

REGULAÇÃO DE IGF-1 E MIRNA-206 NA RESPOSTA HEPÁTICA AO FRIO EM TILÁPIAS-DO-NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

MARIANA PEREIRA E SILVA¹; EDUARDO NUNES DELLAGOSTIN²; NATIÉLI MACHADO GONÇALVES³; KAYLANE VASCONCELOS PIEPER⁴; TONY LEANDRO REZENDE DA SILVEIRA⁵; VINICIUS FARIAS CAMPOS⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – mariana.prsv@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – edu.ndell@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – natielimgoncalves@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – kaylanepvasconcelos@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – silveira.tlr@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – fariascampos@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura configura-se como uma das atividades de produção animal que mais crescem no mundo, especialmente no fornecimento de proteína de origem aquática para o consumo humano (FAO, 2024). Nesse contexto, a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies de peixes mais amplamente produzidas no mundo, tendo o Brasil como um de seus maiores produtores, entretanto, sua sensibilidade a baixas temperaturas representam desafios para a sua produção (PEIXE BR, 2024; DELLAGOSTIN *et al.*, 2022).

Essa espécie de origem africana que habita regiões tropicais e subtropicais tem temperatura ideal de criação de 25 °C a 28 °C. Embora tolere de 16 °C a 32 °C, fora desta faixa ideal surgem problemas fisiológicos e comportamentais: abaixo de 20 °C a alimentação cessa, o crescimento é reduzido abaixo de 15 °C e a mortalidade é elevada em temperaturas inferiores a 10 °C (BARCELLOS; FAGUNDES, 2012; ZHOU *et al.*, 2019). Tais efeitos ocorrem porque os peixes são organismos ectotérmicos, ou seja, dependem da temperatura do ambiente para regular sua temperatura corporal (DONALDSON *et al.*, 2008; MININNI *et al.*, 2014).

Do ponto de vista molecular, a regulação do crescimento em peixes depende da conversão de nutrientes em tecidos e células através de vias metabólicas (BERTUCCI *et al.*, 2019). Nesse processo, o eixo Hormônio do Crescimento/Fator de Crescimento Semelhante à Insulina (GH/IGF) exerce papel central, pois coordena o crescimento de acordo com a disponibilidade de nutrientes, tornando a composição da dieta um dos fatores ambientais mais relevantes para a regulação desse processo (ESCOBAR-AGUIRRE *et al.*, 2020). Além disso, a regulação pós-transcricional mediada por miRNA também influencia o crescimento da tilápia, uma vez que esses pequenos RNAs modulam a expressão de RNAs mensageiros (mRNAs) envolvidos no eixo GH/IGF. Entre eles, destaca-se o *miRNA-206*, considerado um importante modulador de genes relacionados ao crescimento e desenvolvimento de peixes, tendo como alvo o *igf-1* (HUANG *et al.*, 2012; YAN *et al.*, 2012).

Considerando os potenciais efeitos das baixas temperaturas nos processos fisiológicos e a compreensão limitada de como esses mecanismos influenciam as características epigenéticas, este estudo visa elucidar o papel das baixas temperaturas na expressão do gene *igf-1* e *miRNA-206*, no tecido do fígado, relacionados aos mecanismos de crescimento em tilápia-do-Nilo.

2. METODOLOGIA

Todos os procedimentos de manutenção e experimentação animal relatados neste trabalho foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso Animal da UFPel (Protocolo nº 23110.014105/2020-56). Para o experimento, tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) com peso médio de 120 ± 20 g foram adquiridas de fornecedor comercial e, em seguida, aclimatadas por quatro semanas em sistema de recirculação, onde a água foi mantida a $24 \pm 1,5$ °C sob fotoperíodo natural, com renovação parcial a cada 48 horas. Durante a aclimatação, os peixes foram alimentados até a saciedade três vezes ao dia com dieta comercial contendo 38% de proteína bruta (Supra, Alisul, Brasil).

