

Análise preliminar de proteínas diferencialmente expressas em juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma sp*) em função da condição nutricional

Lícia Maria Lundstedt^{*1}, Flávia da Silva Zandonadi², Carolina Moretto Carnielli², Daniela Morilha Néó Justino², Gilberto Moraes², Maria Teresa Marques Novo²

^{*1} Embrapa Pesca e Aquicultura; QD 103 Sul - I, Av. J.K., 164; 77015-012 - Palmas- TO; licia.lundstedt@embrapa.br; ² Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) São Carlos - SP

Esse trabalho visou dar continuidade aos estudos do metabolismo adaptativo de pintado (*Pseudoplatystoma sp*) frente às variações nutricionais da dieta. A espécie é de amplo interesse comercial devido à excelente qualidade de sua carne, esportividade na pesca e potencial para a aquicultura. Entretanto, sua tecnologia de produção ainda não está perfeitamente estabelecida. Para tanto, investigou-se a ocorrência de proteínas diferencialmente expressas em resposta à dieta por meio da comparação dos perfis proteicos realizada por SDS-PAGE. Foram utilizados o fígado, órgão central do metabolismo nutricional, e amostras de músculo branco, tecido que melhor representa o crescimento somático. Um lote de juvenis de pintado, doados pela Empresa Mar e Terra passaram por período de aclimação nas dependências do Laboratório de Bioquímica Adaptativa da UFSCar. Ao atingirem $16,15 \pm 2,48$ g e $14,7 \pm 0,7$ cm, respectivamente, os animais foram alocados em 6 caixas (250 L), na densidade de 16 indivíduos por unidade, perfazendo 2 tratamentos experimentais, com 3 repetições. Em um dos tratamentos, os animais foram arraçoados por 60 dias com uma dieta contendo basicamente 40 % Proteína Bruta, 16,40 % Extrativo Não-Nitrogenado, 10,30 % Gordura e 2,9 % Fibra Bruta, perfazendo $4.000 \text{ kcal kg}^{-1}$ de ração. Os animais do segundo tratamento receberam a mesma dieta dos animais do primeiro tratamento, mas por um período de 43 dias e permaneceram em jejum nos seguintes 17 dias que antecederam o término do período experimental. Este segundo tratamento serviu como um controle bioquímico para as análises de expressão diferencial de proteínas cuja expressão ocorra em função da condição nutricional. Posteriormente, 4 peixes de cada caixa (n 12 por tratamento) foram anestesiados e eutanasiados por separação cervical. O fígado e amostras de músculo branco foram retirados, imediatamente congelados em nitrogênio líquido e mantidos a -80°C até análises bioquímicas. Alíquotas adequadas dos tecidos foram individualmente homogeneizados, centrifugados e o sobrenadante utilizado como fonte de proteínas. Concentrações equivalentes a $50\mu\text{g}$ de proteína foram submetidas individualmente à eletroforese em SDS-PAGE contendo 14% de acrilamida/bis-acrilamida e a corrida realizada em sistema vertical, em voltagem constante de 110V e sob banho termostático. Os géis foram corados (Coomassie Brilliant Blue), descorados, documentados e analisados usando o “*Software ImageMaster 2D Platinum v. 6.0* (GE Healthcare). Nas análises foram consideradas a presença ou ausência de bandas (expressão diferencial), assim como banda com maior (expressão induzida) ou menor (expressão reprimida) intensidade, respeitando-se as comparações entre os indivíduos dos 2 tratamentos, alimentados ou jejum, em cada um dos diferentes tecidos, hepático e muscular branco. Os géis de SDS-PAGE evidenciaram que a expressão de proteínas apresenta um perfil diferencial tanto para fígado quanto para músculo branco em juvenis de pintado, influenciado pela condição nutricional, alimentação ou jejum, dos animais. Adicionalmente, os perfis obtidos foram extremamente complexos, dificultando a completa identificação das proteínas e instigando investigações futuras, com abordagens complementares para identificar as proteínas diferencialmente expressas e que possam ser utilizadas como indicadores nutricionais de estados limitantes, sinalizando a potencialidade de utilização das diferentes frações nutritivas da dieta.

Palavras-chave: metabolismo, nutrição, SDS-PAGE, expressão de proteínas, pintado, surubim

Apoio: CNPq e FAPESP, Mar & Terra, Fri-Ribe.