa o meio aquático para a respiração. De tempo em tempo o peixe vem à superfície para captar o oxigênio do ar. Foi verificado (SAWAYA 1946, p. 273) que, se impedido de vir à tona, logo o Dipnoico dá mostras de asfixia, podendo mesmo morrer. Não obstante, é certo que a Traira-boia depende do oxigênio dissolvido n'água, não obstante ser mínima a quantidade absorvida desse oxigênio. Quero crêr o mesmo se dê com o *Protopterus aethiopicus*, pelo que SMITH (1930) em seu estudo sôbre o seu metabolismo, desprezou em suas dosagens o consumo de oxigênio dissolvido na água. Nas minhas experiências resolvi aplicar êsse dado para conhecer o consumo total do oxigênio.

O respirômetro usado foi o seguinte: um vaso de vidro de três tubuladuras serviu de câmara respiratória. A abertura central dá passagem: 1) à haste de um agitador de ar, conjugado com um motor; 2) ao tubo que põe a câmara em conexão com um aparelho de Haldane-Henderson-Bailey; 3) ao tubo sifão para colêta de água. Uma das aberturas laterais conjuga-se com um manômetro de água para verificação da pressão no interior da câmara e a outra abertura, por meio de um tubo de vidro, põe a câmara em comunicação com um frasco de Erlenmayer de 250 ml. Êste, por sua vez, comunica-se com uma proveta que contem óleo mineral. A disposição dos aparelhos é tal que permite o pronto restabelecimento da pressão no interior da câmara, pela introdução do óleo no Erlenmayer.

Todo o conjunto, exceto o Erlenmayer, permanece mergulhado num aquário de 30 l. de capacidade, cheio d'água, à temperatura constante de 25°, que é a ótima para a Traira-boia. Para manter a temperatura homogênea, introduziu-se no aquário um agitador em contínuo funcionamento durante todo o período da experiência.

Com tais dispositivos foi possível corrigir quaisquer modificações da pressão que ocorresse tanto na água como no ar da câmara.

As experiências foram efetuadas da seguinte maneira: na câmara respiratória contendo 750 ml d'água do tanque, introduz-se o animal pela tubuladura central; depois de o peixe acalmar-se, permanecendo quieto no fundo da câmara, o que acontecia em geral na primeira ou na segunda hora seguinte, fecha-se o respirômetro hermêticamente, com as rôlhas de borracha protegidas com uma camada de cera. Retiram-se, então, as amostras de água e de ar para as dosagens, restabelecendo-se o equilíbrio da pressão interior pela introdução de certa quantidade de óleo no Erlenmayer. Com as amostras procuram-se obter os seguintes dados: 1) percentagem de O₂ e do CO₂ no ar dosado no analisador de Haldane; 2) quantidade de CO₂ da água determinada no aparelho de van SLYKE e NEILL. Além disso, aproveitou-se a água colhida para a dosagem dos ions sódio (método de LEVA); potássio (método de R. S. PEREIRA); cálcio (método da precipitação com fosfato e determinação fotométrica segundo R. S. PEREIRA); magnésio (método de GILLAM); fósforo e ferro (métodos de R. S. PEREIRA).

Ainda no início da experiência registram-se as seguintes constantes: temperatura do interior da câmara, temperatura do ambiente, pressão

T A B E L A

Consumo de oxigenio e eliminção de dióxido de carbono na água e no ar pela Traira-boia (*Lepidosiren paradoxa*).

Valores em ml reduzidos a 0° e a 760 mm.

N.º	TEMPO HORAS	A R				ÁGUA				G A S E S										CONTEÚDO MINERAL DA ÁGUA — em mgr por 1000 ml							
		TEMP. Cº		PRESSÃO mm Hg		pH		PESO		CONSUMO DE O ₂		CO ₂ PRODUZIDO		ml/kg/h		Na		K		Ca		Mg		P			
		inic.	final	inic.	final	inic.	fin.	grs.	água	ar	total	água	ar	total	O ₂	CO ₂	inic.	fin.	inic.	fin.	inic.	fin.	inic.	fin.	inic.	final	
		in.	f.	in.	f.	in.	f.	g.	á	a	t	á	a	t	O	C	in.	fin.	in.	fin.	in.	fin.	in.	fin.	in.	fin.	
1	4	23.0	23.5	703.8	702.0	7.5	7.2	86	1.903	22.502	24.403	.40	7.80	8.20	70	24	.3	3.90	5.80	1.20	—	25.30	28.40	1.50	1.60	0.01	0.31
2	4	23.0	25.0	701.7	699.4	7.4	7.3	84	1.200	24.700	25.900	.90	2.80	3.70	77	10	.1	8.00	7.00	—	1.70	27.30	23.80	1.00	1.50	—	1.24
3	7	23.2	25.5	699.0	699.0	7.5	7.1	80	.700	41.700	42.400	8.60	5.80	14.40	75	25	.3	8.00	5.40	—	—	27.90	31.50	—	1.50	—	0.31
4	8	23.0	25.0	702.5	701.4	7.6	7.3	75	.900	45.600	46.500	6.80	6.70	13.50	77	22	.3	4.60	—	1.00	—	—	—	—	2.40	—	—
5	8	23.3	25.0	701.8	700.2	7.3	7.0	75	.890	42.500	43.390	6.87	5.29	12.16	72	20	.2	—	7.20	—	3.20	—	49.10	—	2.30	—	0.50

