

Estimativa da Variabilidade Genética de Peixes da Planície de Inundação do Alto Rio Paraná Evidenciadas por Marcadores Moleculares.

RENESTO, Erasmo; PERES, Maria Dolores

Universidade Estadual de Maringá, Nupélia -PEA, Av. Colombo 5790, 87020-900 Maringá, Paraná. E-mail: lole@nupelia.uem.br/renesto@nupelia.uem.br

RESUMO

A variabilidade genética em *Hoplias aff. malabaricus*, de duas localidades da planície de inundação do alto rio Paraná, foi investigada por eletroforese de gel de amido e poliacrilamida. Um total de 52 espécimes foram analisados para 14 sistemas enzimáticos. Um total de 24 loci gênicos foram detectados. Quando os valores de heterozigosidade de *H. aff. malabaricus* são comparados com outras espécies da bacia do rio Paraná, encontramos alta variabilidade genética ($H_e = 0.14$). A espécie apresentou a mesma variabilidade genética para os dois ambientes (fluvial e lacustre), entretanto elas diferem significativamente nas frequências gênicas ($P < 0.05$).

Palavras chaves: isoenzimas, planície de inundação, variabilidade genética, polimorfismo.

INTRODUÇÃO

A eletroforese de enzimas tem sido utilizada em genética de populações como uma ferramenta para estimar a variabilidade genética de populações naturais desde o trabalho pioneiro de Hubby & Lewontin (1966). Em peixes, os resultados assim obtidos têm sido aplicados a estudos evolutivos (Powers & Schulte, 1998), taxonômicos (Almeida & Sodré, 1998; Chiari & Sodré, 1999), filogenéticos (Zawadzki, 2001), bem como a delimitação de estoques de espécies exploradas comercialmente (Revaldaves et al., 1997).

Os estudos de genética de populações procuram entender como as variações na taxa de sobrevivência, reprodução e crescimento contribuem para as alterações nas frequências gênicas e genotípicas das populações e se estas alterações conferem maior valor adaptativo as espécies. Fatores como reprodução, migração, deriva genética e seleção natural são de extrema importância para o processo de adaptação a circunstâncias ecológicas particulares (Kirpichnikov, 1992).

Hoplias aff. malabaricus (Bloch, 1794), popularmente conhecida como traíra, apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo na maior parte das bacias hidrográficas da América do Sul (Gery, 1977). A traíra é uma excelente representante da diversidade cariotípica dos Characiformes, acredita-se que ela não seja formada por uma única espécie, mas sim por um complexo de espécies, com pelo menos cinco citótipos diferentes com o número de cromossomos variando de 39 a 42 (Dergam & Bertollo, 1990). Maniglia et al (2000) relacionaram os citótipos e a variabilidade genética de oito indivíduos da planície de inundação do alto rio Paraná, e os resultados demonstraram que *H. aff. malabaricus* está representada por pelo menos três citótipos que estão associados a diferentes padrões de marcadores RAPD-PCR. Dergam et al. (1998) também utilizaram marcadores RAPD-PCR em estudos com *H. aff. malabaricus* dos rios Paraná, Tibagi e Iguaçu e consideraram que as divergências moleculares

acentuadas encontradas sugerem que estes grupos estejam reprodutivamente isolados e que talvez possam ser caracterizados como espécies diferentes.

Comparando-se os ambientes fluvial e lacustre que formam o sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná, as lagoas temporárias apresentam os menores valores médios de temperatura, condutividade, e oxigênio dissolvido, e as maiores médias de clorofila-a, nitrogênio e fósforo, sendo as lagoas temporárias as que apresentam as maiores oscilações temporais dos fatores limnológicos ao passo que rios de grande porte como o Paraná apresentam maior estabilidade (Thomaz et al., 1997).

