

Relatório de Atividade Prática

Estudo do metabolismo
de *Atherinella brasiliensis*



Adriana Lippi	5653130
Alexandre de Caroli	5653213
Danilo Rodrigues Vieira	5653262
Gabriel Rinaldi dos Santos	5750121
Guilherme Dias Sardim Lisbão	5653342
Juliana dos Santos Ribeiro	5653446
Natália Tasso Signorelli	5653363
Roberto Tomazini de Oliveira	5653450

1 Fazer um breve resumo do experimento e comentar sobre a qualidade dos resultados. Dê sugestões para diminuir os problemas que surgiram.

O experimento descrito a seguir, realizado nos dias 5, 6 e 12 de maio de 2008, teve como objetivo inferir as taxas de metabolismo de rotina dos indivíduos da espécie *Atherinella brasiliensis* (Atheriniformes, Atherinidae), popularmente conhecida como peixe-rei, através do seu consumo de oxigênio.

Descrição do Experimento

Os indivíduos foram previamente deixados em jejum, por um período de 24 horas, para que durante todo o experimento fosse medido apenas o consumo de oxigênio devido ao metabolismo de rotina.

Após coletados, os indivíduos foram transferidos para respirômetros identificados, com volume conhecido, contendo água salgada. Durante todo processo, foram tomadas medidas para eliminar as bolhas de ar que comprometeriam os resultados. Foram conectadas mangueiras aos respirômetros, permitindo renovação da água dentro do frasco durante todo o período de aclimação a fim de manter estável a concentração de oxigênio dissolvido. Durante a aclimação, o experimento foi protegido do ambiente externo por uma cortina plástica. Mediu-se a temperatura do ambiente e da água.

Depois de duas horas de aclimação, foram coletadas duas amostras de água para determinação do oxigênio inicial. As mangueiras foram retiradas dos respirômetros, e estes ficaram totalmente isolados do ambiente externo. Mais uma vez, o experimento foi protegido por uma cortina plástica. Durante todo o processo foram tomadas medidas para se evitar formação de bolhas. Mediu-se novamente a temperatura do experimento.

Após um período de aproximadamente duas horas, coletou-se amostras de água dos respirômetros, para a determinação de oxigênio final. Mais uma vez todas as medidas necessárias para evitar a formação de bolhas durante a coleta foram tomadas. Mediu-se a temperatura da água do experimento.

As amostras de água foram imediatamente fixadas após cada coleta e a determinação do oxigênio dissolvido seguiu o método descrito por Winkler (1888).

Os indivíduos foram retirados dos respirômetros e mediu-se seu comprimento e sua massa (Figura 1, p.4).

Sugestões e comentários

Para melhor confiabilidade dos dados, faz-se necessário melhor controle da temperatura do experimento, e conseqüentemente do ambiente, visto que, como tratam-se de organismos ectotérmicos, a temperatura é um fator importante no controle do metabolismo. Entre os três dias de experimento, verifica-se uma variação de até 3 °C na temperatura ambiente. Uma pequena variação também ocorre durante a realização dos experimentos.

Outro fator que pode afetar a qualidade dos dados obtidos é o isolamento acústico. Os barulhos externos ao experimento podem estressar os indivíduos e conseqüentemente afetar a taxa metabólica.

Além disso, houve diferenças nas variáveis da metodologia durante os três dias. Ocorreram variações no tempo de adaptação, bem como na duração do experimento (de 90 a 180 min). Esses fatores afetam o consumo de oxigênio medido, e como conseqüência, alteram os valores de metabolismo aferidos.

2 Calcular o consumo de oxigênio para cada peixe, por indivíduo (µl/l) e o consumo peso-específico (µl/l).

As concentrações de oxigênio inicial e final em ml/l foram obtidas pela equação abaixo:

$$[O_2] = 5600 \frac{N_{\text{tios}} \cdot V_{\text{tios}}}{V_{\text{frasco}}} \quad (1)$$

na qual: $[O_2]$ é a concentração de oxigênio; N_{tios} é a normalidade do tiosulfato; V_{tios} é o volume de tiosulfato gasto na titulação e V_{frasco} é o volume do frasco de oxigênio.

Para obter-se a quantidade de oxigênio existente no respirômetro, em ml, no início e fim do experimento, foi usada a equação abaixo:

$$O_2 = [O_2] \cdot (V_{\text{resp}} - V_{\text{peixe}}) \quad (2)$$

na qual: $[O_2]$ é a concentração de oxigênio; V_{resp} é o volume do respirômetro e V_{peixe} é o volume do peixe, obtido multiplicando-se seu peso pela densidade (1,08 g/ml).

