



# IDENTIFICAÇÃO DE HÍBRIDOS DE SERRASALMIDAE NA PLÁNCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES

Laura Ivana Ramos<sup>1</sup>, Lidiany Doreto Cavalcanti<sup>2</sup>, Ricardo Massato Takemoto<sup>3</sup>, Alessandra Valéria de Oliveira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pós graduanda em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PEA), Campus Maringá/PR. Centro de Ciências Biológicas. Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá/PR. Bolsista CNPq. lauraivramos@gmail.com

<sup>2</sup>Pós graduanda em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PEA), Campus Maringá/PR. Centro de Ciências Biológicas. Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá/PR. Bolsista CAPES. lidydoretto@gmail.com

<sup>3</sup>Doutor, Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura – Nupélia/Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais – PEA. Centro de Ciências Biológicas. Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá/PR. takemotorm@nupelia.uem.br

<sup>4</sup>Orientadora, Doutora, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular/Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura – Nupélia/Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais – PEA. Centro de Ciências Biológicas. Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá/PR. avoliveira@uem.br

## RESUMO

Serrasalmidae é o grupo com maior produção de peixes no Brasil, devido ser considerado um alimento de alta qualidade na América do Sul. A produção de híbridos nesse grupo é preocupante, visto que são férteis e podem cruzar com espécies parentais. Estudos relatam a ocorrência de híbridos em alguns rios da bacia do alto Paraná, em consequência de escapes na piscicultura. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo identificar, com o uso de marcadores moleculares, possíveis eventos de hibridização e introgressão genética entre Serrasalmídeos na planície de inundação do alto rio Paraná. Os resultados demonstram que híbridos estão presentes na região, sendo sete espécimes resultantes do cruzamento de *P. mesopotamicus* (pacu) e *P. brachypomus* (pirapitinga) e um indivíduo resultante do cruzamento de *C. macropomum* (tambaqui) e *P. mesopotamicus* (pacu). Apenas um dos espécimes analisados foi puro, pertencente à *P. brachypomus* (pirapitinga). Além disso, pode-se determinar que as fêmeas envolvidas nos cruzamentos são, em sua grande maioria, pirapitinga, visto que apenas um indivíduo apresentou DNA mitocondrial de pacu e outro de tambaqui. Mais estudos são necessários para a compreensão dos reais impactos genético-ecológicos desses híbridos em ambientes naturais e dos efeitos da hibridização nos indivíduos nativos.

**PALAVRAS-CHAVE:** COI; Impactos ambientais; Ictiofauna nativa.

## 1 INTRODUÇÃO

Serrasalmidae apresenta distribuição restrita a rios da América do Sul e inclui os peixes conhecidos popularmente como piranhas, tambaquis e pacus, que apresentam uma grande importância econômica, por serem o grupo com maior produção de peixes na aquicultura no Brasil (IBAMA, 2007). Serrasalmidae dos gêneros *Colossoma* e *Piaractus* são bastante utilizados para a produção de híbridos na aquicultura e os principais cruzamentos interespecíficos envolvem as espécies *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818) (tambaqui), *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) (pacu) e *Piaractus brachypomus* (Cuvier 1818) (pirapitinga) (IBAMA, 2007).

Entretanto, a produção e comercialização de híbridos serrasalmídeos no país é preocupante, pois estudos relatam a ocorrência desses híbridos em simpatria com espécies parentais em ambientes naturais (ORSI e AGOSTINHO, 1999), o que pode colocar as espécies nativas em risco. Os híbridos de serrasalmídeos são férteis e podem retrocruzar com suas espécies parentais, constituindo sérios riscos genéticos para estoques selvagens e cultivados de espécies puras (ALMEIDA-TOLEDO et al., 1996). Possivelmente a presença de híbridos nesses ambientes naturais é devida aos escapes de tanques de criação em virtude do rompimento, transbordamento, esvaziamento ou em atividades normais de manejo (AGOSTINHO e JULHO JR, 1996), visto que apenas *P. mesopotamicus*



é nativo da bacia do alto rio Paraná e não compartilha localidade com *C. macropomum*, pertencente a bacia amazônica (HASHIMOTO et al., 2011).

Recentemente, foram encontrados espécimes de serrasalmídeos com características morfológicas que diferem das originalmente descritas para as espécies, no rio Ivinhema (município de Angélica - MS), na bacia do alto rio Paraná (Lidiany Doreto Cavalcanti, comunicação pessoal). Contudo, análises morfológicas isoladas não são confiáveis para a identificação de hibridização, visto que os estágios juvenis são morfológicamente indistinguíveis (HASHIMOTO et al., 2011). As análises de marcadores moleculares podem aprimorar a identificação de populações hibridizantes, visto que as técnicas moleculares têm aumentado o número de *loci* que podem ser usados para a detecção de eventos de hibridização e identificação de híbridos e puros (ALLENDORF et al., 2001).

Poucos estudos referentes a *C. macropomum*, *P. mesopotamicus* e *P. brachypomus* e seu híbridos foram realizados envolvendo marcadores moleculares e quase em sua totalidade são referentes a espécimes provindos de aquicultura. Sendo assim, o presente estudo tem por objetivo identificar possíveis eventos de hibridização e introgressão genética que possam estar ocorrendo entre Serrasalmídeos na planície de inundação do alto rio Paraná.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Nove espécimes, identificados previamente como *P. mesopotamicus*, foram coletados na planície de inundação do alto rio Paraná. Seis foram capturados na Lagoa dos Patos (22°49'33.66"S, 53°33'9.9"W), um no rio Ivinhema (22°47'59.64"S, 53°32'21.3"W) e dois na Ilha Mineira (22°41'39.4"S 53°09'25.8"W). Esse material encontra-se depositado no laboratório de Ictioparasitologia do Nupélia (UEM). O acesso ao patrimônio genético dessas espécies foi autorizado pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SISGEN) (código de acesso AAD7619)

O DNA das amostras de tecido muscular dos espécimes foi extraído utilizando o kit de extração Promega Wizard® Genomics. A estimativa da concentração de DNA presente nas amostras foi feita utilizando o NanoDrop™ Lite Espectrofotômetro (Thermo Scientific).