Após o período de aclimatização, sessenta peixes foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos (controle e expostos ao frio), cada um com três réplicas de 10 animais: o grupo controle permaneceu a 24 °C, enquanto que o grupo de exposição ao frio foi resfriado gradualmente (0,5 °C/dia) até atingir 15°C. Esta temperatura foi escolhida pois reflete as condições médias de inverno no sul do Brasil, conforme divulgado pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2024). Essa temperatura foi mantida por 28 dias. Ao final do período experimental, seis indivíduos por grupo foram anestesiados com MS-222 (400 mg.L⁻¹) e eutanasiados para coleta de fígado. Os demais animais foram utilizados em outras análises. Em seguida, o RNA foi extraído do tecido utilizando o reagente TRIzol (Thermo Fisher Scientific, EUA) e tratado com DNase I (Ambion, EUA) para evitar contaminação por DNA genômico. A pureza e a concentração do RNA foram avaliadas com o espectrofotômetro NanoVue Plus.

Posteriormente, o DNA complementar (cDNA) foi sintetizado a partir de 500 ng totais de RNA utilizando o Kit de Transcrição Reversa de *High Capacity* (Applied Biosystems, EUA), seguindo as recomendações do fabricante. Para a análise de miRNAs, foi realizada a conversão em cDNA utilizando primers stem-loop com o mesmo kit para transcrição reversa.

A expressão de *igf-1* e do *miRNA-206* no fígado foi quantificada por qPCR, utilizando primers previamente validados em *Oreochromis niloticus* (HUANG et al., 2012). Para a normalização dos dados, o *actb* foi utilizado como gene de referência para *igf-1*, enquanto o *miR-let-7* foi empregado para *miRNA-206*.

Todas as reações foram realizadas em duplicata, e, para a análise dos resultados, os níveis relativos de expressão foram calculados pelo método $2^{\Delta\Delta CT}$.

Quanto à análise estatística, a normalidade e a homocedasticidade dos dados foram verificadas por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Teste F, respectivamente. Por fim, a comparação entre grupos foi realizada utilizando o Teste T. Os resultados foram expressos como média \pm EPM, sendo considerada significância estatística para $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos testes realizados, observou-se que os níveis de expressão de *igf-1* no fígado foram maiores no grupo exposto a baixa temperatura em comparação ao grupo controle. Da mesma forma, os níveis de expressão de *miRNA-206* foram significantemente maiores no grupo de expostos ao frio.

De acordo com os resultados, a exposição ao frio parece induzir respostas compensatórias no fígado, modulando a expressão de *igf-1* e *miRNA-206*, evidenciando a interação entre mecanismos transpcionais e pós-transpcionais.

Diferentemente do que foi observado em estudos anteriores com tilápias, nos quais o aumento da expressão de *miRNA-206* estava associada à redução da expressão de *igf-1* (YAN *et al.*, 2012), o presente estudo mostra que ambos foram regulados positivamente no fígado de peixes expostos a baixas temperaturas. Essa divergência sugere um cenário regulatório mais complexo, em que o *miRNA-206* pode atuar modulando de forma mais sutil a expressão de *igf-1* ou ter sua ação compensada por outros ativadores transcripcionais sob estresse térmico. Assim, os dados reforçam que as interações miRNA e mRNA são dependentes do tecido e do contexto, e que a adaptação ao frio envolve mecanismos integrados de regulação do crescimento.