Veríssimo (1994) considera as lagoas localizadas no interior de ilhas do rio Paraná, como a amostrada neste estudo, como temporárias, sendo os primeiros ambientes afetados pelas inundações, podendo secar total ou parcialmente durante o período das águas baixas. Segundo Kirpichnikov (1992), o polimorfismo bioquímico está altamente relacionado ao tipo de ambiente (disponibilidade de alimento, gradiente de temperatura, duração das estações do ano, etc.) e ao tamanho da população.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas amostragens foram coletados 52 exemplares de *Hoplias* aff. *malabaricus* (traíra) no sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná (rio e lagoa), de novembro de 1999 a janeiro de 2000.

Na análise dos 14 sistemas enzimáticos da traíra, foram detectados 24 loci dos quais 8 são polimórficos para o ambiente fluvial, *ADH-1**, *EST-1**, *G₆PDH-1**, *GPI-A**, *GPI-B**, *MDH-B**, *MEP-1**, *SOD-1** e destes apenas *MEP-1** e *EST-1** estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P > 0,05$). Para os espécimens do ambiente lacustre, 9 locos foram polimórficos, *ADH-1**, *EST-1**, *GPI-A**, *GPI-B**, *MDH-A₂**, *MDH-B **, *MEP-1**, *PGM-1**, *SOD-1**, dentre os quais apenas *GPI-B** e *PGM-1** estão em equilíbrio.

As populações dos ambientes fluvial e lacustre, apresentaram diferença significativas nas frequências alélicas, segundo teste de χ^2 de contingência, apenas nos loci *EST-1** ($P= 0,007$), *G₆PDH-1** ($P= 0,001$) *GPI-A** ($P= 0,002$), *GPI-B** ($P= 0,037$) e *SOD-1** ($P= 0,001$), ($P < 0,05$).

A heterozigiosidade observada está muito abaixo da esperada. Para o ambiente fluvial a heterozigiosidade esperada é cerca de três vezes maior que a obtida enquanto na lagoa é aproximadamente seis vezes maior (Table 1).

A identidade genética não tendenciosa de Nei (1978) entre as duas populações foram estimadas em $I= 0,95\%$ e a distância genética $D= 0,049$, isto é, 5% dos nucleotídeos são diferentes entre os peixes dos dois locais.

A variabilidade genética de *H. aff. malabaricus*, estimada pelo índice de heterozigiosidade não tendenciosa de Nei (1978), pode ser considerada alta ($\bar{H}_e = 0,14$) quando comparada com os valores descritos por Gyllensten (1985) para seis espécies de peixes marinhos (0,063) e nove espécies de água doce (0,043), e por Ward et al. (1994) para cinquenta e sete espécies marinhas (0,059) e quarenta e nove espécies de água doce (0,046). Ambos autores obtiveram os dados de heterozigiosidade de espécies de peixes distribuídas em várias regiões do globo terrestre.

Quando se comparam os valores de heterozigiosidade genética de *H. aff. malabaricus* com os de outras espécies da bacia do rio Paraná, verifica-se que eles também são altos. Revaldaves et al. (1997) detectou um índice de heterozigiosidade $\bar{H}_e= 0,13$ para *Prochilodus lineatus* (Characiformes). Almeida & Sodré (1998) analisaram três espécies de Pimelodideos (Siluriformes) e calcularam valores de \bar{H}_e que variam de 0,043 para *Pirinampus pirinampu*; 0,060 para *Pimelodus maculatus* a 0,083 para *Iheringichthys labrosus*. Chiari & Sodré (1999) estudando cinco espécies de anatom deos (Characiformes) encontraram valores de $\bar{H}_e= 0,072$

para *Schizodon intermedius*, 0,092 para *Schizodon nasutus*, 0,132 para *Leporinus frederici*, 0,142 para *Leporinus elongatus* e 0,090 para *Leporinus obtusidens* e Zawadzki (2001) analisaram 21 espécies de Loricarídeos (Siluriformes) e encontraram valores de \bar{H}_e variando entre 0,011 para *Hypostomus derbyi* a 0,103 para *Hypostomus regani*. Assim, apesar de *H. aff. malabaricus* não ser uma espécie migradora, apresenta valores de \bar{H}_e semelhantes aos das migradoras (*P. lineatus* e anatómídeos).

