



SELEÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA ANÁLISE POPULACIONAL DE PEIXE - REI, NA LAGOA MANGUEIRA.

Garcia, V. H.

Tavares, R. A.; Santos, J. D. M. ; Piedras, S. R. N. ; Moreira, H. L. Marques

Universidade Federal de Pelotas Campus Universitário, Capão do Leão - Rio Grande do Sul - Brasil CEP96010 - 900. veronica.hgarcia@gmail.com

INTRODUÇÃO

O peixe - rei (*Odontesthes* spp.) é um representante da ordem atheriniformes, nativa da América do Sul: sudeste da Argentina e rio de La Plata e extremo sul do Brasil. No Brasil é encontrado na zona sul do estado do Rio Grande do Sul, Lagoas Mirim e Mangueira. (Benvenuti, 2006; Brian, 2006; Baigun *et al.*, 009). Seu cultivo não é desenvolvido o suficiente para alcançar níveis comerciais, sendo a comercialização desta espécie através da coleta de populações naturais, trazendo problemas futuros de sobrepesca com impacto direto na redução populacional. Diversos marcadores genéticos têm sido desenvolvidos com base na sua herança e padrão de evolução. O uso de classes de marcadores moleculares dirigidas para fluxo gênico e estrutura populacional, tem sido difundido principalmente por técnicas que possibilitam a detecção de polimorfismo genético através de múltiplos loci gênicos. Marcadores moleculares em espécies de peixes neotropicais estão sendo utilizados na identificação da diversidade e também na exploração de característica de interesse econômico e preservação de unidades significativas para a manutenção dessa biodiversidade (Torres *et al.*, 004).

OBJETIVOS

A utilização de marcadores microssatélites específicos para *Odontesthes* spp. torna - se uma ferramenta importante para conhecimento da dinâmica populacional desta espécie na Lagoa Mangueira, sendo objetivo deste estudo a seleção de marcadores microssatélites e desen-

volvimento de primers.

MATERIAL E MÉTODOS

Para extração de DNA genômico foi utilizado 20 indivíduos de *Odontesthes* spp., provindos da Lagoa Mangueira localizada no município de Santa Vitória/RS, a partir de fragmentos de músculo e nadadeira caudal (aproximadamente 200300mg), sendo armazenados em etanol 95% e preservados a -20°C. Após a coleta foram submetidos ao protocolo Cloreto de Sódio (Barrero *et al.*, 008). A busca por sequência de nucleotídeos relacionados com microssatélites em peixe - rei foi realizada na interface para recuperação de informação de dados biológica online “National Center for Biotechnology Information” (NCBI). Para espécie *Odontesthes bonariensis* foram encontrados 23 loci de microssatélites. Para este estudo foram selecionados seis loci (Obo19TUF=CA/16pb, Obo21TUF=GT/30pb, Obo64TUF=GT/20pb, Obo71TUF=CA/40pb, Obo77TUF=CA/28pb, Obo79TUF=CA/16pb). Os primers foram desenhados com auxílio do software *PerlPrimer* (Ferreira *et al.*, 009). As reações de PCR foram realizadas em um volume final de 25 µL, contendo 1 µL de DNA genômico, 0,5 µL de cada *primer*, 2,5 µL de 1X *buffer* de PCR, 1,5 µL MgCl₂, 0,5 µL de dNTP, 0,2 µL de *Taq DNA polimerase* e 18,3 µL de água livre de nuclease. A amplificação consistiu em uma desnaturação inicial de 94°C por 5 minutos, seguido por 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 45 se-

gundos, anelamento conforme a temperatura específica de cada *primer* por 45 segundos e extensão a 72°C por 45 segundos, terminando com uma extensão final de 8 minutos a 72°C. A checagem da amplificação foi realizada através de eletroforese em gel de agarose a 0,6%.

RESULTADOS

Do total de seis loci, cinco demonstraram eficiência para análise genética nas populações de peixe - rei da Lagoa Mangueira, onde os loci Obo19TUF, Obo21TUF, Obo71TUF, Obo77TUF, Obo79TUF apresentaram 100% de amplificação e o locus Obo64TUF apresentou baixa amplificação (20%). Estes resultados equivalem ao encontrado por Tavares *et al.*, (2010) com a espécie *Odontesthes bonariensis* coletados na Barragem do Chasqueiro (Brasil) e lagoa de Chascomus (Argentina), onde o locus Obo64TUF apresentou baixa amplificação nas amostras da Argentina e não apresentou amplificação nas amostras do Brasil. Estes resultados viabilizam a possibilidade da amplificação de microssatélites, desenvolvidos para a espécie *Odontesthes bonariensis*, em amostras de animais sem espécie definida (*Odontesthes* spp.). Beheregaray & Sunnucks (2000) obtiveram resultados semelhantes quanto a capacidade de transferência de marcadores moleculares do tipo microssatélites a partir de *O. argentinensis* e *O. perugiae* para outras espécies como *Odontesthes bonariensis* e espécies de gênero divergentes ao *Odontesthes* como *Basilichthys semotilus*.

CONCLUSÃO

Os marcadores selecionados mostram - se úteis para construção de mapas genéticos e apresentam grande

potencial de aplicação na biologia e genética da conservação de populações de peixe - rei da Lagoa Mangueira.

REFERÊNCIAS

- Baigún, C.R.M.; Colautti, D.C. & Crosman F. 2009. Assessment of condition in pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Atheriniformes: Atherinopsidae) populations: which index works best? Neotropical Ichthyology 7, 439 446.
- Barrero, N.M.L.; Povh, J.A.; Ribeiro, R.P.; Gomes, P.C.; Jacometo, C.B. & Lopes T.S. 2008. Comparison of DNA extraction protocols of fish fin and larvae samples: modified salt (NaCl) extraction. Ciencia e Investigacion Agraria 35, 65 74.
- Beheregaray, L.B. & Sunnucks, P. 2000. Microsatellite loci isolated from *Odontesthes argentinensis* and the *O. Perugia* species group and their use in other South American silver-side fish. Molecular Ecology 9, 629 644.
- Bemvenuti, M.A. 2006. Silversides in South Brasil: Morphological and ecological aspects. Biocell 30, 111 118.
- Brian, S.D.H. 2006. Systematic revision of the South American silversides (Teleostei, Atheriniformes). Biocell 30, 69 88.
- Ferreira, C.S.; Vaz, B.S.; Velasco, G.; Tavares, R.A.; Hellebrandt, D. & Albergone, E.H. 2009. Poseidon Linux 3.x - The Scientific GNU/Linux option. Pan - American Journal of Aquatic Sciences 4, 1 4.
- Tavares, R.A.; Nunes, M.D.; Silva, J.C.; Almeida, D.B.; Costa, M.A.P.; Moreira, C.G.A.; Vaz, B.S. & Moreira, H.L.M. 2010. Estudo genético de duas populações de *Odontesthes bonariensis* através de marcadores microssatélites. Anais do VII Encontro de Geneticista do Rio Grande do Sul, Vale Vêneto/RS. 75 p.
- Torres, R.A.; Matoso, D.A.; & Artoni, R.F. 2004. Genética de peixes neotropicais. II. Biologia molecular de peixes neotropicais. Publicatio UEPG Ciências Biológicas e da Saúde 10, 27 37.