

Aclimatação de peixe de respiração aérea facultativa a água hipóxica: afinidade pelo oxigênio do sangue e agentes alostéricos (*)

Roy E. Weber (1)
Stephen C. Wood (2)
Bonnie J. Davis (3)

Resumo

Afinidades pelo oxigênio do sangue, concentrações eritrocíticas de nucleosídeo trifosfato (NTP) e outros parâmetros hematológicos, foram medidos em peixes de respiração aérea facultativa do Amazonas, depois da aclimatação em água oxigenada ("normóxica") e água hipóxica ($PO_2 = 125$ a 135 e 20 a 25 mm Hg, respectivamente). No bagre, *Hypostomus* sp. e *Pterygoplichtys* sp. a hipóxia leva a intermitentes subidas à superfície para tomar ar, resultando em níveis mais baixos de NTP, principalmente pelo significativo decréscimo de guanosina 3-fosfato (GTP). Os subsequentes aumentos na afinidade pelo O_2 do sangue aparecem adaptados às tensões de O_2 internas médias em tempos mais baixos. Nenhuma troca semelhante foi vista na enguia *Synbranchus*, a qual respira quase que continuamente ar, quando mantida em água hipóxica. Os resultados, são discutidos em termos de sua significância adaptativa e comparada com os dados sobre a temperatura do peixe.

INTRODUÇÃO

O rio Amazonas contém a maior fauna ictiológica de água doce do mundo. As condições físico-químicas de suas águas variam grandemente, no espaço e no tempo e a fauna ictiológica concordantemente exhibe divergentes e múltiplas adaptações à fisiologia respiratória. Particularmente notável é a diversidade de adaptações orgânicas à respiração aérea (cf. Johansen, 1970) que parecem ter evoluído, em resposta às baixas tensões de O_2 geralmente encontradas nos brejos e nos igarapés do Amazonas. Isto inclui modificações das guelras a fim de que eles não se fechem no ar (enguia amazônica *Synbranchus*), o desenvolvimento das papilas bucais (enguia elétrica,

Electrophorus) e a modificação por trocas respiratórias gasosas da bexiga de ar (*Erythrinus*, *Arapaima*) ou aparelho gastrointestinal (os bagres *Ancistris*, *Hypostomus* e *Pterygoplichtys*). Muitos destes peixes são de respiração aérea facultativa os quais respiram por brânquias em água oxigenada, mas também respiram ar em água hipóxica. Este trabalho diz respeito às adaptações no sangue, seguindo a troca de respiração aquática para a aérea e vice-versa.

Estudos anteriores mostraram que a afinidade de O_2 no sangue do peixe em que falta a habilidade da respiração bimodal, é modulada pelas tensões de O_2 ambientais, principalmente através das variações nas concentrações eritrocíticas de nucleosídeos trifosfatos (NTP) adenosina trifosfato (ATP) guanosina trifosfato (GTP). (Wood & Johansen, 1972, 1973a; Wood *et al.* 1975; Geoghegan & Poluhovich, 1974; Weber *et al.*, 1975; Kaloustian & Poluhovich, 1976). Estes agentes alostéricos diminuem a afinidade de O_2 da hemoglobina visto que 2,3-difosforoglicerato (DPG) atua nos glóbulos vermelhos dos mamíferos (Benesch & Benesch, 1967; Chanutin & Curnish, 1967). Na enguia *Anguilla* foi notado que as diminuições de NTP dos glóbulos vermelhos sob condições hipóxicas, aumentam a afinidade de O_2 sanguíneo não somente pela interação alostérica direta reduzida, mas também, porque afeta a distribuição de Donnan, de prótons, através das membranas dos glóbulos vermelhos. Isto aumenta o pH intraeritrocítico das enguias em ambientes hipóxicos, e assim, a afinidade de O_2 da hemoglobina via o efeito Bohr (Wood & Johansen, 1973). Além disso, os efeitos dire-

(*) — Versão original inglesa publicada em *Comp. Biochem. Physiol.* vol. 62A (1). 1979.

(1) — Department of Zoophysiology, University of Aarhus, DK-8000 Aarhus C., Denmark.