Para obter o consumo de oxigênio por hora, basta dividir a diferença entre a quantidade de oxigênio no fim e no início do experimento pela duração do mesmo; para obter o consumo peso-específico, basta dividir o consumo por hora pelo peso do indivíduo.

Os valores obtidos encontram-se na Tabela 2.

3 Plotar os dados de consumo de oxigênio (por indivíduo e peso específico) em gráficos, em função do peso. Calcular a equação da reta e comentar os valores de a e b da equação.

Os gráficos encontram-se na Figura 2 e, sobrepostas aos pontos, estão as respectivas curvas de regressão. Essas curvas foram obtidas adaptando-se os dados à Equação 7 pelo método dos quadrados mínimos não linear e são descritas pelas seguintes equações:

Metabolismo em função do peso:

$$R_s = 336,8865 \cdot W^{0,4850} \quad (3)$$

Metabolismo peso-específico:

$$R_s = 311,0132 \cdot W^{-0,3521} \quad (4)$$

O valor de b (0,485) está dentro da faixa esperada (< 1), mas está distante do valor médio para peixes, 0,86. Este valor determina como o metabolismo do peixe varia durante seu crescimento, determinando que o metabolismo em relação ao peso diminui conforme o peso aumenta.

4 Corrigir o efeito da massa sobre os dados e calcular a média de consumo de oxigênio específico. Para isso, utilize a equação de Steffensen, 2002. Explique o que significa essa equação.

Utilizando-se a equação de Steffensen, 2002 (Equação 5), obtemos o valor 255,8184 µl/g/h para $P_h = 1.8555$ g (o peso médio dos indivíduos utilizados no experimento). Esta equação calcula, para cada indivíduo, a quantidade de oxigênio que ele consumiria se tivesse um peso hipotético (neste experimento, foi usada a média de peso de todos os indivíduos), levando em consideração seu desvio em relação à curva de regressão (Equação 4). Uma vez que esse consumo hipotético é calculado para cada peixe, toma-se a média dos valores.

$$V_{O_2}(P_h) = V_{O_2}(1) \cdot \left(\frac{P}{P_h}\right)^{1-b} \quad (5)$$

nesta equação $V_{O_2}(P_h)$ é o volume de oxigênio consumido por um peixe de peso P_h ; $V_{O_2}(1)$ é o volume de oxigênio consumido pelo peixe para o qual está sendo feito o cálculo; P é o peso do peixe para o qual está sendo feito o cálculo; P_h é o peso hipotético; e b é o coeficiente angular da reta de regressão.

Na prática, a equação realmente utilizada foi a seguinte:

$$\bar{V}_{O_2} = \frac{\sum_{i=1}^n V_{O_2}(i) \cdot \left(\frac{P_i}{P_h}\right)^{1-b}}{n} \quad (6)$$

a qual é apenas a alteração da Equação 5 para que esta retorne um valor médio, \bar{V}_{O_2} , para toda uma população de n peixes

5 Comente sobre a influência do peso sobre o metabolismo.

Observando-se os gráficos da Figura 2 observamos que, quanto maior o peso do indivíduo, maior será seu metabolismo. Porém, nota-se que a taxa metabólica em relação ao peso diminui com o crescimento do indivíduo.

Sabe-se que o metabolismo varia com o peso segundo a seguinte equação:

$$R_s = a W^b \quad (7)$$

onde R_s é o metabolismo padrão, a é uma constante, W é o peso e b é outra constante, normalmente abaixo de 1. Assim o metabolismo é diretamente proporcional ao peso elevado ao coeficiente b , que é, em média, igual a 0,86 para peixes.

6 Estimar o gasto de energia para o metabolismo de rotina, por dia, em calorias.

O gasto de energia do metabolismo de rotina pode ser medido através do consumo de oxigênio (ele é proporcional à energia gasta pelo peixe, o que faz com que se torne uma excelente medida). As taxas são transformadas utilizando-se o coeficiente oxalórico. Nesse relatório, adotou-se o valor de 4,63 cal/ml O_2 —média calculada para peixes.

