

IDENTIFICAÇÃO DE LOCI POTENCIALMENTE AMPLIFICÁVEIS EM JUNDIÁ AMAZÔNICO.

CAROLINA VIÉGAS PINTO¹; RAFAE ALDRIGHI TAVARES²

¹Universidade Federal de Pelotas – carolinaviegas18@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – rafaaldrighi@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A produção total de peixes deve aumentar para 204 milhões de toneladas em 2030, 15% a mais que em 2018, com a participação da aquicultura crescendo dos atuais 46%, de acordo com o Estado Mundial da Pesca e Aquicultura (FAO, 2020). Com ampliação da demanda torna-se necessário o estudo de espécies nativas, as quais apresentam um viável interesse econômico, porém é importante conhecermos sobre a genéticas e os padrões de população, pois com informações genéticas pode se caracterizar indivíduos e avaliar a variabilidade genética das populações TREMEA et al. (2017), para serem utilizados em futuros programas de melhoramento e manejo de recursos pesqueiros. Os peixes da família Pimelodidae, são conhecidos pela presença em grandes e importantes bacias hidrográficas, realizando migrações durante o período reprodutivo BARTHEM; GOULDIN (1997). O jundiá amazônico (*Leiarius marmoratus*), em seu ambiente natural, apresenta hábito alimentar piscívoro, mas, demonstram tendências onívoras quando cultivado no fundo dos rios, onde a temperatura da água varia de 24 a 26°C RAMÍREZ; MERLANO et al. (2010). Geralmente incorporado a piscicultura devido a apreciação de sua carne, e ausência de escamas HONRATO et al. (2015).

A genética da conservação utiliza ferramentas biotecnológicas em prol da preservação da biodiversidade, sendo empregada com diversos objetivos, desde a discriminação de espécies ou subespécies ameaçadas de extinção até a elaboração final de projetos de manejo estratégico e determinação de status de conservação de uma espécie FRANKHAM et al.(2002). O Brasil mesmo tendo um grande potencial para a aquicultura como vasta extensão de água e uma ampla diversidade genética, não utiliza as tecnologias genética para conservação de seus recursos naturais. Para isso é fundamental que ocorra o estudo da genética das populações dos peixes nativos, e podemos fazer isso a partir da aplicação da tecnologia moleculares com o auxílio de marcadores microssatélites (SSR ou STR).

A obtenção desses marcadores é promovida através Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando primers específicos para as regiões do DNA que flanqueiam os microssatélites. Então, é possível obter a amplificação das sequências específicas que contém a repetição, e o polimorfismo será resultante da quantidade de repetições. Este trabalho tem como objetivo identificação de Loci Potencialmente Amplificáveis de Microssatélites (PAL) para a espécie Jundiá Amazônico (*Leiarius marmoratus*).

2. METODOLOGIA

Os dados foram obtidos da espécie *Leiarius marmoratus* através de uma biblioteca de DNA, pelo sequenciador GAIIX (Illumina, USA). Para identificar os SSRs nas leituras provenientes do sequenciamento, se utilizou o programa PAL_FINDER_v.0.02.03 CASTOE et al. (2012). Os SSRs foram classificados em:

dinucleotídeos (2mer), trinucleotídeos (3mer), tetranucleotídeos (4mer), pentanucleotídeos (5mer) e hexanucleotídeos (6mer), apresentando simples repetições de no mínimo, 12 pb (pares de base) de comprimento para os microssatélites 2mer, 3mer e 4mer, e para 5mers e 6mers, pelo menos 3 repetições. Os microssatélites localizados foram agrupados para um subdiretório local do programa Primer3 v.2 (LANCE et al., 2013). Logo os loci SSRs que obtiveram sequências flanqueantes adequadas para o desenho de primers, foram chamadas de Loci Potencialmente Amplificáveis (PALs) e os loci que apresentaram unidades longas de repetições (4mer, 5mers e 6mers) com sequência de repetição com pelo menos sete repetições observada, foram denominados de "Best PALs" (bPALs) ou seja os melhores microssatélites para a amplificação, toda essa análise foi realizada a fim de focar em dados específicos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do sequenciamento foi gerado o total de bases de 194.794.300 para o Jundiá Amazônico. O tamanho total do genoma da espécie estudada é desconhecido, mas ao considerar genomas de peixes que já foram estudados, pesquisadores encontram valores próximos a 1,250 Gpb KATAGIRI et al. (2005), JIANG et al. (2013). Relacionando esse valor e utilizando o sequenciador GAllx, para a Hemisorubim platyrhynchos (Jurupoca), foi obtida a cobertura de aproximadamente 14,96 % do genoma TREMEA et al. (2017). O motivo com maior número de loci foi AC e entre os trinucleotídeos o motivo ATT e tetranucleotídeos o motivo AAAT. Nos loci pentanucleotídeos e hexanucleotídeos, os motivos mais comuns foram ATTTT e ATTTTT, respectivamente (Figura 1).

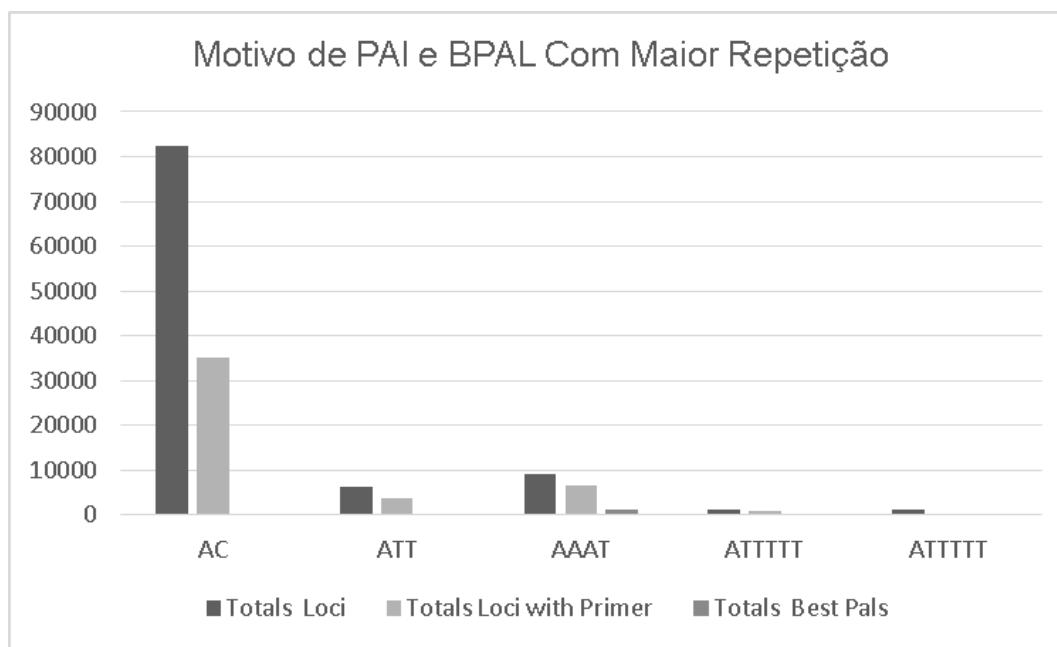


Figura 1. Comparação do número total de loci, número de loci potencialmente amplificáveis (PALs) e melhores loci potencialmente amplificáveis (bPALs), identificados por motivo das repetições de microssatélites. Em relação aos "Best PALs" (caracterizados como melhores para a amplificação), encontrados neste estudo vale dizer, que os mais frequentes são os tetranucleotídeos, seguidos dos hexanucleotídeos. Os bPALs representam um pequeno valor, da parcela total de microssatélites. Os bPALs, estes loci SSRs apresentam unidades longas de

repetições (4mers, 5mers e 6mers) e trechos mais longos de repetições (mais de sete unidades de repetições observadas), que são mais propensos a serem variáveis nas populações CASTOE et al. (2012), LANCE et al. (2013).