(2) — Department of Physiology, University of New Mexico, Albuquerque, New Mexico 87131, U.S.A.

(3) — Department of Biology, San Francisco State University, San Francisco, California 94132, U.S.A.

tos de NTP parecem ser atribuíveis à alta sensibilidade do componente catódico da hemoglobina ao GTP. (Weber *et al.*, 1976).

Nossa participação na expedição do barco laboratório "Alpha Helix no rio Amazonas, próximo de Manaus, Brasil, deu-nos oportunidade para investigar a ocorrência de respostas adaptacionais correspondentes, no sangue de peixes com respiração aérea facultativa. Esta investigação diz respeito à adaptação à água hipóxica dos bagres *Hypostomus* sp. e *Pterygoplichthys* sp. nos quais o estômago foi modificado para servir nas trocas gasosas entre sangue e o ar ritmicamente respirado (Carter, 1935) e a enguia Amazônica, *Synbranchus marmoratus*. Estudos paralelos sobre os bagres investigaram as mudanças no balanço ácido-base e sangue-tampão associado com aclimação hipóxica (Wood *et al.*, 1978) e os efeitos dos fatores orgânicos maiores dos glóbulos vermelhos, sobre a ligação de O₂ das hemoglobinas fracionadas e compostas. (Weber & Wood, 1978).

MATERIAL E MÉTODOS

Os espécimes do bage *Hypostomus* sp. (*) *Pterygoplichthys* sp. (membros da família Loricariidae, que são extremamente distinguíveis pelo número de raios dorsais, 9 e 13 respectivamente) e da enguia da Amazônia *Synbranchus marmoratus* (Synbranchidae) foram obtidos do rio Solimões, cerca de 150km a oeste de Manaus, Brasil. Todos os espécimes da *Pterygoplichthys* usados, pertencem à "espécie I" (cf. Fink, 1977). Os bagres variaram de 50 a 115g de peso e as enguias de 160 a 550g. Exemplos de cada uma das espécies foram aclimatados, ou em água oxigenada ("normóxica") ou em água hipóxica por 4-7 dias, a cerca de 30°C nos aquários (90 X 50cm) contendo 25cm de água aproximadamente. As tensões de O₂ nos tanques normóxicos variaram entre 125 e 135 mm de Hg. Nos tanques hipóxicos, os peixes por si mesmos reduziram a tensão O₂ para um nível relativamente estável entre 20 e 25 mm de Hg. Ambos os grupos tinham acesso normal ao ar normal. Em água bem arejada, nenhuma respiração aérea foi observada. No meio ambiente hipóxico, no en-

tanto, o bage foi observado regularmente na superfície engolindo ar (aproximadamente cada 5 minutos). Em água hipóxica, o *Synbranchus* conservou seu focinho mais ou menos permanentemente acima da superfície da água.

Amostra de sangue foram tiradas através de punção cardíaca, utilizando-se seringas heparinizadas. Valores de hematócitos foram determinados pela centrifugação do sangue em tubos capilares. Tensões de O₂ puro ou com N₂ puro e misturados anaerobicamente em proporções fixadas de sangue completamente oxigenada e desoxigenada em tubos capilares de 125 µl para produzir níveis conhecidos de saturação de O₂. Um radiômetro BMS-2 Mk II foi usado para equilibrar as amostras de sangue, e os valores de PO₂ e pH foram medidos com eletrodos do Radiômetro, usando-se um BMS-3. Para determinar o efeito Bohr quantidades variáveis de CO₂ foram misturadas com os gases equilibrantes, usando-se bomba misturadora de gás Wösthoff.

As concentrações de hemoglobina foram determinadas espectrofotometricamente (espectrofotômetro Bechman DU), usando-se os coeficientes de extinção α e β para oxi-hemoglobina humana (Antonini & Brunori, 1971). Para as dosagens de concentração no sangue total, amostras de 20 µl foram rapidamente misturadas com alíquotas de 5 ml de água destilada. Experimentos de controle mostraram uma boa concordância entre estes valores e aqueles obtidos por conversão ao derivado de cianometoglobina (reagentes Clay Adams Co.). Os níveis totais de nucleosídeo trifosfato (NTP) no sangue, foram determinados usando-se o teste químico da Sigma. As contribuições de ATP e GTP foram estimadas pela cromatografia de camada como previamente descrita (Weber *et al.*, 1976). Os níveis de fosfato celular foram calculados a partir dos níveis de hematócitos, presumindo-se que todos os fosfatos orgânicos são intracelulares.

