

Micropogonias furnieri (DESMAREST, 1823): ESTUDO QUALI-QUANTITATIVO DA VARIAÇÃO ONTOGENÉTICA DO PADRÃO ELETROFORÉTICO DE PROTEÍNAS GERAIS DO CRISTALINO*

Anna Emília Amato de Moraes VAZZOLER; PHAN Van Ngan; Whilar Malgor Thomas DEMASI¹; Hana SUZUKI² & Vicente GOMES²

Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (Caixa Postal 9075, 01000 São Paulo, SP)

Synopsis

In population studies based on genetic-biochemical markers, variations induced by ontogenetic development, sex and gonad maturation act as a potencial source of bias. These aspects were analysed for patterns of eye-lens proteins of Micropogonias furnieri (Sciaenidae), following electrophoregrams obtained from 546 specimens ranging from 98 and 710 mm in length, collected along the southeastern Brazilian coast (23°S - 29°21'S). Proteins were extracted in 0.9% NaCl solution, processed on cellulose acetate membranes in a bridge buffer discontinuous system trisglycine-barbital, for 25 minutes at 300 V, and stained with Ponceau S. The basic pattern obtained was divided into 4 sets and 8 fractions, that were evaluated by scanning in a ATAGO-QUICK densitometer. No differences were found in the patterns of right and left eye-lens, male and female and maturity stages for the same length class. Patterns variations related to ontogenetic development were found: set I present a decrease, while sets II, III and IV show an increase in their relative concentration. Set II showed two fractions for young (until 300-350 mm) and only one for adults. Fractions I, II-1, II-2, III-3 become stable above 300-350 mm and I and IV-2 above 450-500 mm length. For the utilization of this genetic-biochemical markers and according to the study purpose the comparison of fractions or patterns should consider:

- a - only fractions whose relative concentration were stable (III-1, III-2 and IV-1) or,*
- b - only electrophoregrams from fishes of narrow total length range, without ontogenetic influence or,*
- c - only patterns of individuals with total length above of which the fractions concentration become stable (II-2 and III-3 above 300 mm and/or I and IV-2 above 450 mm) or,*
- d - only the basic patterns of the adults, when fractions number and relative concentration become stable. This last alternative (d) seems to be more appropriate either in interspecific studies when the aim is restricted to spacial populations delimitation, or in taxonomic studies, when there are no problems concerning to the classification of young forms.*

Descriptors: *Micropogonias furnieri*, Sciaenidae, Electrophoresis, Eye-lens, Proteins, Ontogenetic variation, Southeastern coast: Brazil.

Descritores: *Micropogonias furnieri*, Sciaenidae, Eletroforese, Proteínas, Cristalino, Variação ontogenética, Costa sudeste: Brasil.

(*) Trabalho realizado com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. (Proc. 75/387).

(1) Bolsista do CNPq.

(2) Bolsista da FAPESP.

Publ. n. 632 do Inst. oceanogr. da Usp.

Introdução

A perspectiva de estudos bioquímicos sobre proteínas constituir fonte de informação taxonômica foi ressaltada por Sibley (1962) e, nestas duas últimas décadas, sua aplicação a peixes, visando esclarecer tanto problemas

a nível interespecífico (Nyman, 1965; Cobb *et al.*, 1968; Haen & O'Rourke, 1969; Sharp, 1969; Toledo Filho, 1969; Cequea & Pérez, 1971; Wilkins, 1972; De Mahieu, 1974; Eckroat, 1974; González *et al.*, 1974; Hattingh, 1974; Morel, 1974; Weinstein & Yerger, 1976a; Ferguson *et al.*, 1978; Smith & Gilman, 1982) como intra-específico (Sick, 1961, 1965a, b; Smith, 1962, 1966a, b, 1969; Frydenberg *et al.*, 1965; Peterson & Smith, 1969; Baron, 1973; Allendorf *et al.*, 1976; Blake, 1976; Vazzoler & Phan, 1976; Weinstein & Yerger, 1976b; Vrooman *et al.*, 1981), vem tendo importância crescente. Numachi (1972) comenta a contribuição dos marcadores genético-bioquímicos no progresso de estudos sobre genética de peixes e sua aplicação a problemas de biologia pesqueira, e Ihssen *et al.* (1981a) fazem uma revisão e tecem comentários sobre os métodos de identificação de estoques de peixes, incluindo os bioquímicos.

Através da utilização desses métodos procura-se analisar diferenças moleculares que reflitam variações genéticas entre indivíduos de taxa diferentes ou de uma mesma espécie. Neste caso, o estudo de variações genéticas intra-específicas permite identificar e delimitar populações e estabelecer seu grau de isolamento reprodutivo (Smith & Goldstein, 1967; Peterson & Shehadeh, 1971; Eckroat, 1973; Konishi & Taniguchi, 1975), informações básicas para estudos sobre dinâmica populacional. Além disso, esses estudos complementam a informação taxonômica baseada em caracteres descritivos, merísticos e morfométricos, os quais apresentam variações em função de fatores fisiológicos e ambientais (Hubbs, 1922, 1926; Vladikov, 1934; Täning, 1952; Barlow, 1961; Orska, 1962; Vazzoler, 1971; Yamaguti, 1979).

Considerando a relativa complexidade da estrutura das espécies de peixes marinhos e de seu comportamento na costa sudeste-sul do Brasil, nosso grupo vem se dedicando ao estudo desse problema através da análise de caracteres merísticos e morfométricos e de aspectos biológicos sobre crescimento e reprodução (Vazzoler, 1971; Paiva Filho *et al.*, 1976a, b; Saccardo, 1976, 1980; Vargas, 1976; Rossi-Wongtschowski, 1977, 1978; Braga, 1978, 1982; Zaneti-Prado, 1978; Kawakami de Re-

sende, 1979; Yamaguti, 1979; Vazzoler *et al.*, 1982; Rittencourt, 1982; Rossi-Wongtschowski *et al.*, 1982; Gomes *et al.*, 1983a, b; Isaac-Nahum *et al.*, 1983), procurando estabelecer um padrão de diversificação das espécies que ocupam esta região e fornecer subsídios para estudos quantitativos sobre as mesmas.

Apesar do estudo de caracteres anatómicos ter indicado, em vários casos, uma estrutura da espécie semelhante àquela obtida usando-se dados alternativos (Henricson & Nyman, 1975; Sharp *et al.*, 1978; Casselman *et al.*, 1981; Ihssen *et al.*, 1981b), com a evolução de nossos estudos tornou-se necessário recorrer a métodos mais precisos para delimitar as populações das espécies, compreender seu comportamento e determinar seu grau de isolamento reprodutivo.

O primeiro estudo com enfoque populacional, no Brasil, com base em métodos bioquímicos, foi desenvolvido por Vazzoler & Phan (1976), analisando os padrões eletroforéticos de proteínas gerais de cristalino de exemplares do extrato adulto de *Sardinella brasiliensis*.

No caso de *Micropogonias furnieri*, os estudos sobre biologia, comportamento e estrutura encontram-se bem avançados (Vazzoler, G., 1962, 1975; Vazzoler, 1962, 1963, 1965, 1969, 1971; Vazzoler & Sá, 1963; Vazzoler & Santos, 1965; Haimovici, 1977; Vazzoler & Phan, 1981; Isaac-Nahum, 1981; Isaac-Nahum & Vazzoler, 1983), e evidenciam a ocorrência de duas populações na região entre Cabo Frio (23°S) e Chuí (33°S): a população I, que ocupa a área entre 23°S - 29°S, e a população II entre 29°S - 33°S (Vazzoler, 1971). Com o intuito de aprofundar os conhecimentos sobre essas populações foram analisados os padrões eletroforéticos de hemoglobinas (Vazzoler *et al.*, 1976), de proteínas do plasma (Phan & Vazzoler, 1976), de proteínas gerais de músculo esquelético (Suzuki *et al.*, 1983a, b) e de cristalinos (Phan *et al.*, 1977; Vazzoler & Phan, 1981). Os resultados desses estudos demonstraram vantagens na utilização de cristalinos, considerando-se a facilidade de manuseio, a simplicidade da técnica e seu baixo custo, o que permite a análise de um grande número de exemplares, necessá-

rio para estudos populacionais.

