

INDUÇÃO A POLIPLOIDIA DO SARNAMBI *Anomalocardia flexuosa*

NOME DO BOLSISTA: Ana Paula Rego SAMPAIO. Bolsista PIBIC/FAPEMA. Graduanda em Engenharia de Pesca/UEMA.

NOME DO ORIENTADOR: Prof. Dr. Ícaro Gomes ANTONIO. Departamento de Engenharia de Pesca. CCA/UEMA.

INTRODUÇÃO

Historicamente, o sarnambi *A. flexuosa* (*A. brasiliiana*) é uma espécie amplamente explorada pelas comunidades tradicionais, através da mariscagem, durante o ano todo, sem a preocupação da utilização de medidas de manejo que garantam um uso sustentável (Araújo, 2001). No ambiente natural os moluscos diploides são os mais frequentes, herdando o cromossomo da mãe e o cromossomo do pai, mas podem ser manipulados para alterar essa condição e melhorar o crescimento (Guo et al., 2009) através da poliploidia (Rasmussen e Morrissey, 2007). As tecnologias de manipulação de cromossomos na aquicultura referem-se à possibilidade de aumentar o número de conjuntos de cromossomos de um determinado organismo aquático para garantir sua esterilidade ou baixa formação de gametas viáveis para reprodução, sendo estas as melhores alternativas de curto prazo para aumentar a produção.

METODOLOGIA

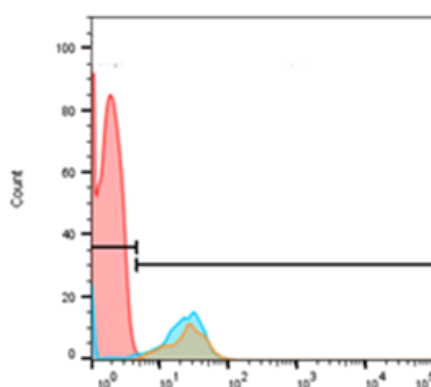
Foram utilizados reprodutores trazidos do estuário do Rio Paciência e encaminhados para o Laboratório de Fisiocologia, Reprodução e Cultivo de Organismos Marinhos – UEMA, onde foram realizados os experimentos. Para a obtenção dos gametas (ovócitos e espermatozoides) foram utilizadas duas técnicas, uma denominada de strip dos gametas para posterior fertilização e outra de indução por meio de choque térmico realizada em uma bandeja preta onde colocou-se cerca de 30 indivíduos com aquecedores. Para a determinação dos tempos para a indução a poliploidia foram realizados experimentos prévios para a determinação dos tempos de quebra da vesícula germinal e liberação dos corpúsculos polares, feito com 6 salinidades diferentes (15, 20, 25, 30, 35, 40 ppt) e com temperatura controlada de 25 °C em triplicata para ambos. Após a obtenção dos gametas foi realizada a fertilização dos ovócitos e em seguida a incubação dos ovos em tanques apropriados para a etapa de larvicultura. Após 24h da fertilização foi observado se havia a presença de larvas “D” e após 48 h com amostras contendo um “pool” de 2.000 larvas de cada repetição dos tratamentos. Estas larvas foram

maceradas e fixadas em placas de petri e filtradas através de um filtro descartável de malha de 50µm com de iodeto de propídeo (1mg/mL) e as larvas que ficaram retidas nos filtros foram analisadas posteriormente em citômetro de fluxo BD FACSCALIBUR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram utilizado duas técnicas para a obtenção de gametas: por meio de strip e por meio de indução por choque térmico que foi realizado pela mudança de temperatura e acréscimo de alimentação e espermatozoide. Observou-se que o melhor método para obtenção de ovócitos foi por meio da indução por meio de choque térmico, onde todos os ovócitos estavam maduros (Tureck, 2010). Na quebra da vesícula germinal obteve o melhor tempo na salinidade de 30 ppt, chegando a 95% de quebra. Com realção a liberação de corpúsculos, foi determinado que a salinidade de 35 ppt proporcionou os melhores tempos de liberação do 1º e 2º corpúsculo. Foram feitas 26 tentativas de indução por choque térmico, das quais apenas 2 obtiveram êxito, com a liberação de ovócitos em quantidade e qualidade para dar seguimento a larvicultura. O melhor resultados gerou aproximadamente 272 mil ovócitos, dos quais após 24 horas se transformaram em 96.750 larvas “D” correspondendo a 35,57% de sucesso. Após 48 h a taxa de mortalidade foi de 55,69% restando apenas 42.875 larvas, as quais foram levadas para citometria de fluxo para calibrar o aparelho com organismos diplóides (Figura 1).

Figura 1- Análise de citometria de fluxo de larvas em 48 horas.



Fonte: UFMA, 2021.

As larvas foram maceradas e filtradas para possibilitar a separação e a contagem individual de células no citômetro. Em laranja e azul são duplicatas que representam conjuntos de cromossomo da mesma quantidade, pois expressam a mesma intensidade do marcador

fluorescente Iodeto de Propídeo. Em vermelho, temos o valor característico do conjunto cromossomal sem o uso de marcação (branco), é um controle utilizado no equipamento citômetro de fluxo. O eixo x corresponde a fluorescência da célula núcleo e o eixo y o número de células contadas, o tratamento controle (2N) apresentou nas duas amostras diferentes o valor de células em laranja 374 células e em azul 605 células diploides.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Podemos concluir que foram realizados com sucesso os experimentos de determinação dos tempos de quebra de vesícula germinal e liberação dos corpusculos polares em diferentes salinidades. Com relação as tentativas de desova, foram realizadas 26 das quais somente 2 obtiveram sucesso, o que nos leva a repensar a metodologia trabalhada e testar novos métodos para melhorar a eficiência desta etapa fundamental para o prosseguimento do trabalho. A larvicultura realizada possibilitou a obtenção de larvas e sua utilização na calibração do citômetro de fluxo. A equipe do laboratório está empenhada em superar estas etapas e melhorar a eficiência da produção de sementes em laboratório, insumos estes que poderão colaborar com a conservação da espécie, assim como ajudar a famílias no desenvolvimento de uma nova atividade produtiva.

Palavra-chave: Desova. Molusco de areia. Tetraploidia. Triploidia

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, C. M. Y. **Biologia reprodutiva do berbigão *Anomalocardia brasiliana* (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na Reserva Extrativista Marinha do Pirajubaé.** Tese de doutorado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Brasil, 204 p, 2001.
- GUO, X., WANG, Y., XU, Z.; YANG, H. **Chromosome set manipulation in shellfish.** in: *New Technologies in Aquaculture: Improving Production Efficiency, Quality and Environmental management*, G. Burnell and G. Allan (eds). Woodhead Publishing. p.165-195., 2019.
- RASMUSSEN, R.S.; MORRISEY, M.T. Biotechnology in aquaculture: transgenics and polyploidy. **Comprehensive Review in Food Science and Food Safety**, v.6, n.1, p. 2-16, 2007.
- TURECK, T. R. **Sementes de ostras nativas no litoral de Santa Catarina/Brasil, como subsídio ao cultivo.** Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Dissertação de doutoramento. Florianópolis-SC, 140p, 2010.