



SEGREGAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ESPINHAS INTERMUSCULARES EM TAMBAQUIS (*Colossoma macropomum*)

Sabrina Vitória Ferreira da Costa¹; Caio Augusto Perazza²; Leticia Rafaela de Moraes³, Alexandre Wagner Silva Hilsdorf⁴

1. Estudante de Biologia; e-mail: sabrinavfc1203@gmail.com;
2. Doutor em Biotecnologia pela Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: caioperazza@gmail.com;
3. Doutoranda em Biotecnologia pela Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: leti.morais@yahoo.com.br;
4. Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: wagner@umc.br.

Área do conhecimento: Genética Animal.

Palavras-chave: Diafanização; Ausência de espinhas, Herança mendeliana; Ossificação.

INTRODUÇÃO

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) (Cuvier, 1818) é um peixe redondo pertencente à família *Serrasalminidae*, e é o segundo maior peixe amazônico (MIRANDE, 2010). Sua importância econômica é notável visto que se trata do segundo peixe mais cultivado e comercializado do Brasil, ficando atrás somente da tilápia, e liderando o ranking de cultivo de peixes nativos (PEIXEBR, 2022). Apesar do mercado dessa espécie possuir expectativas de crescimento exponencial promissoras, ainda encontra alguns entraves (PEIXEBR, 2022). As espinhas intermusculares (EI) se classificam como pequenos e finos ossos que possuem distintas morfologias, elas estão inseridas entre os miosseptos de peixes Teleósteos inferiores (PATTERSON; JOHNSON, 1995). Sua morfologia é peculiar visto em um primeiro momento essas espinhas parecem estar "soltas" no meio dos músculos dos peixes, porém Patterson e Johnson (1995) propuseram que essas espinhas possuem uma ligação com as vértebras através de tendões de tecido conjuntivo em suas extremidades; e são classificadas nas séries epineural, epicentral e epipleural. A formação dessas espinhas não ocorre junto com os demais componentes do complexo ósseo dos peixes que as possuem, e sua origem vem através da ossificação do tendão de tecido conjuntivo miosseptal, que ocorre dependendo da espécie, quando os animais atingem de 10 a 25mm de comprimento padrão (PERAZZA, 2017). Essas espinhas acarretam um certo grau de prejuízo quando se trata do comércio da carne desses animais, visto que sua retirada compromete uma parte do filé do peixe, além disso, a venda de peixes inteiros com todas as espinhas não é tão apreciada pelos consumidores, além de representarem riscos à saúde em vista que são causadoras de graves acidentes envolvendo sua ingestão, provocando engasgos, sufocamentos e possível óbito (YAP *et al.*, 2007; LIN *et al.*, 2014). Perazza *et al.* (2017) relatou o achado de alguns exemplares de tambaqui sem as espinhas intermusculares, a próxima etapa lógica seria

verificar como essa característica é transmitida para a geração subsequente através de cruzamentos direcionados e controlados. Perazza *et al.* (2017) utilizou eficientemente equipamentos de ultrassom para verificar a presença ou ausência de EI em exemplares adultos, porém para avaliar a esse fenótipo de maneira rápida em lotes de juvenis provenientes dos cruzamentos se fazia necessário o uso de outra técnica, então fora proposto o método de diafanização.

OBJETIVOS

Analisar espinhas intermusculares de exemplares de tambaquis juvenis por meio da técnica de diafanização e, de animais adultos por meio de métodos de dissecação; avaliar também outros Characiformes para fins comparativos.

METODOLOGIA

A prole que será analisada é oriunda de três cruzamentos: acasalamento 1 - Fêmea e macho sem EI; acasalamento 2 - Fêmea sem EI e macho com EI; acasalamento 3 - Fêmea e macho com EI. O protocolo de diafanização será adaptado de Taylor e Van Dyke (1985), a verificação da presença ou ausência de EI será realizada por meio de Microscópio Estereoscópio (lupa) com a captura de imagens para posterior avaliação e documentação. A avaliação morfológica e quantitativa de EI será realizada através da dissecação de peixes adultos da ordem dos Characiformes, sendo eles: *Colossoma macropomum*, *Hoplias malabaricus*, *Astyanax sp.* e *Prochilodus vimboides*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