A grande maioria dos estudos com base em padrões eletroforéticos de proteínas de cristalinos aborda apenas aspectos qualitativos dos padrões e não considera possíveis variações que possam ocorrer com o desenvolvimento. Smith & Gilman (1982) acentuam a carência de estudos abordando este aspecto e sua importância como pré-requisito para a utilização dos resultados em estudos populacionais e taxonômicos.

Neste trabalho analisamos as variações quali-quantitativas do padrão eletroforético de proteínas gerais de cristalino de *M. furnieri* relacionadas com o desenvolvimento, e sugerimos alternativas para utilização do método em estudos populacionais e taxonômicos.

Material e métodos

O material para desenvolvimento deste estudo foi coletado em mar aberto, ao longo da área ocupada pela população I da espécie, e na região estuarino-lagunar de Cananéia (25°S), frente à área de desova mais intensa dessa população (Vazzoler, 1971).

Com esse esquema de amostragem visou-se obter exemplares de ambos os sexos, nos distintos estádios de maturidade e abrangendo a maior amplitude possível de classes de comprimento total. Os exemplares de mar aberto, num total de 254, foram coletados em 28 estações oceanográficas durante os 04 cruzeiros do Programa FAUNEC*, em 1975, na área entre 23°S e 29°21'S, até a isóbata de 100 m, abrangendo uma amplitude de comprimento de 150 a 650 mm. Na região de Cananéia as coletas foram mensais, no período de fevereiro de 1975 a fevereiro de 1976, num total de 292 exemplares com comprimento entre 98 a 710 mm (Fig. 1).

Dos 546 exemplares, mantidos vivos, foram retirados os cristalinos por incisão da córnea e leve pressão lateral com

pinça de pontas curvas; os cristalinos, livres de qualquer material aderido, foram colocados em "pró-vials" neutros e estocados em bujões de nitrogênio líquido, até a chegada ao laboratório. Neste, foram transferidos para congelador a -15°C, até sua análise, realizada logo a seguir. De cada exemplar, no campo, foram anotados dados sobre comprimento total (mm), sexo e estágio de maturidade, segundo escala descrita em Vazzoler (*op. cit.*).

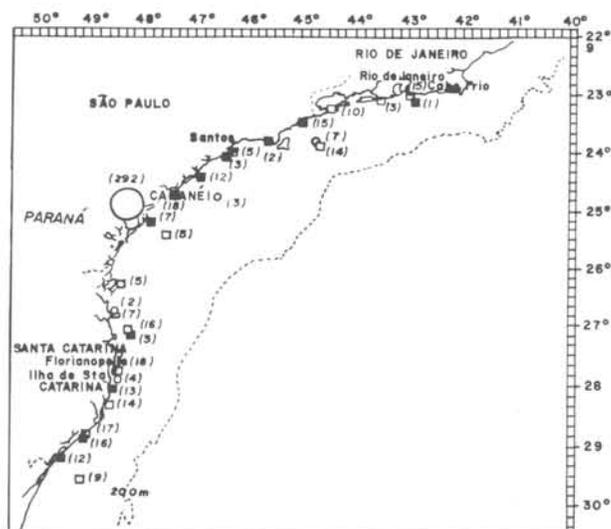


Fig. 1. Mapa da área da costa brasileira onde foram realizadas coletas de *M. furnieri*: em mar aberto (23°S - 29°21'S) e na região estuarino lagunar de Cananéia (25°S).

Foram testadas várias soluções de extração, tendo-se selecionado a de NaCl 0,9%, utilizada em proporção de 4 unidades de volume (v) para 1 unidade de peso do cristalino (w). Do mesmo modo, testamos como suporte o gel de amido e acetato de celulose, tendo-se optado pelo uso deste último; finalmente, dentre os tampões testados, selecionou-se o sistema descontínuo tampão barbital pH 8,6 no cátodo e trisglicina pH 9,5 no ânodo, a corrente contínua de 300 V e o tempo de operação de 25 minutos.

Testou-se, ainda, a possível variação entre os padrões do cristalino esquerdo e direito de um mesmo exemplar, e de exemplares de mesmo tamanho, de sexos distintos, num mesmo estágio de maturidade. Os resultados mostraram não ocorrer diferenças entre cristalinos esquerdo e di-

(*)PROGRAMA FAUNA NECTÔNICA: Departamento de Oceanografia Biológica do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. Realizado com o N/Oc. "Prof. W. Besnard" pelo Dr Gelso Vazzoler e equipe.

reito para ambos os sexos, nos diferentes estádios de maturidade. Desse modo é indiferente analisarmos o par ou apenas um dos cristalinos para o estudo.

Estabelecidas as condições de análise, no momento desta os cristalinos eram transferidos do congelador para geladeira, para descongelamento lento, pesados em décimos de milésimos de gramo e macerados em solução de NaCl 0,9% (1w:4v). A maceração era efetuada utilizando-se um motor Singer, ao qual eram adaptados bastonetes de plástico flexível neutro, mantendo-se a rotação até completa homogeneização dos cristalinos; o macerado assim obtido permanecia uma noite em geladeira, sendo a seguir centrifugado a 3.500 rpm, em centrífuga clínica, durante 30 minutos, à temperatura ambiente. O extrato sobrenadante era transferido para tubos de Durhan, selados com Parafilm, sendo mantidos em geladeira até a conclusão dessa etapa. A concentração de proteínas solúveis nos estratos era determinada com auxílio de um refratômetro para proteínas, ATAGO. Imediatamente a seguir, os extratos eram submetidos a análise eletroforética, sendo aplicadas 8 amostras por membrana de acetato de celulose (Cellogel; 5,7 x 14 cm).

As membranas foram submetidas às condições anteriormente descritas e coradas em solução de Ponceau S 0,5% em ácido tricloroacético 5%; a descoloração foi realizada em 4 banhos sucessivos de ácido acético 5%, evidenciando-se as bandas protéicas, o que permite análise visual qualitativa dos padrões.

Para análise quantitativa as membranas foram transparentizadas sob luz infra-vermelha, após banhos sucessivos em metanol p.a. (30 segundos) e solução de 85 metanol: 14 ácido acético: 1 glicerol (1 minuto) e distensão sobre placas de vidro, sem deixar bolhas de ar.

Após a transparentização os padrões eram numerados, individualizados e submetidos a análise densitométrica em densitômetro ATAGO-QUICK, com integrador. Considerando que a coloração é estequiométrica, foi calculada a concentração relativa de cada fração protéica identificada pela análise eletroforética dos extratos dos

cristalinos dos 546 exemplares.

Os dados obtidos foram grupados por classe de comprimento de 50 mm, por sexo e por estádio de maturidade, e calculadas as médias das concentrações relativas, seus desvios padrão e intervalos de confiança. A análise dos resultados mostrou não ocorrerem diferenças entre estádios, para cada sexo, tendo-se grupado os dados para machos e fêmeas. A análise destes, também, não evidenciou diferenças entre sexos, o que nos levou a grupá-los, realizando a análise final apenas em função do comprimento dos exemplares (Figs 4-7).

Resultados

O padrão obtido para proteínas gerais de cristalino de *Micropogonias furnieri*, população I, foi dividido em quatro conjuntos de frações protéicas, estando esquematizado na Figura 2, que corresponde ao padrão de um exemplar da classe de 200-250 mm:

- Conjunto I: o mais catódico, apresentando apenas uma fração, denominada I;
- Conjunto II: composto por duas frações, II-1 e II-2;
- Conjunto III: apresentando três frações, III-1, III-2 e III-3;
- Conjunto IV: o mais anódico, composto por duas frações, IV-1 e IV-2.

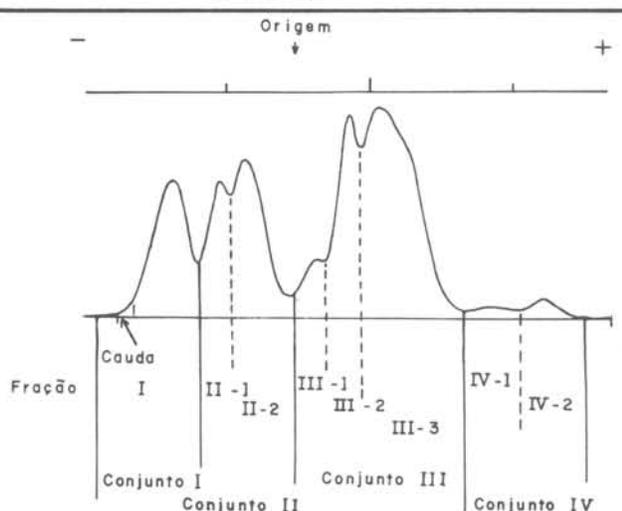


Fig. 2. Curva densitométrica de um eletroferograma de proteínas gerais de cristalino de *M. furnieri*, com a denominação dos 4 conjuntos e 8 frações protéicas.