RESULTADOS E INTERPRETAÇÃO COMPARATIVA

A afinidade pelo oxigênio do sangue de *Hypostomus*, aclimatado à água hipóxica são significativamente maiores do que nos espécimes conservados em água oxigenada (normóxica") (Fig. 1). Em pH 7,4 e a 30°C, os valo-

(*) — *Hypostomus* é referido freqüentemente como *Plecostomus*.

res de P_{50} estão próximos de 15 e 25 mm Hg, respectivamente. Também na hipóxia resultou um efeito Bohr significativamente mais baixo ($\Delta \log P_{50}/\Delta pH = -0,18$ vs. $-0,32$ para peixes normóxicos).

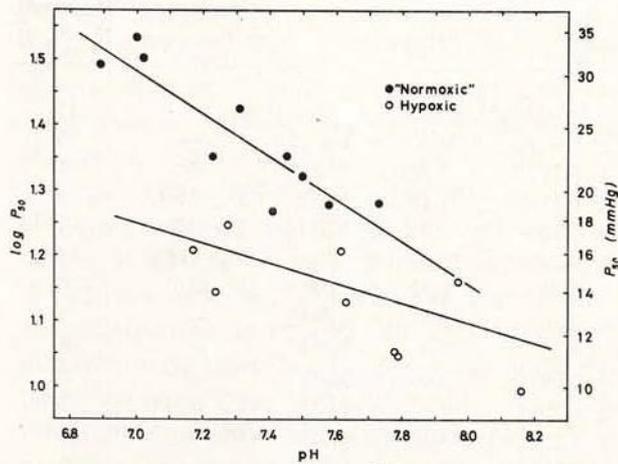


Fig. 1 — Tensão de semi-saturação de oxigênio (P_{50}) e sua dependência de pH do sangue de *Hypostomus* sp. aclimatados à água hipóxica ($0, PO_2 = 20 - 25$ mm Hg) e água "normóxica" ($0, PO_2 = 125 - 135$ mm Hg). As equações de regressão para espécies hipóxicas e "normóxicas" são respectivamente: $\log P_{50} = 2,5 - 0,18pH$ ($N = 9, r = -0,72$) espécies hipóxicas), e $\log P_{50} = 3,7 - 0,32pH$ ($N = 10, r = -0,89$) (espécies "normóxicas").

A afinidade pelo O_2 mais elevada nos peixes hipóxicos correlaciona-se com concentrações mais baixas de NTP (Tabela I, Fig. 2). A concentração inferior de fosfato em peixe hipóxico é também compatível com o efeito Bohr mais baixo nestes animais, em vista das ligações mais fortes dos anions fosfato, com a diminuição do pH. Separadamente destas interações alostéricas diretas, é provável que o nível inferior de NTP em eritrócitos de peixes hipóxicos aumentará posteriormente a afinidade de O_2 na hemoglobina, pelo seu efeito no pH intracelular (Duhm, 1971; Wood & Johansen, 1973a). A aclimação hipóxica induziu a uma diminuição similar nos níveis eritrocíticos de NTP em *Pterygoplichthys* (Tabela I, Fig. 2) e B. J. Davis (resultados inéditos) tinha observado a mesma resposta em *Ancistris chagresi*, uma espécie do Panamá.

A separação cromatográfica de NTP revelou que em ambos os bagres, o sangue de indivíduos normóxicos contém um pouco mais

GTP do que a ATP. Entretanto, considerando que o ATP diminuiu apenas ligeiramente durante a aclimação hipóxica, os níveis de GTP em *Hypostomus* e *Pterygoplichthys* diminuíram significativamente ($P < 0,001$ e $P < 0,01$, respectivamente). Estas descobertas (Tabela I, Fig. 2) sugerem que as trocas observadas na afinidade pelo O_2 do sangue são primariamente devidas às variações nos níveis eritrocíticos do GTP.

