

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

BSLCM

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA

ELETROFORESE DE PROTEÍNAS

DO MÚSCULO DE PEIXES

DA FAMÍLIA CICHLIDAE

LILIAN NEGREIROS SALES

---

Dissertação apresentada ao Departamento  
de Engenharia de Pesca do Centro de Ci-  
ências Agrárias da Universidade Federal  
do Ceará, como parte das exigências pa-  
ra a obtenção do título de Engenheiro  
de Pesca

---

FORTALEZA - CEARÁ

- 1991.2 -

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S155e Sales, Lilian Negreiros.  
Eletroforese de proteínas do músculo de peixes da família Cichlidae / Lilian Negreiros Sales. – 1991.  
13 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 1991.  
Orientação: Prof. José Raimundo Bastos.

1. Engenharia de Pesca. 2. Eletroforese. 3. Peixes. I. Título.

CDD 639.2

---

COMISSÃO EXAMINADORA:

---

Prof. Adj. JOSÉ RAIMUNDO BASTOS

- PRESIDENTE -

---

Prof. Adj. JOSÉ JARBAS STUDART GURGEL

- MEMBRO -

---

Prof. Adj. GUSTAVO HITZSCHKY F. VIEIRA

- MEMBRO -

VISTO:

---

Prof. Adj. LUIS PESSOA ÁRAGÃO

Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca

---

Prof. Adj. MOISÉS ALMEIDA DE OLIVEIRA

Coordenador do Curso de Engenharia de Pesca

## AGRADECIMENTOS

Ao professor José Faimundo Bastos, pela dedicação e incentivo na orientação que me foi prestada.

Ao colega Luiz Augusto Ortiz Fernandes, pelo auxílio prestado no desenvolvimento desta dissertação.

A Mary-Célia Nepomuceno de Araújo, pelo apoio, ajuda e amizade.

A Mário Nogueira de Vasconcelos, namorado e grande amigo, pelo apoio dado na conquista de mais uma etapa de minha vida.

Aos meus tios Orlando Macêdo e Nazarena Macêdo, que tanto contribuíram para esta vitória.

A meus pais Arnaldo Campelo Sales e Eliane de Nazaré Negreiros, pela cooperação e incentivo.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o êxito deste trabalho.

ELETROFORESE DE PROTEÍNAS  
DO MÚSCULO DE PEIXES DA FAMÍLIA CICHLIDAE.

LILIAN NEGREIROS SALES

As características merísticas e morfométricas, são usualmente utilizadas para a identificação de peixes, pelos processos convencionais.

Atualmente, métodos bioquímicos entre os quais os de eletroforese, vêm sendo difundidos para a identificação de peixes. Tsuyuki & Roberts (1965), Tsuyuki et al. (1965).

Entre os métodos que podem ser utilizados, estão os de eletroforese em papel, eletroforese em gel de amido, eletroforese em poliacrilamida e eletroforese em acetato de celulose, sendo o penúltimo o que apresenta maior clareza dos resultados. A eletroforese em papel pode ser considerado um método superado, tendo em vista o advento de métodos mais modernos.

Hines & Yashouv (1970), estudando as proteínas de cinco espécies do gênero Tilápia, encontraram diferenças significativas entre os padrões de proteínas musculares obtidas por eletroforese em gel de amido. Degani & Veith (1990), utilizaram o método acima com o objetivo de verificar as relações genéticas entre as espécies de peixes da família Anabantidae, utilizando extratos do músculo e do fígado dos mesmos.

Tsuyuki & Roberts (1965), Tsuyuki et al. (1965), trabalhando com eletroforese em poliacrilamida, verificaram que o estado fisiológico, sexo e ambiente, não determinam

dificações nos proteinogramas numa mesma espécie considera da.

A utilização de membranas de acetato de celulose como suporte para a eletroforese, foi utilizada pela primeira vez por Kohn (Bechtel & Alves, 1973).

Nos Estados Unidos, a eletroforese em gel de amido foi primeiramente utilizada, pela Food and Drug Administration, para a identificação de peixes. Esta mesma Instituição, adotou posteriormente a eletroforese em acetato de celulose, pela sua rapidez, baixo custo e boa reprodutibilidade. Lane et al. (1966).