Como já referido, na seqüência de análise dos dados, não constatou-se diferenças entre os padrões de cristalino esquerdo e direito de um mesmo exemplar, entre padrões de exemplares de sexos distintos e em diferentes estádios de maturidade, de um mesmo tamanho.

A análise dos 546 padrões de exemplares de diferentes comprimentos indicou a existência de variações quali-quantitativas relacionadas ao desenvolvimento ontogenético (Fig. 3).

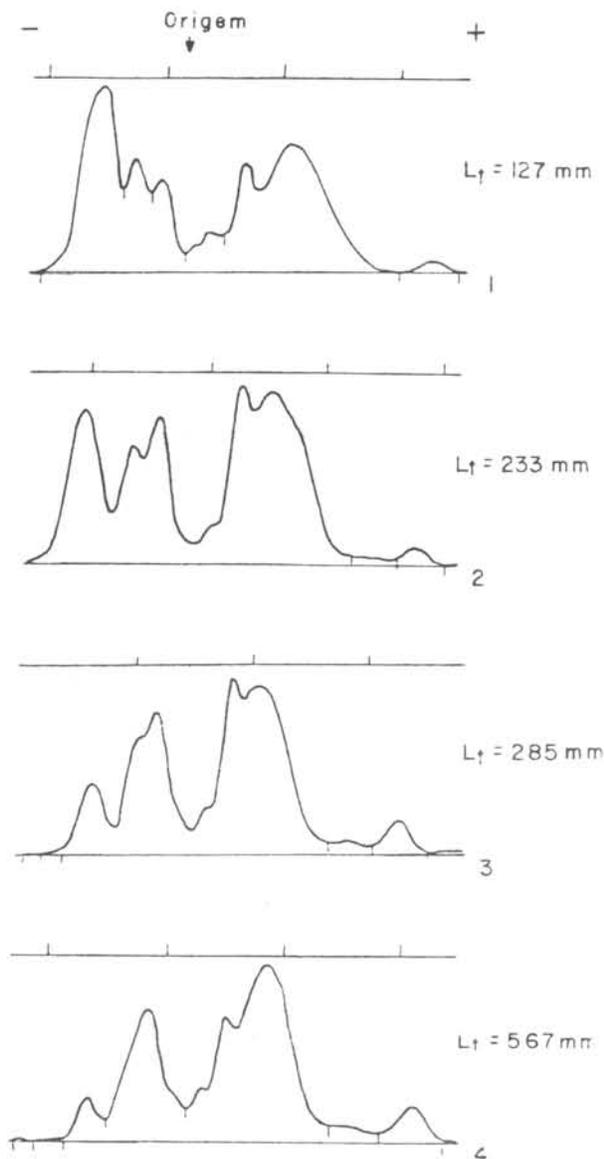


Fig. 3. Curvas densitométricas de eletroferogramas de proteínas gerais de cristalinos de 4 exemplares de *M. furnieri* com comprimentos totais crescentes.

A análise dos dados sobre concentração de cada fração protéica, que refletem o comportamento das mesmas ao longo da vida do animal, evidenciou alterações marcantes durante o desenvolvimento de *M. furnieri* (Figs 4-7).

O conjunto I (mais catódico), com apenas a fração I, apresenta queda acentuada em sua concentração relativa (%), em cristalinos de indivíduos entre as classes de comprimento de 100-150 e 300-350, atenuando-se até a de 450-500 mm, estabilizando-se para comprimentos maiores (Fig. 4). 0

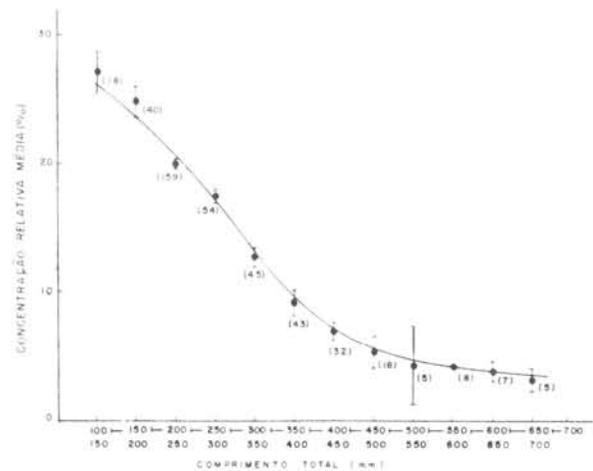


Fig. 4. Representação da variação da concentração relativa média (%) do conjunto I, fração I, com o incremento em comprimento total, para *M. furnieri*, população I. (As barras verticais representam o intervalo de confiança da média e os números entre parênteses o de cristalinos analisados).

conjunto II, para as fases iniciais até 300-350 mm, apresenta incremento na concentração relativa (%), estabilizando-se para exemplares acima dessa classe de comprimento. As duas frações desse conjunto apresentam comportamentos distintos no intervalo de classes de comprimento em que o conjunto varia (100-150 a 300-350 mm): a fração II-1 mostra queda em sua concentração relativa, enquanto a II-2, incremento, sendo que a combinação da variação dos dois componentes determina a tendência do conjunto (Fig. 5). A partir da classe

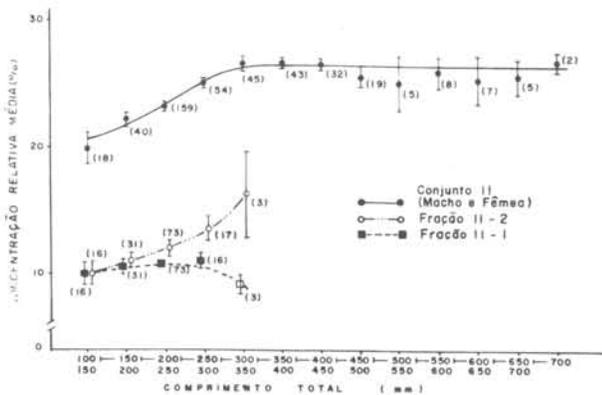


Fig. 5. Representação da variação da concentração relativa média (%) do conjunto II, frações II-1 e II-2, com o incremento em comprimento total, para *M. furnieri*, população I. (As barras verticais representam o intervalo de confiança da média e os números entre parêntesis o de cristalinis analisados).

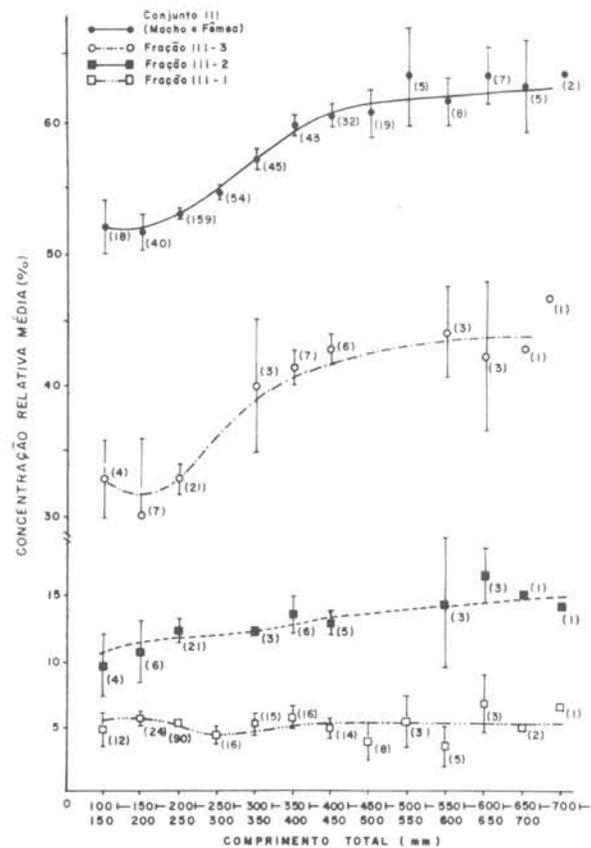


Fig. 6. Representação da variação da concentração relativa média (%) do conjunto III, frações III-1, III-2 e III-3, com o incremento em comprimento total, para *M. furnieri*, população I. (As barras verticais representam o intervalo de confiança da média e os números entre parêntesis o de cristalinis analisados).

