

# IDENTIFICAÇÃO DE LINHAGENS DE *ARTEMIA* SP. NO NORDESTE DO BRASIL \*

## *Identification of strains of Artemia sp. in Northeastern Brazil*

VERA LUCIA MOTA KLEIN\*\*

### RESUMO

*A Artemia sp. é um microcrustáceo amplamente utilizado em aquicultura, especialmente na carcinicultura. Foram coletadas amostras de populações de cinco salinas do estado do Ceará e cinco do Rio Grande do Norte, com o objetivo de constatar, através da análise dos perfis da proteína eletroforética, possíveis diferenças entre elas. As determinações foram feitas com o uso de fitas de acetato de celulose por ser um método de baixo custo e de fácil interpretação dos resultados. Foram identificadas oito linhagens de Artemia nos locais estudados, algumas com diferenças bem marcantes e outras, guardando uma certa semelhança entre si.*

**PALAVRAS-CHAVE:** *Artemia*, linhagens de *Artemia*, proteína eletroforética.

### SUMMARY

*Artemia sp. is a microcrustacea widely used in aquaculture, mainly in the shrimp culture. Samples of Artemia populations from five salines in State of Ceará and five in the State of Rio Grande do Norte were collected with the objective to determine, through their electrophoretic protein profiles, possible differences among them. The determination was made using the cellulose acetate strip, because this is the most practical and inexpensive among the available methods. Eight strains of Artemia were identified in the studied region. Some of them differed markedly but others were very similar.*

**KEY-WORDS:** *Artemia*, *Artemia* strains, electrophoretic protein.

\* Trabalho apresentado no VI Congresso Latinoamericano de Ciencias del Mar, realizado em Mar del Plata, Argentina, no período de 23 a 27 de outubro de 1995.

\*\* Professora do Departamento de Engenharia de Pesca - UFC

## INTRODUÇÃO

A *Artemia* é um microcrustáceo Anostraca que tem importante papel na aqüicultura e de modo especial na carcinicultura. No Nordeste do Brasil, esta importância é acrescida pelo fato da própria *Artemia* constituir um recurso, potencialmente passível de ser explorado, tendo em vista os baixos índices pluviométricos, altas temperaturas e taxas de evaporação da região serem propícias para o seu desenvolvimento.

Segundo KLEIN<sup>5</sup> a ocorrência de *Artemia* no Nordeste brasileiro, fica restrita aos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte, pouco se conhecendo sobre a caracterização de suas populações.

O conhecimento da origem dos cistos é de fundamental importância. Náuplios procedentes de diferentes zonas geográficas, quando fornecidas a larvas na aqüicultura não produzem resultados iguais (AMAT<sup>1</sup>). WATANABE *et al.*<sup>9</sup> e FUJITA *et al.*<sup>2</sup>, indicam que, na cultura de *Pagrus major*, os resultados são diferentes com o emprego de náuplios de estirpes de *Artemia* do Canadá, Estados Unidos, China ou América do Sul.

Nas últimas décadas, a utilização de estudos de composição protéica dos animais através da eletroforese, tem sido um método cientificamente muito aceito para a identificação e classificação de peixes e crustáceos e dentre estes últimos, a *Artemia*. Segundo HILLIS & MORITZ<sup>3</sup>, a migração de proteína sob a influência de um campo elétrico, constitui um método eficiente para investigar diferenças genéticas em nível molecular. A discriminação é baseada nas diferenças de intensidade, de coloração e da mobilidade das zonas de proteína. (JONES & MACKIE<sup>4</sup>).

O presente estudo teve como objetivo analisar as populações de *Artemia* de salinas do Nordeste do Brasil, para verificar com base na proteína eletroforética se constituíam linhagens distintas.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de *Artemia* analisadas foram obtidas de 10 salinas, sendo cinco do Estado do Ceará e cinco do Rio Grande do Norte (FIGURA 1). Foram coletadas, utilizando-se um puçá com abertura de malha de 85 µm e, em seguida, transportadas para

laboratório em caixas de isopor de 50 l, com água do próprio local.

