

Resumo 1.09

Ferramentas moleculares para análise da diversidade genética em *Salminus brasiliensis* (Actinopterygii: Bryconidae), uma espécie-bandeira da piracema

Leiliane C. de Carvalho^{1,2}; Gabriel M. Yazbeck¹

1 – Laboratório de Recursos Genéticos - LARGE, DEZOO, PPGBiotech, PGE, Universidade Federal de São João del-Rei, São João del-Rei, MG, Brasil.

2 – Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de São João Del Rei, Divinópolis, MG, Brasil.

E-mail para correspondência: leilianecampos@gmail.com

Salminus brasiliensis (Cuvier, 1816) é um peixe de grande porte popularmente chamado de dourado e pertencente à família Bryconidae. É uma espécie de piracema, forte-migradora, piscívora e de grande apelo popular, muito relevante na pesca. *S. brasiliensis* é considerado uma espécie-bandeira: sua conservação promove potencialmente a conservação de todo o ecossistema no qual este organismo está inserido. Possui importante papel ecológico, por ser predador topo de cadeia, promovendo a caracterização e estruturação das comunidades fluviais. Em alguns locais a espécie é considerada como vulnerável a extinção e na bacia do rio Paraná a população de dourado teve um declínio histórico acentuado. A conservação de estoques naturais de *S. brasiliensis* pode ser realizada utilizando-se métodos e teorias interdisciplinares, incluindo a área conhecida como genética da conservação. Além disso, pesquisas recentes com marcadores moleculares de código de barras de DNA (COI) e genes nucleares, têm lançado dúvidas sobre a classificação taxonômica vigente, podendo ser as linhagens da bacia do alto rio Paraná uma espécie distinta ainda não descrita, o que aumentaria dramaticamente a necessidade de atenção e estudos. O desenvolvimento de marcadores e tecnologias moleculares, portanto, é de grande valor para o fomento das atividades de produção e conservação nesta espécie. Objetivou-se, com esse trabalho, a validação de sistemas de reações combinadas (*i.e.* multiplex) para Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) de microssatélites, em *S. brasiliensis*. Estes multiplexes seriam capazes de acelerar a caracterização de diversidade molecular de estoques deste peixe e economizar insumos na produção de resultados rápidos. Ensaio PCR foram otimizados, principalmente quanto às concentrações de MgCl₂ e de *primers* (oligonucleotídeos iniciadores de PCR). Com a avaliação de combinações dentre 28 marcadores microssatélites, foram desenhados seis sistemas multiplex. Ensaio empíricos foram avaliados em uma amostra de 36 indivíduos, coletada na estação ambiental e experimental de Volta Grande, MG e os resultados foram revelados em eletroforese de géis de poliacrilamida. Foram obtidos três sistemas com dois marcadores, dois sistemas com três marcadores e um sistema com quatro marcadores, totalizando seis sistemas com 16 marcadores (~57% dos candidatos testados). Os sistemas aqui desenvolvidos têm o potencial para acelerar a eficiência de análise deste *loci* em cerca de 2,5 vezes. Foi realizada análise de Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), após uma correção de Holm-Bonferroni para a significância e três marcadores não demonstraram conformidade com o EHW. Os sistemas para multiplex em *Salminus brasiliensis* são apresentados na Tabela 1. Foram desenhados teoricamente dois sistemas multiplex potenciais para diferenciação por fluorocromos utilizando os 12 marcadores não utilizados na validação dos sistemas, sendo um com cinco marcadores e um com quatro marcadores. Os sistemas multiplex validados empiricamente são relevantes para fomento de medidas de conservação e técnicas de manejo para piscicultura, visto que a utilização destes sistemas de multiplex

pode ser adaptada a laboratórios simples, associados à estações de criação ou em programas de repovoamentos.

Palavras-chave: Marcadores microssatélites, Aquacultura, PCR multiplex, Peixes de água doce.
(CAPES, CNPq)

Tabela 1: Sistemas multiplex contendo os conjuntos de *primers*, número de acesso do GenBank, os motifs de repetição de DNA e comprimento observados (n=36 peixes) de fragmentos em pares de base (pb)

Sistemas	Marcador	GenBank	Motif	Comprimento (pb)
Multiplex 1	Sbra09	KX421486	ATT	137-170
	Sbra18	KX421493	AAT	73-81
	Sbra28	KX421503	GAT	93-124
	Sbra37	KX421511	GAA	175-204
Multiplex 2	Sbra07	KX421484	CTAT	160-227
	Sbra14	KX421490	TTA	112-147
	Sbra31	KX421506	TAT	88-96
Multiplex 3	Sbra20	KX421495	TTG	156-181
	Sbra36	KX421510	TTC	79-113
	Sbra41	KX421515	AGC	117-154
Multiplex 4	Sbra01	KX421479	GCACAC	101-157
	Sbra40	KX421514	AAG	164-198
Multiplex 5	Sbra16	KX421492	AAT	151-192
	Sbra38	KX421512	ACT	72-112
Multiplex 6	Sbra25	KX421500	GAA	80-118
	Sbra35	KX421509	TTC	145-179