de 300-350 mm, a fração II-1 apresenta tendência anódica e, com a queda em sua concentração relativa, confunde-se com a II-2, passando a constituir uma única fração, não ocorrendo mais separação nas curvas densitométricas (Fig. 5). O conjunto III apresenta leve tendência de aumento em sua concentração relativa até a classe de 200-250 mm, a qual acentua-se até 400-450 mm, sendo que a partir desse comprimento estabiliza-se. As três frações que integram esse conjunto apresentam comportamentos distintos: as frações III-1 e III-2 são praticamente estáveis, enquanto a III-3 varia como descrito para o conjunto, ou seja, é a variação dessa fração que determina a do conjunto (Fig. 6). O conjunto IV mostra aumento da concentração relativa em cristalinis de exemplares até 200-250 mm, uma leve queda e nova tendência de aumento acentuada até a classe de 450-500 mm, estabilizando-se a partir desse tamanho. A fração IV-1 apresenta leve tendência de aumento até 350-400 mm, estabilizando-se; a IV-2 varia segundo o padrão do conjunto,

sendo ela, portanto, quem determina esse padrão (Fig. 7).

Constata-se que as concentrações relativas das frações III-1, III-2 e IV-1 apresentam pequenas variações, sendo praticamente constantes, enquanto as I, II-1, II-2, III-3 e IV-2 variam, sendo estas variações mais acentuadas até a classe de 300-350 mm, com tendência a estabilização em comprimentos maiores: a II-1 desaparece e a II-2 estabiliza-se a partir de 300-350 mm, a III-3 de 300-350 mm e a I e IV-2 de 450-500 mm.

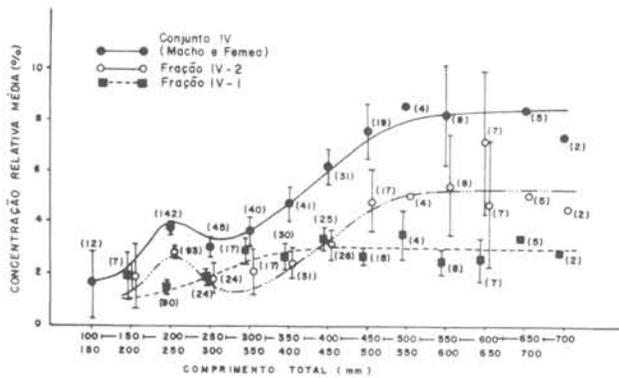


Fig. 7. Representação da variação da concentração relativa média (%) do conjunto IV, frações IV-1 e IV-2, com o incremento em comprimento total, para *M. furnieri*, população I. (As barras verticais representam o intervalo de confiança da média e os números entre parênteses o de cristalininos analisados).

Discussão

A especificidade dos eletroferogramas de proteínas provenientes de diversos tecidos pode ser afetada por processos fisiológicos e/ou ecológicos (Drilhon & Fine, 1963; Bouck & Ball, 1965, 1966; Rapoport *et al.*, 1966; Brown *et al.*, 1967; Civen *et al.*, 1967; De Mahieu, 1972; Aida *et al.*, 1973; Phan & Vazzoler, 1976; Suzuki *et al.*, 1983b).

A vantagem em se analisar proteínas de cristalinos é que estas não variam em função de fatores ambientais e ciclos sazonais, constituindo um sistema praticamente estável (Smith 1966a, 1969, 1970; Smith & Goldstein, 1967; Peterson & Smith, 1969), estão presentes em concentrações elevadas (Halbert & Manski, 1963; Potts, 1965; Yamada, 1966), são facilmente solúveis em vários meios (Wood & Burgess, 1961), não são contaminadas por proteínas de outros tecidos, como sangue, durante a manipulação, e sofrem nítida separação por eletroforese em acetato de celulose (Smith, 1966a, 1968; Vazzoler & Phan, 1976; Smith & Gilman, 1982), sendo uma importante fonte de polimorfismos (Christofferson *et al.*, 1978).

Apesar da relativa estabilidade desse sistema, o enfoque recente tem sido obter conhecimentos sobre a expressão (ativação diferencial) dos genes durante a diferenciação, seguindo-se a ontogenia dos produtos finais, as cadeias de polipeptídeos ou proteínas estruturais dos cristalinos do olho, os cristalinos α , β e γ (Truman *et al.*, 1972). Com o desenvolvimento do cristalino, sua composição em proteínas varia, aumentando gradualmente em complexidade. Estudos sobre distribuição das diferentes proteínas no cristalino mostram ocorrer concentrações distintas na córtex e no núcleo, que variam com o desenvolvimento (Genis-Galvez *et al.*, 1968; Spector, 1973). Considerando essas constatações, optou-se pela análise das proteínas do cristalino inteiro.

Para extração dos albuminóides são necessárias soluções contendo uréia, hidrócloro de guanidina ou duodecil sulfato de sódio (SDS) que desnaturam as proteínas (Li & Spector, 1974), sendo que a uréia degrada especificamente os cristalinos (Maisel *et al.*, 1975), além dos próprios albuminóides (Maisel, 1977), o que nos levou a analisar apenas as frações solúveis em água.

Peterson & Smith (1969) constataram variações com a idade nos padrões de proteínas do núcleo de cristalinos de tubarões, extraídas com solução salina contendo uréia, e supuseram serem estas determinadas pela queda na concentração de proteínas solúveis (cristalinos), pela sua transformação em insolúveis (albuminóides) e pela diminuição na síntese de proteínas, ou a efeitos de desnaturação pela uréia, normalmente existente nos cristalinos de tubarões. Entretanto, a utilização de solução com uréia deveria extrair também as proteínas insolúveis; supõem-se que as variações constatadas por esses autores refletem mais artefatos de técnica que variações reais em função da idade.

Os efeitos mais acentuados do desenvolvimento sobre a concentração das várias proteínas do cristalino ocorrem sobre os albuminóides e CPP; esse efeito torna-se mais acentuado pelo fato da maior síntese de proteínas solúveis ocorrer durante o período de crescimento rápido e desenvolvimento do cristalino, decrescendo depois, enquanto a taxa de síntese de albuminóides perma-

nece praticamente constante durante a vida do organismo (Lerman & Fontaine, 1962; Lerman & Zigman, 1965). Assim, o aumento na concentração dos albuminóides seria relativo, e não apenas devido à transformação de proteínas solúveis em insolúveis, como sugerido (Peterson & Smith, *op. cit.*; Peterson, 1970; Zigman & Yulo, 1979).

Não constatou-se ocorrer redução na concentração de proteínas solúveis nos extratos de cristalinos de exemplares em toda a amplitude de comprimentos analisados, mantendo-se constante em torno de 6-7 g/dl. Por outro lado, verificou-se ocorrer esta redução em cristalinos cataráticos de *M. furnieri*, com a evolução da opacificação dos mesmos (Vazzoler & Phan, 1981).

Referências sobre variação ontogenética dos padrões eletroforéticos de proteínas de cristalinos, em peixes, foram feitas por Lerman & Fontaine (1962), Barret & Williams (1967), Lerman *et al.* (1968), Peterson & Smith (1969), Haen & O'Rourke (1969), Peterson & Shehaded (1971), De Mahieu (1972, 1974), Benz (1980), Leenen & De Jong (1981), Smith & Gilman (1982), não havendo, entretanto, nenhum estudo que analise um número de exemplares que abranja, de modo contínuo, uma ampla gama de comprimentos, de modo a permitir o estabelecimento do padrão de variação de cada fração protéica, quantitativamente, ao longo do desenvolvimento. Em geral, são analisados os padrões de proteínas de cristalinos de poucos exemplares, em determinadas fases do desenvolvimento. Na maioria desses estudos, como comentado por Smith & Gilman (*op. cit.*), são constatadas diferenças irregulares e abruptas nos padrões de indivíduos de tamanhos distintos.