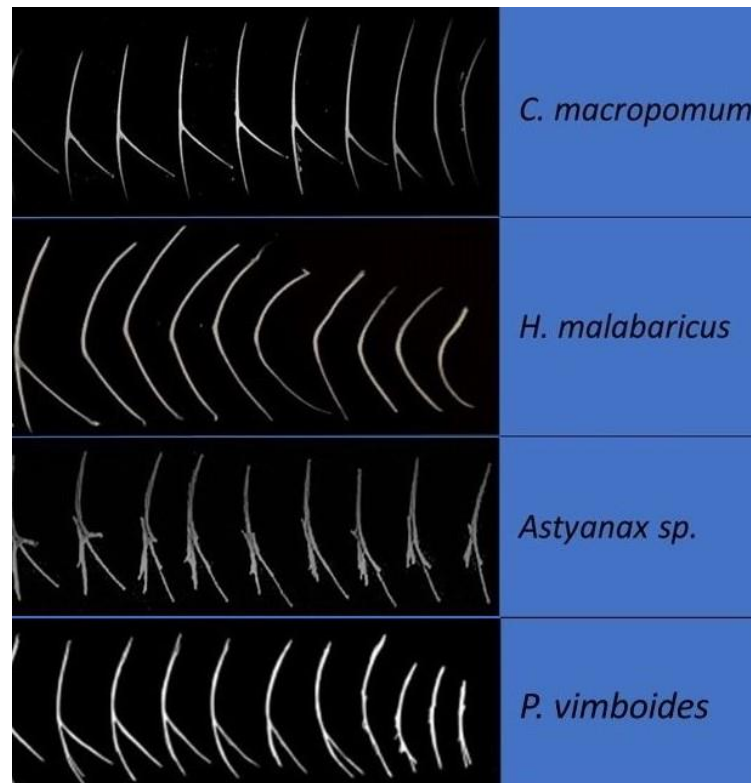
Os resultados obtidos evidenciam um padrão em formas e números distintos para cada espécie:

Figura 1: Resultados a respeito da quantificação de EI em exemplares da ordem dos Characiformes, as espinhas estão divididas nas duas secções (direita e esquerda respectivamente)

Espécies	Exemplares	Epineurais	Total	Epipleurais	Total	Total geral		
<i>C. macropomum</i>	1°	30	30	60	12	12	24	84
	2°	29	27	56	12	12	24	80
	3°	30	30	60	12	13	25	85
<i>H. malabaricus</i>	1°	33	33	66	17	17	34	100
	2°	35	35	70	17	17	34	104
	3°	33	33	66	17	17	34	100
<i>Astyanax sp.</i>	1°	32	32	64	22	19	41	105
	2°	31	31	62	19	18	37	99
	3°	31	33	64	19	19	38	102
<i>P. vimboides</i>	1°	36	37	73	16	17	33	106
	2°	37	36	73	15	16	31	104
	3°	36	37	73	15	15	30	103

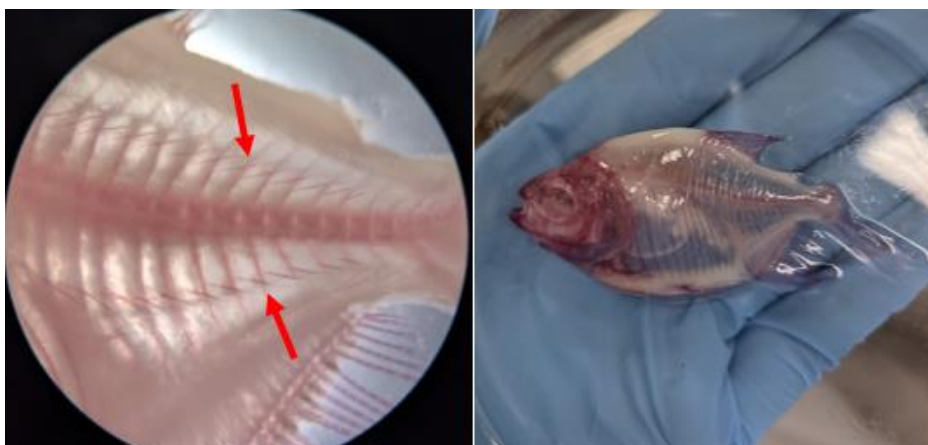
Os exemplares de *C. macropomum* apresentaram uma média de 29,3 espinhas epineurais e 12 epipleurais, e contagem total com a média de 80 espinhas distribuídas em 5 tipos morfológicos; *H. malabaricus* apresentaram uma média de 33,6 epineurais e 17 epipleurais, a média total foi de 101,3 espinhas, distribuídas em 4 tipos morfológicos; *Astyanax sp.* com médias de 31,6 epineurais e 19,3 epipleurais, e a média total de 102, com 4 tipos morfológicos; E *P. vimboides* com uma média de 36,5 espinhas epineurais, 15,6 para as epipleurais e média total de espinhas em 104,3, contando com 5 tipos morfológicos. Podemos distinguir que diferentemente dos trabalhos descritivos já realizados em ciprinídeos (YANG *et al.*, 2019) as quatro espécies de Characiformes apesar de representarem quatro famílias distintas (Serralmidae; Erythrinidae; Caracidae e Prochilodontidae), tiveram uma baixa variação no número de EI (comparativamente com os Cypriniformes), com um valor mínimo de 80 e máximo de 106. Foi observado que cada espécie em questão possui espinhas que, apesar de terem aparentemente os mesmos tipos morfológicos, seguem padrões de formas específicos, e muitas vezes particulares. Cada uma das espécies apresentou ao menos 1 formação de espinha particular. Aqui separamos as espinhas referentes ao final da série epineural de todas as espécies para comparação.