Tabela 1. Variabilidade genética de *Hoplias aff. malabaricus* de ambiente fluvial e lacustre da planície de inundação do alto rio Paraná.

População	Nº de indivíduos Analisados	Nº médio de alelos por locus	Proporção de locos polimórficos P	Heterozigosida de Média Observada \bar{H}_o	Heterozigosida de Média Esperada \bar{H}_e	\bar{H}_o/\bar{H}_e
Rio	24	1,4	33,3	0,048 (0,027)	0,14 (0,045)	0,34
Lagoa	28	1,5	37,5	0,022 (0,011)	0,14 (0,044)	0,16

* (O número entre parênteses é o respectivo erro padrão).

A despeito da maior proporção de locos polimórficos (\bar{P}) detectados nos exemplares de traíra do ambiente lacustre (Table. 1), a espécie apresentou a mesma variabilidade genética para os dois ambientes, fluvial e lacustre. A distância e a identidade genética de Nei (1978), revelam alta similaridade genética entre as populações dos ambientes estudados. Os valores obtidos encontram-se próximos da média obtida por Shaklee et al. (1982) para populações coespecíficas de peixes marinhos e de água doce, $D = 0,05$ e $I = 0,97$.

Assumindo a neutralidade, ou a pseudoneutralidade, para maioria das isoenzimas, a diferenciação dentro das populações seria determinada pelo tamanho efetivo da população e a taxa de migração. Valores mais elevados de polimorfismo detectados para o ambiente lacustre estariam relacionados a efeitos estocásticos (deriva genética). Como a lagoa temporária amostrada encontra-se em uma ilha do rio Paraná, um dos primeiros ambientes afetados pelas inundações, acredita-se que os pulsos de cheia pouco intensos porém prolongados, estejam sendo suficientes para homogeneização genética da espécie.

Assumindo um caráter adaptativo para as isoenzimas, acredita-se que possa ter havido seleção natural, podendo ter ocorrido favorecimento de alguns genótipos, na lagoa (esterase 73,3% de BB na lagoa e apenas 26,6% no rio, 81,8% de AA na lagoa e apenas 18,1% no rio). A seleção pode ter ocorrido levando-se em consideração que as condições limnológicas no período de seca neste ambiente são limitantes à presença da ictiofauna, principalmente devido à escassez de oxigênio. Saint-Paul & Soares (1987) detectaram aclimações fisiológicas para *H. aff. malabaricus* da Amazônia, que sugerem a utilização de uma via acessória anaeróbica para sobrevivência à hipoxia.

Embora dados citogenéticos (Dergam & Bertollo, 1990) e de marcadores moleculares RAPD-PCR (Dergam et al., 1998; Maniglia et al., 2000) sugiram a existência de um complexo de espécies para *H. aff. malabaricus*, no presente estudo não foram detectadas alterações na expressão dos quatorze sistemas enzimáticos testados neste estudo que corroborem com esta hipótese. Se realmente *H. aff. malabaricus* for um complexo de espécies, a especiação se deu sem que houvesse fixação de alelos para os locos analisados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Devido a grande diversidade de espécies de peixes da planície de inundação do alto rio Paraná, a variabilidade genética de muitas delas ainda não foram determinadas. Por isso, propõem-se estudar um número maior de espécies de peixes da planície de inundação, para verificar as relações existentes entre estratégias alimentares e variabilidade genética e assim contribuir com