barométrica, pH da água, peso do animal. No fim de 4-8 horas todos êsses fatores são novamente determinados, sendo as quantidades de O_2 e CO_2 reduzidas a 0° e 760 mm. O volume interior do aparelho foi rigorosamente calculado de modo a possibilitar a transformação das porcentagens de O_2 e CO_2 em ml, reduzidas então a 0° e 760 mm. As diferenças entre os valores iniciais e finais das determinações fornecem o consumo de O_2 e a produção de CO_2 no tempo dado. Houve cuidado especial em fiscalisar os pequenos desequilíbrios da pressão do interior da câmara, os quais eram acusados pelo manômetro de água e corrigidos com a introdução de óleo no Erlenmeyer.

Resultados e discussão

A tabela anexa indica os resultados das cinco séries de experiências efetuadas sempre com o mesmo animal. Vinte e quatro horas antes da primeira experiência, o peixe era deixado em jejum, e assim permaneceu até o final.

Infelizmente, o exemplar utilizado não resistiu por mais tempo, vindo a morrer acidentalmente depois da quinta experiência. Consultando-se a tabela, nota-se acentuada variação tanto no consumo do O_2 como na produção do CO_2 . Neste particular devemos distinguir as determinações feitas na água das que se fizeram no ar. E' evidente a ocorrência de uma respiração aquática. Nas experiências 1-2 a absorção de O_2 dissolvido corresponde a cerca de 8% do absorvido no ar, e nas 3-5 essa proporção desce a menos de 2%, o que me parece indicar utilizar a *L. paradoxa* mais oxigênio do ar atmosférico à medida que permanece mais tempo em ambiente confinado, pois no primeiro grupo de experiências o período foi de 4 horas e no segundo foi de 7-8 hs. Com o CO_2 , os valores da tabela mostram o contrário: a liberação do gás na água corresponde a 5% da do ar nas exp. 1-3, e nas exp. 3-4 a quantidade de CO_2 da água é igual à do ar ou um pouco mais elevado que esta. Sem dúvida a percentagem alta de CO_2 na água (exp. 3-5) decorre da maior extensão do período da experiência (7-8 hs), e pode ser um dos fatores responsáveis pelo decréscimo do O_2 anteriormente referido.

Estas diferenças do consumo do O_2 e da excreção do CO_2 não tiveram influência sensível no consumo e na excreção totais dêstes gases. A quantidade total de oxigênio absorvido variou de 22.502 ml a 42.500 ml e a de CO_2 expulso pelo animal, entre 3.70 a 14.40 ml. E' interessante notar que, também neste particular, se separarmos as experiências em dois grupos, um contendo as de número 1-2 e outro as restantes, ver-se-á que em cada grupo tais diferenças são bem menores, da ordem de 7%. O mesmo observa-se em relação ao CO_2 total.

Os dados correspondentes ao consumo do O_2 calculado em ml/kg/hora mostram muito pequena variação (70-77) que, porém, é mais sensível quando se consideram os valores do CO_2 excretado (10-25).

Chama logo a atenção o fato de a Traira-boia, que serviu para as experiências, apresentar um Q.R. muito baixo (0.1-0.3). Creio poder responsabilisar êsse resultado pelo fato de se encontrar o animal em cativeiro há quasi três anos. Não obstante terem sido tomados cuidados

especiais, foi visível o emagrecimento do animal, fato que talvez decorra da falta de alimentação adequada e do ambiente natural sujeito a chuvas contínuas, como é o de Belém. E' possível, também, que o fato de ter permanecido o animal várias horas dentro da câmara do respirômetro, portanto com acúmulo de gás carbônico, tenha influenciado no sentido de abaixamento do Q.R. E' sabido que o CO₂, nestas condições, atua nas trocas respiratórias (DONTCHEFF e KAYSER, 1933).