A estimativa é feita multiplicando-se o consumo de oxigênio, por dia, pelo coeficiente oxalórico. Para um indivíduo de peso 1,8555 g, o gasto de energia para o metabolismo de rotina é de 52,7454 cal/dia.

$$R_s = 255,8184 \times 10^{-6} \text{ l } O_2/\text{g}/\text{h} = 28,4265 \text{ cal/g}$$

como está se trabalhando com um peixe hipotético de 1,8555 g, tem-se

$$R_s = 52,7454 \text{ cal/dia}$$

A estimativa é feita multiplicando-se o consumo de oxigênio, por dia, pelo coeficiente oxalórico. Para um indivíduo de peso 1,48 g (nesse exercício, o peso que mais se aproxima da média da amostra), o gasto de energia para o metabolismo de rotina é de 41,7200 cal/dia, correspondendo a 28,1892 cal/g/dia—muito próximo do obtido a partir do cálculo anterior.

7 Estimar os demais parâmetros da equação bioenergética, em calorias, utilizando as porcentagens propostas para teleósteos por DuPreez et al. (1990).

$$C = R_s + R_d + P + F + U \quad (8)$$

Tabela 1: valores do exercício 7

Parâmetro	(%)	Valor (cal/g)
R_s	Rotina	23
R_d	Digestão	21
P	Crescimento	42
F	Fezes	10
U	Urina	4

Consumo: 229,3278 cal/dia

8 Comparar os valores de consumo de oxigênio e de orçamento energético com os dados de literatura.

Foram encontrados na literatura valores de consumo de oxigênio para a espécie *Haemulon steindachneri*, cuja massa varia entre 20 g e 70 g, valores acima da espécie usada neste experimento. Enquanto os valores de consumo de oxigênio na literatura são de aproximadamente 2,07 ml de O_2 /h para peixes de 10 g, os valores obtidos no experimento variaram entre 0,23 ml de O_2 /h e 0,68 ml de O_2 /h, para os peixes com peso entre 0,91 g e 4,43 g. Os valores de orçamento energético para *Haemulon steindachneri* encontrados foram de 129,18 cal/dia para indivíduos de peso entre 0,1 g e 10 g, a 26 °C. Para os indivíduos do experimento foi calculado entre 25,5 e 75,0 cal/dia. São valores bem diferentes, mas é possível que essa discrepância seja devida às diferenças interespecíficas.

9 Comparar o metabolismo específico do peixe com o de um ser humano (corrigir ambos para 10 kg).

O gasto diário de uma pessoa adulta de 70 kg é de aproximadamente 2500 kcal. Calculando-se a necessidade diária por peso, obtém-se 0,036 kcal/g/dia. Convertendo-se essa necessidade diária para ml O_2 /dia e utilizando-se a Equação 5 para o humano de 70 kg, corrige-se essa necessidade por peso, obtendo-se

$$0,36 \text{ kcal/g}/\text{dia} = 7,440 \text{ ml } O_2/\text{g}/\text{dia}$$

$$V_{O_2}(H_{10}) = 7,440 \cdot \left(\frac{70}{10}\right)^{1-0,8} = 10,9805 \text{ ml } O_2/\text{g}/\text{dia}$$

Agora, faz-se os cálculos para o peixe: dividindo-se o consumo diário calculado anteriormente na Questão 6, pela massa do peixe hipotético para o qual fez-se os cálculos, obtemos um consumo de 0,1236 kcal/g/dia. Para a comparação, também é necessário obter o consumo corrigido para um peixe hipotético de 10 kg, faz-se isso utilizando-se a Equação 5 de forma análoga àquela usada para o humano hipotético de 10 kg, obtendo-se 4,4787 ml O_2 /g/dia.

Observa-se que o consumo peso-específico diário do peixe (0,1236 kcal/g/dia) é maior que o consumo peso-específico do humano (0,036 kcal/g/dia), porém, corrigindo-se esses valores para um peso comum, no caso, 10 kg, verifica-se que o consumo peso-específico corrigido do humano (10,9805 ml O_2 /g/dia) é maior que o consumo peso-específico corrigido do peixe (4,4787 ml O_2 /g/dia).



Figura 1: etapas do procedimento experimental. No topo: oeiço no respirômetro, abaixo à esquerda: pesagem de um indivíduo; abaixo à direita: verificação do comprimento do peixe.