Barret & Williams (1967) identificaram polimorfismo para proteínas de cristalino de *Sarda chilensis*, admitindo ser este causado por fatores ontogenéticos. Como esperado, esta interpretação não encontra suporte nos estudos genéticos de Eckroat & Wright (1969). Haen & O'Rourke (1969) constataram variações nos padrões para duas espécies de truta, *Salmo gairdnerii* e *S. trutta*, para indivíduos de 6 meses, 1, 2 e 3 anos, tanto na concentração relativa dos grupos de frações

como na definição das bandas protéicas, com a idade. Peterson & Shehaded (1971), para *Mugil cephalus* de 5 tamanhos, detectaram diferenças na intensidade de coloração das frações 1 e 4, respectivamente as frações catódicas mais rápida e mais lenta, ocorrendo um decréscimo progressivo na intensidade relativa da fração 1 inversamente proporcional ao aumento de tamanho, e um incremento progressivo na da fração 4 diretamente proporcional ao tamanho. A natureza gradual sugerida por essa variação permite admitir uma relação com a ontogenia; entretanto, esses autores constataram, também, variação para a fração 5, não ligada ao desenvolvimento, extremamente complexa, que sugerem ser devida a um controle poligênico. De Mahieu (1974) constatou, para *Acanthisthius brasilianus*, um padrão constante composto por 5 bandas, com variação na intensidade relativa dessas bandas durante o crescimento e ligada ao sexo.

Benz (1980), com base em resultados qualitativos, obtidos da análise de eletroferogramas de cristalinos de 50 exemplares de *Carcharhinus milberti* distribuídos em 5 classes de comprimento, abrangendo desde a fase de feto (30 cm) até 252 cm, estabeleceu 15 grupos de padrões, e sugere que a variação seja gradativa, e não estaticamente relacionada a determinados eventos do ciclo de vida, como nascimento e primeira maturação.

Os resultados por nós obtidos no estudo dos padrões de proteínas de cristalino de *Micropogonias furnieri* vêm confirmar que, realmente, tais variações são gradativas e contínuas, refletindo um padrão durante o desenvolvimento de um indivíduo. Apesar dessas variações não serem determinadas por eventos do ciclo de vida, pudemos notar que ocorrem mudanças na taxa de variação na concentração das frações, ao longo da amplitude de comprimento analisada. Para *M. furnieri*, população I, o comprimento médio no qual 50% dos indivíduos iniciam a primeira maturação gonadal (L_m) é de 275 mm, e aquele com o qual 100% dos exemplares estão potencialmente aptos a reproduzir-se (L_{100}) é de 475 mm (Vazzoler, 1971). Constatou-se

que as variações mais acentuadas ocorrem na fase jovem, até a classe de 300-350 mm, verificando-se estabilização a partir desta classe para as frações II-2 e III-3, e de 450-500 mm para as frações I e IV-2, quando todos os exemplares são adultos.

Considerando que variação ontogenética nos padrões de cristalinos em peixes deve ser regra geral, este fato não pode ser desconsiderado no delineamento de estudos que pretendam basear-se nesses marcadores genético-bioquímicos. Algumas estratégias devem ser consideradas no planejamento de tais estudos, de acordo com seus objetivos. Quando se objetiva analisar variações intra-específicas, o ideal é estabelecer o padrão de variação ontogenética das frações protéicas dos cristalinos da espécie em questão, e recorrer a uma das seguintes estratégias para caracterizar e delimitar suas populações:

- a) comparar apenas as frações que se mostraram estáveis ao longo do desenvolvimento, como as frações III-1, III-2 e IV-1 no caso de *M. furnieri*;
- b) comparar padrões de exemplares dentro de intervalos estreitos de comprimentos, eliminando-se a influência das variações ontogenéticas;
- c) comparar frações que variam, apenas para indivíduos com comprimentos a partir dos quais a concentração já se estabilizou; no caso de *M. furnieri* as frações II-2 e III-3 a partir de 300 mm, e as I e IV-2 de 450 mm em diante.

Considerando-se que há indicações de que os padrões tornam-se constantes para indivíduos adultos, como constatado para *Sardinella brasiliensis* (Vazzoler & Phan, 1976; Vazzoler, em preparação), *Semaprochilodus insignis* e *S. taeniurus* (Vazzoler & Caraccio-Malta, em preparação) e *Micropogonias furnieri* (presente trabalho), seria aceitável uma outra estratégia:

- d) comparar os padrões globais de indivíduos que integram o extrato adulto da população, quando já ocorreu estabilização do número

e da concentração das frações protéicas.

Uma vez que estudos quali-quantitativos sobre variações ontogenéticas dos padrões de proteínas de cristalinos são demorados e extremamente trabalhosos, pois implicam na análise de algumas centenas de exemplares de uma ampla gama de comprimentos, julga-se que a estratégia d seja a mais viável. Esta foi utilizada no estudo sobre *Sardinella brasiliensis* (Vazzoler & Phan, *op. cit.*)

Quando o objetivo é a utilização desses dados como informações complementares em estudos taxonômicos a níveis superiores, esta alternativa (d) também seria a mais indicada, uma vez que o estabelecimento dos padrões de variação ontogenética para várias espécies seria quase impraticável, em função do tempo necessário e custos envolvidos. Neste caso, quando inexistem informações biológicas sobre reprodução da espécie, com as estimativas de L_m e L_{100} , a alternativa seria a coleta de cristalinos de alguns exemplares de tamanhos pequeno, médio e grande e uma análise visual (qualitativa) prévia da variação dos padrões, semelhante à mostrada para *M. furnieri* na Figura 3. Seria, assim, possível o estabelecimento do comprimento a partir do qual o padrão torna-se constante. O estudo da variação ao longo do desenvolvimento ficaria restrito àqueles casos em que há problemas na classificação de formas jovens.

Cabe ressaltar não ser admissível a utilização do método, qualquer que seja o objetivo visado, indiscriminadamente, ignorando-se a existência de variações ontogenéticas, pois, neste caso o risco de se interpretar tais variações como polimorfismos ou diferenças interespecíficas é grande.

Estabelecidos os padrões de variação ontogenética para as frações de proteínas gerais de cristalinos de *Micropogonias furnieri*, os estudos terão seqüência na caracterização e delimitação das populações dessa espécie nas costas do Brasil, Uruguai e Argentina.

Resumo

Foram analisadas as possíveis variações do padrão eletroforético de proteínas gerais do cristalino de *Micropogonias*

furnieri (Desmarest, 1823), em função do desenvolvimento ontogenético, do sexo e do ciclo de maturação das gônadas, com vistas a sua utilização em estudos populacionais. Foram analisados, por eletroforese em acetato de celulose, cristalinos de 546 exemplares com comprimento total entre 98 e 710 mm, coletados no período de fevereiro de 1975 a fevereiro de 1976, na costa sudeste do Brasil (23°S - 29°S), área ocupada pela população I da espécie (Vazzoler, 1971). O padrão geral obtido foi dividido em 4 conjuntos com 8 frações protéicas. Para indivíduos de mesmo tamanho não foram constatadas diferenças entre os padrões do cristalino esquerdo e direito, entre padrões de machos e fêmeas e entre padrões de exemplares com gônadas em diferentes estádios de maturidade. Entretanto, ocorrem acentuadas variações quali-quantitativas relacionadas ao desenvolvimento ontogenético. O conjunto I sofre marcada queda em sua concentração relativa, enquanto os conjuntos II, III e IV apresentam incremento. O conjunto II sofre variações qualitativas, apresentando 2 frações para indivíduos jovens (até 300-350 mm) e apenas uma nos adultos. As frações I, II-1, II-2, III-3 e IV-2 apresentam variações mais acentuadas até a classe de 300-350 mm; ocorre estabilização da concentração relativa das frações II-1, II-2 e III-3 a partir de 300-350 mm, e da I e IV-2 a partir de 450-500 mm. As frações III-1, III-2 e IV-1 apresentam pequenas variações, sendo praticamente constantes. Desse modo, para utilização dos padrões eletroforéticos de proteínas dos cristalinos como marcadores genético-bioquímicos em estudos sobre variações intra-específicas, algumas estratégias devem ser consideradas, de acordo com os objetivos do estudo:

- a - comparar apenas as frações que se mostraram estáveis durante o desenvolvimento (III-1, III-2, IV-1);
- b - comparar padrões de exemplares dentro de um estreito intervalo de comprimentos;
- c - comparar frações que variam, apenas para indivíduos com comprimentos a partir dos quais a concentração dessas frações já

se estabilizou (II-2 e III-3 a partir de 300 mm, e I e IV-2 de 450 mm);

- d - comparar os padrões globais de indivíduos que integram o extrato adulto da população, quando já ocorreu estabilização do número e da concentração das frações protéicas.

