

# Distância Genética Entre Populações de *Leporinus elongatus* (Characiformes), *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes) *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes) Isoladas por Sete Quedas.

GALDINO<sup>1</sup>, Josiane C.; SEKINI<sup>1</sup>, Elizabete S.; PRIOLI<sup>1,2</sup>, Alberto J.; PRIOLI<sup>1,2</sup>, Sônia M. A. P.; JÚLIO Jr<sup>1,2</sup>, Horácio F.; PRIOLI<sup>1,3</sup>, Laudénir M.

<sup>1</sup>Nupélia – Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aqüicultura; <sup>2</sup>Depto. Biol. Celular e Genética; <sup>3</sup>Depto. Biologia – Universidade Estadual de Maringá. Av. Colombo, 5790, 87020-900 Maringá, PR, Brazil. \*Autor para correspondência (Fone: (44) 261-4750 / Fax: (44) 263-1424; e-mail: [ajprioli@nupelia.uem.br](mailto:ajprioli@nupelia.uem.br))

## RESUMO

Com a formação do reservatório de Itaipu e a submersão de Sete Quedas, um trecho do médio e o alto rio Paraná passou a ter continuidade. Isso permitiu a migração e mistura de populações de peixes que poderiam estar, até então, parcialmente isoladas. Em consequência, poderia ter ocorrido ou estar em andamento a homogeneização das populações das duas localidades. As espécies *Pseudoplatystoma corruscans* (pintado), *Leporinus elongatus* (piapara) e *Hemisorubim platyrhynchos* (jurupoca) foram estudadas neste trabalho para verificar se ocorre fluxo gênico entre as populações e assim obter indicações de que os saltos de Sete Quedas constituíam uma barreira eficiente para o isolamento das populações do médio e do alto rio Paraná. As análises moleculares com RAPD demonstraram que Sete Quedas isolava, pelo menos parcialmente, as populações de pintado e piapara. Por outro lado, as populações de jurupoca não apresentaram diferenciação genética significativa. Portanto, é possível que Sete Quedas constituísse uma barreira que isolava eficientemente algumas, mas talvez não todas, as espécies de peixes na bacia do rio Paraná.

**Palavras-chave:** Saltos de Sete Quedas; *Pseudoplatystoma corruscans*; *Hemisorubim platyrhynchos*; *Leporinus elongatus*; .

## INTRODUÇÃO

A bacia hidrográfica do alto rio Paraná ocupa uma vasta área, que em território brasileiro supera 802.150 Km<sup>2</sup>. Grande parte da rede hidrográfica da bacia encontra-se sob controle de barramentos, especialmente o rio Grande e os afluentes da margem esquerda. O alto curso do rio Paraná encontra-se barrado a jusante pela UHE de Itaipu, e a montante pelas UHE de Porto Primavera e de Jupia. A planície do rio Paraná é uma ampla área de acumulação que ocupa toda a calha do rio no segmento compreendido entre Três Lagoas e Guaíra. Modificações na ictiofauna podem ser causadas pela construção de reservatórios para geração de energia elétrica, seja pela eliminação de barreiras geográficas, modificando o padrão de dispersão de várias espécies de peixes pela sua introdução nas áreas a montante da barragem, ou pela formação de novas barreiras, impedindo a migração de peixes, podendo, dependendo das condições, levar à extinção espécies menos aptas a suportar esse tipo de alteração. Os saltos de Sete Quedas eram considerados uma barreira que separava duas províncias ictiofaunísticas distintas no rio Paraná: a do rio Paraná superior e a parano-platense. Com a construção de Itaipu, a barreira foi deslocada para jusante e um segmento de 150 Km do médio Paraná passou a ter continuidade com o alto rio Paraná. Mais de 15 espécies do médio e baixo rio Paraná invadiram o trecho superior, espécies estas que poderiam estar, até então, parcialmente isoladas. Em consequência

