FERRAMENTAS MOLECULARES APLICADAS À PESCA E AQUICULTURAAlexandre Wagner Silva HILSDORF ¹

¹ Universidade de Mogi das Cruzes, Laboratório de Genética de Organismos Aquáticos e Aquicultura (LAGOAA) - Rua Cândido Xavier de Almeida Souza, 200, Mogi das Cruzes, São Paulo, 08780-911

INTRODUÇÃO

A importância dos peixes não é apenas significativa pela quantidade de espécies existentes, mas também por sua contribuição como uma importante fonte de proteína para as populações humanas. Atualmente, o pescado representa 15% de toda proteína animal consumida no mundo. A produção mundial de pescado advindo da pesca e da aquicultura em 2008 foi de 159 milhões de toneladas (FAO, 2010).

A diversidade biológica é fundamental para manutenção das espécies no que concerne à sua habilidade de adaptação e resposta às frequentes mudanças ambientais (BARKER e TINGEY, 1992). A perda da biodiversidade compromete o funcionamento dos ecossistemas, e a conservação de tais ecossistemas é de vital importância para vários setores econômicos em muitos países. Vários têm sido os fatores identificados como causadores do declínio da diversidade de peixes nos vários ecossistemas aquáticos do planeta. Estes vão desde a deterioração dos ambientes aquáticos por poluição, assoreamento e barramento de rios e pesca predatória, até a introdução de espécies exóticas.

A conservação da variabilidade genética das populações de peixes ou outros organismos aquáticos é, portanto uma etapa fundamental para manutenção da viabilidade destas populações a médio e longo prazo.

MARCADORES GENÉTICOS

As variações genéticas existentes entre populações que podem indicar níveis de isolamento genético são evidenciadas por marcas presentes no longo do genoma mitocondrial e nuclear. O isolamento leva a mudanças nas frequências gênicas das populações e ao acúmulo de novas mutações que não são compartilhadas pelo processo de fluxo gênico. Ao se medir o grau de diferenciação genética entre populações, na verdade trata-se indiretamente da possível variabilidade genética em *loci* que estejam envolvidos em fenótipos relacionados a processos adaptativos.

A quantificação mais precisa das diferenças genéticas entre indivíduos e populações avançou significativamente com o desenvolvimento de tecnologias moleculares que possibilitaram identificar as regiões do genoma que continham essas diferenças. Estas marcas ao longo do genoma são conhecidas como marcadores genéticos, que podem ser desde o polimorfismo de proteínas a variações nucleotídicas de sítio único, conhecidas como SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). Atualmente, mesmo com maior acessibilidade aos processos de sequenciamento total de um genoma em vários laboratórios do mundo (GOETZ e MACKENZIE, 2008), o uso de marcadores moleculares em estudos populacionais ainda é o método mais usado.

O uso de marcadores baseados no DNA permite uma avaliação das relações filogenéticas entre espécies, gêneros e famílias, bem como entre populações. A vantagem é que as diferenças encontradas nas sequências de DNA não são modificadas pela ação do ambiente, como nos marcadores morfológicos ou mesmo nos marcadores protéicos (aloenzimas e isoenzimas), pois são fixadas no momento da fertilização. No desenvolvimento de marcadores moleculares, procura-se escolher regiões não-codificadoras de proteínas e, assim, tais regiões são consideradas neutras em relação aos potenciais efeitos da seleção natural. Desta forma, ao se medir a diferença genética entre duas regiões homólogas de DNA entre dois indivíduos, busca-se estimar quantitativamente o tempo em que estes dois indivíduos compartilhavam um ancestral em comum. Ao se avaliarem as diferenças genéticas com marcadores neutros, trata-se da estimativa indireta da variabilidade genética subjacente em genes envolvidos nos processos de adaptabilidade e evolução de uma população (NGUYEN *et al.*, 2006).

Diversos marcadores genéticos têm sido desenvolvidos com base na sua herança e padrão de evolução (PARK e MORAN, 1994). Um marco no aprimoramento e na universalização do uso de marcadores moleculares foi o desenvolvimento da técnica da reação em cadeia da polimerase - PCR (SAIKI *et al.*, 1988). O sequenciamento automático do DNA veio como consequência da técnica da PCR, tornando a publicação de sequências do DNA uma atividade rotineira.

