



IV SEMINÁRIO SOBRE ECOTOXICOLOGIA

10, 11 e 12 de novembro de 2015

CARACTERIZAÇÃO DE GENES ENVOLVIDOS NA RESPOSTA AO ESTRESSE OSMÓTICO NO AMPHIPODA *QUADRIVISIO AFF. LUTZI* (CRUSTACEA)

Nathalia G. Beraldini; José L. Nepomuceno-Silva; Laura I. Weber
Email: nathaliagberaldini@hotmail.com
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Campus Macaé/RJ

As lagoas costeiras são ambientes instáveis que sofrem influência marinha com o consequente aumento da salinidade. Os crustáceos que colonizaram, a partir de ambientes marinhos, meios salobres e de água doce, desenvolveram mecanismos fisiológicos, bioquímicos e morfológicos para sobreviver em ambientes de menor salinidade. Estudos em crustáceos decápodes descrevem duas fases durante a osmorregulação, a primeira (RAE) onde ocorre a regulação osmótica extracelular, e a segunda (RII), na qual os organismos osmoconforma, regulando apenas o volume intracelular. As variações da salinidade são potencialmente tóxicas para os organismos, porque a demanda energética exigida pela osmorregulação leva a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), moléculas características do estresse oxidativo. O início do estresse oxidativo funciona como o ponto chave para que a RII se inicie. Sendo assim o processo de osmorregulação e estresse oxidativo estão parcialmente interligados. Conhecer a faixa de salinidade, onde cada um desses processos é atuante, o tempo de resposta e os mecanismos moleculares, bioquímicos e fisiológicos envolvidos na manutenção e perda da homeostase são fundamentais para conhecer os pontos críticos para a sobrevivência do indivíduo. Portanto, este estudo objetiva entender as respostas osmorregulatórias mediante o estudo da expressão dos genes envolvidos nestes mecanismos no anfípode *Quadrivisio aff. lutzi*. Primeiramente foram caracterizados parcialmente os genes das enzimas Catalase (Cat), Superóxido dismutase (SOD) e Glutaciona peroxidase (GPx). As sequências e os *primers* para PCR em tempo real da Cat e GPx já haviam sido obtidos para o *Quadrivisio aff. lutzi* em trabalhos anteriores, assim como o gene da Actina (Act) que será utilizado como referência em ensaios de RT-qPCR (RT-PCR em tempo real). A sequência de parte do gene que codifica a enzima SOD dependente de magnésio (MnSOD) foi obtida neste trabalho, através da amplificação por RT-PCR a partir do cDNA de *Q. aff. lutzi* empregando *primers* degenerados confeccionados com base no alinhamento das sequências derivadas de crustáceos filogeneticamente próximos ao *Quadrivisio aff. lutzi*. A sequência nucleotídica obtida do fragmento amplificado, correspondente a MnSOD na espécie de interesse, apresentou 673pb, sendo 91% similar ao gene da MnSOD do anfípode *Parhyale hawaienses*. *Primers* específicos para ensaios de RT-qPCR foram desenhados com base nessa sequência, produzindo um amplicon de 142pb. Todos os *primers* específicos dos genes mencionados foram devidamente testados e amplificaram os fragmentos de tamanhos esperados. Foi realizado um bioensaio de 48h com aumento gradual de salinidade (12, 15, 18, 21 e 24) para análise da expressão genica e osmolalidade da hemolinfa.

Palavras chave: Osmorregulação, expressão gênica, estresse oxidativo.
Apoio: CAPES; CNPq – PELD Sitio-5.