

RESUMO EXPANDIDO  
XXVI Congresso de Iniciação Científica

## DESENVOLVIMENTO DE UM PAINEL DE MARCADORES MICROSSATÉLITES ESPÉCIE-ESPECÍFICO PARA PACU BRANCO (*Myloplus rubripinnis*)

Raquel Fernanda Raposo Palazzo<sup>1</sup>

Letícia Rafaela de Morais<sup>2</sup>

Alexandre Wagner Silva Hilsdorf<sup>3</sup>

1. Discente do curso de Medicina Veterinária; e-mail: [raquelfernandapzz21@gmail.com](mailto:raquelfernandapzz21@gmail.com)
2. Doutora pela Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: [leti.morais@yahoo.com.br](mailto:leti.morais@yahoo.com.br)
3. Docente na Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: [wagner@umc.br](mailto:wagner@umc.br)

**Área de Conhecimento:** Genética animal

**Palavras-Chave:** Peixe; Conservação; População; Ferramenta genética

### Como citar:

Palazzo RFR, de Morais LR, Hilsdorf AWS. Desenvolvimento de um painel de marcadores microssatélites espécie-específico para pacu branco (*Myloplus rubripinnis*). Revista Científica UMC [Internet]. 27 de outubro de 2023;8(2):e080200060.

Disponível em: <https://revista.umc.br/index.php/revistaumc/article/view/1916>

**Fluxo de revisão:** o presente resumo expandido foi revisado por pares pela comissão do evento.

Recebido em: 11/09/2023

Aprovado em: 26/10/2023

ID publicação: e080200060

DOI:

Licença CC BY 4.0 DEED

## INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores construtores mundiais de barragens e o segundo país que gera mais energia hidrelétrica no mundo, sendo cerca de 50% dos mais de mil grandes reservatórios construídos na América do Sul localizados em território brasileiro. (AGOSTINHO et al., 2016; OLIVEIRA, 2018). Além da redução no número de espécies, a perda de conectividade entre as populações de peixes é um dos principais agravantes da construção de usinas hidrelétricas, especialmente na região da Amazônia (FEARNSIDE, 2001; GOUSKOV, 2016).

A Usina Hidrelétrica Teles Pires, construída no rio Teles Pires, afluente do rio Tapajós, está localizada na fronteira dos estados do Pará e Mato Grosso, nos municípios de Jacareacanga (PA) e Paranaíta (MT), sua bacia é composta por 11 ordens, 42 famílias 191 gêneros distribuídos em 342 espécies de peixes (OHARA, et al., 2017). Dentre essas espécies podemos destacar o *Myloplus rubripinnis*, conhecido popularmente como pacu branco, um peixe ósseo bentopelágico que apresenta hábito alimentar herbívoro/frugívoro, geralmente, habita áreas de pouca correnteza próxima a vegetação marginal (Ohara, et al., 2017), apresenta pouca importância na pescaria comercial, porém, é muito utilizado no aquarismo.

Desde a década de 1970 o uso de marcadores genéticos tem sido utilizado a fim de evidenciar a variabilidade dentro e entre populações, possibilitando a compreensão dos processos que levam algumas espécies ao isolamento e adaptação de populações locais (HILSDORF & HALLERMAN, 2017). Entre esses marcadores podemos citar os microssatélites, conhecido também como STR (“Short Tandem Repeats”), estes são utilizados em vários estudos genéticos devido ao seu alto polimorfismo e sua relativa facilidade de obtenção. Diante desse contexto e a ausência de estudos sobre genética de populações, foi desenvolvido um painel de marcadores microssatélites específicos para *Myloplus rubripinnis* que possa servir como uma ferramenta de manejo para futuras pesquisas aplicadas a genética de populações.

## OBJETIVO

Gerar e validar um painel de iniciadores microssatélites espécie - específicos para Pacu branco, *Myloplus rubripinnis*, como ferramenta para futuras análises populacionais.