Como se vê na tabela, não se conseguiram, infelizmente, determinações completas dos elementos minerais, e, porisso, os resultados referentes a essa parte são aqui apresentados como preliminares. Não obstante, não deixam de ser significativos quanto ao sódio, ao cálcio e ao fósforo. Pode-se dizer que há tendência a aumento do cálcio e do fósforo e a diminuição do sódio, equilibrando-se os restantes. E' possível que, para pesquisas futuras, êsses dados possam ser de utilidade. Cumpre dizer que não foram tomadas precauções especiais para se evitar a expulsão de urina e de fezes pelo animal, e a possível presença destas excreta na água da câmara, talvez explique a tendência de aumento do cálcio e do fósforo.

Um dado que a tabela não menciona, mas que julgo digno de nota, vem a ser o desaparecimento completo dos ligeiros traços de ferro contidos na água antes da deposição do animal. Sem dúvida a presença dêste foi a causa do fenômeno, para cuja explicação se exigem novas pesquisas. A água utilizada foi a do tanque, i. é, água da torneira que fica em depósito num tanque de cimento aberto ao ar livre, e, portanto, sujeito às influências das chuvas e do sol. Isto quer dizer que é água tratada quimicamente nos reservatórios da cidade. Nesse tratamento empregase, principalmente, o sulfato de alumínio, o qual determina considerável diminuição dos sais de ferro por arrastamento, e dos fosfatos. Disto resulta haver apenas traços de ferro na água utilizada (ca. de 0.03 mgr. por litro). Não obstante ser tão insignificante a quantidade de ferro existente na água, ainda é possível sua dosagem, o que não acontece logo depois de nela introduzir-se a Traira-boia.

E' interessante notar que êste elemento não foi levado em conta por SMITH (1930) em seu estudo sôbre o metabolismo do *Protopterus athiopicus*.

Não obstante ser espécie diferente de Dipnoico, os dados de SMITH permitem algumas comparações com os meus. Assim, o consumo de oxigênio pela *Lepidosiren* é, em média, um pouco mais elevado que o do *Protopterus*, mas o seu Q.R. é sensivelmente mais baixo que o dêste. Esta discrepância poderá ser explicada pelo fato de se terem experimentado Dipnoicos africanos recentemente capturados.

Comparando os resultados agora obtidos com os do trabalho anterior verifico ter a *L. paradoxa* das pesquisas atuais consumido maior quantidade de oxigênio (70-77 ml/kg/h) que a das experiências anteriores (41.96 ml/kg/h em média). Sem dúvida, essa diferença corre por conta da sensível diferença de peso: a primeira pesava 450 grs. e a atual 86 grs. apenas. Se consultarmos, porém, a tabela III (SAWAYA, 1946, p. 269) ver-se-á que o consumo do oxigênio da Traira-boia de 450 gr. variou de 7.25 a 148.52 ml/kg/h. Tal variação sem dúvida corre por conta da diferença de tempo em que o animal permaneceu no respirômetro. Realmente, se naquela tabela forem selecionados os resultados correspondentes

a 4, 7 e 8 horas, notar-se-á que os valores, em sua maioria, são correspondentes em ambas as tabelas. Desta comparação resulta que a enorme variação no consumo do oxigênio verificada com a Traira-boia de 450 grs. reside, principalmente, no fato da breve permanência do animal no respirometro, pois, como a tabela III (SAWAYA 1946) está a indicar, na maioria das experiências o peixe ficou apenas uma hora na câmara.

Quanto à absorção do oxigênio dissolvido na água, o assunto já foi discutido no trabalho anterior (SAWAYA 1946, p. 272), no qual foi admitida a hipótese de ser esse gás absorvido pela pele da *Lepidosiren*. Os dados que agora apresento, neste particular não se distanciam dos de CUNNINGHAM (1932, p. 878). Este autor admite haver em *L. paradoxa* uma absorção cutânea do oxigênio (p. 886). De minha parte não tenho ainda provas conclusivas a respeito, pois ainda não está esclarecido o papel das brânquias e da mucosa buco-faríngea no processo.

CUNNINGHAM (l. c., p. 879) verificou ainda a emissão de considerável quantidade de CO₂ pela pele da *Lepidosiren*. Nas minhas experiências (v. Tabela) verifiquei liberação de apreciável quantidade de CO₂ na água. Suponho, como CUNNINGHAM, que isso se tenha dado através da pele.