A determinação da proteína eletroforética foi feita, com o uso de fitas de acetato de celulose. As principais vantagens do uso de fitas de acetato de celulose na determinação da proteína eletroforética são: rapidez de corrida, repetibilidade do experimento, menor quantidade de amostra requerida e baixo custo (HARRIS & HOPKINS (1975) *apud* MURPHY *et al.*<sup>7</sup>).

Na preparação de cada extrato, utilizou-se um amostra de 10g de *Artemia*, macerada em água destilada, na proporção de 1:1 (g:ml), homogeneizada e, posteriormente, filtrada em papel de filtro. O filtrado foi submetido à centrifugação a 3.000 rpm, durante 15 min. Em seguida procedeu-se às aplicações para eletroforese.

A eletroforese foi realizada em cuba TECNOW modelo ARGOS 12. Em cada canaleta, colocou-se 75 ml do tampão barbitone-sódio, com pH 8,6 e força iônica ( $\mu$ ) 0,1, segundo o MANUAL OXOID<sup>6</sup>. Para cada aplicação, utilizou-se como suporte quatro fitas de acetato de celulose (CELLOGEL), previamente impregnadas no tampão por 10 min., retirando-se seu excesso com papel de filtro. As fitas foram esticadas sobre a ponte da cuba, de forma que suas extremidades ficassem mergulhadas no tampão. A aplicação foi feita com um macroaplicador a 2 cm do polo positivo. A cuba foi ligada a uma fonte de 220 V e regulada para 330 V, sendo o tempo de corrida de 30 min.

Após a corrida, as fitas foram fixadas em ácido tricloroacético a 5% por 10 min. e, em seguida, coradas com negro de amido, durante 10 min., agitando-se manualmente. A descoloração das fitas foi feita em solução de metanol (475ml), água destilada (475 ml) e ácido acético (50 ml). Em seguida, foram submetidas à desidratação em metanol puro, por um minuto e diafanizadas em solução contendo 85ml de metanol, 14ml de ácido acético e 1ml de glicerol. Por fim foram distendidas em placa de vidro e colocadas em estufa a 60 °C, por quatro minutos.

Para obtenção dos perfis de proteína procedeu-se a densitometria, utilizando-se uma unidade leitora, modelo ARGOS 8 da TECNOW.