Bastos et al. (1975), estabeleceram padrões de eletroforese do músculo, utilizando acetato de celulose como suporte para identificação de peixes do gênero Lutjanus (Bloch). Mota & Vieira (1977), utilizaram o mesmo material, para a verificação do comportamento das proteínas da hemolinfa de lagostas das espécies Panulirus argus (Latreille) e Panulirus laevicauda (Latreille).

No presente trabalho, procuramos estabelecer os padrões de eletroforese de proteínas do músculo das espécies Oreochromis niloticus (L. 1766) Trewavas; Oreochromis hornorum, Trewavas; Tilápia rendalli, Bolenger 1912, utilizando como suporte fitas de acetato de celulose.

#### MATERIAL E MÉTODOS

A matéria prima que serviu de base para este estudo, constou de 60 peixes, de peso superior a 100 gramas, sem diferenciação de sexo e estágio gonadal, distribuídos igualmente entre as espécies Tilápia-do-nilo, Oreochromis niloticus (L. 1766),

Trewavas; Tilápia-de-zanzibar, Oreochromis hornorum, Trewavas e Tilápia-do-congo, Tilápia rendalli, Boenger, 1912; adquiridas no Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), nos meses de agosto/setembro do ano de 1991, estocados na Estação de Piscicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, em tanques de 3m<sup>2</sup> e alimentados com ração para galináceos, na proporção de 2 a 3% da biomassa durante o experimento.

#### PREPARAÇÃO DO EXTRATO DO MÚSCULO

Para o procedimento eletroforético, os peixes foram sacrificados, em seguida retirados os filés e destes aproveitados apenas a carne branca, com a qual foi elaborado um extrato muscular com água destilada na proporção 1:1 (peso/volume).

O músculo foi homogeneizado, até a obtenção de uma mistura finamente dividida. Foi procedida uma filtração e o filtrado submetido a uma diálise contra água destilada, com agitação constante em agitador magnético, durante 24 horas, a 8°C.

O material dialisado foi colocado em frascos e estocados a -10°C, até o momento da sua aplicação.

#### CORRIDAS ELETROFORÉTICAS

As corridas foram procedidas em cuba de eletroforese marca Tecnow, modelo argos 12. Em cada canaleta da cuba foram colocados 75 ml do tampão barbitone - sódio, pH 8,6 e força iônica 0,1, preparado segundo instrução do manual oxoid (1973).

Como suporte, foram usadas fitas de acetato de ce

lulose, previamente mergulhadas no tampão acima por 10 minutos. Após este tempo, o excesso de tampão foi removido com o auxílio de papel de filtro. As fitas foram distendidas em número de 4 por corrida na ponte da cuba, de modo que as duas extremidades ficassem mergulhadas no tampão. A aplicação do extrato foi feita em duplicata com o macro aplicador da Tecnow.

A cuba foi ligada na corrente elétrica a 300 volts, durante 30 minutos. No final desse período, as fitas foram retiradas e submersas em ácido tricloroacético a 5%, por um período de 5 minutos. Foi procedida a coloração das fitas com solução de negro de amido por 10 minutos, e a seguir, foi efetuada a descoloração até a obtenção de fitas descoloridas.

A transparentização, foi feita submergindo as fitas em solução de metanol, ácido acético e glicerina, durante 5 minutos, sendo estas distendidas sobre lâminas de vidro e colocadas em estufa, à temperatura de 60-70°C, até completa transparentização.

#### DENSITOMETRIA

Para a obtenção dos perfis de proteína, procedemos a densitometria do eletroferograma de cada espécie estudada em densitômetro integrador automático de eletroforese, modelo argos 7, computadorizado.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estabelecimento de padrões eletroforéticos é feito basicamente através das diferenças de intensidade de co-



loração e mobilidade das zonas de proteínas de cada espécie (Jonás & Mackie, 1970).

Além dos critérios estabelecidos pelo autor acima, ainda adicionamos ao lado de cada eletroferograma os gráficos densitométricos correspondentes, deles obtidos, fig. 1.

