

## ***Estimativa da variabilidade genética de peixes da planície de inundação do alto rio Paraná evidenciadas por marcadores moleculares.***

Erasmio Renesto e Maria Dolores Peres

### **Introdução**

Atualmente são conhecidas mais de 250 espécies de peixes da bacia do alto rio Paraná (Agostinho e Julio-Jr, 1999). A partir de 1998, a planície alagável deste trecho do rio Paraná, passou a ter seu nível hidrológico regulado pela operação da barragem da Usina Hidrelétrica Engenheiro Sérgio Motta e não mais por eventos naturais. Com o estabelecimento de novas condições ambientais e flutuações na disponibilidade dos recursos, as espécies devem passar por mudanças genéticas que as tornem mais adaptadas às novas condições.

Peixes com estratégias alimentares diferentes podem ter diferentes estratégias adaptativas (Valentine, 1976; Ayala e Valentine, 1979) que dependem da sua diversidade genética.

Assim, pretende-se conhecer o grau de diversidade genética das espécies mais abundantes com diferentes estratégias alimentares para se verificar as relações entre variabilidade genética e estratégias alimentares.

### **Metodologia**

Os tecidos dos peixes foram congelados em nitrogênio líquido (aprox. -196?) e conservados em superfreezer (aprox. -80?) para posteriores análises eletroforéticas em laboratório. Para as análises, estes foram macerados e as amostras homogeneizadas foram centrifugadas a 25.000rpm (45.114 x g), por 30 minutos com a temperatura variando de 1°C a 5°C. As frações sobrenatantes foram submetidas à eletroforese horizontal em gel de amido de milho (Penetrose 50?) 15%. Os

sistemas enzimáticos analisados foram (AAT, ACP, EST, G3PDH, G6PDH, GPI, IDHP, L-IDDH, LDH, MDH, MDHP, PGM, e SOD).

A interpretação genética dos géis foi feita tomando por base a estrutura quaternária das enzimas, conforme Ward et al. (1992). A nomenclatura utilizada segue o proposto por Hillis et al. (1996) com algumas modificações.

Foram calculados o índice de diversidade genética de Nei (1978), o índice de fixação de Wright (1978) e os loci polimórficos foram testados quanto ao ajuste das frequências genotípicas ao equilíbrio de Hardy-Weinberg utilizando-se o programa GENEPOP (Yeh et., al, 1999).

### **Resultados**

Foram selecionadas as 10 espécies de peixes mais abundantes com diferentes estratégias alimentares, da planície do alto rio Paraná para terem suas medidas de variabilidade genética analisadas. Dentre elas 5 com estratégias alimentares generalistas (*Astyanax altiparanae*, *Leporinus lacustris*, *Moenkhausia intermedia*, *Parauchenipterus galeatus*, *Pimelodus maculatus*) e 5 especialistas (*Apareiodon affinis*, *Roeboides paranensis*, *Serrasalmus marginatus*, *Rhaphiodon vulpinus*, *Loricariichthys platymetopon*). A classificação em generalistas e especialistas foi baseada em Hahn et al. (1997). Foram coletados aproximadamente 30 exemplares de cada espécie. Tendo sido analisadas as espécies *Astyanax altiparanae* e *Roeboides paranensis* no ano de 2003.

Para *A. altiparanae* foram detectados 30 alelos distribuídos em 21 loci, sendo a proporção de loci polimórficos de 52,38%. O Índice de Diversidade Genética de Nei ( $H_e =$

0,147 ? 0,15) foi considerado tão alto quanto valores de diversidade genética já obtidos para outras espécies da bacia do rio Paraná. Os loci *G<sub>3</sub>pdh-1*, *G<sub>6</sub>pdh-1*, *Gpi-A*, *Mdhp-1*, *Mdhp-2*, *Iddh-1* não se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg. O índice de fixação de Wright indicou um excesso significativo de homozigotos nesta população para os loci *Est-1*, *G<sub>6</sub>pdh-1*, *Iddh-1*, *Mdhp-1* e *Mdhp-2*. É possível que a alta variabilidade genética detectada por isoenzimas, para *A. altiparanae* seja mantida por seleção natural ou este alto polimorfismo seja devido a existência de um “complexo *altiparanae*” composto de mais de uma espécie críptica para a planície do alto rio Paraná.

Para *R. paranensis* foram detectados 31 alelos distribuídos em 21 loci, sendo a proporção de loci polimórficos de 38,10 %. O Índice de Diversidade Genética de Nei estimado foi de  $H_e = 0,0841$ . Todos os loci analisados estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg embora haja excesso significativo de homozigotos para os loci *Acp-1*, *Adh-1*, *Est-1* e *Mdhp-1*. *R. paranensis*, uma espécie com estratégia alimentar especialista apresentou menor variabilidade genética do que *A. altiparanae*, espécie de estratégia alimentar generalista.

### Considerações Gerais

No ano de 2003 foram coletados 300 exemplares de peixes necessários para as análises genéticas. Foi estimada a variabilidade genética para duas das 10 espécies de peixes propostas e os padrões de expressão isoenzimáticas em diferentes tecidos e em diferentes tampões passaram a ser conhecidos para todas as 10 espécies, promovendo maior agilidade na obtenção dos resultados de variabilidade genética evitando o desperdício das amostras de tecidos.

### Referências

- AGOSTINHO A. A.; JULIO-JR. Peixes da Bacia do Alto Rio Paraná. In: R. H. Lowe-McConnell. *Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais*. Tradução de A. E. A. M. Vazzoler, A. A. Agostinho e P. T. M. Cunningham, EDUSP, São Paulo, 535 p. 1999.
- AYALA, V. *Evolving: The Theory and Process of Evolution*. 1979.
- HAHN, N. S., ANDRIAN. I. F., FUGI, R. E ALMEIDA, V. L. L. Ecologia Trófica. In : A. E. A. M. Vazzoler, A. A. Agostinho e N. S. Hahn (Eds.). *A Planície de Inundação do Alto Rio Paraná: Aspectos físicos, biológicos e socio-econômicos*. Ed. da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, pp. 209-228. 1997.
- HILLIS, D.M., MORITZ, C.; MABLE, K. *Molecular Systematics*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, pp. 51-120. 1996.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590. 1978
- VALENTINE, J. W. Genetic strategies of adaptation. In: Ayala, F. J. (Ed.) *Molecular Evolution*. Sunderland: Sinaur Associates. p.78-94. 1976.
- YEH, F.C., YANG, R.; BOYLE, T. POPGENE Version3.1: Microsoft Window based freeware for population genetics analysis. University of Albert and Center for International Forestry Research. 1999.
- WARD, R. D., SKIBINSKI, D.O.F.; WOODWARD, M. Protein heterozygosity, protein structure and taxonomic differentiation. *Evol Biol* 26:73-59. 1992.
- WRIGHT, S. *Evolution and The Genetics of Population*, Vol.4. Variability within and among natural population. University of Chicago Press, Chicago, pp. 79-103. 1978.