

2.8 - Genética -Variabilidade genética e padrões enzimáticos

Introdução

A planície de inundação do alto rio Paraná vem passando por grandes mudanças ambientais, tanto físicas e químicas, quanto biológicas. Após o fechamento da Usina Hidrelétrica de Porto Primavera (22°30'S/52°57'W), em 1998, uma grande área da planície de inundação do alto rio Paraná foi submergida pelo reservatório, restando apenas um trecho livre de 230km. Este é hoje o último trecho de planície de inundação do alto rio Paraná em território brasileiro. Atualmente, o pulso de inundação desta planície é praticamente controlado por esta barragem a sua montante (Agostinho et al., 2001). Ao longo de quase 20 anos de pesquisa, o NUPELIA vem estudando a ecologia das espécies de peixes da planície de inundação do alto rio Paraná. Estes estudos revelaram que existem mais de 170 espécies de peixes vivendo na planície, dentre as quais 33 espécies foram introduzidas da bacia do médio rio Paraná depois do fechamento da barragem da Usina Hidrelétrica de Itaipu, em 1982 (Agostinho et al., 2001; Julio Jr et al., 2003). Enquanto intensivos estudos ecológicos têm sido feitos para 64 espécies de peixes da planície (Vazzoler et al., 1997, Agostinho et al., 2001), a variabilidade genética de apenas algumas espécies foi investigada. As espécies de peixes *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Revaldaves et al., 1997) e *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Peres et al., 2002), foram estudados com base em dados aloenzimáticos, e as espécies *Steindachnerina insculpta* (Fernández-Yépez, 1948), *Steindachnerina brevipinna* (Eigenmann & Eigenmann, 1889) (Oliveira et al., 2002) e *Pseudoplatystoma corruscans* Agassiz, 1829 (Sekine et al., 2002) foram estudadas com base em dados de DNA. De acordo com Vida (1994) “ O futuro da diversidade das espécies é sua diversidade genética. Em geral quanto maior a diversidade genética maior a adaptabilidade e, conseqüentemente, a probabilidade de sobrevivência de uma espécie em um mundo de transformações”. Um dos objetivos deste amplo projeto PELD é o monitoramento e a conservação da diversidade genética da comunidade de peixes, sendo que a variabilidade genética destas espécies torna-se extremamente importante para sua adaptação em um ambiente em constantes alterações como é caso da planície de inundação do alto rio Paraná. Foram selecionadas 8 espécies de peixes, entre as mais abundantes da planície de inundação do alto rio Paraná, com diferentes estratégias alimentares, para análise de variabilidade genética pela técnica de eletroforese de aloenzimas. O objetivo desta pesquisa foi estimar a variabilidade genética e os padrões isoenzimáticos de *Astyanax altiparanae*, *Leporinus lacustris*, *Loricariichthys platymetopon*, *Parauchenipterus galeatus*, *Pimelodus maculatus*, *Rhaphiodon vulpinus*, *Roeboides paranensis*, *Serrasalmus marginatus* e assim contribuir para o entendimento dos fatores que mantêm a variabilidade genética de populações naturais.

