

PROSPECÇÃO DE *LOCI* MICROSSÁTELITES COM ALTO POTENCIAL DE AMPLIFICAÇÃO NA ESPÉCIE PIRACANJUBA (*BRYCON ORBIGNYANUS*).

FERNANDA BRUNNER HAMMES¹; CAROLINA VIEGAS PINTO²; ZILAH MARIA GERVASIO CHEUICHE²; SUZANE FONSECA FREITAS²; MARIA EDUARDA OLIVEIRA DOS ANJOS²; RAFAEL ALDRIGHI TAVARES³

¹Universidade Federal de Pelotas – nanda5517@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – carolviegas18@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – rafaaldrighi@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O presente trabalho tem como foco a prospecção de marcadores microssatélite com alto polimorfismo e potencial de amplificação para a espécie Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*), também conhecida como bracanjuba, pertencente à família *Characidae*. No Brasil encontra-se a espécie nos rios dos estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul, Paraná e também no sul do estado de Goiás. Em razão a qualidade a sua carne, seu crescimento rápido, e o alto valor comercial, estes fatores levaram a Piracanjuba a beira da extinção.

Consequentemente levam a perda de diversidade genética em estoques e populações naturais (PANARARIANTUNES et al., 2011). Ellengren e Galtier (2016) entendem a diversidade genética como sendo polimorfismo genético, que pode ser definido como uma variação na sequência de DNA que apresenta diferenças entre indivíduos de uma espécie ou entre populações. Estes autores mostram que o polimorfismo genético entre espécies e dentro do genoma é importante maneira de avaliar e entender a evolução, propiciar a conservação da espécie e elucidar a história de vida da população.

O monitoramento genético de populações pode ocorrer através dos marcadores moleculares, neste caso específico os microssatélites. Os marcadores moleculares têm sido aplicados em muitas questões biológicas, variando do mapeamento gênico à genética de populações, reconstrução filogenética, testes de paternidade e análises forenses (Schlötterer, 2004).

2. METODOLOGIA

Amostra de DNA de *Brycon orbignyanus* foi sequenciada em sequenciador GAllx com leituras de 150 pares de bases. As leituras obtidas do sequenciamento foram

analisadas com o programa PAL_FINDER_v.0.02.03, sendo identificados como microssatélites (SSRs) dinucleotídeos (2mer), trinucleotídeos (3mer), tetranucleotídeos (4mer), pentanucleotídeos (5mer) e hexanucleotídeos (6mer), se contivessem repetições simples de pelo menos 12 pb de comprimento para 2mer, 3mer e 4mers e, pelo menos, três repetições para 5mers ou 6mers. Após sua identificação os microssatélites foram agrupados para um subdiretório local do programa Primer3 v.2, sendo utilizados os seguintes critérios para o desenho de *primers*: conteúdo GC superior a 30%; temperaturas de anelamento de 58 – 65°C com uma diferença máxima entre 2°C entre o par; os dois últimos nucleotídeos 3' sendo G ou C e poli-N de no máximo quatro nucleotídeos. Os loci SSRs, que apresentassem sequências flanqueantes bastantes adequadas para desenho de *primers*, serão chamados de Loci Potencialmente Amplificáveis (PALs) e os PALs que apresentassem unidades longas de repetições (4mers, 5mers e 6mers) e trechos mais longos de repetições (mais de 7 unidades de repetições observadas), chamados de “Best PALs” (bPALs).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 186.083 SSR foram identificados, sendo 85.128 definidos como PALs e 248 como bPALs.

O motivo de Microssatélite mais abundante foi 2mer (53%), seguido por 4mer(24%), 3mers (13%), 5mers (5%) e 6mer (4%), mantendo a mesma proporção para os motivos de PALs (Figura 1).

