

MENEZES, J.S.; SABÓIA-MORAIS, S.M.T. Estudo histoquímico, bioquímico e morfométrico de células mucosas de peixes eurialinos adultos e em estágio larval. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX 2., 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do XIII Seminário de Iniciação Científica** [CD - ROM], Goiânia: UFG, 2006.

Estudo histoquímico, bioquímico e morfométrico de células mucosas de peixes eurialinos adultos em estágio larval

MENEZES, Janaína de Sousa¹; SABOIA-MORAIS, Simone M.Teixeira.²

Palavras-Chaves: Alevinos, Salinidade, *Poecilia vivipara*.

1. INTRODUÇÃO

Uma das respostas para a busca por um hábito é que esses são desenvolvidos gradualmente, até a sua adaptação (Nepomnyashchikh *et al.*, 2003). Algumas espécies de peixes conseguem sobreviver em ambientes com mudanças na salinidade, dentre elas, está o guaru (*Poecilia vivipara*), que é um peixe moderadamente eurialino, sendo capaz de responder eficazmente a variações de salinidade da ordem de 0 µl/L até 20 µl/L, não suportando variações acima desse último nível (Shikano *et al.*, 2001). Tal capacidade confere a esse peixe uma maior possibilidade de sobrevivência em diferentes ambientes aquáticos. Um dos mecanismos utilizados por esses peixes para a proteção dos tecidos epiteliais expostos ao ambiente é a secreção de uma camada superficial de glicoproteínas e glicolipídios (Burkhardt-Holm, 1997; Sabóia-Morais *et al.*, 1999)

É freqüentemente utilizado como modelo biológico devido ao seu curto ciclo de vida, às grandes quantidades de alevinos produzidos, proporcionando assim material suficiente para estudos da biologia do desenvolvimento de peixes com fecundação interna, porém sem formação de anexos embrionários como placenta e, portanto, sem troca materno-fetal (Araújo *et al.*, 2001).

Tal mecanismo torna-se evidente pela constatação do aumento do número de células mucosas em brânquias do teleósteo (*Poecilia vivipara*) submetidos à água salobra quando comparados com água doce (Sabóia-Morais *et al.*, 1992, 1996)

A salinidade altera o consumo de oxigênio, a taxa de excreção de amônia, a proporção da taxa de oxigênio nitrogênio (Rocha *et al.* 2004), o nível de lipídeos no fígado, a atividade de glucose-6-fosfatase hepática, o metabolismo devido a osmorregulação entre outros (Woo, 1995) e, com todo esse interessante mecanismo de adaptação, tal estudo teve foco nas variações de populações celulares. O estudo histológico e histoquímico será conduzido para ajudar a estabilizar casuais relações entre a exposição à salinidade e as várias respostas biológicas. Neste sentido, as espécies que desenvolverem mecanismo de resposta em nível celular certamente elaborarão essas respostas por alteração do comportamento celular. De acordo com Sabóia-Morais *et al.* (2004), seriam ativadas expressões de glicoproteínas distintas de acordo com o ambiente salino de exposição.

MENEZES, J.S.; SABÓIA-MORAIS, S.M.T. Estudo histoquímico, bioquímico e morfométrico de células mucosas de peixes eurialinos adultos e em estágio larval. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX 2., 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do XIII Seminário de Iniciação Científica** [CD - ROM], Goiânia: UFG, 2006.

2. METODOLOGIA

Fêmeas adultas de *P. vivipara* obtidas no Córrego Cascavel, em Goiânia, foram transferidas para o Laboratório de Comportamento Celular – DMORF/UFG e permaneceram por 24 horas sob período de adaptação, 15 espécimes foram aclimatizados por 05 dias em cada salinidade experimental nas concentrações decrescentes (15, 10, 5 e 0 μ L/L). Alevinos nascidos nesse período experimental permaneceram por 02 e 24 horas no ambiente salino e após isso, foram sacrificados. Amostras foram coletadas para análises histológicas dos embriões e alevinos. Após realizada esta etapa, os materiais foram processados para a microscopia eletrônica de varredura, no qual tais amostras foram fixadas com Karnovsky e para a citoquímica ultra-estrutural de lectinas, as peças foram fixadas em McDowell, tratadas com lectinas. Destas, foram obtidas eletromicrografias que foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Histologia e Embriologia do Instituto de Biologia da UNICAMP.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível detectar a organização geral dos arcos branquiais e a ocorrência de 4 holobrânquias a partir do estágio 32 de desenvolvimento dos guarus de acordo com Araújo *et al* (2001). Os alevinos nessa fase inicial provavelmente recebem muitos sinais ativadores que permitem a diferenciação celular em tipos ativos específicos, isso porque, após o nascimento, os sistemas mais funcionais do peixe são incompletos, por isso a morfogênese e a diferenciação são muito intensas durante o estágio de vida de desenvolvimento prematuro.

O epitélio branquial dos guarus apresenta quatro tipos de células mucosas que se diferenciam de acordo com sua localização e a histoquímica de glicoconjugados em microscopia de luz (Sabóia-Morais *et al.*, 1996; 1997), apresentando também diferenças morfológicas e, nos alevinos envolvem o surgimento precoce das células mucosas diferenciadas, as quais são detectadas na região do rastelo branquial (células mucosas do tipo IV).