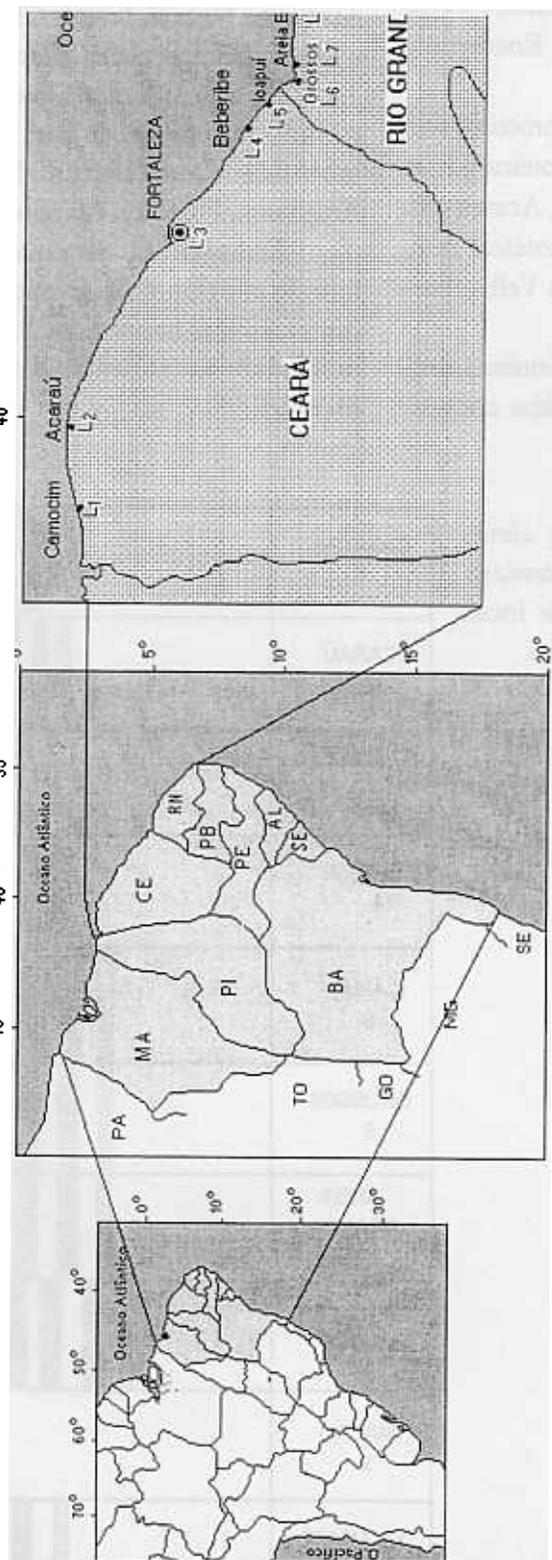


Figura Localização geográfica das estações *Artemia*

## RESULTADOS

Nas 10 salinas selecionadas para o estudo, observou-se a presença de oito linhagens de *Artemia*, considerando-se os padrões eletroforéticos, alguns com diferenças mais marcantes e outros revelando certa semelhança (FIGURAS 2 e 3).

Linhagem A, apresentando três zonas de proteína, sendo as das extremidades mais densas, e a central com menor concentração protéica. Encontrada na Salina Pedras Pretas, Camocim-CE.

Linhagem B, com quatro zonas de proteína, sendo a primeira com menor densidade protéica que as outras três. Presente na Salina São Bento, Acaraú-CE.

Linhagem C, com cinco zonas protéicas muito próximas. Encontrada na Salina Vila Velha, Fortaleza-CE.

Linhagem D, com quatro zonas protéicas, sendo as duas primeiras e a última com maior concen-

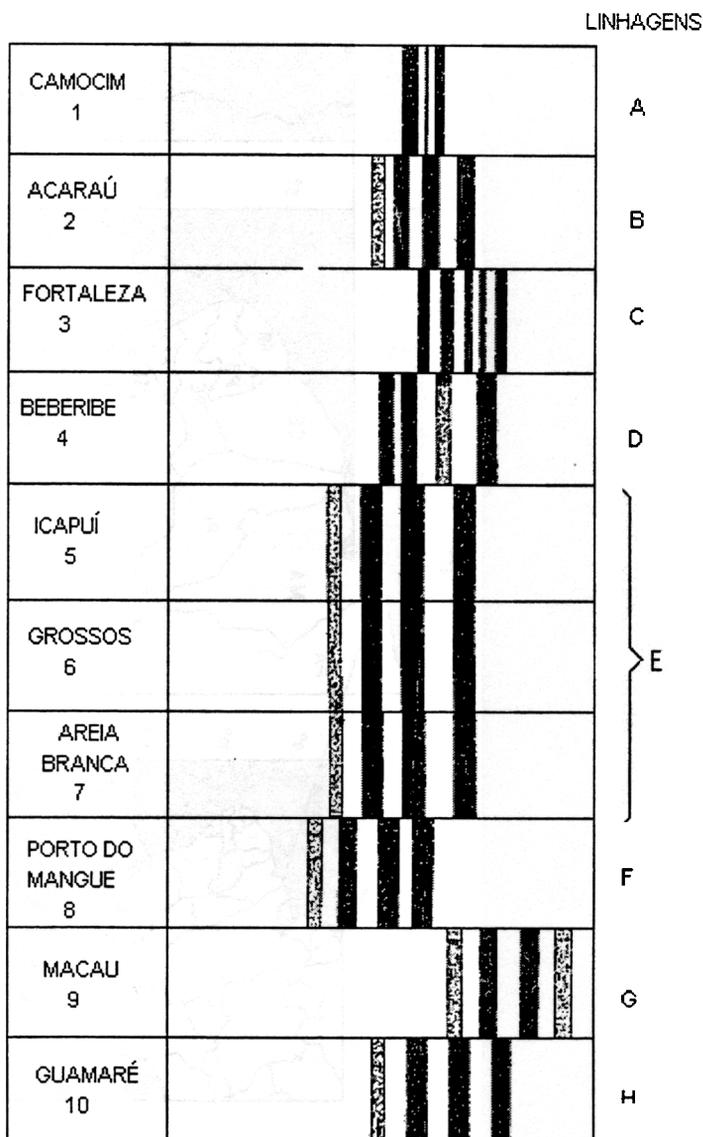
tração de proteína. Originária da Salina Pirangi, Beberibe-CE.

