

ELETROFORESE DE PROTEÍNAS DA HEMOLINFA DAS LAGOSTAS PANULIRUS ARGUS (LATREILLE) E PANULIRUS LAEVICAUDA (LATREILLE), NO ESTADO DO CEARÁ

Maria Helena Gomes Mota ⁽¹⁾
Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira

Laboratório de Ciências do Mar
Universidade Federal do Ceará
Fortaleza — Ceará — Brasil

O uso de técnicas bioquímicas para identificar espécies de animais filogeneticamente muito próximas vem-se tornando cada vez mais comum. Tsuyuki *et al.* (1965) mostram que eletroferogramas de proteínas do músculo de 46 espécies de peixes foram todos diferentes.

Dentre os métodos eletroforéticos, o que apresenta melhor resultado é aquele que utiliza o gel de poliacrilamida como suporte. Entretanto, muitas espécies de peixe têm sido identificadas através de eletroforese em gel de acetato de celulose (Arias, 1973; Bechtel & Alves, 1973; Bastos *et al.*, 1975).

O presente trabalho estuda o comportamento das proteínas da hemolinfa das lagostas *Panulirus argus* (Latreille) e *Panulirus laevicauda* (Latreille), mediante eletroforese em gel de acetato de celulose, considerando como fatores possíveis de alteração dos proteiogramas a espécie e o estágio de maturação sexual.

MATERIAL E MÉTODO

Como material de estudo utilizamos 96 amostras de hemolinfa, sendo 36 de indivíduos da espécie *P. argus* e 60, de indivíduos da espécie *P. laevicauda*, distribuídos igualmente nos diversos estádios de maturação sexual.

Trabalhamos somente com lagostas fêmeas, capturadas ao longo da costa do Estado do Ceará (Brasil), sendo considerados como variáveis a espécie e o estágio de maturação sexual. Consideramos a existência de quatro estádios, identificados segundo Buesa Más & Mota Alves (1969) e Mota Alves & Tomé (1969).

A hemolinfa foi retirada de animais vivos no próprio local de desembarque, usando-se como anticoagulante o oxalato de potássio a 10%, numa proporção de 1 parte do anticoagulante para 9 de hemolinfa (v/v). Para assegurar a integridade do material, este foi transportado para o laboratório em caixa isotérmica contendo gelo.

A hemolinfa foi centrifugada a 3.000 rpm em centrífuga International modelo BR-J, durante 30 minutos, conservando-se o sobrenadante em congelador até o momento de sua aplicação.

Para as análises eletroforéticas, o material foi diluído em tampão fosfato 0,01 M em NaCl 0,1 M (pH = 7,6) na proporção de 1:1 (v/v).

A corrida eletroforética foi feita em faixas de acetato de celulose "Cellogel" medindo 25 x 17 cm, usando-se o tampão Veronal-Sódico (dietilbarbiturato sódico) em tritriplex II (ácido etilenodiaminotetracético), pH = 8,6.

O material foi aplicado nas faixas utilizando-se um aplicador semi-micro de 0,4 microlitro. Em cada corrida foram determinadas quatro faixas, na cuba, sendo determinados quatro eletroferogramas em corrente elétrica de 110 V, durante 30 minutos.

A coloração, descoloração, desidratação e diafanização das faixas foram feitas segundo recomendações do Laboratório Chemetron (Milano — Itália).

O perfil das zonas eletroforéticas foi obtido por densitometria.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de padrões eletroforéticos é feita através das diferenças de intensidade de coloração e mobilidade das zonas de proteínas (Jones & Mackie, 1970).

(1) — Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

De acordo com os eletroferogramas das proteínas das lagostas de cada espécie, não se verificaram diferenças quanto à separação protéica, entre os quatro estádios de maturação sexual. Em consequência, apresentamos na figura 1 apenas um eletroferograma para cada espécie; os perfis densitométricos estão na figura 2. Vários estudos têm demonstrado que o estado fisiológico e o sexo não determinam modificações nos proteinogramas numa mesma espécie considerada (Tsuyuki & Roberts, 1965; Tsuyuki *et al.*, 1965).

As duas espécies de lagostas apresentaram cinco zonas de proteínas, verificando-se para *P. laeviscauda* uma zona central, intensamente corada; com respeito a *P. argus* observaram-se duas zonas intensamente coradas, entre três faixas mais finas, sendo duas anteriores e uma posterior.

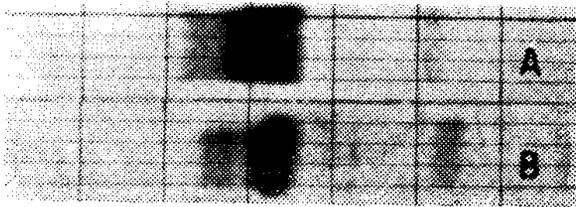


Figura 1 — Padrões eletroforéticos de proteínas da hemolinfa de lagostas. A — *Panulirus argus* (Latreille); B — *Panulirus laeviscauda* (Latreille).