Os eletroferogramas e perfis densitométricos das espécies estudadas, não apresentaram diferenças com relação ao sexo e estágios gonadais. Segundo Tsuyuki & Roberts (1965) e Tsuyuki et al. (1965), não há diferenciação nos eletroferogramas quando considerado o estado fisiológico e o sexo, numa mesma espécie considerada.

Neste trabalho, a quantidade de indivíduos estudados permitiu a obtenção de perfis eletroforéticos de considerável consistência e de clara diferenciação entre as espécies estudadas, sendo que todas as espécies, apresentaram duas bandas de proteínas.

No que diz respeito a mobilidade das proteínas das espécies estudadas, observamos que a Oreochromis niloticus, apresentou menor mobilidade das bandas de proteínas quando comparada com as espécies Oreochromis hornorum e Tilápia rendalli, sendo que entre estas, a Tilápia rendalli foi a que apresentou maior mobilidade.

O critério da diferenciação de espécies de peixes marinhos e de crustáceos pela intensidade de cor, adquirida pelas bandas de proteínas separadas por eletroforese em acetato de celulose, foi utilizada por Basto et al. (1975) e Mota & Vieira (1977).

Com relação a intensidade de coloração das bandas de proteínas das três espécies, observamos a ocorrência de

uma zona intensamente corada para cada espécie estudada. Para a espécie Oreochromis niloticus, além da zona intensamente corada ocorrente nas duas outras espécies, foi verificada uma zona fracamente corada o que não se observou para a Oreochromis hornorum, cuja última banda é bastante corada. Para a Tilápia rendalli, verificamos que a última banda apresenta uma coloração mais intensa do que aquela observada para a espécie Oreochromis niloticus e menos intensa do que a coloração da espécie Tilápia hornorum.

A identificação com base na densitometria foi procedida, tendo em vista as diferenças obtidas nos gráficos encontrados nos eletroferogramas das três espécies estudadas, fig. 1.

#### CONCLUSÕES

As principais conclusões que podem ser consideradas no presente trabalho são as seguintes:

1. Para a eletroforese em suporte de acetato de celulose efetuada nas condições anteriormente descritas, todos os indivíduos das espécies estudadas, apresentaram duas zonas de proteínas.

2. Em todas as espécies verificou-se a presença de uma zona intensamente corada, disposta em posição diferente para cada espécie do lado de outra menos corada.

3. A maior mobilidade proteica, verificou-se para a Tilápia rendalli, seguida em ordem decrescente, pela Oreochromis hornorum, sendo a Oreochromis niloticus a que apresentou menor deslocamento proteico.

4. Em nenhuma espécie foi observada a dependência

dos perfis eletroforeticos com o sexo e estágio de maturação gonadal.

## SUMÁRIO

O presente trabalho, tem por objetivo a identificação por eletroforese em acetato de celulose de três espécies da família Cichlidae: Oreochromis niloticus, Oreochromis hornorum e Tilápia rendalli; adquiridas no Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), no período de agosto/setembro de 1991 em Fortaleza-Ceará.

Um total de 60 indivíduos distribuídos igualmente entre as três espécies, foram estocados e alimentados em tanques da Estação de Psicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, dos quais após sacrificados foram obtidos extratos do músculo branco elaborados na proporção de 1:1 (peso/volume) com água destilada.

As corridas eletroforéticas foram feitas em fitas de acetato de celulose a 300 volts, durante 30 minutos em tampão barbitone-sódio, pH 8,6 e força iônica 0,1. O tampão foi preparado segundo instrução do manual Oxoid (1973).

Os eletroferogramas apresentaram as seguintes conclusões:

- Para a eletroforese em suporte de acetato de celulose efetuada nas condições anteriormente descritas todos os indivíduos das espécies estudadas, apresentaram duas zonas de proteínas.

- Em todas as espécies verificou-se a presença de uma zona intensamente corada disposta em posição diferente, para cada espécie, ao lado de outra menos corada.

- A maior mobilidade proteica, verificou-se para a espécie Tilapia rendalli, seguida em ordem decrescente, pela Oreochromis hornorum, sendo a Oreochromis niloticus a que apresentou menor deslocamento proteico.

