

OCORRÊNCIA DE LARVAS SIAMESAS DO RIVULÍDEO *Hypsolebias sertanejo* ECLODIDAS EM LABORATÓRIO

Mariana Machado EVANGELISTA¹; Lucas Henrique PIVA²; Maria Rita de Cásia Barreto NETTO³, Izabel Corrêa Boock de GARCIA⁴; Diógenes Henrique SIQUEIRA-SILVA⁵; José Augusto SENHORINI⁶; George Shigueki YASUI⁷, Elizabeth ROMAGOSA⁸

¹Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, SP, mariana.mevangelista@gmail.com

²Instituto de Biociências da UNESP, Botucatu, SP, piva605@gmail.com

³CEPTA/ICMBio, Pirassununga, SP, mrcbnetto@gmail.com

⁴CEPTA/ICMBio Pirassununga, SP, izabel.garcia@icmbio.gov.br

⁵Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Marabá, PA, siqueira.diogenes@gmail.com

⁶CEPTA/ICMBio, Pirassununga, SP, jose.senhorini@icmbio.gov.br

⁷Faculdade de Ciências da UNESP, Bauru, SP, georgeyasui@yahoo.com

⁸Instituto de Pesca, APTA, SAA, São Paulo, SP, e.romagosa@uol.com.br

Palavras-chave: peixes anuais; ploidia; Rivulidae

INTRODUÇÃO

Os Rivulídeos constituem uma família de peixes da ordem Cyprinodontiformes com mais de 350 espécies distribuídas nas Américas (COSTA, 2011). No Brasil é reportada a ocorrência de 201 espécies desse grupo, sendo que 125 destas encontram-se em risco de extinção, caracterizando-os como a família de peixes mais ameaçada do país (MMA, 2014).

Uma das particularidades dos Rivulídeos anuais é que habitam poças temporárias formadas na estação chuvosa que chegam a secar completamente no período de estiagem, assim, esses peixes se reproduzem e morrem em curto período de tempo (COSTA, 2011). Os ovos depositados no substrato permanecem durante toda estação seca em diapausa, eclodindo apenas na próxima estação úmida (WOURMS, 1972). Em cativeiro, são encontradas diversas anomalias físicas e também causadas por alterações cromossômicas, que reduzem a sobrevivência desses peixes (EVANGELISTA et al., 2016). O entendimento dessas anomalias é fundamental para otimizar a sobrevivência e consolidar estratégias de conservação. Portanto, objetiva-se com este trabalho investigar a ocorrência de larvas siamesas nascidas em laboratório a partir de matrizes provenientes da natureza.

MATERIAL E MÉTODOS

Os peixes parentais foram coletados em poças temporárias em Itacarambi (MG, Brasil, SISBIO 48541) em março/2015, e transportados para o Laboratório de Biotecnologia

de Peixes (CEPTA/ICMBio, Pirassununga, SP, Brasil), onde foram distribuídos em aquários de 40 L (1 macho: 3 fêmeas), e temperatura da água 27°C. Em cada aquário foi inserido um recipiente com areia utilizada como substrato para a deposição de ovos. Os ovos coletados foram transferidos para microplacas de 6 poços contendo 15 mL de água ultrapura e checada diariamente a eclosão.

Dentre as 81 larvas obtidas foram verificadas duas larvas siamesas, as quais tiveram fragmentos das caudas removidos e submetidos à análise de citometria de fluxo para verificação da ploidia. Posteriormente, as larvas foram fixadas em solução de Bouin e submetidas a técnicas rotineiras de histologia, e o material obtido foi analisado em microscópio de luz e fotografado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise histológica revelou que as larvas (Fig. 1A, B) se encontravam conectadas por tecido conjuntivo, sendo que órgãos como brânquias, intestino e sistemas urinário e reprodutivo eram independentes (Fig. 1C, D). Em ambas as larvas as gônadas se encontravam diferenciadas em ovários, apresentando oócitos em crescimento primário (Fig. 1E, F). O fato das larvas apresentarem o mesmo sexo pode ser explicado pela origem monozigótica, assim como ocorre em mamíferos (FRAGA et al., 2005), sugerindo mecanismos genéticos de determinação sexual na espécie.