Esta última estratégia (d) parece ser a mais viável, tanto a nível interespecífico quando a finalidade é restrita à delimitação espacial de populações, como em estudos taxonômicos de níveis superiores, quando não há problemas na classificação de formas jovens.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio concedido pela FAPESP (auxílio e bolsas) e pelo CNPq (bolsa), que permitiu a realização deste trabalho. À Dra Maria Luiza Barcelos Schwantes, da Universidade Federal de São Carlos e ao Dr Adalberto Luís Val, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, agradecemos pela leitura crítica do manuscrito e sugestões

Referências Bibliográficas

- AIDA, K.; PHAN, V. N. & HIBIYA, T. 1973. Physiological studies on gonadal maturation of fishes. I. Sexual difference in composition of plasma protein of ayu in relation to gonadal maturation. Bull. Jap. Soc. scient. Fish., 39(11):1091-1106.
- ALLENDORF, F.; RYMAN, N.; STENNEK, A. & STAHL, G. 1976. Genetic variation in Scandinavian brown trout (*Salmo trutta* L.): evidence of distinct sympatric populations. Hereditas, 83:73-82.
- BARLOW, G. W. 1961. Causes and significance of morphological variation in fishes. Syst. Zool., 10(3):105-117.
- BARON, J. C. 1973. Les estérases du sérum de *Sardinella aurita* Valenciennes, 1847, in C.V. Application a l'étude des populations. Cah. ORSTOM, Sér. Océanogr., 11(4):389-418.
- BARRET, I. & WILLIAMS, A. A. 1967. Soluble lens proteins of some scombroid fishes. Copeia, (2):468-471.

- BENZ, G. W. 1980. Progressive ontogenetic changes in the soluble nuclear eye lens proteins of the sandbar shark, *Carcharinus milberti* (Valenciennes). Comp. Biochem. Physiol., 67B:191-193.
- BITTENCOURT, M. M. 1982. Estudo comparativo de aspectos da distribuição, morfologia e biologia de *Paralycthis isosceles* Jordan, 1890 e *Paralycthis triocellatus* Ribeiro, 1904 (Pleuronectiformes: Bothidae) da região da plataforma continental entre Cabo Frio e Torres (23°S - 29°21'S). Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 172p.
- BLAKE, B. 1976. Polymorphic forms of eye lens protein in the ray *Raja clavata* (Linnaeus). Comp. Biochem. Physiol., 54B:441-442.
- BOUCK, G. R. & BALL, R. C. 1965. Influence of a diurnal oxygen pulse on fish serum proteins. Trans. Am. Fish. Soc., 94:363-370.
- _____ 1966. Influence of capture methods on blood characteristics and mortality in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Trans. Am. Fish. Soc., 95:170-176.
- BRAGA, F. M. de S. 1978. Estudo morfológico comparativo das espécies do gênero *Mugil* Linnaeus, 1758, da costa brasileira (3°S - 33°S). Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 184p.
- _____ 1982. Estudo do crescimento relativo de *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879), na área entre Macaê (22°S) e sul da ilha de Santa Catarina (27°S). Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 145 p.
- BROWN, J. D.; MILLER, M.; HOLLOWAY, M. T. & LEVE, G. D. 1967. Hexokinase isoenzymes in liver and adipose tissue of man and dog. Science, N.Y., 155:205-207.
- CASSELMAN, J. M.; COLLINS, J. J.; CROSSMAN, E. J.; IHSEN, P. E. & SPANGLER, G. R. 1981. Lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) stocks on the Ontario waters of Lake Huron. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38:1772-1789.
- CEQUEA, R. H. & PÉREZ, J. E. 1971. Variación intra e interespecificas de hemoglobina y proteínas del plasma en algunas especies del genero *Haemulon*. Boln Inst. oceanogr., Univ. Oriente, 10(2): 79-85.
- CHRISTOFFERSON, J. P.; FOSS, A.; LAMBERT, W. E. & WELGE, B. 1978. An electrophoretic study of select proteins from the market squid, *Loligo opalescens* Berry. In: Recksick, C. W. & Frey, H. W., ed. - Biological, oceanographic and acoustic aspects of the market squid, *Loligo opalescens* Berry. Fish. Bull., 169:123-185.
- CIVEN, M.; ULRICH, R.; TRIMMER, B. M. & BROWN, C. B. 1967. Circadian rhythms of liver enzymes and their relationship to enzyme induction. Science, N.Y., 157 :1563-1564.
- COBB, B. F. III; CARTER, L. & KOENIG, V. L. 1968. The distribution of the soluble protein components in the crystalline lenses of fishes. Comp. Biochem. Physiol., 24:817-826.
- DeMAHIEU, G. C. 1972. Variaciones en la concentración de proteína total y de las fracciones de proteínas del suero separadas por eletroforesis en relación con el desarrollo sexual de *Squatina argentina*, Marini. Investnes mar., 3(2):25-37.
- _____ 1974. Características electroforeticas de proteínas solubles de cristalinus oculares de tres especies de la familia Serranidae (Pisces, Teleostomi). Physis, secc. A, B. Aires, 33(86): 229-237.
- DRILHON, A. & FINE, J. M. 1963. Diamorphisme sexuel dans les protéines sériques de *Salmo salar*: étude electrophoretique. C. r. Séanc. Soc. Biol., 157:1897.

- ECKROAT, L. R. 1973. Allele frequency analysis of five soluble protein loci in brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill). Trans. Amer. Fish. Soc., 102(2):335-340.
-
- _____ 1974. Interspecific comparison of lens proteins of Esocidae. Copeia, (4):977-978.
-
- _____ & WRIGHT, J. E. 1969. Genetic analysis of soluble lens proteins polymorphism in brook trout, *Salvelinus fontinalis*. Copeia, (3):466-473.
- FERGUSON, A.; HIMBERG, K. J. M. & SVÄRDSON, G. 1978. Systematics of the Irish pollan (*Coregonus pollan* Thompson): an electrophoretic comparison with other Holoartic Coregonidae. J. Fish Biol., 12(3):221-233.
- FRYDENBERG, O.; MØLLER, D.; NAEVDAL, G. & SICK, K. 1965. Haemoglobin polymorphism in Norwegian cod populations. Hereditas, 53:257-271.
- GENIS-GALVEZ, J. M.; MAISEL, H. & CASTRO, J. 1968. Changes in chick lens proteins with aging. Expl Eye Res., 7:593-602.
- GOMES, V.; VAZZOLER, A. E. A. de M. & PHAN, V. N. 1983a. Estudos cariotípicos de peixes da família Sciaenidae (Teleostei, Perciformes) da região de Cananéia, SP, Brasil. 1. Sobre o cariótipo de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 32(2):137-142.
-
- _____ 1983b. Estudos cariotípicos de peixes da família Sciaenidae (Teleostei, Perciformes) da região de Cananéia, SP, Brasil. 2. Sobre o cariótipo de *Menticirrhus americanus* (Linnaeus, 1758). Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 32(2):187-191.
- GONZÁLEZ, D. R.; PADRÓN, M. & SUBERO, L. E. 1974. Análisis electroforético de hemoglobina, lactado deshidrogenasa, esterases y proteínas no enzimáticas de dos especies del genero *Anchoa* (Pisces: Engraulidae). Bolm Inst. oceanogr., Univ. Oriente, 13(1-2):47-52.
- HAEN, P. J. & O'ROURKE, F. J. 1969. Comparative electrophoretic studies of soluble eyelens proteins of some Irish freshwater fishes. Proc. R. Ir. Acad., 68(4), sect. B:67-75.
- HAIMOVICI, M. 1977. Idade, crescimento e aspectos gerais da biologia da corvina rúbia *Micropogon opercularis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Pisces, Sciaenidae). Atlântica, Rio Grande, 2(1):21-49.
- HALBERT, S. P. & MANSKI, W. 1963. Organ specificity with special reference to the lens. Prog. Allergy, 7:107-186.
- HATTINGH, J. 1974. The plasma proteins of *Labeo umbratus* (Smith) and *Labeo capensis* (Smith). J. Fish Biol., 6(4):439-446.
- HENRICSON, J. & NYMAN, L. 1975. The ecological and genetical segregation of two sympatric species of dwarfed char (*Salvelinus alpinus* (L.) species complex). Rep. Inst. Freshwat. Res. Drottningholm, 55:15-37.
- HUBBS, C. L. 1922. Variations in the number of vertebral and other meristic characters of fishes correlated with temperature of water during development. Am. Nat., 56:360-372.
-
- _____ 1926. The structural consequence of modifications of the developmental rate in fishes, considered in reference to certain problems of evolution. Am. Nat., 60:57-81.
- IHSSEN, P. E.; BOOKE, H. E.; CASSELMAN, J. M.; McGLADE, J. M.; PAYNE, N. R. & UTTER, F. M. 1981a. Stock identification: materials and methods. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38:1838-1855.
-
- _____ ; EVANS, D. O.; CHRISTIE, W. J.; RECKAHN, J. A. & DESJARDINE, R. L. 1981b. Life history,