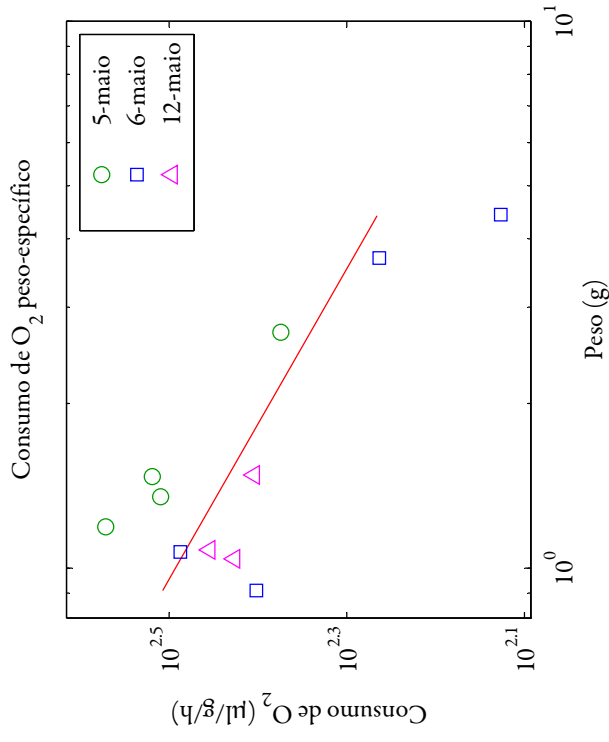
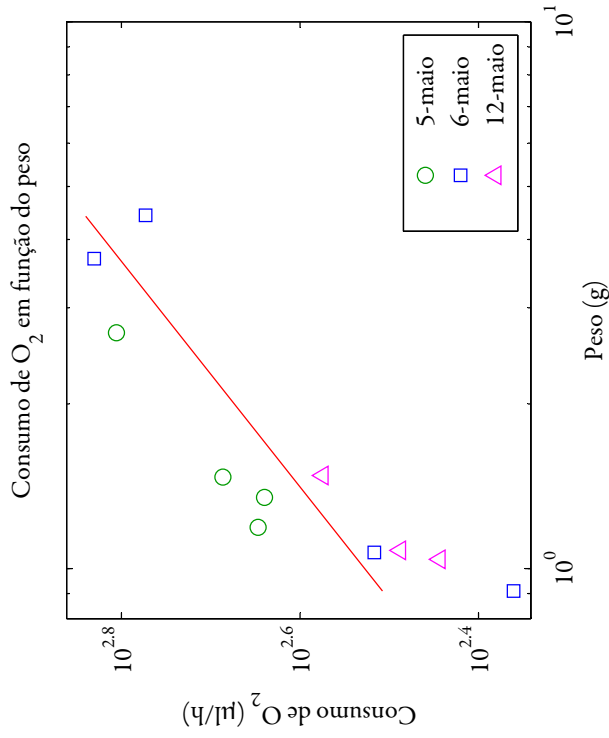


Figura 2: à esquerda: gráfico de consumo de oxigênio em função do peso. À direita: gráfico do consumo de oxigênio por grama em função do peso. Nas duas figuras, os pontos marcados com \circ , \square e \triangle representam os dados coletados e as linhas contínuas representam as curvas de regressão. As curvas de regressão são descritas pelas Equações 3 e 4

Tabela 2: dados obtidos durante o experimento

Indivíduo	Volume do respirômetro (ml)	Duração do experimento (min)	Volume do frasco (ml)	Tiosulfato gasto (ml)	Peso (g)	Comprimento (mm)	Oxigênio inicial (ml/l)	Oxigênio final (ml/l)	Oxigênio gasto (μ l/h)	Oxigênio gasto por peso (μ l/g/h)
1	1148	174	63,04	2,20	0,91	59	4,49	3,91	229,55	252,25
2	473,98	91	63,04	1,95	1,04	60	4,36	3,46	277,64	266,97
3	1153	177	62,95	2,05	1,07	57	4,49	3,65	328,63	307,13
4	464,02	90	61,69	1,85	1,08	58	4,36	3,36	307,42	284,65
5	1148	122	64,27	2,15	1,19	58	4,53	3,75	443,44	372,64
6	1153	127	63,04	2,10	1,35	59	4,53	3,73	436,34	323,21
7	1153	126	62,95	2,05	1,47	61	4,53	3,65	485,60	330,34
8	473,98	87	62,95	1,80	1,48	63	4,36	3,20	375,45	253,68
9	1155	127	61,69	1,85	2,70	76	4,53	3,36	639,15	236,72
10	1153	120	64,27	1,90	3,69	82	4,49	3,31	676,75	183,40
11	1155	121	61,69	1,90	4,43	82	4,49	3,45	592,88	133,83