

ESTUDO BIOQUÍMICO E FISIOLÓGICO SOBRE OS BAGRES MARINHOS DO BRASIL.
I. SOBRE PADRÃO ELETROFORÉTICO DO PLASMA EM GEL DE POLIACRILAMIDA DOS BAGRES
DA REGIÃO ESTUARINO LAGUNAR DE CANANÉIA

PHAN VAN NGAN
Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo
São Paulo, SP, Brasil

SYNOPSIS

*The possibility of the use of electropherograms of plasma proteins in polyacrylamide slab gel in the study of populations of marine cat-fishes was examined. A total of 176 samples of plasma from four species, *Sciadeichthys luniscutis*, *Arius spixii*, *Genidens genidens* and *Netuma barbata* was used. Inter-specific as well as intra-specific differences were found and the locus E of the plasma of all the four species showed a typical diallelic variation. The locus is recommended as one of alternatives which deserve due consideration in the planning of studies of populations of these species by means of biochemical methods.*

Introdução

Os bagres marinhos, membros da Família Ariidae, são peixes de grande importância econômica e são largamente distribuídos ao longo da costa brasileira. Eles são encontrados desde a região norte até o extremo sul do país, tanto no mar aberto como nas águas salôbras, nas desembocaduras dos rios e ainda algumas formas, são encontradas mesmo na água doce (Ribeiro, 1911; Figueiredo & Menezes, 1978).

Com uma distribuição desse modo, é provável que existam diferentes populações dentro das diferentes espécies desta família. O objetivo da nossa investigação, nesta etapa, é explorar os meios bioquímicos que permitam o estudo sobre as populações destas espécies. Nesta comunicação apresentamos os resultados preliminares sobre a possibilidade do uso de eletroferogramas de plasma em gel de poliácridamida para esta finalidade.

Material e Método

O material utilizado é constituído de bagres coletados exclusivamente na região estuarino lagunar de Cananéia de novembro de 1977 a outubro de 1978. De acordo com o autor e com a região, uma mesma espécie de bagre pode ter nomes científicos e populares diferentes. Portanto, nesta comunicação, os nomes populares empregados são os da região de Cananéia, e os científicos são adotados de um sistema descrito por Figueiredo & Menezes (1978). Esse sistema é o mais recente que conhecemos.

Foi utilizado um total de 176 peixes em que 47 são cangatá, *Sciadeichthys luniscutis*; 39 congo, *Arius spixii*; 22 parará, *Genidens genidens* e 68 branco, *Netuma barba*. Os peixes foram pescados com rede-de-espera, de arrasto, tarrafa, linha e espinhel. Os animais foram transportados vivos em tanques com água do mar para o laboratório (na Base Sul de Cananéia, IOUSP) onde foram mantidos em aquários com água corrente até serem sacrificados, dois dias após a captura no máximo. O sangue foi coletado com seringa através da aorta dorsal e centrifugado no mesmo dia, a 3500 rpm durante 30 minutos. O plasma foi coletado e transportado para São Paulo em nitrogênio líquido para serem analisados através de eletroforese em gel de poliácridamida. Do mesmo peixe foram coletados os dados sobre comprimento, sexo e estágio de maturidade. Dados sobre os bagres utilizados estão na Tabela I.

O método eletroforético por nós utilizado é uma modificação do método de Akroyd (1967). As principais modificações são as seguintes: permitimos um contato direto entre o gel e o tampão em lugar da ponte de papel de filtro; preparamos o gel dentro da cuba utilizando 20% de agar em tampão (da cuba) em vez de plasticina para selar a abertura inferior entre placas de molde.

A membrana é constituída de duas camadas de diferentes concentrações de gel em diferentes tampões (Brewer *et al.*, 1974). As condições para eletroforese estão na Tabela II.

Resultados

A Figura 1 mostra os desenhos dos eletroferogramas de plasma em gel de poliácridamida das quatro espécies estudadas. Os

eletroferogramas mostram não só as diferenças inter-específicas mas também as intra-específicas. Para facilitar as suas localizações, as frações foram divididas em grupos, tais como: grupo A, grupo B, grupo C etc., de acordo com as suas posições e os seus agrupamentos. Nesta divisão, as frações de um grupo num eletroferograma de uma espécie não são necessariamente as mesmas que as dos grupos correspondentes nos eletroferogramas de outras espécies. Elas são simplesmente as frações que ocorrem nos dois grupos de mesma ordem alfabética a partir das origens dos seus eletroferogramas.