Duas regiões do genoma foram amplificadas utilizando os marcadores *COI* (mitocondrial) e *TROP* (nuclear), com *primers* específicos para cada espécie, em diferentes regiões da sequência (HASHIMOTO et al., 2011). A reação de PCR multiplex para o marcador mitocondrial gera fragmentos de tamanhos distintos, produzindo fenótipos diagnósticos para *C. macropomum*, *P. mesopotamicus* e *P. brachypomus*, após a eletroforese. Já para o marcador nuclear *TROP*, as reações de PCR individuais permitem identificar a presença de DNA das espécies *P. brachypomus*, *P. mesopotamicus* e *C. macropomum* no gel, através da análise de tamanho dos fragmentos obtidos.

Após a amplificação, os produtos das PCRs foram analisados em gel de agarose 2,5% e o tamanho dos fragmentos obtidos foi estimado com base no marcador padrão Ladder 100pb. A comparação do tamanho dos fragmentos obtidos na PCR, para a determinação da espécie, foi feita com base em Hashimoto e colaboradores (2011).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos com o marcador mitocondrial *COI* indicam que sete espécimes analisados na planície de inundação do alto rio Paraná apresentam DNA mitocondrial de *P. brachypomus*, um espécime apresenta DNA mitocondrial de *P. mesopotamicus* e um outro espécime apresenta DNA mitocondrial de *C. macropomum* (HASHIMOTO et al., 2011). Devido ao fato do marcador *COI* ser herdado de forma uniparental, fornecendo a origem



materna (LIU e CORDES, 2004) dos espécimes, esses resultados indicam as fêmeas envolvidas nos cruzamentos que geraram os híbridos, sendo sete pirapitingas, um pacu e um tambaqui.

Já os resultados com o marcador nuclear *TROP* indicam que sete espécimes são híbridos provenientes do cruzamento de *P. brachypomus* (fragmentos de 131pb) com *P. mesopotamicus* (fragmentos de 269 pb). Um indivíduo apresentou fragmentos de DNA apenas de pirapitinga, e por fim, o último espécime analisado apresentou fragmentos de DNA de *P. mesopotamicus* e *C. macropomum* (fragmentos de 269 e 172 pb, respectivamente) (HASHIMOTO et al., 2011). Os marcadores nucleares são ótimas ferramentas para a identificação de indivíduos puros ou híbridos, visto que possuem origem biparental e possibilitam a análise de indivíduos F1, totalmente heterozigotos (ANDERSON e THOMPSON, 2002).

Na literatura, há escassez de pesquisas genéticas com enfoque em serrasalmídeos e seus híbridos em ambientes naturais, o que causa um desconhecimento dos reais impactos genético-ecológicos desses híbridos e quais os efeitos que a hibridização pode causar nos indivíduos puros no meio ambiente. Dessa forma, a continuação deste estudo poderá ajudar a responder essas questões.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse estudo, a combinação do uso de um marcador mitocondrial (*COI*) e um nuclear (*TROP*) foi eficiente para identificar a presença de híbridos entre *P. mesopotamicus* (pacu), *C. macropomum* (tambaqui) e *P. brachypomus* (pirapitinga) na planície de inundação do alto rio Paraná. Além disso, pode-se determinar que as fêmeas envolvidas nos cruzamentos que resultaram nos híbridos são, em sua grande maioria, pirapitinga, visto que apenas um espécime apresentou DNA mitocondrial de pacu e outro de tambaqui.

#### REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, A. A.; JULIO-JR, H. F. Ameaça ecológica - Peixes de outras águas. **Ciência Hoje**, v. 21, n. 124, p. 36-44, 1996.

ALLENDORF, F.W.; LEARY, R.F.; SPRUELL, P., WENBURG, J.K. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 16, n. 11, p. 613-622, 2001.

ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; BERNARDINO G.; OLIVEIRA C.; et al. Gynogenetic fish produced by backcross involving a male hybrid (female *Colossoma macropomum* x male *Piaractus mesopotamicus*) and a female *Piaractus mesopotamicus*. **CEPTA Technical Bulletin**, v. 9, p. 31-37, 1996.

ANDERSON, E. C.; THOMPSON, E. A. A Model – based method for identifying species hybrids using multilocus genetics data. *Genetics Society of America*, v. 160, p. 1217-1229, 2002.

HASHIMOTO, D. T.; MENDONÇA, F. F.; SENHORINI, J. A.; et al. Molecular diagnostic methods for identifying Serrasalmid fish (Pacu, Pirapitinga, and Tambaqui) and their hybrids in the Brazilian aquaculture industry. **Aquaculture**, v. 321, p. 49-53, 2011.



INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Estatística da pesca 2007 Brasil**: Grandes Regiões e Unidades da Federação/ Brasília: IBAMA, p.113. 2007.

LIU, Z. J.; CORDES, J. F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. **Aquaculture**, v. 238, p. 1-37. 2004.

ORSI, M. L.; AGOSTINHO, A. A. Introdução de peixes por escapes acidentais de tanques de cultivo em rios da Bacia do rio Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n. 2, p. 557-560, 1999.