O número de bPALs encontrados neste trabalho de maior relevância foi o motivo AAAT com um valor de 101 (fig. 5). Assim como valores próximos aos encontrados por CASTOE et al. (2012) em aves (100 - 450) e por Tavares (2014) em peixes (164).

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos apontam para um grande número de marcadores do tipo PALs e bPALs que apresentam uma grande taxa de polimorfismo, para a espécie Jundiá Amazônico (*Leiarius marmoratus*).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARTHEM, R & GOULDING, M. The catfish connection: ecology, migration, and conservation of Amazon predators. New York: Columbia University Press.144 pp, 1997.
- CASTOE, T.A.; POOLE, A.W.; KONING, A.P.J. Rapid Microsatellite Identification from Illumina Paired-End Genomic Sequencing in Two Birds and a Snake. *PLoS ONE*, 7, 1-10, 2012.
- FAO. FAO publications catalogue [Online] 2021: Available at: <https://www.fao.org/3/cb2429en/online/cb2429en.html> Accessed: jun. 15, 2022.
- FRANKHAM, R; BALLAU, JD; BRISCOE. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press: Cambridge UK. 617p, 2002.
- HONORATO, C.A.; CANEPPELE, A.; MATOSO, J.C.; PRADO, M.R.; SIQUEIRA, M.S.; SOUZA, L.R.O. Caracterização física de filés Surubim (*Pseudoplatystoma* sp.), Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e Pirarucu (*Arapaimas gigas*). Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, 17(4), 2015.
- JIANGI, Y.; GAO, X.; LIU, S.; ZHANG, Y.; LIU, H.; SUM, F.; BAO, L.; WALDBIESER, G.; LIU, Z., Whole genome comparative analysis of +++channel catfish (*Ictalurus punctatus*) with four model fish species. *BMC Genomics*, 14(780), 1-11, 2013.
- KATAGIRI, T.; KIID, C.; TOMASINO, E.; DAVISAVIS, T.J.; WISHON, C.; Stern, E.J.; Carletom, L.K.; Howe, E.A.; Kocher, D.T. A BAC-based physical map of the Nile tilapia genome. *BMC Genomics*, 6(89), 16, 2005.
- LANCE, S.L.; LOVE, C.N.; NUNZIATA, S.O.; O'BRYHIM, J.R.; SCOTT, D.E.; Flynn, R.W.; JONES, K.L. 32 species validation of a new Illumina paired-end approach for the development of microsatellites. *PLoS ONE*, 8, 1-11. 2013
- RAMIREZ-MERLANO, J.A.; OTERO -PATERNINA, A.M.; CORREDOR-SANTA-MARIA, W.; MEDINAROBLES, V.M.; CRUZ-CASALAS, P.E. Utilización de organismos vivos como primera alimentación de larvas de yaque (*Leiarius marmoratus*) bajo condiciones de laboratorio. *Revista Orinoquia*, 14(1), 45-58, 2010.
- TAVARES, R.A.; PIEDRAS, S.R.N.; ALMEID, D.B.; MOREIRA, A.G.C.; FERNANDES, M.J.; FrREITAS, F.S.; MOREIRA, M.L.H.; POUHEY, F.O.L.J.; DIONELLO, L.J.N.. Identificação de loci microssatélites com potencial de amplificação na espécie de Peixe-Rei (*Odontesthes humensis*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 66(6), 1941-1945, 2014.
- TREMEA, M.; Santos, S.B.; GAZZOLA, S.S.; TAVARES, R. A. Identificação de Loci potencialmente amplificáveis em Jurupoca (*Hemisorubim platyrhynchos*). *Revista Brasileira de Iniciação Científica*, 4(5), 2017.