Linhagem E, também com quatro zonas protéicas semelhante à população de Acaraú (linhagem B), entretanto com a mobilidade das zonas diferente, que segundo JONES & MACKIE<sup>4</sup> e TSUYUKI *et al.*<sup>8</sup>, é um dos critérios utilizados para diferenciar o perfil eletroforético entre as espécies. Presente nas Salina Nazaré, Icapuí-CE; Marisco, Grossos-RN e Morro Branco, Areia Branca-RN.

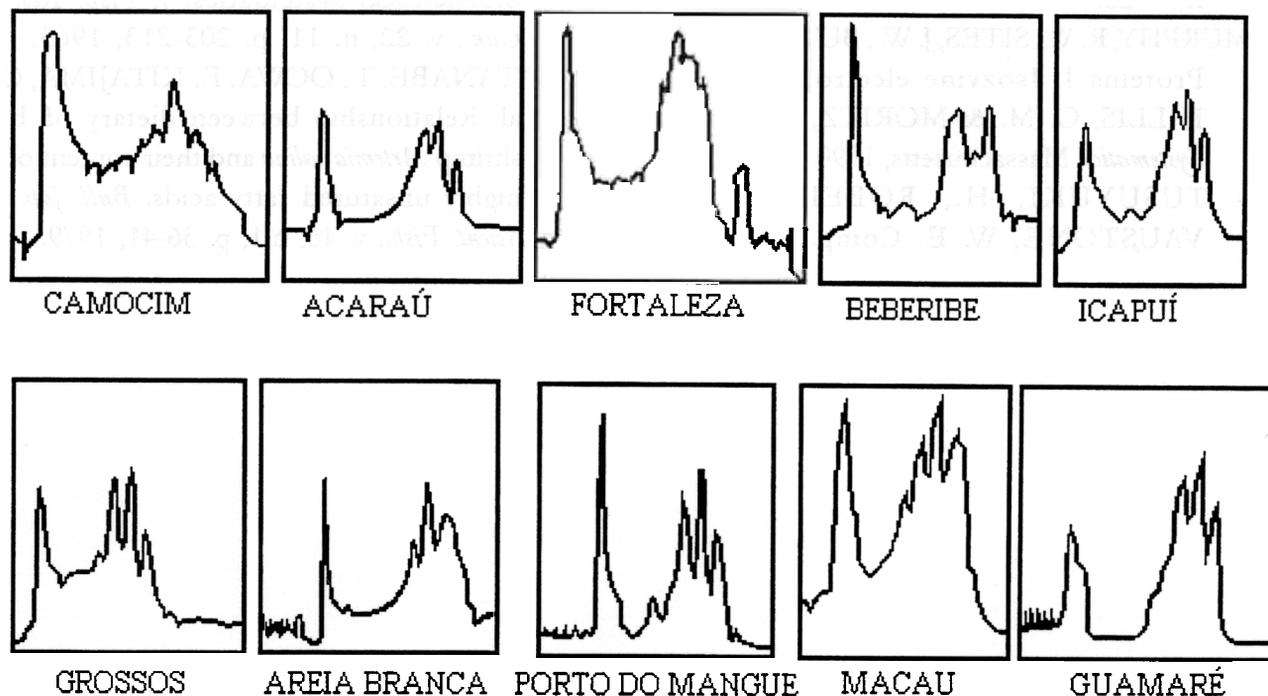
Linhagem F, com quatro zonas protéicas, semelhante as linhagens B e E, diferindo destas pela mobilidade da corrida. Encontrada na Salina Araguassu, Porto do Mangue-RN.

