



CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO DE LEBISTE (*POECILIA RETICULADA*) COM O USO DE MARCADORES MOLECULARES MICROSSATÉLITES

Jaísa Casetta (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Ricardo Pereira Ribeiro (Orientador),
Elenice Souza dos Reis Goes, Pedro Luiz de Castro
e-mail: jaisacasetta@hotmail.com

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Agrárias/Maringá, PR.

Ciências Agrárias - Zootecnia / Recursos Pesqueiros

Palavras-chave: Aquicultura ornamental, biologia molecular, variabilidade genética

Resumo:

Objetivando-se caracterizar geneticamente uma população de lebistes, com a utilização de marcadores moleculares microssatélites, a fim de selecionar-se reprodutores para o início da produção de alevinos desta espécie, foram amplificados 8 locus microssatélites, que produziram um total de 35 alelos, com tamanhos que variaram entre 133pb e 388pb. A população apresentou em média 4,37 alelos por *locus* e um número efetivo de alelos médio de 2,950. Sete locus apresentarem desvio no equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p < 0,001$). Foram encontradas médias de 0,540 e 0,653 para heterozigosidade observada e heterozigosidade esperada respectivamente, evidenciando adequados níveis de variabilidade genética. Portanto a população estudada poderá ser utilizada para formação de um plantel de reprodutores que dará origem a alevinos mais adaptados e resistentes com adequados níveis de variabilidade genética.

Introdução

A aquicultura de peixes ornamentais é uma atividade em plena expansão, um dos peixes que mais se destacam nesta atividade é o lebiste (*P. reticulata*), por possui um grande potencial de cultivo e alto valor comercial, sendo considerada a segunda espécie ornamental mais comercializada no Brasil (Leite et al. 2012).





A análise da variabilidade genética de uma população pode ser realizada com a utilização de marcadores moleculares microssatélites, ferramenta promissora na avaliação da estrutura genética de populações estreitamente relacionadas, conservação das espécies e gestão de recursos genéticos (Tavares et al. 2011).

O objetivo desta pesquisa foi caracterizar geneticamente uma população de lebistes, com a utilização de marcadores moleculares microssatélites, a fim de selecionar-se reprodutores para o início da produção de alevinos com adequados níveis de variabilidade genética.

Materiais e métodos

O experimento foi realizado entre os meses de agosto de 2015 e março de 2016 no Laboratório de peixes ornamentais, do grupo de pesquisa Peixegen, da Universidade Estadual de Maringá.

Inicialmente, foram formadas sete famílias de lebistes, compostas por quatro peixes adultos, três fêmeas e um macho cada, *totalizando 28 reprodutores*. Cada família foi acondicionada em um aquário de vidro de 32L para a reprodução, sendo que ao observar-se a desova e posteriormente a eclosão das larvas, estas eram separadas em outro aquário, similar ao anterior, devidamente identificado com o número da família correspondente.

Os aquários possuíam oxigenação constante e renovação de 30% do volume total semanalmente. Os peixes eram alimentados duas vezes ao dia (9h e 17h), com ração comercial específica para peixes ornamentais.

As larvas foram mantidas nos aquários individuais, até atingirem um tamanho adequado para a extração de DNA. Foram coletadas amostras dos quatro reprodutores (fragmentos da nadadeira caudal), e em média dez larvas por família, totalizando-se 100 amostras ao todo. As amostras foram conservadas em álcool 70%, e o DNA extraído utilizando-se o protocolo de extração com NaCl descrito por Lopera-Barrero et al. (2008). Após a extração, a integridade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 1% por uma hora a 70V e a concentração de DNA total mensurada utilizando-se espectrofotômetro NANODROP®, sendo as amostras diluídas para concentração final de 10 ng/μL.

O DNA foi amplificado via PCR a partir de 10 primers microssatélites descritos por Becher et al. (2002) e por Paterson et al.. O produto amplificado foi submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida 10%, corado com nitrato de prata. O tamanho dos alelos obtidos foi estimado por comparação com marcador de peso molecular conhecido (100 pb), sendo os





dados submetidos à análise estatística com a utilização dos programas estatísticos PopGene, FSTAT 2.9.3 e GENEPOP 1.2.