Através dos primeiros dados obtidos pela citoquímica ultra-estrutural de lectinas, que é um procedimento bastante delicado e que requer prática, pôde-se comprovar a seletividade de componentes internos dos grânulos de células mucosas do tipo III com a lectina PHA-E4, onde foi possível diagnosticar que há dois tipos de glicoproteínas constituindo um mesmo grânulo. Há na célula mucosa do tipo III grânulos de morfologia especial, eles se assemelham a um novelo de lã que foi mergulhado em um fluido viscoso. Sendo que, nesta etapa a lectina PHA-E4 marcou seletivamente só as fibras do novelo, enquanto o fluido não foi marcado.

O estabelecimento e sucesso desta primeira etapa é um passo para o aprimoramento da técnica. Abrindo a possibilidade de emprego desta metodologia no diagnóstico confirmatório de várias proteínas e glicoproteínas que são estudadas em nível molecular em fungos, bactérias entre outros seres vivos.

Alguns autores argumentam de diferentes modos que a variabilidade do comportamento intrínseco é parte essencial para a adaptação comportamental

MENEZES, J.S.; SABÓIA-MORAIS, S.M.T. Estudo histoquímico, bioquímico e morfométrico de células mucosas de peixes eurialinos adultos e em estágio larval. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX 2., 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do XIII Seminário de Iniciação Científica** [CD - ROM], Goiânia: UFG, 2006.

(Nepomnyashchikh *et al.* 2003). Sugere-se que o mesmo ocorra na espécie *Poecilia vivipara*.

4. CONCLUSÃO / COMENTÁRIOS FINAIS

Pode-se distinguir duas fases no desenvolvimento de *P. vivipara*, sendo que a primeira consiste desde a formação do embrião até a iniciação da vida externa (pós-natal) enquanto que a outra começa após este período até a transformação para o estágio adulto.

Foi verificado que, nos primeiros estágios de vida pós-natal, os alevinos apresentaram o sistema ocular bem desenvolvido, podendo estar relacionado com a aquisição de nutrientes tão necessários para o pleno desenvolvimento do animal nessa fase inicial, uma vez que seu suprimento vitelínico é muito pequeno e, em poucas horas será gasto.

Altas salinidades, possivelmente refletem no elevado metabolismo na osmorregulação (Woo *et al.*, 1995). Por isso, sugerimos para essa fase do desenvolvimento, aumento do número bem como da diferenciação celular por ativação imposta pelo ambiente.

A histoquímica de glicoconjugados indica a presença de grupamentos vic-glicol (mucinas neutras) e grupamentos ácidos sulfatados e carboxilados freqüentes nas células mucosa do tipo IV, as primeiras a serem detectadas nas larvas do guaru.

A lectina PHA-E4 foi seletiva para os conteúdos dos grânulos das células mucosas interlamelares do tipo III. Neste sentido, pretendesse investigar a morfologia das células dos embriões e alevinos e as especificidades dos outros tipos celulares mucosos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araújo, E.J. *et al.* (2001). Efeito de poluentes químicos cumulativos e mutagênicos durante o desenvolvimento ontogênico de *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). *Acta Microsc.*, Maringá. v. 23, n. 2, p. 391-399.

Burkhardt-Holm, P.; Wahli, T.; Meier, W. (2000). Nonylphenol Affects the Granulation Pattern of Epidermal Mucous Cells in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 46, Issue 1, 34-40.

Nepomnyashchikh, V.A.; Podgornyj, K.A. (2004) Emergence of Adaptive searching rules from the Dynamics of a Simple Nonlinear System. *Adaptive Behavior*. 11: 245-264.

Rocha, A.J.S.; Gomes, V.; Ngan, P.V.; Passos, M.J.A.C.R.; Fúria, R.R. (2004). Metabolic demand and growth of juveniles of *Centropomus parallelus* as function of salinity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 1-9.

MENEZES, J.S.; SABÓIA-MORAIS, S.M.T. Estudo histoquímico, bioquímico e morfométrico de células mucosas de peixes eurialinos adultos e em estágio larval. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX 2., 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do XIII Seminário de Iniciação Científica** [CD - ROM], Goiânia: UFG, 2006.

Sabóia-Morais, S.M.T.; Hernandez-Blazquez, F.J.; Mota, D.L.; Bittencourt, A.M. (1996). Mucous cells types in the branchial epithelium of the euryaline fish *Poecilia vivipara*. *J. Fish. Biol.*, 49: 545-548.

Sabóia-Morais, S.M.T., Borges-de-Oliveira, R.; Breseghelo, L. Watanabe, I.; Yamada, A.T. (2004) Cytochemical and biochemical detection of eurialine fish (*Poecilia vivipara*) gills submitted to saity changes. Prgs in VI Internacional Congress on the Biology of fish – Symposium I and Acid-Base Regulation in Fish, 79-83.

Shikano, T.; Chiyokubo, T.; Taniguchi, N.(2001). Effect of inbreeding on salinity tolerance in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Aquaculture*, v. 202, Issues 1-2, 19, 45-55.

Woo, N.Y.S.; Kelly, S.P. (1995). Effects of salinity and nutritional status on growth and metabolism of *Sparus sarba* in a closed seawater system. *Aquaculture*. 135: 229-238

¹ Bolsista de Iniciação Científica _ Instituto de Ciências Biológicas _ Laboratório de Comportamento Celular, janasbio@hotmail.com

² Orientadora _ Instituto de Ciências Biológicas/UFG, saboias@terra.com

MENEZES, J.S.; SABÓIA-MORAIS, S.M.T. Estudo histoquímico, bioquímico e morfométrico de células mucosas de peixes eurialinos adultos e em estágio larval. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX 2., 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do XIII Seminário de Iniciação Científica** [CD - ROM], Goiânia: UFG, 2006.