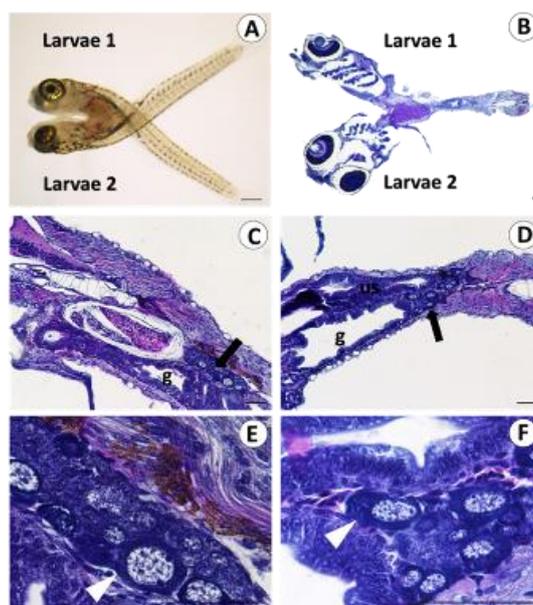


Figura 1. Larvas siamesas de *Hypsolebias sertanejo*. **A, B.** Larvas 1 e 2; **C, D.** Sistema urinário (us), ovários (seta); **E-F.** Oócitos em crescimento primário (cabeça de seta). Barra: 50µm.

Os resultados da citometria de fluxo, por sua vez, indicaram que o conteúdo relativo de DNA de células das caudas das diferentes larvas foi diferente, sendo que uma das larvas apresentou conteúdo diplóide (2C), enquanto que a outra teve conteúdo superior (2,15C). Não foram encontrados na literatura relatos semelhantes a este, mas é sugerido que a ocorrência de desenvolvimento assincrônico na blastoderme já reportada em outras espécies (AREZO et al., 2005) pode levar ao fracionamento da blastoderme originando diferenças morfológicas e cromossômicas em larvas siamesas.

REFERÊNCIAS

- AREZO, M. J.; PEREIRO, L.; BEROIS, N. 2005 Early development in the annual fish *Cynolebias viarius*. *Journal of Fish Biology*, 66: 1357-1370.
- COSTA, W. J. 2011 Phylogenetic position and taxonomic status of *Anablepsoides*, *Atlantirivulus*, *Cynodonichthys*, *Laimosemion* and *Melanorivulus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 22(3): 233.
- FRAGA, M. F.; BALLESTAR, E.; PAZ, M. F., ROPER, S.; SETIEN, F.; BALLESTAR, M. L.; HEINE-SUÑER, D.; CIGUDOSA, J. C.; URIOSTE, M.; BENITEZ, J.; BOIX-CHORNET, M.; SANCHEZ-AGUILERA, A.; LING, C.; CARLSSON, E.; POULSEN, P.; VAAG, A.; STEPHAN, Z.; SPECTOR, T. D.; WU, Y.; PLASS, C.; ESTELLER, M. 2005 Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *PNAS*, 101(30): 10604-10609.
- EVANGELISTA, M. M.; PIVA, L. H.; SIQUEIRA-SILVA, D. H.; NETTO, M.R.; GARCIA, I. C.; YASUI, G. S.; SENHORINI, J. A.; ROMAGOSA, E 2016. Natural mosaicism in the rivuliid fish *Hypsolebias sertanejo* and its implications on the reproduction. Anais do VII Congresso da Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2016.
- MMA. 2014 Portaria Ministério do Meio Ambiente nº 445, de 17 de Dezembro de 2014. Reconhece as espécies de peixes e invertebrados aquáticos da fauna brasileira ameaçadas de extinção como aquelas constantes da "Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção - Peixes e Invertebrados Aquáticos". Diário Oficial da União, Brasília, 18 de dezembro de 2014.
- WOURMS, J. P. 1972 The developmental biology of annual fishes. III. Pre-embryonic and embryonic diapause of variable duration in the eggs of annual fishes. *Journal of Experimental Zoology*, 182(3): 389-414.