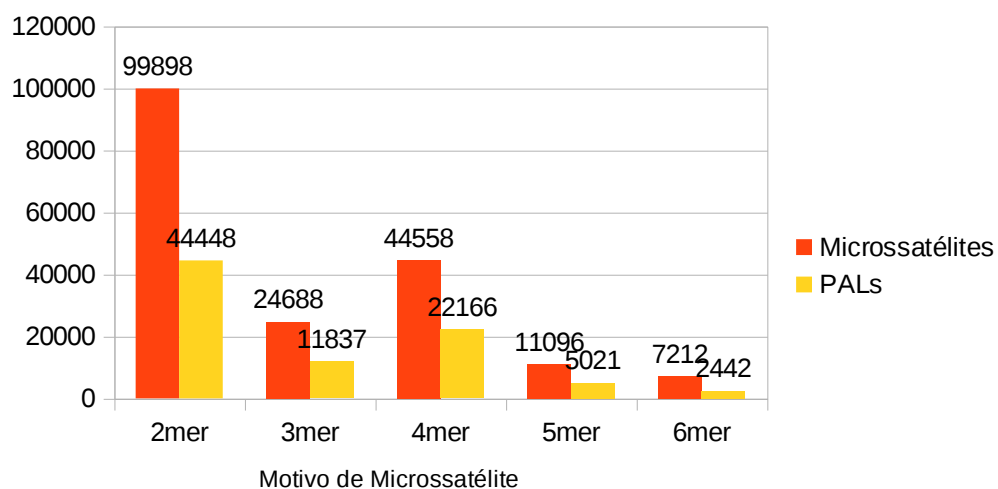


Figura 1:
Total de loci microssatélites e loci potencialmente amplificáveis

eis (PALs) por motivo de microssatélites para a espécie Piracanjuba.

O motivo de bPALs mais encontrado foi 4mers (214 loci), seguido por 5mer (27 loci) e 6mer (7 loci) (figura 2).

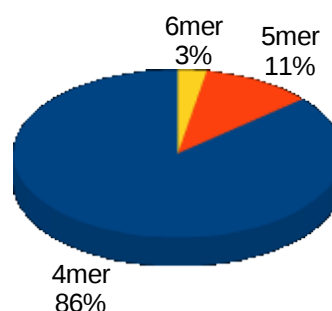




Figura 2: Melhores *loci* potencialmente amplificáveis (bPALs) por motivo de microssatélites para a espécie Piracanjuba.

A identificação do PALs e bPALs, no presente estudo, possibilita a geração de técnicas de biologia molecular para a análise genética de espécies de interesse zootécnico (JOSHI et al. 2017). Os bPALs identificados poderão ser selecionados para sua amplificação e servirem como base para novos estudos, pois uma diminuição de variabilidade genética, também ocorre impactos genéticos na população natural podendo se tornar irreversíveis (Sønstebø et al., 2007).

4. CONCLUSÕES

Atraves da seleção de bPALs e geração de metodologia de análise molecular será possível acompanhar a variabilidade genética de populações cativas ou naturais de *Brycon orbignyanus*.



5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

JOSHI, D.; RAM, R. N.; LOHANI, P. Microsatellite markers and their application in fisheries. *International Journal of Advances in Agricultural Science and Technology*, v. 4, n. 10, p. 67-104, 2017.

PANARARI-ANTUNES, R. S.; PRIOLI, A. J.; PRIOLI, S. M. A. P.; GALDINO, A. S.; JULIO JUNIOR, H. F.; PRIOLI, L. M. Genetic variability of *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1850) (Characiformes: Characidae) in cultivated and natural populations of the upper Paraná River, and implications for the conservation of the species. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 54, n. 4, p. 839-848, 2011.

Schlötterer, C. 2004. The evolution of molecular markers — just a matter of fashion? *Nature Reviews*, 5: 63-69.

SØNSTEBØ, J.H.; BORGSTRØM, R.; HEUN, M. Genetic structure of brown trout (*Salmo trutta* L.) from the Hardangervidda mountain plateau (Norway) analyzed by microsatellite DNA: a basis for conservation guidelines. *Conserv. Genet.*, v.8, p.33-44, 2007.