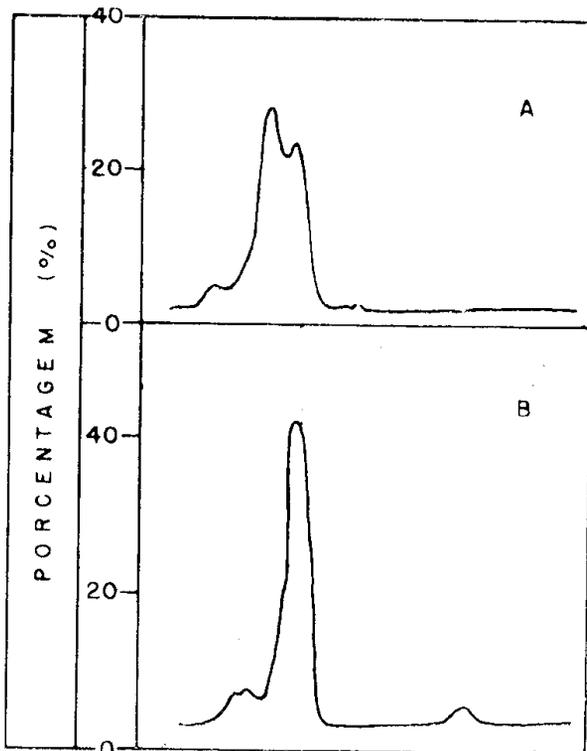


Figura 2 — Curvas densitométricas dos padrões eletroforéticos de proteínas da hemolinfa de lagostas. A — *Panulirus argus* (Latreille); B — *Panulirus laeviscauda* (Latreille).

Quanto à mobilidade, a espécie *P. laeviscauda* parece ser aquela que apresenta o maior deslocamento protéico.

Pelo perfil densitométrico, é bem clara a diferença entre as espécies: na lagosta *P. laeviscauda* destacou-se um pico máximo bem diferenciado, enquanto que em *P. argus* são bem visíveis dois picos máximos, próximos um do outro.

O aparecimento de, apenas, quatro picos na curva densitométrica pode ser atribuído à insensibilidade do aparelho em registrar frações fracamente coradas.

CONCLUSÕES

- 1 — A separação protéica não evidenciou diferenças entre estádios de maturação sexual, para ambas as espécies.
- 2 — A eletroforese em suporte de acetato de celulose mostrou cinco zonas de proteínas, para cada espécie.
- 3 — A espécie *P. laeviscauda* apresentou maior mobilidade protéica do que a espécie *P. argus*.
- 4 — Ficou bem comprovada a diferenciação específica, através do perfil densitométrico para cada espécie: *P. argus* apresentou dois picos máximos, enquanto que em *P. laeviscauda* apenas um pico máximo foi evidenciado.

SUMMARY

English title: Eletrophoretic comparison of the hemolymph protein between lobsters *Panulirus argus* and *Panulirus laeviscauda*, in northeastern Brazil.

The objective of this paper is to provide means of identifying the lobsters *Panulirus argus* (Latreille) and *Panulirus laeviscauda* (Latreille) by electrophoresis of the hemolymph protein, taking also into account the stage of sexual maturity.

The runnings were held with cellulose acetate at 110 volts and the electropherograms have led to the following conclusions:

- 1 — No differences have been made evident among stages of sexual maturity by proteic separation, for either species.
- 2 — The electrophoresis, run on cellulose acetate, has revealed five protein bands for each species.
- 3 — There was found to be a greater protein mobility in *P. laeviscauda* than in *P. argus*.
- 4 — The densitometric curves for *P. argus* present two maximum peaks whereas only one maximum peak is shown to occur for *P. laeviscauda*. This is a clear indication of the distinction between the two considered species.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Arias, E. — 1973 — La eletrophoresis de disco en la identificación de peces y del grado de frescura del pescado. *Publ. Tec. Patr. J. Cierva., Supl. Inv. Pesq.*, Madrid, 2 : 3-109, 56 figs.
- Bastos, J. R.; G. H. F. Vieira & F. J. Beserra — 1975 — Eletroforese de proteínas do músculo de peixes do gênero *Lutjanus* Bloch. *Arq. Ciên. Mar, Fortaleza*, 15 (1) : 49-51, 1 fig.
- Bechtel, M. A. B. & J. L. B. Alves — 1973 — Identificação de espécies de pescado por eletroforese em acetato de celulose. In *Grupo Executivo do Desenvolvimento da Indústria da Pesca — GEDIP, Ser. Tecnol.*, Porto Alegre, (3) : não paginado, 16 figs.
- Buesa Más, R. J. & M. I. Mota Alves — 1969 — Escala de colores para el estudio del ciclo reproductor de la langosta *Panulirus argus* (Latreille) en el area del Mar Caribe. *FAO Fish. Rep.*, Roma, (71.2) : 9-12.
- Jones, B. W. & I. M. Mackie — 1970 — An application of eletrophoretic analysis of muscle myogens to taxonomic studies in the genus *Merluccius*. *Comp. Biochem. Physiol.*, London, 32 : 267-273, 1 fig.
- Laboratório Chemetron — Nuevas instrucciones para electroforesis en cellogel de las proteínas séricas. Chemetron — Via Gustavo Modena, Milano — Itália.
- Mota Alves, M. I. & G. S. Tomé — 1969 — Escala de cores para ovários da lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille). *Arq. Ciên. Mar, Fortaleza*, 9 (1) : 99-100.
- Tsuyuki, H. & E. Roberts — 1965 — Zone eletrophoretic comparison of muscle myogens and blood proteins of artificial hybrids of Salmonidae with parental species. *J. Fish. Res. Board Can.*, Ottawa, 22 (3) : 767-773, 3 figs.
- Tsuyuki, H.; E. Roberts & W. E. Vanstone — 1965 — Comparative zone eletropherograms of muscle myogens and blood hemoglobins of marine and freshwater vertebrates and their application to biochemical systematics. *J. Fish. Res. Board. Can.* Ottawa, 22 (1) : 203-213, 8 figs.