- morphology, and electrophoretic characteristics of five allopatric stocks of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) in the Great Lakes region. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 38:1790-1807.
- ISAAC-NAHUM, V. J. 1981. Biologia reprodutiva de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) (Teleostei, Sciaenidae). Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 157p.
- ; VAZZOLER, A. E. A. de M. & ZANETTI-PRADO, E. M. 1983. Estudos sobre estrutura, ciclo de vida e comportamento de *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879), na área entre 22°S e 28°S, Brasil. 3. Morfologia e histologia de ovários e escala de maturidade. *Bolm Inst. oceanogr.*, S Paulo, 32(1):1-16.
- & VAZZOLER, A. E. A. de M. 1983. Biologia reprodutiva de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) (Teleostei, Sciaenidae). 1. Fator de condição como indicador do período de desova. *Bolm Inst. oceanogr.*, S Paulo, 32(1):62-69.
- KAWAKAMI DE RESENDE, E. 1979. Estudo da distribuição, estrutura, biologia e bionomia de *Syacium papillosum* (Linnaeus, 1758), na plataforma continental brasileira entre Cabo Frio (23°S) e Torres (29°21'S). Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 198p.
- KONISHI, Y. & TANIGUCHI, N. 1975. Polymorphism in the liver esterase pattern of the sparid fish *Dentex tumifrons*. *Jap. J. Ichthyol.*, 21(4):220-222.
- LEENEN, P. J. M. & DeJONG, W. W. 1981. Comparison of the eye lens proteins from embryonic and adult spiny dogfish (*Squalus acanthias*). *Expl Eye Res.*, 32:467-474.
- LERMAN, S. & FONTAINE, J. 1962. The effect of aging on protein and RNA metabolism in the dogfish lens. *Growth*, 26:111.
- LERMAN, S.; TUTTLE, J. & KOSER, R. 1968. Composition and formation of insoluble protein in the dogfish (*Mustelus canis*) *Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole*, 135:428.
- & ZIGMAN, S. 1965. The metabolism of the lens as related to aging and experimental cataractogenesis. *Invest. Opth.*, 4(4):643-660.
- LI, L. K. & SPECTOR, A. 1974. Circular dichroism and optical rotatory dispersion of the aggregates of purified polipeptides of alpha-crystallin. *Expl Eye Res.*, 19:49-57.
- MAISEL, H. 1977. The effect of urea on the lens intracellular matrix and soluble lens proteins. *Expl Eye Res.*, 25:259-601.
- ; LIESKA, N. & ALCALÁ, J. 1975. Effect of urea on chick lens proteins. *Ophthalmic Res.*, 7:416-419.
- MOREL, M. 1974. Identification des espèces de poissons par électrophorèse des protéins du muscle. *Sci. Pêche*, (234):1-16.
- NUMACHI, K. 1972. Genetic polymorphism in enzymes and its research application in fisheries biology. *In: International Ocean Development Conference, 2., Tokyo. Preprints*, 2:1813-1822.
- NYMAN, L. 1965. Species specific proteins in freshwater fishes and their suitability for a "protein taxonomy". *Hereditas*, 53:117-126.
- ORSKA, J. 1962. The influence of temperature on the development of meristic characters of the skeleton in Salmonidae. Part I. Temperature controlled variations of the number of vertebrae in *Salmo iridens* Gibb., *Zoologica Pol.*, 12(3):309-339.
- PAIVA FILHO, A. M.; VAZZOLER, A. E. A. de M. & ZANI, M. de L. 1976a. *Nebriis microps*: estudo da diferenciação geográfica na costa brasileira.

- Ciênc. Cult., S Paulo, 28(7):219. (Resumo).
- PAIVA FILHO, A. M.; VAZZOLER, A. E. A. de M. & MENDES, D. de P. e S. 1976b. *Paralanchurus brasiliensis*: estudo comparativo do comportamento das populações da costa centro-sul do Brasil. Ciênc. Cult., S Paulo, 28(7):220. (Resumo).
- PHAN, V. N. & VAZZOLER, A. E. A. de M. 1976. Serological and biochemical studies on populations of *Micropogon furnieri* (Desmarest, 1822) and *Macrodon andylodon* (Bloch & Schneider, 1801) between Cabo Frio (23°S) and Chui (33°44'S), Brazil. Revue Trav. Inst. Pêches marit., 40(3/4):681-682.
- PHAN, V. N.; VAZZOLER, A. E. A. de M. & PARDO, W. M. 1977. *Micropogon furnieri*: II. Estudo dos padrões eletroforéticos de proteínas totais de cristalino da população I (Cabo Frio-Torres). Ciênc. Cult. S Paulo, 29(7):539. (Resumo).
- PETERSON, G. L. 1970. The effect of urea on solubility and electrophoretic characteristic of protein from eye lens nucleus of four shark species and a teleost. Comp. Biochem. Physiol., 35:299-302.
- _____ & SMITH, A. C. 1969. Intraspecific variation in the soluble nuclear eye lens proteins of the sandbar shark, *Carcharinus milberti* (Müller & Henle). Comp. Biochem. Physiol., 31:679-684.
- _____ & SHEHADED, Z. H. 1971. Subpopulations of the Hawaiian mullet *Mugil cephalus*: analysis of variations of nuclear eye-lens protein electropherograms and nuclear eye-lens weights. Mar. Biol., 11:52-60.
- POTTS, A. M. 1965. Methods for separation of proteins. Invest. Ophthalmol., 4:531-538.
- RAPOPORT, M. I.; FEIGN, R. D.; BRUTON, J. & BEISEL, W. R. 1966. Circadian rhythm for tryptophan pyrrolase activity and its circulating substrate. Science, N.Y., 153:1642-1644.
- ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. D. B. 1977. Estudo das variações da relação peso total/comprimento total em função do ciclo reprodutivo e comportamento de *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879) da costa brasileira entre as latitudes 23°S e 28°S. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 26:131-180.
- _____ 1978. *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879): estudo sobre a estrutura da espécie na área entre 23°S (RJ) e 28°S (SC), Brasil. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 2 v.
- _____ ; VAZZOLER, A. E. A. de M. & BRAGA, F. M. de S. 1982. Estudos sobre estrutura, ciclo de vida e comportamento de *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879), na área entre 22°S e 28°S, Brasil. 1. Morfologia dos otólitos. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 31(2):57-76.
- SACCARDO, S. A. 1976. Diferenciação geográfica de *Menticirrhus americanus* (Linnaeus, 1758) entre as latitudes 23°30'S (Ubatuba, SP) e 32°10'S (Barra do Rio Grande, RS). Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 127p.
- _____ 1980. Biologia e biomia de *Trachurus lathami* Nichols, 1920 (Teleostei: Carangidae) na plataforma continental brasileira entre 23°S (RJ) e 30°S (RS). Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 158p.
- SHARP, G. D. 1969. Electrophoretic study of tuna hemoglobins. Comp. Biochem. Physiol., 31:749-755.
- SHARP, J. C.; ABLE, K. W.; LEGGETT, W. C. & CARSCADDEN, J. E. 1978. Utility of meristic and morphometric characters for identification of capelin (*Mallotus villosus*) stocks in Canadian Atlantic waters. J. Fish. Res. Bd Can., 35:124-130.