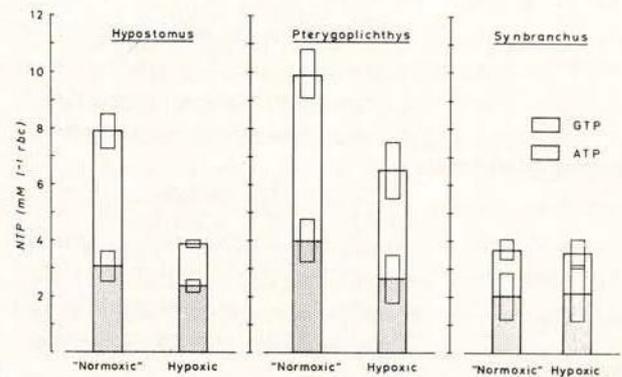


Fig. 2 — Concentrações em mM por litros de glóbulos vermelhos de ATP (escurecido) e GTP (branco) em *Hypostomus*, *Pterygoplichthys*, e *Synbranchus* aclimatados a água hipóxica ou "normóxica".

Eritrócitos de *Synbranchus* continham um pouco mais de ATP do que GTP (cerca de 2,0 e 1,5 $mM \times l^{-1}$ nos glóbulos vermelhos, respectivamente) (Tabela I). Em contraste aos resultados nos glóbulos vermelhos do bagre, nenhuma troca significativa no nível de qualquer fosfato foi observado em condições de aclimação hipóxica.

Em nenhuma das espécies estudadas a aclimação hipóxica afetou significativamente o hematócrito. Os níveis de hemoglobina no sangue do bagre, indicaram as capacidades de O_2 de cerca de 11 e 9 vol. % aclimatados "hipóxicos" e "normóxicos", respectivamente; em *Synbranchus* os valores correspondentes foram de 22 vol % (Tabela I). Estes peixes então diferem da enguia européia *Anguilla* onde um nível aumentado de hemoglobina sob condição hipóxica aumenta a utilização do O_2 ligado à hemoglobina, resultando em um rendimento cardíaco menor para uma dada liberação de O_2 aos tecidos (Wood & Johansen, 1973b).

TABELA I — As afinidades de oxigênio e características hematológicas do sangue de peixe com respiração aérea facultativa aclimatadas a condições “normóxicas” ($PO_2 = 125$ a 135 mm Hg) e hipóxicas ($PO_2 = 20$ a 25 mm Hg). (As capacidades de oxigênio do sangue estão calculadas pela concentração de hemoglobina).

Espécie		“Normóxica”	“Hipóxica”	Diferenças Significativas	Graus de liberdade (N+N ₂ -2)
Hypostomus	afinidade de oxigênio	log P ₅₀ = 3,7-0,32pH	log P ₅₀ = 2,5-0,18pH	—	17
	Hct	31,5 (± 6,0)	31,1 (± 1,4)	—	6
	[ATP] (mM/1 célula)	3,07 (± 0,54)	2,38 (± 0,23)	—	4
	[GTP] (mM/1 célula)	4,84 (± 0,61)	1,49 (± 0,11)	P < 0,001	4
	[ATP+GTP] (mM/1 célula)	7,91 (± 1,10)	3,87 (± 0,21)	P < 0,01	4
	[Heme] (mM/1 célula)	15,59 (± 0,22)	12,63 (± 0,64)	P < 0,001	6
	[ATP+GTP]/[heme] (M/M)	0,47 (± 0,09)	0,28 (± 0,04)	P < 0,01	6
	O ₂ capacidade (vol. %, sangue)	11,15 (± 2,36)	8,81 (± 0,64)	—	6
Pterygoplichthys	Hct	28,7 (± 6,1)	23,4 (± 2,9)	—	6
	[ATP] (mM/1 célula)	3,99 (± 0,76)	3,66 (± 0,66)	—	6
	[GTP] (mM/1 célula)	5,90 (± 0,92)	2,88 (± 1,00)	(P < 0,01)	6
	[ATP+GTP] (mM/1 célula)	9,89 (± 1,63)	6,54 (± 1,83)	(P < 0,05)	6
	[Heme] (mM/1 célula)	17,40 (± 2,02)	16,48 (± 1,89)	—	6
	[ATP+GTP]/[heme] (M/M)	0,57 (± 0,10)	0,40 (± 0,12)	—	6
	O ₂ capacidade (vol. %, sangue)	11,05 (± 1,89)	8,64 (± 1,60)	—	6
	Synbranchus	Hct	48,8 (± 5,4)	53,5 (± 8,1)	—
[ATP] (mM/1 célula)		2,03 (± 0,86)	2,16 (± 1,03)	—	5
[GTP] (mM/1 célula)		1,67 (± 0,37)	1,37 (± 0,57)	—	5
[ATP+GTP] (mM/1 célula)		3,70 (± 1,21)	3,54 (± 0,61)	—	5
[Heme] (mM/1 célula)		20,59 (± 0,69)	17,63 (± 2,44)	—	5
ATP+GTP/[heme] (M/M)		0,18 (± 0,06)	0,20 (± 0,05)	—	5
O ₂ capacidade (vol. %, sangue)		22,49 (± 2,68)	21,08 (± 4,23)	—	5

