



IDENTIFICAÇÃO DE EXEMPLARES DE LAMBARIS NATIVOS COM POTENCIAL REPRODUTOR, COLETADOS EM BACIAS HIDROGRÁFICAS DA REGIÃO NORDESTE DO ESTADO DE SANTA CATARINA

Joice Regina GOMES¹; Gisele STAROSKY; Daniel Meneguello LIMEIRA; Artur de Lima PRETO².
¹Bolsista FAPESC Chamada Pública 02/2015; ²Orientador IFC - Campus Araquari.

RESUMO

Objetivou-se identificar exemplares nativos de lambaris com potencial reprodutor utilizando marcadores microssatélites. Exemplares de *Astyanax laticeps* de tributários dos rios Itapocu e Cubatão foram submetidos a extração de DNA e PCR. O alelo 05 no loco Asty12 e o alelo 04 no loco Asty27 foram os mais frequentes. Não se obteve PCRs analisáveis dos peixes da Bacia Cubatão, podendo se tratar de espécie críptica. Não foram observadas correlações alelo/peso nos locos estudados, não sendo indicado o uso destes marcadores para a seleção de matrizes e reprodutores de lambari.

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A piscicultura de água doce é uma atividade em constante crescimento em Santa Catarina. De acordo com a Food and Agriculture Organization (FAO), no período de 2002 a 2011, a produção em cativeiro de peixes nativos de água doce no Brasil apresentou um crescimento de 396% (FAO, 2013).

Estudos de diversidade genética de peixes nativos são muito importantes pois podem contribuir na realização de programas de melhoramento genético e a conservação do patrimônio genético natural das espécies estudadas. A piscicultura de espécies nativas pode contribuir para a redução da captura de peixes na natureza, manutenção de plantéis de reprodutores, desenvolvimento de programas de melhoramento genético e eliminação do risco de introduções de espécies exóticas ao ambiente.

O gênero *Astyanax* caracteriza-se por ser um grupo de espécies de pequeno porte e com ampla distribuição no território nacional. Por possuir ciclo de vida rápido, boa aceitação de alimentação artificial, rápida adaptação a variações térmicas e crescimento precoce (atinge 10-15 g em aproximadamente três meses), sua criação está atualmente em evidência. Em cultivo intensivo, pode-se obter até 100 t/ha/ano.



(HAYASHI et al., 1999a; SOARES et al., 1999; VILELA & HAYASHI, 2001; GARUTTI, 2003; PORTO-FORESTI, 2005).

O presente estudo teve como objetivo identificar exemplares de lambaris nativos com alto potencial zootécnico e alto polimorfismo genético, servindo assim como base para o desenvolvimento de futuros programas de melhoramento genético em peixes nativos para criação em cativeiro.

METODOLOGIA

Exemplares de lambari foram coletados em tributários dos rios Itapocu (Massaranduba, SC) Cubatão (Joinville, SC), sendo levados ao Laboratório de Aquicultura - IFC Campus Araquari. A identificação de espécie e sexagem destes exemplares foi realizada segundo Garutti et al (2003), sendo constatado que os exemplares coletados pertencem à espécie *Astyanax laticeps*. Em seguida, os animais foram pesados (g) e acondicionados em caixas de PVC, com aeração constante e alimentação à vontade. O peso foi utilizado para a seleção dos animais a serem analisados, sendo selecionados os animais 25% maiores (3º quartil – Q3) e os 25% menores (1º quartil – Q1), em ambos os sexos, sendo estes comparados por meio de testes T entre os sexos e entre os quartis para se verificar a ocorrência de diferenças significativas ($\alpha = 5\%$). Destes, foi retirado um pedaço da nadadeira caudal para a extração de DNA utilizando o método CTAB sugerido por Boyce & Zwick (1989).

Para a PCR, foram testados nove marcadores microssatélites desenvolvidos para *Astyanax altiparanae*, descritos por Zaganini et al (2012), utilizando-se o protocolo sugerido por Zaganini et al (2012). Os marcadores utilizados e suas respectivas temperaturas de anelamento são descritos na tabela 1.

Após as amplificações, os exemplares foram genotipados em gel de poliacrilamida 12%, e os marcadores que apresentaram as melhores amplificações (*Asty 12* e *Asty 27*) foram selecionados para as posteriores PCRs e genotipagens dos animais selecionados. Em seguida, foram feitas as análises de frequências

alélica e regressões lineares entre as frequências alélicas dos peixes analisados e seus pesos, com o intuito de se observar a ocorrência de correlações a um nível de significância de 5%.

Tabela 1: Marcadores microssatélites testados e suas respectivas temperaturas de anelamento, descritas por Zaganini et al. (2012).

Marcador microssatélite	Temperatura de anelamento (°C)
<i>Asty 11</i>	50
<i>Asty 12</i>	58
<i>Asty 13</i>	58
<i>Asty 15</i>	50
<i>Asty 16</i>	52
<i>Asty 23</i>	52
<i>Asty 24</i>	52
<i>Asty 26</i>	58
<i>Asty 27</i>	58

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Não se observou diferenças significativas no peso entre machos e fêmeas ($p > 0,05$), sendo estes agrupados para a comparação entre quartis. Ao se comparar os diferentes quartis, observou-se em Q1 um peso médio de $3,07 \pm 0,63$ g e em Q3 de $14,94 \pm 8,54$ g, sendo estes significativamente diferentes ($p < 0,05$).