Figura 2: Vista das espinhas localizadas ao final da série epineural (sentido caudal → cranial) de cada espécie avaliada.



O protocolo de diafanização foi adaptado de Taylor e Van Dyke (1985), e sofreu alterações com o objetivo de: Otimizar o processo, diminuir custos, melhorar os resultados em peixes maiores (cerca de 55mm) e garantir a integridade das frágeis EI.

Figura 3: Testes finais realizados nos exemplares: digestão, despigmentação e coloração satisfatórios, as estruturas ósseas são facilmente analisadas através da lente



Devido ao curto período para o experimento, fora avaliado por meio da difanização apenas 50 exemplares oriundos de um único acasalamento (acasalamento 1: Fêmeas e machos SY), em hipótese seria o acasalamento com mais chances de possuir em sua prole indivíduos SY. Porém todos os exemplares avaliados continham EI. O coeficiente de herdabilidade desse

fenótipo já fora avaliado antes por Xiong *et al.* (2019), que avaliou linhagens e suas variações no número de EI foram de baixas a médias. No entanto, apesar das baixas taxas de variação e a ausência de herança mendeliana, o melhoramento deste fenótipo através da seleção artificial ainda pode ser considerado um caminho viável, visto que CAO *et al.* (2015) analisou três linhagens de carpa comum e relatou um pequeno aumento, porém significativo, na taxa de variação do número total de EI em cada geração quando comparado a experimentos anteriores, chegando a coeficientes moderadamente maiores, com taxas que variaram de 4,33% a 10,14% entre as linhagens ao realizar a reprodução seletiva descartando os indivíduos com maior contagem de EI e utilizando os com menor contagem.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho em questão nos permitiu um vislumbre inicial de como o fenótipo está presente morfológicamente e quantitativamente em exemplares de *C. macropomum* e outros Characiformes. O protocolo de diafanização adaptado para visualizar EI se mostrou eficiente para averiguar a ausência ou presença desse caráter em exemplares juvenis de *C. macropomum*. As EI não parecem seguir o conceito de herança mendeliana clássica, e a seleção artificial para melhorar esse fenótipo para o mercado é um processo difícil.

REFERÊNCIAS

- CAO, D. C.; KUANG, Y. Y.; ZHENG, X. H.; TONG, G. X.; LI, C. T.; SUN, X. W. Comparative analysis of intermuscular bones in three strains of common carp. *J of Applied Ichthyology*. v. 31, n. 1, p. 32-36, 2015.
- LIN, Ming-Pin; CHEN, Yen-Li; TZENG, Wen-Sheng. Incarceration of a Y-shaped fish bone in the upperthoracic oesophagus. *BMJ Case Reports*. 84 – 90, 2014.
- MIRANDE, J. M. Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes): from characters to taxonomy. *Neotropical Ichthyology*, v. 8, n. 3, p. 385-568, 2010.
- PATTERSON, C., JOHNSON, G.D. The intermuscular bones and ligaments of teleostean fishes. *Smithson. Contrib. Zool.* 559, p.1–84, 1995.
- PEIXE BR 2022. Anuário 2022 – Peixe BR da Piscicultura. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>. Acesso em: 10 de maio de 2022.
- PERAZZA, C. A.; MENEZES, J.T.B.; FERRAZ, J.B.S.; PINAFFI, F.L.V.; SILVA, L. A.; HILSDORF, A.W.S. Lack of intermuscular bones in specimens of *Colossoma macropomum*: An unusual phenotype to be incorporated into genetic improvement programs. *Aquaculture*, v. 472, p. 57-60, 2017.
- TAYLOR, W. R; VAN DYKE, George C. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybiurn*, v. 9, p. 107-119, 1985.
- XIONG, X. M.; ROBINSON, N. A.; ZHOU, J. J.; CHEN, Y. L.; WANG, W. M.; WANG, X. B.; GAO, Z. X. Genetic parameter estimates for intermuscular bone in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) based on a microsatellite-based pedigree. *Aquaculture*, v. 502, p. 371-377, 2019.

YANG, Kunfeng; JIANG, Wansheng; WANG, Xiaoi; ZHANG, Yuanwei; PAN, Xiaofu; YANG, Junxing. Evolution of the intermuscular bones in the Cyprinidae (Pisces) from a phylogenetic perspective. *Ecology and Evolution*, v. 9, p. 1–12, 2019.

YAP, W.G., VILLALUZ, A.C., SORIANO, M.G.G., SANTOS, M.N. Milkfish production and processing technologies in the Philippines. *Milkfish Project Publication Series*. v.2, p. 96, 2007.