

**XV Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica**

**28<sup>o</sup>**

Encontro de Iniciação Científica da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

**16<sup>o</sup>**

Jornada de Iniciação Científica da UFF



**UIII Congresso Fluminense de Pós-Graduação**

**23<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UFF

## **Análise do perfil metabólico de cistos e náuplios de *Artemia salina* usando cálculos de similaridade e RMN diferencial**

*Ronald dos Santos Merlim, Jan Schripsema, Denise Saraiva Dagnino*

*Artemia salina* é um microcrustáceo de água salgada, utilizado como alimento para peixes e como organismo modelo, devido à facilidade de cultivo, reprodução e manutenção deste organismo. As fêmeas podem desenvolver embriões dessecados em um cisto metabolicamente inativo que chega às margens dos lagos salgados pela ação das ondas e do vento. No entanto, esses cistos retomam o metabolismo e o desenvolvimento rapidamente quando hidratados. O embrião se desenvolve dentro do cisto e, aproximadamente após vinte horas, o náuplio eclode. Glicerol e trealose foram relatados como metabólitos importantes tanto para a função osmótica quanto como substrato energético, mas pouco se sabe sobre a mudança no perfil metabólico dos cistos durante o processo de eclosão. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é investigar as mudanças no perfil metabólico, desde o cisto seco até o desenvolvimento do náuplio usando RMN diferencial e cálculo de similaridade. Cistos foram colocados para eclodir em água do mar reconstituída com aeração constante a 24 °C no escuro e coletados em diferentes tempos de hidratação: 0, 0,2, 1, 5, 8 e 24 h. Também náuplios foram coletados após 24 e 48 h. A biomassa de cada estágio foi liofilizada e posteriormente extraída em uma única etapa com  $\text{CDCl}_3$  e  $\text{D}_2\text{O}$ . Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e bidimensionais ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC e HMQC) dos extratos foram adquiridos em um espectrômetro Bruker Avance III HD 500 MHz. Os metabólitos foram identificados usando espectros bidimensionais e os metabólitos foram quantificados pela integração de sinais simples dos espectros normalizados pela biomassa. RMN diferencial indicou alterações do perfil metabólico após a hidratação: os espectros do cisto seco apresentaram menor similaridade e após 0,2 h de hidratação indicou rápida mudança no perfil metabólico, como desaparecimento dos sinais do ácido propiônico e surgimento dos sinais da leucina e isoleucina. Os espectros dos cistos hidratados por 1, 5 e 8 h foram similares, porém o espectro do cisto hidratado por 24 h indicou surgimento dos sinais de glutamina, inosina e treonina, além disso, alanina, betaína, fenilalanina, fosfocolina, glicerol, glutamato, histidina e tirosina apresentaram um aumento nesse tempo de hidratação. Os espectros dos náuplios de 24 e 48 h também apresentaram mudanças no perfil metabólico, como diminuição do acetato e glicerol e aumento da trealose e aminoácidos, como ácido aspártico, alanina, asparagina, glutamato, glutamina, fenilalanina, treonina e tirosina. Usando o método de cálculo de similaridade e a espectroscopia diferencial, as mudanças no perfil metabólico do cisto e dos náuplios podem ser monitoradas com reprodutibilidade para compreender as vias metabólicas.

*Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF*

*Eixo temático: Ciências Ambientais*

*Fomento da bolsa (quando aplicável):*

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



**XU** Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

**28<sup>o</sup>**  
Encontro de Iniciação Científica da UENF

**20<sup>o</sup>**  
Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

**16<sup>a</sup>**  
Jornada de Iniciação Científica da UFF



**U III** Congresso Fluminense de Pós-Graduação

**23<sup>a</sup>**  
Mostra de Pós-Graduação da UENF

**8<sup>a</sup>**  
Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**  
Mostra de Pós-Graduação da UFF

## Analysis of the metabolic profile of cysts and nauplius of *Artemia salina* using similarity calculations and differential NMR

*Ronald dos Santos Merlim, Jan Schripsema, Denise Saraiva Dagnino*

*Artemia salina* is a saltwater microcrustacean, used as food for fish and as a model organism, due to the ease of cultivation, reproduction and maintenance of this organism. Females may develop desiccated embryos in a metabolically inactive cyst that washes up on the shores of salt lakes by the action of waves and wind. However, these cysts resume metabolism and development quickly when hydrated. The embryo develops within the cyst and, after approximately twenty hours, the nauplius hatches. Glycerol and trehalose have been reported as important metabolites both for osmotic function and as an energy substrate, but little is known about the change in the metabolic profile of cysts during the hatching process. In this sense, the objective of this work is to investigate the changes in the metabolic profile, from the dry cyst to the development of the nauplius using differential NMR and similarity calculation. For hatching the cysts were placed in reconstituted seawater with constant aeration at 24 °C in the dark and collected at different hydration times: 0, 0.2, 1, 5, 8 and 24 h. Also nauplii were collected after 24 and 48 h. The biomass of each stage was lyophilized and subsequently extracted in a single step with  $\text{CDCl}_3$  and  $\text{D}_2\text{O}$ . The  $^1\text{H}$  NMR and two-dimensional ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC and HMBC) spectra of the extracts were acquired on a Bruker Avance III HD 500 MHz spectrometer. Metabolites were identified using two-dimensional spectra and metabolites were quantified by integrating single signals from biomass normalized spectra. Differential NMR indicated changes in the metabolic profile after hydration: the dry cyst spectra showed less similarity and after 0.2 h of hydration indicated a rapid change in the metabolic profile, such as the disappearance of propionic acid signals and the appearance of leucine and isoleucine signals. The spectra of the cysts hydrated for 1, 5 and 8 h were similar, however the spectrum of the cyst hydrated for 24 h indicated the appearance of glutamine, inosine and threonine signals, in addition, alanine, betaine, phenylalanine, phosphocholine, glycerol, glutamate, histidine and tyrosine showed an increase in this hydration time. The 24 and 48 h nauplii spectra also showed changes in the metabolic profile, such as a decrease in acetate and glycerol and an increase in trehalose and amino acids, such as aspartic acid, alanine, asparagine, glutamate, glutamine, phenylalanine, threonine and tyrosine. Using the similarity calculation method and differential spectroscopy, changes in the metabolic profile of the cyst and nauplii can be reproducibly monitored to understand the metabolic pathways.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