## METODOLOGIA

Foram utilizados fragmentos de nadadeira caudal de 30 indivíduos, coletados nas áreas de influência da UHE São Manoel no rio Teles Pires. O DNA foi extraído da nadadeira caudal, seguindo o protocolo de Extração Salina (ALJANABI & MARTINEZ, 1997). O DNA das amostras foi verificado quanto sua qualidade, integridade e concentração em gel de agarose a 0,8% corrido em eletroforese horizontal, utilizando marcadores de peso molecular (Lambda DNA/HindIIIr- Fermentas, 1Kb DNA Ladder Plus Fermentas e Low DNA Mass Ladder - Invitrogen) e no espectrofotômetro para medidas de microvolumes Nanovue™ Plus (GE Healthcare). O painel de loci microssatélites foi desenvolvido por meio das sequências geradas no sequenciador de nova geração Illumina HiSeq 2500 (Illumina, Inc., San Diego, CA), o resultado foi analisado por softwares específicos que forneceram um rascunho genômico que foi submetido ao programa BatchPrimer3 para identificação das sequências que contém STR, bem como desenho dos primers para amplificação via PCR. Foram testados inicialmente 40 loci di, tri e tetranucleotídeos para seleção de 10 loci polimórficos. Os produtos de PCR foram genotipados, usando uma matriz de gel de poliacrilamida desnaturada 6,5% (KB plus 6,5% Gel Matrix, Li-Cor, Biosciences, Lincoln, NE, USA) pelo detector DNA Analyzer 4300, Li-Cor (IR2, Lincoln, NE, USA), utilizando o marcador IRDye®700 e iniciador cauda M13 universal descrito por Schuelke (2000). O tamanho dos alelos foi estimado pela interpolação da posição destes com os marcadores de peso molecular (50–350 bp DNA Sizing Standard IRDye®700), utilizando o programa SagaGT Client (LiCor Biosciences, Lincoln, NE, USA). Esses loci foram avaliados em programas que determinaram fatores relacionados ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, evidências de desequilíbrio de ligação entre os loci, diversidade alélica, heterozigiosidade esperada e observada e o conteúdo de informação polimórfica.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O propósito de efetuar a seleção de 10 loci polimórficos foi obtido com sucesso. Esta seleção obteve um conteúdo de informação polimórfica (PIC) extremamente satisfatório, ou seja, os loci se mostraram amplamente informativos, exceto pelo MYR19 que demonstrou estar apenas razoavelmente informativo, ou seja, o PIC se encontrou entre 0,25 e 0,5. (BOTSTEIN et al., 1980). Estes loci foram aplicados para avaliação de 30 indivíduos anteriormente coletados na região da UHE Teles Pires, a fim de gerar um painel (tabela 1) para as avaliações acerca da variabilidade genética dessas populações. Verificando os valores de heterozigiosidade esperada que variou de 0,233 até 0,567 e observada que variou de 0,431 até 0,923, nota-se que a diferença entre elas é significativa e pode indicar que a população está sob efeito da seleção natural ou de outros fatores evolutivos podendo estes estarem relacionados

ou não com as mudanças ambientais. Os resultados para análise de riqueza alélica que variaram de 3,89 até 11,65 demonstraram estar dentro do esperado devido ao valor ter se mantido próximo ao número de alelos. Esclarecendo que os valores de riqueza alélica se diferenciam do número de alelos devido ao cálculo ser realizado em relação ao número de alelos pelo valor amostral utilizado no projeto. A quantidade de loci em desequilíbrio de ligação em uma população variam de acordo com os fenômenos que ocasionalmente ocorrem como recombinação, deriva genética, mutação, seleção natural ou artificial e em todo o painel apenas os loci MYR10 com MYR13, MYR04 com MYR20, MYR04 com MYR35, MYR 20 com MYR35 e Myr10 com MYR36 se encontram em desequilíbrio de ligação. Podemos concluir que nenhum locus aplicado para análise do modelo de Hardy-Weinberg se encontra em equilíbrio devido aos valores se encontrarem em pequena diferenciação populacional.