- SIBLEY, C. G. 1962. The comparative morphology of protein molecules as data for classification. *Syst. Zool.*, 11(3):108-118.
- SICK, K. 1961. Haemoglobin polymorphism in fishes. *Nature*, N.Y., 192(4805):894-896.
- 1965a. Haemoglobin polymorphism of cod in the Baltic and the Danish Belt sea. *Hereditas*, 54:19-48.
- SICK, K. 1965b. Haemoglobin polymorphism of cod in the North sea and the North Atlantic ocean. *Hereditas*, 54:49-73.
- SMITH, A. C. 1962. The electrophoretic characteristics of albacore, bluefin tuna and kelp bass eye lens proteins. *Calif. Fish Game*, 48:199-201.
- 1966a. Electrophoretic studies of eye lens proteins from marine fishes. PhD. thesis. University of California, Irvine. Diss. Abstr., 28(12), 1968.
- 1966b. Electrophoretic studies of soluble protein from lens nuclei of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, from California and Australia. *Am. Zool.*, 6:577.
- 1968. Effects of sodium chloride concentration on solubility and electrophoretic characteristics of protein from the eye lens nucleus in a yellowfin tuna (*Thunnus albacores*) and a desert wood rat (*Neotoma lepida*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 27:543-549.
- 1969. Protein variation in the eye lens nucleus of the mackerel scad (*Decapterus pinnulatus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 28:1161-1168.
- 1970. Electrophoretic, solubility and thermostability differences in proteins of eye lens nuclei from two closely related fish species, the yellowfin tuna and the bigeye tuna. *Comp. Biochem. Physiol.*, 33:1-14.
- SMITH, A. C. & GILMAN, R. L. 1982. Electrophoretic study of proteins from solubilized eye lens nuclei of fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 718(3):337-343.
- & GOLDSTEIN, R. A. 1967. Variation in protein composition of the eye lens nucleus in ocean whitefish, *Caulolatilus princeps*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 23:533-539.
- SPECTOR, A. 1973. The ageing of alpha-crystallin: a review. *Expl Eye Res.*, 16:115-121.
- SUZUKI, H.; VAZZOLER, A. E. A. de M. & PHAN, V. N. 1983a. Estudo eletroforético de proteínas de músculo esquelético de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) da costa sudeste-sul do Brasil. 1. Considerações técnicas. *Bolm Inst. oceanogr.*, S Paulo, 32(2):153-165.
- 1983b. Estudo eletroforético de proteínas de músculo esquelético de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) da costa sudeste-sul do Brasil. 2. Variação ontogenética e estudo populacional. *Bolm Inst. oceanogr.*, S Paulo, 32(2):167-176.
- TANING, A. V. 1952. Experimental study of meristic characters in fishes. *Biol. Rev.*, 27:169-193.
- TOLEDO FILHO, S. A. 1969. Multiple hemoglobins in freshwater fishes. *Revta brasil. Biol.*, 29(3):309-312.
- TRUMAN, D. E. S.; BROWN, A. G. & CAMPBELL, J. C. 1972. The relationship between the ontogeny of antigens and of polypeptide chains of crystallins during chick lens development. *Expl Eye Res.*, 13:58-69.
- VARGAS, C. P. 1976. Estudo sobre a diferenciação geográfica de *Paralichthys brasiliensis* (Steindachner, 1875) entre as latitudes 23°30'S (Ubatuba, SP) e 33°S (Albardão, RS). Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 2 v.

- VAZZOLER, G. 1962. Sobre a biologia da corvina da costa sul do Brasil. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 12(1):53-102.
-
- _____ 1975. Distribuição da fauna de peixes demersais e ecologia dos Sciaenidae da plataforma continental brasileira, entre as latitudes 29°21'S (Torres) e 33°41'S (Chuí). Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 24:84-169.
- VAZZOLER, A. E. A. de M. 1962. Sobre a primeira maturação sexual e destruição de peixes imaturos. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 12(2): 5-38.
-
- _____ 1963. Deslocamentos sazonais da corvina relacionados com as massas de água. Contrções Inst. oceanogr. Univ. S Paulo, sér. Oceanogr. biol., (5):1-18.
-
- _____ 1965. Estimativa da abundância relativa da corvina na costa centro-sul do Brasil. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 14(1):3-11.
-
- _____ 1969. *Microponon furnieri*: fecundidade e tipo de desova. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 18(1):27-32.
-
- _____ 1971. Diversificação fisiológica e morfológica de *Micropononias furnieri* (Desmarest, 1822) ao sul de Cabo Frio, Brasil. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 20(2):1-70.
-
- _____ (em prep.) Estudo sobre comportamento e estrutura de *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879) com base nos padrões eletroforéticos de proteínas gerais de cristalinos, na área entre 22°S e 28°S, Brasil.
-
- _____ & CARACIOLO-MALTA, M. C. (em prep.). Padrões eletroforéticos de proteínas gerais de cristalinos das espécies do gênero *Semaprochilodus* da bacia amazônica. I. Variações ontogenéticas.
- VAZZOLER, A. E. A. de M. & PHAN, V. N. 1976. Electrophoretic patterns of eye-lens proteins of *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879) off Brazilian coast. Revue Trav. Inst. Pêches marit., 40(3/4):781-786.
-
- _____ 1981. Ocorrência da catarata em *Micropononias furnieri* (Desmarest, 1822), na área entre Cabo Frio e Torres (23°S - 29°21'S), Brasil: investigação de causas e estudo eletroforético das proteínas totais dos cristalinos. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 30(1):65-76.
-
- _____ & PARDO, W. M. 1976. *Microponon furnieri*: estudos eletroforéticos dos padrões de hemoglobina da população I (Cabo Frio - Torres). Ciênc. Cult., S Paulo, 28(7, Supl.):225. (Resumo).
- VAZZOLER, A. E. A. de M.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. D. B. & BRAGA, F. M. de S. 1982. Estudos sobre estrutura, ciclo de vida e comportamento de *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879), na área entre 22°S e 28°S, Brasil. 2. Determinação da idade individual e crescimento dos otólitos. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 31(2):77-84.
-
- _____ & SÁ, E. M. de 1963. Análise da pesca da corvina na costa centro-sul do Brasil. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 13(2):61-70.
-
- _____ & SANTOS, E. P. dos 1965. Migração da corvina (*Microponon furnieri*) na costa sul do Brasil. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 14:115-128.
- VLADIKOV, V. D. 1934. Environmental and taxonomic characters of fishes. Trans. R. Can. Inst., 20:99-140.
- VROOMAN, A. M.; PALOMA, P. A. & ZWEIFEL, J. R. 1981. Electrophoretic, morphometric and meristic studies of subpopulations of northern anchovy, *Engraulis mordax*. Calif. Fish Game, 67(1):39-51.

- WEINSTEIN, M. P. & YERGER, R. W. 1976a. Protein taxonomy of the Gulf of Mexico and Atlantic Ocean sea-trouts, genus *Cynoscion*. Fish. Bull., 74:599-607.
-
- 1976b. Electrophoretic investigation of subpopulations of the spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus* (Cuvier), in the Gulf of Mexico and Atlantic coast of Florida. Comp. Biochem. Physiol., 54B:97-102.
- WILKINS, N. P. 1972. Biochemical genetics of the Atlantic salmon *Salmo salar* L.. I. A review of recent studies. J. Fish Biol., 4:487-504.
- WOOD, D. C. & BURGESS, L. 1961. An electrophoretic study of soluble lens proteins from different species. Am. J. Ophthal., 51:305-313.
- YAMADA, T. 1966. Control of tissue specificity: the pattern of cellular synthetic activities in tissue transformation. Am. Zool., 6:21-31.
- YAMAGUTI, N. 1979. Diferenciação geográfica de *Macrodon ancylodon* (Bloch & Schneider, 1801) na costa brasileira, entre as latitudes 18°36'S e 32°10'S. Etapa I. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 28(1): 53-118.
- ZANETTI-PRADO, E. M. 1978. Estudo da distribuição, estrutura, biologia e bionomia de *Mullus argentinae* (Teleostei, Mullidae) na plataforma continental brasileira entre Cabo-Frio (23°S) e Torres (29°21'S). Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 108p.
- ZIGMAN, S. & YULO, T. 1979. Eye lens ageing in the dogfish (*Mustelus canis*). Comp. Biochem. Physiol., 63B:379-385.

(Recebido em 29-mar-85;
aceito em 29-nov-85)