poderia ter ocorrido ou estar em andamento a homogeneização das populações das duas localidades. Populações naturais de peixes, estando isoladas em função da existência de acidentes geográficos, acumulam polimorfismos e divergências genéticas proporcionais à intensidade e ao tempo de isolamento. O grau em que uma população pode ser delimitada de outras depende do nível de fluxo gênico entre elas e as alterações nesse fluxo gênico podem ser ocasionadas por alterações nas barreiras naturais. Dadas as condições criadas com o barramento pela Itaipu as populações de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), piapara (*Leporinus elongatus*) e jurupoca (*Hemisorubim platyrhynchos*), estariam sujeitas a alterações significativas no fluxo gênico entre cada espécie. Portanto, é plausível a hipótese de que mesmo que as populações acima e abaixo de Sete Quedas fossem geneticamente diferenciadas, atualmente estariam diminuindo a divergência genética se aproximando da homogeneidade genética. Uma forma de testar essa hipótese seria avaliar e quantificar a diferenciação genética intraespecífica em espécies de peixes que ocorrem abaixo da barragem e da planície. Um método rápido e eficiente para se conduzir estudos de análise genética de populações é o RAPD. Neste trabalho foi avaliada, com a técnica de RAPD, a diferenciação genética de populações de *P. corruscans*, *L. elongatus* e *H. platyrhynchos*, do médio e alto curso do rio Paraná, anteriormente separadas pelos Saltos de Sete Quedas.

## RESULTADOS

Foram estudadas as populações de *P. corruscans* de três regiões do rio Paraná: a montante, na planície de inundação na região de Porto Rico; no médio rio Paraná, a jusante de Yacyretá e na porção superior do reservatório de Itaipu, que representaria o trecho do médio rio Paraná que passou a ter continuidade com o alto rio Paraná. As populações de *L. elongatus* e *H. platyrhynchos* foram coletadas na planície de inundação do alto rio Paraná e em Yacyretá. O DNA foi extraído com metodologia baseada em fenol/clorofórmio. A estimativa da quantidade de DNA presente em cada amostra foi feita através da comparação com o DNA do fago  $\phi$  de concentração conhecida, por meio de eletroforese em gel de agarose 0,8%. As amostras de DNA das diferentes populações foram comparadas pela técnica de RAPD. Testes iniciais de primers foram realizados utilizando os Kits A, X e W obtidos da Operon Technologies para cada população. Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,4%, corado com brometo de etídio. O controle negativo foi incluído em cada experimento, consistindo da mistura de reação de PCR sem DNA. O padrão eletroforético foi visualizado em luz UV e posteriormente fotografado. Os tamanhos dos fragmentos foram estimados por comparação com padrão Ladder 100 pb. Cada indivíduo produz um perfil eletroforético com determinado *primer*. Portanto, as comparações foram realizadas a partir do conhecimento da presença (1) ou ausência (0) de fragmentos RAPD para cada indivíduo das populações analisadas. Neste trabalho foi empregada a metodologia desenvolvida por Lynch e Milligan (1994) especialmente para comparações de indivíduos através de marcadores polimórficos de RAPD.

**Tabela 1. Estimativas da distância genética ( $D$ ) não tendenciosa de Nei, índice de fixação ( $F_{ST}$ ) e número de migrantes ( $Nm$ ) entre populações de *P. corruscans* do rio Paraná. PL = planície de inundação do alto rio Paraná; IT = reservatório de Itaipu YA = região a jusante do reservatório de Yacyretá.**

	$D$	$F_{ST}$	$F_{ST}$		$Nm$
			$\chi^2$	P (GL = 1)	
PL – YA	0.064	0.112	5.376	* < 0.05	2.0
PL – IT	0.044	0.090	4.320	* < 0.05	2.5
IT – YA	0,030	0.030	1.440	> 0.05	8.1

\* significativo a 5%.

**Pintado:** Os valores de  $F_{ST}$ , com correção de Lynch e Milligan (1994), variaram de 0,030 a 0,112. Pelo teste do  $\chi^2$ , o  $F_{ST}$  foi significativo entre as populações PL e YA e entre PL e IT, e não significativo entre IT e YA. O fluxo gênico foi também maior entre as populações IT e YA, com número médio de migrantes  $Nm = 8,1$ . A distância genética não tendenciosa de Nei, com correção de Lynch e Milligan, foi menor entre IT e YA ( $D = 0,030$ ) e maior entre PL e YA ( $D = 0,064$ ) e  $Nm = 2,0$ .

**Piapara:** A distância genética não tendenciosa de Nei com correção de Lynch e Milligan entre as populações de *L. elongatus* da planície e de Yacyreta, foi  $D = 0,0648$ . A estimativa do índice de  $F_{st} = 0,1492$  ( $\chi^2=7,46^{**}$ ) representa a diferenciação existente entre as populações. O  $Nm$  estimado foi 1,4, ou seja, o número de migrantes seria baixo, confirmando a diferenciação genética.