- Em nenhuma espécie foi observada a dependência dos perfis eletroforéticos com sexo e estágio de maturação gonadal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASTOS, J. R., VIEIRA, G. H. F. & Beserra, F. J. - 1971 - Eletroforese de proteínas do músculo de peixes do gênero Lutjanus (Bloch), Laboratório de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ceará, 15 (1) : 49 - 51, 1 fig.
- BECHTEL, M. A. B. & ALVES, J. L. B. - 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.
- DEGANI, Gad & VEITH, Michael - 1990 - Eletroforetic Variations of isozime systems in the muscle and liver of Anabantidae fish. The Israel Journal of aquaculture - Bamid'geh, 42 (3), 1990, 67 - 76.
- HINES & YASHOUV - 1970 - Preliminary Studies of muscle protein polymorphism occurring within the genus tilapia - Bamid'geh, 22 (3) 69 - 71, Nindavia, Israel.
- JONES, B. W. & MACKIE, J. M. - 1970 - An application of eletrophoretic analysis of muscle miogens to taxonomic studies in the genus merluccius. Comp. Biochem. Physiol; London, 32 : 267 - 273, 1 fig.
- LANE, J. P., HILL, W. S. & LAERSON, R. J. - 1966 - Identification of species in raw processed fishery products by means so cellulose poliaceteb strip eletrophoresis, Comm. Fish. Rev, Washington, 28 (3): 10 - 13, 4 figs.

MANUAL OXOID - 1973 - The oxoid manual of culture media ingredients, and other laboratory services. Third edition (Revised), published by oxoid limited, London.

MANUAL TECNOW - Instrumentos científicos Ltda - Sistema para eletroforese.

MOTA, M. H. G. & VIEIRA, G. H. F. - 1977 - Eletroforese de proteínas da hemolinfa das lagostas *Panulirus argus* (Latreille) e *Panulirus laevicauda* (Latreille), no Estado do Ceará, Laboratório de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ceará, 17 (1) : 45 -47, 2 figs.

TSUYUKI, H. & ROBERTS, E. - 1965 - Zone eletrophoretic comparison of muscle myogens and blood proteins of artificial hybrids of Salmonidae with their parental species. J. Fish. Res. Bd. con., Ottawa, 22 (3) 767 - 773, 5 figs.

TSUYUKI, H.; ROBERTS, E. & VASTONE, W. E. - 1965 - Comparative zone eletropherograms of muscle and blood hemoglobins of marine and freshwater and their application to biochemical systematics. J. Fish. Res. Bd. Con., Ottawa, 22 (1): 203 - 213, 8 figs.

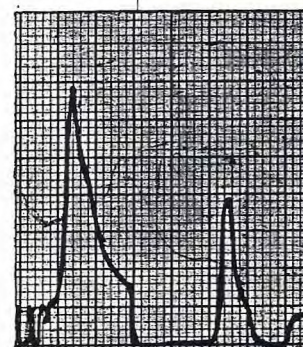
PERFIS DA ELETROFORESE DAS PROTEINAS DO MUSCULO  
DAS TILÁPIAS DO NILO, DE ZANZIBAR E DO CONGO.

ESPECIE

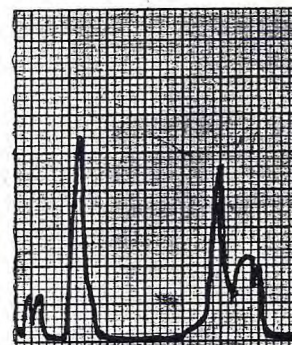
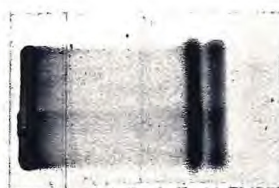
CORRIDA

DENSITOMETRIA

NILO



ZANZIBAR



CONGO

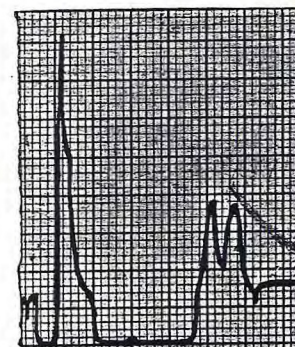
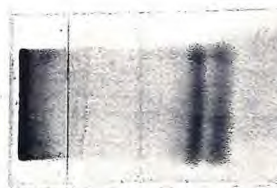


FIG. 01