**Tabela 1-** Painel de microssatélites espécie-específico desenvolvido para *Myloplus rubripinnis*.

Loci	Sequência iniciadores (5'-3')	Ta(°C)	Motif	N	A	Aa	Ar	HO	He	EH W	PIC
MYR 04	F: CTGAAGGAACCGAAAGAGT R: CCCAAACACACACATCTCT	56	TG	2 9	1 0	132- 204	9,85	0.414	0.835	***	0.798
MYR 05	F: AGACAGGGAGGGATGAAG R: GCTGCTCTCACACAGTCAA	58	GA	2 7		142- 190	9,00	0.444	0.794	***	0.759
MYR 07	F: GGATTGGGGTACAAAGAGA R: AACAATGACCGACTTCACA	56	AC	3 0	1 1	147- 187	10,98	0.433	0.901	***	0.875
MYR 10	F: ATACCAGCATTAGCGTGTG R: GTGAGTGAAGGGAGGTGAC	58	GT	3 0	7	135- 195	6,99	0.367	0.795	***	0.751
MYR 13	F: GCCCAGGTCTAGTCACAAC R: TTCTCTGGTGTGATGAAGC	58	TAT	3 0	1 7	177	16,56	0.567	0.923	***	0.901
MYR 16	F: ACCAGCAACTTCCTACGAT R: GGATTCAGTGAAGGGCTTA	56	ATA	3 0	1 2	160- 184	11,65	0.333	0.808	***	0.772
MYR 19	F: AGGTTGGACTGACAAATGTT R: AGGTATGGGAGCAGCTTTA	58	AAAG	3 0	4	141- 189	3,89	0.167	0.431	***	0.382
MYR 20	F: CCATCAGCCAGAAGAATG R: GCACAGTTACAAATAAGCCA	60	ATA	3 0	7	219- 255	6,79	0.367	0.713	***	0.657
MYR 35	F: CCAACAGCAACAAGATCAC R: GACAGACAGAGAAAGACAGC	54	GTCT	3 0	1 1	132- 196	10,85	0.233	0.822	***	0.790
MYR 36	F: GACGCACACTCACGATTAC R: TCATGTGGATCTGAACACC	58	ATGA	3 0	6	140- 196	5,99	0.467	0.756	***	0.707

\* TGTAACACGACGGCCAGT (sequência da cauda m13 inserida na região 5'), Ta(°C): temperatura de anelamento; N: número de amostras; A: número de alelos; Aa: tamanho do amplicon; Ar: riqueza alélica; HO: Heterozigosidade observada; He: heterozigosidade esperada; EHW: Equilíbrio de Hardy-Weinberg; PIC: conteúdo de informação polimórfica.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho, foi desenvolvido um painel de 10 loci polimórficos para a espécie *Myloplus rubripinnis*. Com essa ferramenta molecular, associada as análises estatísticas podemos propor estratégias que favoreçam o manejo sustentável bem como caracterização

desse importante recurso genético, uma vez que o pacu-branco é uma espécie de peixe herbívoro/frugívoro, importante no aquarismo devido a sua grande capacidade adaptativa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALJANABI, S.; MARTINEZ, I.; Universal and rapid salt-extraction of high-quality genomic DNA for PCR-based techniques. **Nucleic Acids Research**, v. 25, p. 4692-4693, 1997.

BOTSTEIN, D., WHITE, R. L., SKOLNICK, M., & DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, n. 3, p. 314–331, 1 maio 1980.

FEARNSIDE, PHILIP M. Environmental impacts of Brazil's Tucuruí Dam: Unlearned lessons for hydroelectric development in Amazonia. **Environmental management**, v. 27, n. 3, p. 377-396, 2001.

HILSDORF, A. W. S.; HALLERMAN, E. M. **Genetic resources of neotropical fishes**. 1. ed. Editora: Springer, 2017.

OHARA, W.M.; LIMA, F.C.T.; SALVADOR, G.N.; ANDRADE, M.C. **Peixes do rio Teles Pires: diversidade e guia de identificação**. In: 1º edição. Editora: Amazonas, 2017.