Linhagem G, com quatro zonas protéicas, diferindo entretanto das demais tanto pela menor concentração nas bandas das extremidades, como pela mobilidade das zonas. Presente na Salina São Pedro, Macau-RN.

**FIGURA 2** -Características de bandas eletroforéticas de proteína de *Artemia* sp., em acetato de celulose, de localidades geográficas diferentes.



**FIGURA 3** - Gráficos de densitometria da proteína eletroforética de populações de *Artemia* sp., das diferentes localidades.



Linhagem H, proteína eletroforética também com quatro zonas protéicas, muito semelhantes àquelas encontradas para as linhagens de Acaraú, Icapuí, Grossos, Areia Branca e Porto do Mangue, diferindo entretanto, pela mobilidade das bandas. Presente na Salina Camurupim, Guamaré-RN.

## CONCLUSÕES

- 1 - De acordo com os resultados da proteína eletroforética, foram identificadas oito linhagens de *Artemia* nas salinas estudadas.
- 2 - As linhagens que evidenciaram maiores diferenças foram a A, C, D e G, com perfis eletroforéticos de considerável consistência e boa diferenciação.
- 3 - As linhagens B, E, F e H, apresentaram muita semelhança, distinguindo-se mais pela mobilidade das bandas.
- 4 - As populações de *Artemia* de Icapuí, Grossos e Areia Branca, são da mesma linhagem, fato este que pode ser explicado pela proximidade existente entre estes municípios.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - AMAT, F. *Utilización de Artemia en Acuicultura*. Torre de La Sal. Inst. Inv. Pesq. 1985. 60p. (Inf. Tec. Inst. Inv. Pesq.)
- 2 - FUJITA, S., WATANABE, T., KITAJIMA, C. Nutritional quality of *Artemia salina* from different locations as living feed from viewpoint of essential fatty acid: from marine fish. In: PERSONE, G., SORGELLOS, P., ROELS, O. et al. *The Brine Shrimp Artemia*, Wetteren, Belgium, 1980, v.2, p. 277-290.
- 3 - HILLIS, O. M. & MORITZ, C. Molecular systematics: Context and Controversies. In: *Molecular systematics*. Massachusetts: Sinauer Associates, 1990. p. 1-10.
- 4 - JONES, B. E., MACKIE, J. M. An application of electrophoretic analyses of muscle miogens to taxonomy studies in the genus *Merluccius*. *Comp. Bioch. Physiol.*, v. 32, p. 267-273, 1970.
- 5 - KLEIN, V.L.M - *Contribuição ao estudo de diferentes linhagens de Artemia sp. no Nordeste do Brasil*. Universidade de São Paulo, 1993. (Tese de Doutorado).

- 6 - MANUAL Oxoid: The Oxoid Manual of Culture Media Ingredients and other Laboratory Services. 3<sup>aed</sup> rev. London: Oxoid Limited, 1973. 203 p.
- 7 - MURPHY, R. W., SITES, J. W., BUTH, D. G. *et al.* Proteins I. Isozyme electrophoresis. In: HILLIS, O. M. & MORITZ, C. *Molecular Systematics*. Massachusetts, 1990. p. 45-121.
- 8 - TUSUYUKI, H., ROBERTS, E. & VAUSTONE, W. E. Comparative zone electropherograms of muscle myogens and blood hemoglobins of marine and freshwater fishes and their application to biochemical systematics. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, v. 22, n. 11, p. 203-213, 1965.
- 9 - WATANABE, T., OOWA, F., KITAJIMA, C. *et al.* Relationship between dietary of brine shrimp *Artemia salina* and their content of w3 highly unsaturated fatty acids. *Bull. Jap. Sac. Scient. Fish.*, v. 46, n.1, p. 36-41, 1979.