Resultados e Discussão

Oito dos dez *locus microssatélites* avaliados, foram considerados efetivos, com polimorfismo e observação clara dos alelos e que somados produziram um total de 35 alelos, com tamanhos que variaram entre 133pb e 388pb. Os parâmetros de variabilidade genética da população estudada podem ser encontrados na tabela 1.

Tabela 1. Tamanho dos alelos (T_a , em pares de base), número de alelos (N_a), número efetivo de alelos (N_e), heterozigosidade observada (H_o), heterozigosidade esperada (H_e), coeficiente de endogamia (F_{is}) e teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg (H_{we})

<i>Locus</i>	T_a (pb)	N_a	N_e	H_o	H_e	F_{is}	H_{we}
Pre1	133-291	4	2,968	0,215	0,667	0,679	<0,001
Pre8	160-296	4	2,317	0,290	0,571	0,494	<0,001
Pre15	257-310	4	3,513	0,042	0,719	0,941	<0,001
Pr21	138-238	4	2,699	0,920	0,632	-0,457	<0,001
Pr39	160-180	3	2,929	0,620	0,661	0,064	0,031
Pr40	266-388	5	2,272	0,570	0,562	-0,013	<0,001
Pr80	151-218	5	2,896	0,808	0,658	-0,229	<0,001
Pr171	228-317	6	4,005	0,860	0,754	-0,141	<0,001

A população apresentou em média 4,37 alelos por *locus* e um número efetivo de alelos médio de 2,950, isto sugere que alguns dos alelos observados são raros ($p < 0,05$) ou possuem baixa frequência ($0,05 > p < 0,25$). Embora sete dos oito *locus* apresentarem desvio no equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p < 0,001$), desvios estes que podem ser causados pela existência do efeito Wahlund, entrecruzamentos, não aleatórios, seleção, ou deriva genética, foram encontradas médias de 0,540 e 0,653 para heterozigosidade observada e heterozigosidade esperada respectivamente, evidenciando adequados níveis de variabilidade genética desta população, fato confirmado pelo baixo valor médio do coeficiente de endogamia (0,173).

Conclusões





Conclui-se que a partir da amplificação de oito marcadores *moleculares microssatélites*, obtiveram-se informações relevantes para caracterizar geneticamente e verificar os níveis de variabilidade genética de uma população de lebistes (*P. reticulada*) destinados a reprodução. Foi atestado que a população estudada possui adequados níveis de variabilidade genética e desta forma poderá ser utilizada para formação de um plantel de reprodutores que dará origem a alevinos mais adaptados e resistentes com adequados níveis de variabilidade genética.

Agradecimentos

À Fundação Araucária pela concessão da bolsa.

Referências

BECHER, S. A.; RUSSELL, S. T.; MAGURRAN, A. E. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in the Trinidadian guppy (*Poecilia reticulata*). **Molecular Ecology Notes**, v. 2, n. 4, p. 456-458, 2002.

LEITE, Alex Sandro Victor; DE SOUZA, Camila Dutra; JUNIOR, Antonio Fluminhan. PADRONIZAÇÃO DE UMA METODOLOGIA PARA A ANÁLISE CITOGENÉTICA DE UMA LINHAGEM SELECIONADA DE LEBISTE (*Poecilia reticulata*). **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 8, n. 3, 2012.

LOPERA-BARRERO, Nelson M. et al. Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. **Ciencia e investigación agraria**, v. 35, n. 1, p. 77-86, 2008.

PATERSON, I. G. et al. Characterization of tetranucleotide microsatellite markers in guppy (*Poecilia reticulata*). **Molecular Ecology Notes**, v. 5, n. 2, p. 269-271, 2005.

TAVARES, R. A. et al. Utilization of microsatellite markers to form families of "pejerrey" *Odontesthes bonariensis* in a genetic breeding program. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 5, p. 1263-1267, 2011.