**Jurupoca:** Foram detectados 46 locos polimórficos. A distância genética entre as populações da planície e de Yacyretá, calculada pelo procedimento de Nei com correção de Lynch e Milligan, foi 0,07. O  $F_{ST} = 0,08$ , não significativo, indica homogeneidade genética entre as duas populações, o que também pode ser inferido pelo alto fluxo gênico ( $Nm = 2,85$ ).

## DISCUSSÃO

O conjunto de resultados obtidos fornece indicações suficientes para sustentar a conclusão de que os saltos de Sete Quedas constituíam uma barreira que promovia, ao menos parcialmente, o isolamento reprodutivo entre as populações de pintado e piapara residentes a montante e a jusante. O obstáculo oferecido por Sete Quedas não seria absoluto, pois foi detectado fluxo gênico equivalente a dois migrantes por geração em pintado e cerca de 1,4 em piapara. O distanciamento encontrado suporta a interpretação de que, embora em níveis baixos, há diversidade genética entre as populações, das espécies analisadas, do médio e alto rio Paraná.

Por outro lado, não foi detectada diferenciação genética entre as populações de jurupoca separadas por Sete Quedas. É possível que a homogeneidade encontrada seja decorrente da transposição da cachoeira por ovos e larvas da população a montante para a parte do médio rio Paraná. Esta migração garantiria o fluxo gênico e evitaria a divergência genética das duas populações de jurupoca. Outra explicação possível seria a mistura das populações depois de submersa Sete Quedas e a homogeneização resultaria na similaridade genética constatada atualmente.

A diferenciação genética constitui indicação tênue e há necessidade de estudos adicionais e ampliação do número de espécies para a obtenção de uma melhor indicação sobre a eficácia de Sete Quedas em separar as populações do alto e do médio rio Paraná. Portanto, é possível que Sete Quedas constituísse uma barreira que isolava eficientemente algumas, mas talvez não todas, as espécies de peixes na bacia do rio Paraná.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Nupélia e ao PEA pelo apoio e ao CNPq-PELD e CAPES pelo suporte financeiro.

## Referências Bibliográficas

AGOSTINHO, A.A.; JÚLIO JR., H.F.; GOMES, L.C.; BINI, L.M.; AGOSTINHO, C.S. 1997. Composição, abundância e distribuição espaço-temporal da ictiofauna. In: VAZZOLER, A.E.A.M.; AGOSTINHO, A.A.; HAHN, N.S. Ed. Universidade Estadual de Maringá. 460p.

BONETTO, A.A. 1986. Fish of the Paraná system. In: Davies, B.R. and Walker, K.F. (eds) *The Ecology of River Systems*, pp. 573-588. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. 1998 *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 3ª ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 220p.
- FUTUYMA, D.J. 1997. *Biologia Evolutiva*. 2ª ed. Ribeirão Preto-SP: Sociedade Brasileira de Genética, 646 p.
- HARTL, D.L.; CLARK, A.G. 1989. *Principles of Population Genetics*. 2ª Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA.
- OLIVEIRA, A.V. 2001. *Diversidade e distância genética em populações do gênero Steindachnerina da planície de inundação do alto rio Paraná*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Maringá.
- LYNCH, M.; MILLIGAN, B.G. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 3:91-99.
- NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89, 583-590.
- NEI, M.; LI, W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 5269-5273.
- PAVANELLI, C.S.; BRITSKI, H.A. 1999. Description of a new species of *Steindachnerina* (Teleostei: Characiformes: Curimatidae) from the upper Rio Paraná basin, Brazil. *Ichthyol. Explor. Freshwater* 10: 211-216.
- VARI, R.P. 1991. Systematics of the Neotropical Characiform genus *Steindachnerina* Fowler (Pisces: Ostariophysi). *Smithson. Contr. Zool.*, 507:1-118.
- WHITMORE, D.H.; THAI, T.H.; CRAFT, C.M. 1992. Gene amplification permits minimally invasive analysis of fish mitochondrial DNA. *Transaction of the American Fisheries Society*. 121:170-177.
- WILLIAMS, D.J.; KAZIANIS, S.; WALTER, R.B. 1998. use of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) for Identification of Largemouth Bass Subspecies and Their Intergrades. *Transactions of the American Fisheries Society*, 127:825-832.
- WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, AR.; LIVAK, J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.