O grupo A e o grupo F variam nas diversas espécies mas são relativamente estáveis dentro de cada espécie. As frações do grupo A são finas e claras, enquanto que as do grupo F são grossas e as mais fortes em coloração. Os grupos B, C, D, e G são constituídos por frações finas ou fracas e são as mais variáveis tanto inter- como intra-especificamente. O grupo E é um grupo que consiste de duas frações de concentração média E_1 e E_2 (Fig. 1-5) ou só E_1 (Fig. 1-6) ou só E_2 (Fig. 1-4). Nestes casos E_1 e E_2 são maiores e são muito mais fortes em coloração do que quando aparecem juntas. Os eletroferogramas onde ocorrem somente E_1 , E_2 ou juntamente E_1 e E_2 são denominados eletroferograma de tipo E_1 , tipo E_2 ou tipo E_1E_2 respectivamente. Estes três tipos de eletroferogramas aparecem em todos os comprimentos, sexos e estádios de maturidade encontrados. As variações como essa no grupo E dos eletroferogramas dos bagres são variações muito comuns em polimorfismo de proteínas de soro (Manwell & Baker, 1970) e são muito conhecidas por serem expressões codominantes de dois genes alélicos (Utter *et al.*, 1974) em vários animais, inclusive peixes e no homem. Duas frações geneticamente diferentes estão envolvidas e ambas ocorrem em heterozigotos. O heterozigoto, assim, é simplesmente a soma de dois homozigotos. No grupo E, os eletroferogramas obtidos pela mistura de iguais quantidades de amostras de tipo E_1 e tipo E_2 são muito parecidos com os eletroferogramas de tipo E_1E_2 na natureza. Este fato e a similaridade entre os tipos de eletroferogramas de plasma de bagres e as variações dialéticas nos eletroferogramas proteínas levam-nos a supor que os três tipos de eletroferogramas E_1 , E_2 e E_1E_2 de plasma dos bagres são determinados por dois genes alélicos E^1 e E^2 . Eletroferograma de tipo E_1 corresponde ao homozigoto E^1E^1 ; eletroferograma de tipo E_2 ao homozigoto E^2E^2 e eletroferograma de tipo E_1E_2 ao heterozigoto E^1E^2 .

Conclusão

Para confirmação desta hipótese é necessário uma investigação das progênies dos pais de eletroferogramas de tipos conhecidos ou uma concordância de uma grande quantidade de dados com os modelos da genética de população. No momento acreditamos que o locus E nos eletroferogramas de plasma em gel de poliácridamida dos bagres marinhos merecem uma consideração especial como uma das alternativas no planejamento de um estudo sobre as populações destas espécies através de métodos bioquímicos.

Agradecimento

O autor deseja expressar seus agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de Bolsa de Pesquisa que possibilitou a realização deste trabalho.

TABELA I
CONDIÇÕES PARA ELETROFORESE

| |
|--|
| A. Preparação dos geis: 1. Gel de baixo: 7,5% acrilamida em tampão Tris - HCl (pH 8,9) 2. Gel de cima: 2,5% acrilamida em tampão Tris - H ₃ PO ₄ (pH 6,9) |
| B. Tampão da cuba: Tris-Glicina (pH 8,3) |
| C. Amostras: 5 micro-litros (plasma misturado com igual volume de sacarose 20% contendo azul de bromofenol) |
| D. Eletroforese: 40mA por cerca de 30 minutos |
| E. Visualização: 0,25% azul de coomassie em 5:5:1 água: metanol: ácido acético / 1 hora. |
| F. Lavagem: 5:5:1 água: metanol: ácido acético. |
| G. Conservação: 7% ácido acético. |