DISCUSSÃO

As afinidades mais elevadas pelo O₂ no sangue e as mais baixas concentrações de cofatores eritrocíticos alostéricos nos peixes hipóxicos, foram inesperados na base da suposição de que durante a respiração aérea as tensões de oxigênio sanguíneo serão pelo menos tão altas quanto as tensões quando o peixe respira água bem oxigenada. As respostas às propriedades respiratórias do sangue do bagre, entretanto, relembram aquelas previamente registradas em peixes das regiões temperadas, nos quais falta a habilidade de respiração bimodal, onde afinidade aumentada de O₂ em peixes hipóxicos melhora a carga do O₂ do sangue nas guelras e a utilização de O₂ pelos tecidos. Os resultados indicam que, apesar da respiração aérea, as tensões internas de O₂ em bagres, expostos a águas hipóxicas diminuíram a níveis que são bastante baixos para induzir depressão de fosfato eritrocítico e que o au-

mento seguinte da afinidade pelo O₂ no sangue é uma resposta às tensões de O₂ internas médias em vez das tensões de O₂ no médio respiratório (ar).

Há diversas maneiras pelas quais os aumentos das afinidades pelo O₂ no sangue podem ser adaptativos ao transporte eficiente de O₂ durante a respiração aérea. Primeiramente ele favorecerá a maior depressão de O₂ do ar respirado pelo peixe, seguindo intervalos maiores de tempo entre as emergências para a superfície da água. Em segundo lugar, poderia ser também importante em vista da evidência da troca gasosa menos eficiente durante a respiração aérea, resultando em tensões inferiores de O₂ do sangue (Carter, 1931). Nas guelras, a vascularização é mais densa, o sangue está em contato mais restrito com a superfície respiratória, e a área respiratória geralmente excede esta no intestino. Carter (1931) estimou que no *Hoplosternum* a super-

ficie intestinal respiratória é aproximadamente a metade desta nas guelras da maioria dos outros peixes.

A pressão seletiva favorecendo a alta afinidade pelo O_2 do sangue pode também depender das adaptações circulatórias comuns nos peixes de respiração aérea. Isto se refere ao desvio respiratório do sangue referente no sistema venoso, que resulta na perfusão arterial sistêmica com sangue venoso misturado, (Carter 1935; Johansen 1970) pelo qual uma afinidade pelo O_2 aumentada melhoraria a perda de eficiência causada pela condição mista do sangue arterial. Semelhante significância adaptativa está de acordo com a relativamente alta afinidade pelo O_2 do sangue da enguia elétrica, *Electrophorus* (Johansen et al. 1968). Finalmente, a afinidade aumentada pelo O_2 do sangue em bagre durante a respiração aérea, deveria diminuir a perda de O_2 nas águas hipóxicas em redor.