Estudos genéticos em populações de peixes têm sido realizados utilizando-se marcadores bioquímicos e moleculares como aloenzimas/isoenzimas, RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA* - polimorfismo de DNA amplificado ao acaso), SPAR (*Single Primer Amplification Reaction* - reação de amplificação com primer único), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism* - polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição),

AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism* - polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados), VNTR (*Variable Number Of Tandem Repeats* - número variável de repetições em tandem - minissatélites) e STR (*Short Tandem Repeats* - repetições curtas em tandem) (OLIVEIRA *et al.*, 2009). As técnicas citadas geralmente utilizam as informações contidas no genoma nuclear. Contudo, o polimorfismo encontrado no DNA mitocondrial, bem como suas características genéticas – herança materna, genoma haplóide, ausência de recombinação, sensibilidade aos efeitos da deriva genética e alta taxa evolutiva (BROWN, 1985) – fizeram deste genoma uma excelente fonte de informações genéticas para estudos taxonômicos e populacionais (KOCHER *et al.*, 1989; PALUMBI *et al.*, 1991).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O avanço tecnológico da genética molecular nos permite obter maior conhecimento sobre a diversidade das populações de peixes distribuídos nos ecossistemas. Baseados em estudos com marcadores moleculares podemos desenvolver estratégias para conservação das espécies através da proteção dos ambientes naturais e de diretrizes de manejo pesqueiro. Ressaltamos que conhecer e conservar a diversidade das espécies de peixes, é uma dos requisitos para que a pesca e aquicultura sejam sustentáveis a médio e longo prazo e sendo assim, além da importância ecológica, destacamos a importância sócio-econômica, uma vez que muitas famílias são mantidas por essas atividades.

Agradecimentos: Laura Helena Orfão, Zootecnista, Doutora em Zootecnia, Reprodução e Genética de Peixes - Universidade de Mogi das Cruzes, Laboratório de Genética de Organismos Aquáticos e Aquicultura (LAGOAA).

REFERÊNCIAS

- BARKER, J.R. e TINGEY, D.T. 1992. *Air pollution effects on biodiversity*. Van Nostrand Reinhold, New York.
- BROWN, W.M. 1985 The mitochondrial genome of animals. In: MACINTYRE, R.J. (Ed.) *Evolutionary genetics*. Plenum. p.95-130.
- FAO Fisheries Statistics 1997 *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.
- GOETZ, F.W. e MACKENZIE, S. 2008 Functional genomics with microarrays in fish biology and fisheries. *Fish and Fisheries*, 9: 378-395.
- KOCHER, T.D.; THOMAS, W.R.; MEYER, A.; EDWARDS, S.V.; PAABO, S.; VILLABLANCA, F.X.; WILSON, A.C. 1989 Dynamics of mitochondrial DNA evolution

in animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86: 6196-6200.

- NGUYEN, T.T.T.; HURWOOD, D.; MATHER, P.; NA-NAKORN, U.; KAMONRAT, W.; BARTLEY, D. 2006 *Manual on applications of molecular tools in aquaculture and inland fisheries management: part 1 - conceptual basis of population genetic approaches*. Bangkok, Tailandia.
- OLIVEIRA, C.; FOREST, F.; HILSDORF, A.W.S. 2009 Genetics of neotropical fish: from chromosomes to populations. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 81-100.
- PALUMBI, S.; MARTIN, A.; ROMANO, W.O.; McMILLIAN, W.O. 1991 *The Simple Fool's Guide to PCR*. version 2.0. Honolulu: University of Hawaii.
- PARK, L.K. e MORAN, P. 1994 Developments in molecular genetic techniques in fisheries. In: CARVALHO, G.R.; PITCHER, T.J. (Eds.). *Molecular genetics in fisheries. Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 4: 272- 299.
- SAIKI, R.K.; GELFAND, D.H.; STROFFEL, S., SCHARF, S.J.; HIGUCHI, R.; HORN, G.T.; MULLIS, K.B.; ERLICH, H.A. 1988 Primer-directed enzyme amplification of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science*, 239: 487-491.