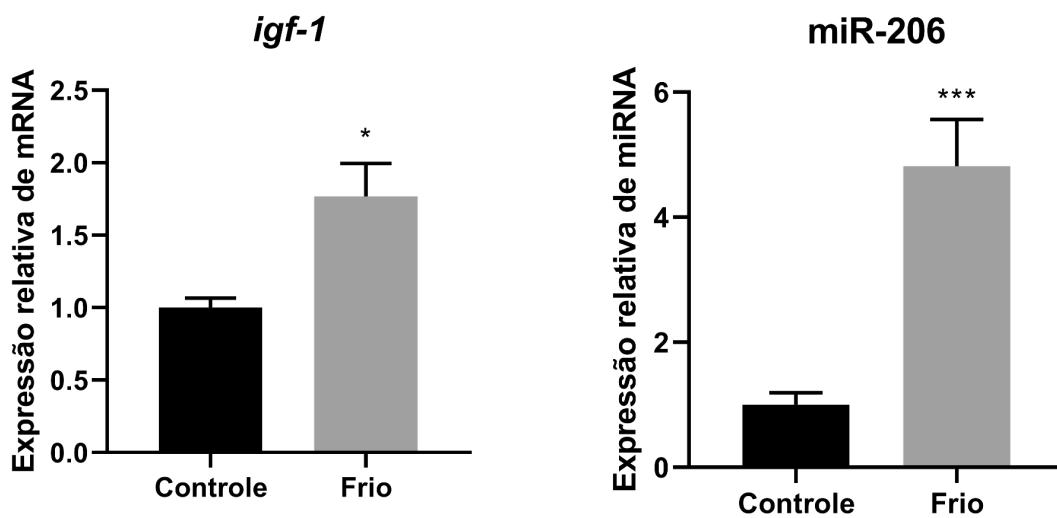


Figura 1 - Expressão do gene *igf-1* e do *miRNA-206* no fígado de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Comparação entre o grupo controle mantido a 24 °C e o grupo exposto a baixas temperaturas por 28 dias. Os valores representam a média ± EPM. Os asteriscos indicam diferenças significativas entre os grupos (Teste T; n = 12, * p<0.05 e *** p<0.001).

4. CONCLUSÕES

Este estudo demonstra que a resposta da tilápia-do-Nilo ao frio envolve mecanismos moleculares no fígado que contribuem para a manutenção do metabolismo e do crescimento. Esses achados ampliam o entendimento sobre a adaptação ao estresse térmico e oferecem suporte para o desenvolvimento de estratégias voltadas à melhoria da tolerância ao frio em sistemas aquícolas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARCELLOS, LEONARDO JOSÉ GIL; FAGUNDES, MICHELE (Orgs.). **Policultivo de 1675 jundiás, tilápias e carpas: uma alternativa de produção para a piscicultura rio-grandense**. 2. ed. Passo Fundo: Editora Universidade de Passo Fundo, 2012.

BERTUCCI, Juan Ignacio *et al.* Nutrient regulation of endocrine factors influencing feeding and growth in fish. **Frontiers in endocrinology**, v. 10, p. 83, 2019.

DELLAGOSTIN, Eduardo N. *et al.* Chronic cold exposure modulates genes related to feeding and immune system in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & shellfish immunology**, v. 128, p. 269–278, 2022.

DONALDSON, M. R. *et al.* Cold shock and fish. **Journal of fish biology**, v. 73, n. 7, p. 1491–1530, 2008.

ESCOBAR-AGUIRRE, Sebastián *et al.* Long-term feeding of a maintenance ration affects the release of Igf-1 and leptin, and delays maturation in a male teleost fish, *Dicentrarchus labrax* L. **Aquaculture** (Amsterdam, Netherlands), v. 527, n. 735467, p. 735467, 2020.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2024**. Rome. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4060/cd0683en>. Acesso em: 26 ago. 2025.

HUANG, C. W. *et al.* Differential expression patterns of growth-related miRNAs in the skeletal muscle of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of animal science**, v. 90, n. 12, p. 4266–4279, 2012.

INMET, Instituto Nacional de Meteorologia. **Estação Meteorológica de Observação de Superfície Automática**, 21 jul. 2024. Disponível em: <https://portal.inmet.gov.br/>. Acesso em: 26 ago. 2025.

MININNI, Alba N. *et al.* Liver transcriptome analysis in gilthead sea bream upon exposure to low temperature. **BMC genomics**, v. 15, n. 1, p. 765, 2014.

PEIXE BR, Associação Brasileira da Piscicultura, 2024. **Anuário Brasileiro da Piscicultura**. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2024/>. Acesso em: 26 ago. 2025.

YAN, B., ZHAO, L., GUO, J., ZHAO, J., 2012. O *miR-206* regula o crescimento da tilápia teleósteo 824 (*Oreochromis niloticus*) por meio da modulação da expressão do gene IGF-1. **Journal of Experimental Biology** jeb.079590.

ZHOU, TAO *et al.* Transcriptomic responses to low temperature stress in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 84, p. 1145–1156, jan. 2019.