

Influência da energia, colina e estresse térmico na expressão protéica do músculo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Ademir C. Fernandes Júnior¹ (PG), Margarida M. Barros¹ (PQ), Edma C. Miranda¹ (PD), Renato C. F. Neves¹ (PD), Paula M. Moraes² (PG)*, Felipe A. Santos² (PG), Pedro M. Padilha (PQ)^{2,3}
*paulamartin@ibb.unesp.br

¹ UNESP - FMVZ – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Botucatu-SP

² UNESP - IB – Departamento de Química e Bioquímica, Botucatu-SP

³ INCT Bioanalítica – IQ Unicamp, Campinas-SP

Palavras Chave: Colina, energia, tilápia do Nilo, estresse.

Introdução

Das espécies ícticas criadas em ambientes tropicais de água doce destacam-se as tilápias com uma produção mundial que supera dois milhões de toneladas. Nos últimos anos no Brasil ocorreu um considerável aumento na produção de tilápias, o que tem levado os pesquisadores que trabalham com aqüicultura a desenvolverem trabalhos relacionados ao comportamento, fisiologia, genética e nutrição dessa espécie de peixe.^{1,2} Encontrada em células animais ou vegetais, a colina é considerada um fator lipotrófico, sendo componente importante de neurotransmissores, da estrutura da membrana celular e também na utilização de lipídeos. Nesse contexto, o presente trabalho buscou verificar a variação da expressão protéica no tecido muscular de tilápia do Nilo com diferentes dietas e sob estresse térmico, através da separação das proteínas por eletroforese 2D-PAGE.

Resultados e Discussão

Os peixes foram alimentados com rações contendo 32% de proteína digestível (PD) e variando os níveis de energia (3500 e 3300 kcal/kg) e colina (com e sem para cada energia estudada). Os peixes foram submetidos a estresse de temperatura por 7 dias.

As amostras de músculo, um pool de aproximadamente 1 g, foram maceradas em 1 mL de água ultra-pura, com auxílio de almofariz e pistilo. Posteriormente, as proteínas presentes no extrato aquoso foram precipitadas com acetona 80% (v/v). O precipitado foi solubilizado em tampão específico e aplicado em fitas de IEF com gel pré-fabricado com anfólitos imobilizados (pH 3 a 10). Depois de hidratadas por 12 h as fitas foram levadas ao sistema de IEF para corrida em primeira dimensão. Após essa etapa, foram equilibradas em tampão específico por 15 minutos e aplicadas em géis de poliacrilamida a 12,5% m/v juntamente com padrões de massa molar, para corrida em segunda dimensão. Ao término das etapas de separações, os spots protéicos foram fixados no gel e corados com Coomassie Blue.

Os géis obtidos na separação das proteínas das amostras de músculo dos quatro tratamentos são

apresentados na Figura 1. Os resultados das análises de contagem de spots protéicos são apresentados na Tabela 1.

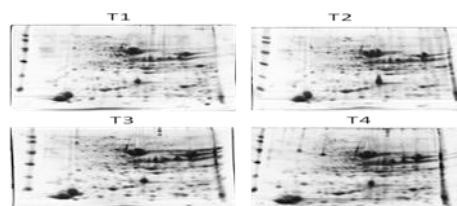


Figura 1. Tratamentos T1, T2, T3 e T4.

Tabela 1. Spots proteicos, ponto Isoelétrico (pI) e massa molar (MM) de proteínas do músculo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com rações com diferentes níveis energéticos, com sem colina, submetidas a estresse térmico.

Tratamentos	Pós-estresse		
	spots	pI	MM
T1-32%PD;3500kcalED/kg;c/colina	449	6,20-9,75	10,73-79,28
T2-32%PD;3500kcalED/kg;s/colina	443	7,22-9,82	9,50-89,82
T3-32%PD;3300kcalED/kg;c/colina	557	7,34-10,0	9,74-78,65
T4-32%PD;3300kcalED/kg;s/colina	571	6,88-9,61	9,95-78,14

Os peixes que receberam as rações com os maiores níveis de energia apresentaram menos spots protéicos. Entretanto, a adição da colina não influenciou esta variável, quando adicionada nos níveis energéticos estudados. Nos diferentes tratamentos, os spots apresentaram pI de 6 a 10 e massa molar entre 9,5 e 79,3. As proteínas expressadas não foram influenciadas pela alimentação oferecida aos peixes, sendo provavelmente composta pelos mesmos grupos de proteínas e estas não foram influenciadas pela colina presente na ração.

Conclusões

A eletroforese 2D-PAGE apresentou-se como uma boa ferramenta para detecção e expressão de proteínas, sendo que entre os tratamentos a energia das dietas influenciou a contagem de spots mais não houve influência da colina.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP e ao CNPq.

¹ Sá, M. V. C. et al. *J. World Aquacult. Soc.* **2005**, 36, 375.

² Garcia, J. S.; Magalhães, C. S. e Arruda, M. A. Z. *Talanta* **2006**, 69, 1.