Materiais e métodos

No período foram amostrados espécimes adultos de *Astyanax altiparanae* (n = 31), *Loricariichthys platymetopon* (n = 30), *Roeboides paranensis* (n = 30), *Rhaphiodon vulpinus* (n = 30) no rio Paraná (22°45'60"S/53°15'22"W); no rio Baía (22°44'S/53°17'W) foram coletados *Leporinus lacustris* (n = 30), *Parauchenipterus galeatus* (n = 30), *Pimelodus maculatus* (n = 30), *Serrasalmus marginatus* (n = 30). Brânquias, coração, estômago, fígado, gônadas, músculo esquelético branco, olhos e rins foram removidos dos peixes imediatamente após a coleta, congelados em nitrogênio líquido e conservados em superfreezer. Para as análises, estes tecidos foram macerados com bastões plásticos em tubos “Eppendorf” de 1,5 ml com tampão Tris 0,02M/HCl, pH 7,5 em uma proporção de 1:1. Ao macerado de fígado foi necessária a adição de Tetracloreto de carbono (CCl₄) na concentração de 1:2 (tecido: CCl₄) devido à grande quantidade de gordura presente neste tecido. 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, ADH, EST, GDH, G₃PDH, G₆PDH, GPI, IDHP, L-IDDH, LDH, MDH, MDHP, PER, PGM e SOD). Para visualização das enzimas específicas foram utilizados os procedimentos padrões de coloração baseados nos protocolos de Aebersold et al (1987). 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 Murphy et al. (1996). Os dados foram analisados utilizando POPGENE 1.31 (Yeh et al., 1997). A variabilidade genética foi estimada pelo índice de diversidade genética de Nei (1978) e as frequências alélicas testadas para o equilíbrio de Hardy-Weinberg pelo teste de χ^2 .

Resultados e discussão

As oito espécies analisadas até o presente momento pela técnica de eletroforese de enzimas em gel de amido revelaram níveis de variabilidade genética muito variável, como se pode verificar pela tabela 1. *Rhaphiodon vulpinus* foi a espécie com a menor variabilidade genética verificada até o momento na planície de inundação do rio Paraná, na qual todos os 26 loci analisados são monomórficos para um único alelo. A espécie com a maior variabilidade genética foi *Astyanax altiparanae* que apresentou 52,4 % de loci polimórficos e uma estimativa de heterozigosidade de 0,147, muito acima da média 0,046, estimada para 49 espécies de peixes de água doce do mundo todo (Ward et al, 1994). É conveniente ressaltar que a espécie mais abundante da planície, *Loricariichthys platymetopon* apresentou um dos mais baixos índices de variabilidade genética.

Tabela 1. Medidas de variabilidade genética das espécies mais abundantes da planície de inundação do alto rio Paraná. K = número médio de alelos por locus; P = frequência de loci polimórficos; He = heterozigosidade esperada; Ho = heterozigosidade obtida; EP = erro padrão.

<i>Espécie</i>	K	P	He (EP)	Ho (EP)	Ho/ He
<i>Astyanax altiparanae</i>	1,8 (0,218)	0,524	0,147 (0,041)	0,068 (0,032)	0,462
<i>Leporinus lacustris</i>	1,3 (0,122)	0,267	0,081 (0,031)	0,062 (0,028)	0,773
<i>Loricariichthys platymetopon</i>	1,1 (0,082)	0,107	0,026 (0,014)	0,006 (0,005)	0,233
<i>Parauchenipterus galeatus</i>	1,3 (0,138)	0,226	0,062 (0,028)	0,039 (0,020)	0,626
<i>Pimelodus maculatus</i>	1,1 (0,070)	0,172	0,011 (0,005)	0,011 (0,005)	1,045
<i>Rhaphiodon vulpinus</i>	1,0 (0,000)	0	0	0	0
<i>Roeboides paranensis</i>	1,4 (0,124)	0,381	0,084 (0,025)	0,052 (0,022)	0,625
<i>Serrasalmus marginatus</i>	1,3 (0,116)	0,217	0,045 (0,020)	0,039 (0,021)	1,154

Considerando que a abundância da espécie é uma medida do grau de adaptação da espécie ao ambiente, a quantidade de variação genética das espécies estudadas parece não estar afetando, por si só, a adaptação delas, mas pode afetar a sua adaptabilidade às mudanças ambientais futuras. Por outro lado, estes dados vão contra a teoria neutralista da evolução, que afirma que a variabilidade genética de genes codificadores de alozimas depende do tamanho da população.

Sugerimos que a área da planície de inundação continue sendo preservada para garantir a sobrevivência destas e outras espécies do ecossistema.