TABELA II
DADOS SOBRE AS ESPÉCIES DE BAGRES UTILIZADAS

| Espécie | No. de peixes | Sexo | | | Maturidade | Comprimento (mm) | Data da Coleta e No. de peixes coletados por mês | | | | | | | | | | | |
|--------------|---------------|-----------|-----------|-----------|---------------|------------------|--|----------|----------|-----------|-----------|------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|--|
| | | F | M | N | | | 1977 | | 1978 | | | | | | | | | |
| | | | | | | Nov. | Dez. | Jan. | Feb. | Mar. | Abr. | Maio | Jun. | Jul. | Ago. | Set. | Out. | |
| Cangatá | 47 | 31 | 12 | 4 | Im - Em matur | 240-400 | 1 | | | | 5 | 10 | | 10 | 1 | 17 | 3 | |
| Congo | 39 | 22 | 8 | 9 | Idem | 110-226 | | | | | 4 | 1 | | 12 | 3 | 15 | 4 | |
| Branco | 68 | 27 | 12 | 29 | Idem | 106-700 | | | 5 | 13 | 5 | | 4 | 18 | 17 | 6 | | |
| Pararê | 22 | 8 | 5 | 9 | Im - Mad | 155-382 | | 2 | | | 3 | 5 | | 8 | | 4 | | |
| Total | 176 | 88 | 37 | 51 | | | 1 | 2 | 5 | 25 | 21 | | 34 | 22 | 53 | 13 | | |

F = Fêmea; M = Macho; N = Não conhecido

Im = Imaturo; Em matur = Em maturação; Mad = Maduro.

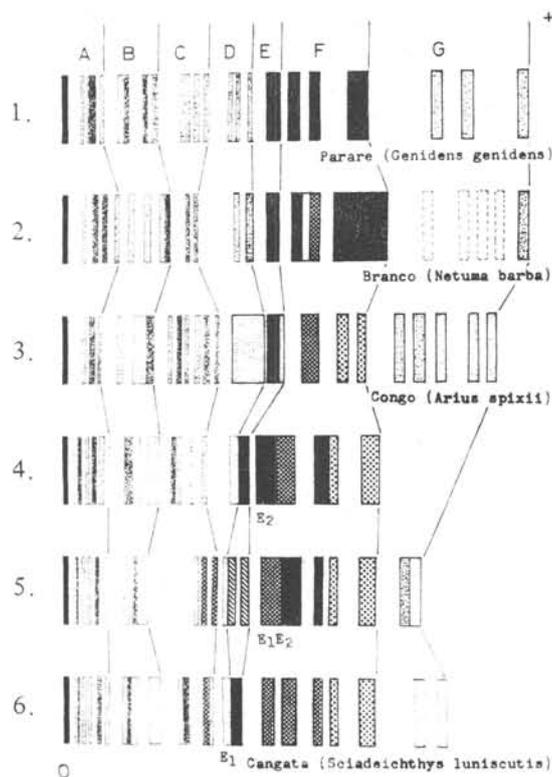


Fig. 1 - Desenhos dos eletroferogramas de plasma em gel de poliacrilamida das quatro espécies estudadas. 1. Pararê; 2. Branco; 3. Congo; 4,5,6. Cangatá. Os eletroferogramas de cangatá mostram variação dialética no grupo E.

Bibliografia

AKROYD, P. 1967. Acrylamide gel slab electrophoresis in a simple glass cell for improved resolution and comparison of serum proteins. *Analytical Biochem.* 19: 399-410.

BREWER, J. M.; PESCE, A.J. & ASHWORTH, R. B. 1974. *Experimental techniques in biochemistry.* New Jersey, Prentice-Hall, p. 351.

FIGUEIREDO, J. L. & MENEZES, N.A. 1978. *Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. II. Teleostei (I).* Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, p. 34-39.

MANWELL, C. & BAKER, C. M. A. 1970. *Molecular biology and the origin of species: Heterosis, protein polymorphism and animal breeding.* University of Washington Press.

RIBEIRO, A. M. 1911. *Fauna Brasileira, Peixes.* Arch. Mus nac Rio de Janeiro, 16: 336-352.

UTTER, F.M.; HODGINS, H. O. & ALLENDORF, F. W. 1974. *Biochemical genetic studies of fishes: potentialities and limitations.* In: *Biochemical and biophysical perspectives in marine biology.* Ed. D. C. Malins, & J. R. Sargent, Vol. I: 213-238. London, Academic Press.