o entendimento da relação entre diversidade genética e condições ambientais. Estudos que promovem o entendimento da manutenção e os aspectos funcionais da biodiversidade em qualquer nível, são essenciais para o bem estar e o futuro da humanidade.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. S. & SODRÉ, L. M. K. (1998). Analysis of the protein variability in 3 species of Pimelodidae (Ostariophysi – Siluriformes). *Genet. Mol. Biol.* **21**:487 - 492.
- CHIARI, L. & SODRÉ, L. M. K. (1999). Genetic variability in five species of Anostomidae (Ostariophysi – Characiformes). *Genet. Mol. Biol.* **22**: 517-523.
- DERGAM, J. A. & BERTOLLO, I. A. C. (1990). Karyotypic diversification in *Hoplias malabaricus* (Osteichthyes – Erythrinidae) of the São Francisco and upper Paraná basins, Brazil. *Rev. Bras.Genet.* **13**: 755 - 766.
- DERGAM, J. A., HARUMI, I. S., SHIBATTA, O. A., DUBOC, L.F., JÚLIO JR.,H. F., GIULIANO-CAETANO, L., BLACK IV, W. C. (1998). Molecular biogeography of the Neotropical fish *Hoplias malabaricus* (Erythrinidae – Characiformes) in the Iguaçú, Tibagi, and Paraná Rivers. *Genet. Mol. Biol.* **21**: 493 - 496
- GYLLENSTEN, U. (1985).The genetic structure of fish: differences in intraspecific distribution of biochemical genetic variation between marine, anadromus, and freshwater species. *J. Fish Biol.* **26**: 691-699.
- GERY, J. (1977). *Characoids of the world*. Neputine: T.F.H. Publications. 672p.
- HUBBY, J. L., LEWONTIN, R. C. (1966). A molecular approach to study of genic heterozygosity in natural populations. I. Number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* **54**: 577 - 589.
- KIRPICHNIKOV, V.S. (1992). Adaptive nature of intrapopulational biochemical polymorphism in fish. *J. Fish Biol.* **40**: 1 - 16.
- MANIGLIA, T. C.; PERIOTO, P.S.; PAZZA, R.; OLIVEIRA, A. V.; PRIOLI, S. M. A. P. (2000). Polimorfismo molecular em populações de *Hoplias malabaricus* (Pisces: Erythrinidae) da planície de inundação do alto rio Paraná. In: Semana da Biologia, 15., 2000. Maringá, PR. *Cadernos de resumos...* Maringá: UEM. p.35.
- NEI, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individual s. *Genetics* **89**: 583 - 590.
- POWERS, A.D. & SCHULTE, P.M. (1998). Evolutionary adaptations of gene structure and expression in natural populations in relation to a changing environment: a multidisciplinary approach to address the million-year saga of a small fish. *J. Exp. Zool.* **282**: 71 - 94.
- REVALDAVES, E., RENESTO, E., MACHADO, MF.P.S. (1997). Genetic variability of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) in the upper Paraná river. *Braz. J.Genet.* **20**: 381 - 388.
- SAINT-PAUL, U. & SOARES, G. M. (1987). Diurnal distribution and behavioral responses of fishes to extreme hypoxia in Amazon floodplain lake. *Ibid.* **20**: 91 - 104.
- SHAKLEE, J.B., TAMARU, C. S., WAPLES, R. S. (1982). Speciation and evolution of marine fishes studied by electrophoretic analysis of proteins. *Pac. Sci.* **36**: 141 - 156.
- THOMAZ, S. M., ROBERTO, M. C., BINI, L. M. (1997). Caracterização limnológica dos ambientes aquáticos e influência dos níveis fluviométricos. In: Vazzoler, A. E. A., Agostinho, A.; Hahn, N. S., (Eds.) *A planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos*. Maringá: EDUEM: Nupelia. p.73 -102.
- VERÍSSIMO, S. (1994). *Variações na composição da ictiofauna em três lagoas sazonalmente isoladas, na planície de inundação do alto rio Paraná, ilha Porto Rico, PR-Brasil*. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais – Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil.

WARD, R.D., WOODWARK, M., SKIBINSKI, D.O.F. H. (1994). A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. *J. Fish Biol.* **44**: 213 - 232.

Zawadzki, C. H. (2001). Análise aloenzimática da família Loricariidae (Teleostei: Siluriformes) dos reservatórios de Corumbá e Itaipu na bacia do alto rio Paraná, Brasil. Tese de doutorado em Ciências Ambientais - Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil.