As PCRs realizadas nos exemplares de Joinville não foram bem-sucedidas, mesmo sendo realizadas nas mesmas condições que as realizadas com os exemplares de Massaranduba, indicando a possível ocorrência de uma espécie críptica. Estes exemplares foram excluídos das demais análises.

Foram observados cinco alelos em cada loco amplificado, sendo os mais e menos frequentes respectivamente os alelos 05 (50% das ocorrências) e 01 e 02 (3% das ocorrências cada) no loco *Asty 12* e os alelos 04 (36% das ocorrências) e 02 e 05 (9% das ocorrências cada) no loco *Asty 27*.

Posteriormente, foram realizadas regressões lineares entre peso e alelos, como podem ser observadas nas figuras 1 e 2.

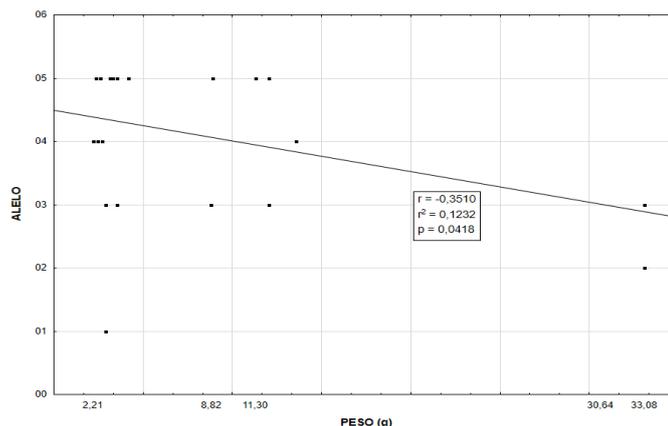


Figura 1: Gráfico Alelo X Peso de marcadores *Asty 12* em lambaris *Astyanax laticeps* coletados em Massaranduba, SC.

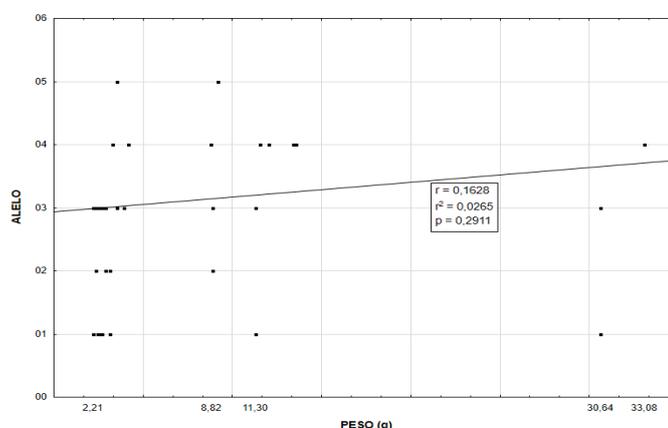


Figura 2: Gráfico Alelo X Peso de marcadores *Asty 27* em lambaris *Astyanax laticeps* coletados em Massaranduba, SC.

Não ocorreu forte correlação entre peso e alelos nos dois marcadores utilizados ($r = -0,35$ e $r = 0,16$ para *Asty 12* e *Asty 27*, respectivamente). Estes resultados corroboram com o afirmado por FERREIRA & GRATTAPAGLIA (1998), que classifica os marcadores microssatélites como marcadores neutros, que não expressam características em seus organismos e não sofrem pressão de seleção. Todavia, como são marcadores distribuídos aleatoriamente no genoma dos organismos, eles podem muitas vezes estar ligados a genes que podem expressar características diversas, e desta forma sofrerem seleção indireta. Neste estudo especificamente, prevaleceu sua característica neutra.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os marcadores microssatélites utilizados não são úteis para a identificação e separação de reprodutores e matrizes do lambari *Astyanax laticeps*, de ocorrência natural no nordeste do estado de Santa Catarina.

REFERÊNCIAS

BOYCE, T.M.; ZWICK, M.E. **Mitochondrial DNA in bark weevils: size, structure, and heter plasmly**. Genetics, Austin, v.12, n.3, p.825-836, 1989.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 1998. Brasília: Embrapa-Cenargen, p. 220-3.

GARUTTI, V. 2003. **Piscicultura Ecológica**. Editora UNESP, p. 330.

HAYASHI, C.; GALDIOLI, E.M.; NAGAE, M.Y. et al. **Exigência de proteína para alevinos de lambari (*Astyanax bimaculatus*) (PISCES: CHARACIDAE)**. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. Anais Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999.

PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R. B.; FORESTI, F. **Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax bimaculatus*)**. In: Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Editora UFSM, cap. 5, p. 105 – 120, 2005.

SOARES, C.M.; HAYASHI, C.; GONÇALVES, G.S. et al. **Substituição parcial da proteína da farinha de peixe pela de fontes proteicas alternativas em dietas para alevinos de lambari (*Astyanax bimaculatus*)**. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. Anais Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999.

VILELA, C; HAYASHI, C. **Desenvolvimento de juvenis de lambari *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede**. Acta Scientiarum, v.23, n.2, p.491-496, 2001.

ZAGANINI, R.L.; HASHIMOTO, D.T.; PEREIRA, L.H.G., OLIVEIRA, C.; MENDONÇA, F.F.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F. **Isolation and characterization of microsatellite loci in the neotropical fish *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characiformes) and cross-species amplification**. Journal of Genetics - Online Resources (91): 24-26, 2012.