Nas espécies de bagres estudadas, as trocas quantitativas nos cofatores de fosfato eritrocítico indicam que o GTP desempenhará um papel mais importante do que o ATP na modulação da afinidade pelo oxigênio sanguíneo. Isto está de acordo com as observações sobre outros peixes, que contenham significativas concentrações eritrocíticas de GTP tais como a enguia *Anguilla* ou o peixe pulmonado *Protopterus* (Weber et al., 1975, 1976; Johansen et al., 1976). Tentou-se especular qual é o papel do GTP nestas espécies isentas de ATP envolvido no metabolismo energético dos eritrócitos de peixes metabolicamente ativos. Correlacionando-se o maior efeito de GTP do que ATP sobre a afinidade pelo oxigênio da hemoglobina do peixe (Lykkeboe et al., 1975; Weber et al., 1975; Kaloustian & Poluhowich 1976; Weber & Wood, 1978) está o descobrimento (Weber, inédito) de que a influência modulante do GTP sobre a afinidade de O_2 é menos inibida do que a de ATP nas mesmas concentrações, pela complexidade com cátions bivalentes.

Um problema associado com a adoção do hábito de respiração aérea é uma retenção elevada de CO_2 (Howell, 1970), o qual poderia diminuir o pH do sangue e assim a afinidade do O_2 afetando o resultado dos níveis diminuí-

dos de cofator nos espécimes aclimatados a hipóxia, conforme foi mostrado em um trabalho desta coletânea (Wood et al., 1978) isto é prevenido no bagre pelo aumento de bicarbonato no plasma, o qual estabiliza o pH do sangue durante a respiração aérea.

A ausência de respostas hipóxicas similares na afinidade de O_2 e nas concentrações do cofator no sangue de *Synbranchus* é consistente com seu comportamento respiratório diferente, e com a observação (Johansen, 1966) de que as saturações arteriais de O_2 durante a respiração aérea excedem daquelas durante a respiração aquática que mostram a alta eficiência das guelras nas trocas gasosas aéreas. A ausência de diminuições adaptativas nos níveis eritrocíticos de NTP nesta espécie reforça assim a interpretação de que os níveis diminuídos de fosfato dos glóbulos vermelhos no bagre hipóxico são adaptadas ao transporte interno de O_2 a baixas tensões de O_2 .

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi feita a bordo do barco "Alpha Helix" na expedição ao Amazonas em 1976 e foi financiada pela bolsa PCM-75-06451 da Nation Science Foundation (NSF), da bolsa HL-18026 (S.W.) dos National Institutes of Health e da bolsa 511-6734 (R.E.W.) do Danish Natural Science Research Council. Agradecimentos são também devidos ao governo brasileiro por permitir a expedição.

SUMMARY

Blood oxygen affinities, erythrocytic nucleoside triphosphate concentrations (NTP) and other hematological parameters were measured in facultative air-breathing fish from the Amazon after acclimation to well aerated ("normoxic") and hypoxic water ($PO_2 = 125$ to 135 and 20 to 25 mm, respectively). In the armored catfish *Hypostomus* sp. and *Pterygoplichthys* sp., hypoxia induces intermittent surfacing to gulp air and results in lower NTP levels, chiefly through significant decreases in guanosine triphosphate (GTP). The subsequent increases in blood O_2 affinity appear adaptive to lowered time average internal O_2 tensions. No similar changes were seen in the eel *Synbranchus* which breathes air almost continuously when kept in hypoxic water. The results are discussed in terms of their adaptive significance, and compared with data on temperate fish.