Agradeço ao Dr. RUBENS SALOMÉ PEREIRA e a Srta. D. ANTONIETA BRUNO a valiosa cooperação para este estudo, fazendo as determinações do conteúdo mineral da água. Ao Sr. JOÃO EUFROSINO extendo meus agradecimentos pela inestimável assistência técnica prestada.

Metabolism of the Lung-fish, *Lepidosiren paradoxa*

The gaseous metabolism of the active Brazilian Dipnoan (*Lepidosiren paradoxa*) was followed in an all-glass chambers with three tubulatures closed with rubber stopcock. The central tubulature was the largest one, and by its stopcock passed: 1. the stirrer tube; 2. the siphon-tube to take off water for O₂ e CO₂ analyses by Winkler and van Slyke and Neill methods; 3. 1 mm copper tubing with expanded brass nipples at each end to permit attachment to the chamber and the Haldane analyser, and 4. a thermometer. Two lateral tubulatures support: 1. a manometer of water for measuring internal pressure and 2. through a 0.5 cm glass tubing the chamber was joined to an Erlenmeyer which was connected with the glass tube containing mineral oil.

When preparing the chamber for a metabolic run, the tubulatures were left open for 1-2 hours, the animal living in the bottom of the chamber containing 750 ml of tap-water. External barometric pressure, temperature within the chamber, pH of water, O₂ and CO₂ of water and air were recorded before and after each experiment. Time between beginning and end of the experiment varied from 4 to 8 hours.

Differences of internal pressure were corrected by introducing mineral oil into the Erlenmeyer. In this way the volume and pressure in the chamber remained constant.

All parts of the apparatus were put under water at 25°C in a 30 l. aquarium. The actual volume of gas within the chamber was determined

by the difference between the total volume of the chamber (included Erlenmeyer) and the volume of water plus that of the animal.

Some mineral contents of water were analysed micrometrically (see bibliography).

Table shows the results. Total O₂ absorbed (from water and from air) varies between 22.502 and 42.500 ml. The consumed from O₂ dissolved in water corresponds to about 2% of that absorbed from the air. The quantity of CO₂ expelled by the animal in water is more or less equivalent to that liberated in the air-chamber.

R.Q. of *L. paradoxa* is very low (0.1-0.3). These values are discussed and probably the long period of captivity and inadequate food are responsible for these results.

Analyses of mineral contents of water indicate that Na, Ca and P increase after the metabolic run. Traces of iron disappear very quickly after the animal is introduced into the chamber. These results are preliminary and other analyses will be made to determine the influence of these ions in the metabolic rate.

The results are discussed in front of those obtained by SMITH (1930) with the *Protopterus aethiopicus* and CUNNINGHAM (1932) with *L. paradoxa*.

Bibliografia

No trabalho anterior (Sawaya 1946) acha-se resumida a maior parte da bibliografia relativa à biologia da *L. paradoxa*. **Cunningham, J. T. 1932** — Experiments on the Interchange of Oxygen and Carbon Dioxide and the probable Emission of Oxygen by Male Symbranchus. Proc. Zool. Soc. London, 1932, III/IV, pp. 875-887, London. **Dontcheff, L. e Kayser, C. 1933**. Signification des quotiens respiratoires inférieurs à 0,7 chez certains poecilothermes. C. R. Acad. Sci., v. 201, f. 9, pp. 474-476, Paris. **Gillam, W. S. 1941** — A photometric method for determination of magnesium. Ind. Eng. Chem. (Anal. ed.). v. 3, pp. 499-501. Easton Penna. **Leva, E. 1940** — A colorimetric method for the determination of sodium with manganous-uranyl-acetate. J. Biol. Chem. v. 2 pp. 487-499, Baltimore. **Pereira, R. S. 1939** — Sur la détermination spectrophotométrique de l'acide phosphorique au moyen de la réaction céruleo-molybdique de Denigès. Bull. Soc. Chim. Biol., v. 21, (n.º 6), pp. 827-835, Paris. **1941** — A new photometric method for the determination of iron. J. Biol. Chem., v. 137, n.º 1, pp. 417-428, Baltimore. **1945** — Photometric determination of Potassium in biological materials. Ibid., v. 160, n.º 2, pp. 617-629. **Sawaya, P. 1946** — Sobre a biologia de alguns peixes de respiração aérea (*Lepidosiren paradoxa* Fitz. e *Arapaima gigas* Cuv.). Bol. Fac. Fil., Ciên. Letr. Univ. São Paulo, Zoologia n.º 11, pp. 255-286, 3 t., São Paulo. **Smith, H. W. 1930** — Metabolism of the Lung-fish, *Protopterus aethiopicus*. J. Biol. Chem., v. 88, n.º 1, pp. 97-130, Baltimore.