BIBLIOGRAFIA

- ANTONINI, E. & BRUNORI, M.
1971 — Hemoglobin and myoglobin in their reaction with ligands. Amsterdam, North Holland Publishing, p.p. 13-39.
- BENESCH, R. & BENESCH, R.E.
1967 — The effect of organic phosphates from the human erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 26:162-167.
- CARTER, G.S.
1931 — Aquatic and aerial respiration in animals. *Biol. Rev.*, 6:1-35.
1935 — Reports of the Cambridge expedition to British Guiana, 1933. Respiratory adaptations of the fishes of the forest waters, with descriptions of the accessory respiratory organs of *Electrophorus electricus*. (Linn.) (= *Gynotus electricus* auctt.) and *Plecostomus plecostomus* (Linn.). *J. Linn. Soc. London*, 39:219-233.
- CHANUTIN, A. & CURNISH, R.
1967 — Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human hemoglobin. *Arch. Biochem. Biophys.*, 121:96-101.
- DUHM, J.
1971 — Effects of 2,3 diphosphoglycerate and other organic phosphate compounds on oxygen affinity and intracellular pH of human erythrocytes. *Pflügers Arch.*, 326:341-356.
- EDWARDS, M.J. & MARTIN, R.T.
1967 — Mixing technique for the oxygen-hemoglobin equilibrium and Bohr effect. *J. Appl. Physiol.*, 21:1898-1902.
- GEOGHEGAN, W.D. & POLUHOWICH, J.J.
1974 — The major organic phosphates of the American eel *Anguilla rostrata*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 49B; 281-290.
- HOWELL, B.J.
1970 — Acid-base balance in transition from water breathing to air breathing. *Fed. Proc.*, 1130-1134.
- JOHANSEN, K.
1966 — Air breathing in the teleost *Synbranchus marmoratus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 18:383-395.
1970 — Air breathing in fishes. In: *Fish Physiology*, v. 4. New York, Academic Press.
- JOHANSEN, K.; LENFANT, C.; SCHMIDT-NIELSEN, K. & PETERSEN, J.A.
1968 — Gas exchange and control of breathing in the electric eel, *Electrophorus electricus*. *Z. Vergl. Physiol.*, 61:137-163.
- JOHANSEN, K.; LYKKEBOE, G.; WEBER, R.R. & MALOY, G.M.O.
1976 — Respiratory properties of blood in awake and estivating lungfish, *Protopterus amphibius*. *Respir. Physiol.*, 27:335-345.
- KALOUSTIAN, K.V. & POLUHOWICH, J.J.
1976 — The role of organic phosphates in modulating the oxygenation behaviour of eel haemoglobins. *Comp. Biochem. Physiol.*, 53A:245-248.
- LYKKEBOE, G.; JOHANSEN, K. & MALOY, G.M.O.
1975 — Functional properties of hemoglobins in the teleost *Tilapia grahami*. *J. Comp. Physiol.*, 104:1-11.
- WEBER, R.E.; LYKKEBOE, G. & JOHANSEN, K.
1975 — Biochemical aspects of the adaptation of hemoglobin-oxygen affinity of eels to hypoxia. *Life Sciences*, 17:1345-1350.
1976 — Physiological properties of eel hemoglobin: Hypoxic acclimation, phosphate effects and multiplicity. *J. Exp. Biol.*, 64:75-88.
- WEBER, R.E. & WOOD, S.C.
1978 — Efeito de nucleosídeo trifosfato eritrocítico no equilíbrio de oxigênio de hemoglobinas completa e fracionada de *Hypostomus* e *Pterygoplichthys* "bagre" aeróbicos facultativos. *Acta Amazonica* 8(4): Suplemento. (Este volume).
- WOOD, S.C. & JOHANSEN, K.
1972 — Adaptation to hypoxia by increased HbO₂ affinity and decreased red cell ATP concentration. *Nature New Biol.*, 237:278-279.
1973a — Organic phosphate metabolism in nucleated red cells: Influence of hypoxia on eel Hb-O₂ affinity. *Neth. J. Sea. Res.*, 7:328-338.
1973b — Blood oxygen transport and acidbase balance in eels during hypoxia. *Am. J. Physiol.*, 225:829-851.
- WOOD, S.C.; JOHANSEN, K. & WEBER, R.E.
1975 — Effects of ambient PO₂ on hemoglobin-oxygen affinity and red cell ATP concentrations in a benthic fish, *Pleuronectes platessa*. *Respir. Physiol.*, 25: 259-267.
- WOOD, S.C.; WEBER, R.E. & DAVIS, B.J.
1978 — Efeitos da respiração aérea sobre o balanço ácido-base no cascudo *Hypostomus* sp. *Acta Amazonica* 8(4): Suplemento. (Este volume).