



Estrutura Genética do Pirarucu (*Arapaima gigas*) na Região de Santarém, PA, Brasil

Iassudara Garcia de Almeida¹, Marcos Tucunduva de Faria², Patrícia Ianella³, Alexandre Rodrigues Caetano⁴,
Samuel Rezende Paiva⁴

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais – Universidade de Brasília. Bolsista CAPES. e-mail: susisgarcia@yahoo.com.br

²Pesquisador Embrapa Amazônia Oriental – Belém/PA. e-mail: tucun@cpatu.embrapa.br

³Pesquisadora Embrapa Sede – Brasília, DF. e-mail: patricia.ianella@embrapa.br

⁴Pesquisador Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brasil Bolsista de produtividade do CNPq. e-mail: samuel@cenargen.embrapa.br

⁴Pesquisador Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brasil Bolsista de produtividade do CNPq. e-mail: acaetano@embrapa.cenargen.br

Resumo: O pirarucu (*Arapaima gigas*) é um peixe encontrado na Bacia Amazônica e Araguaia/Tocantins que possui grande importância econômica para populações locais. Estudos para avaliação da estrutura genética das populações naturais de pirarucu são necessários a fim de prover informações para o manejo da espécie em seu habitat natural. Desta forma, este trabalho analisou quatro comunidades próximas à região de Santarém-PA (N=99) por meio do sequenciamento de 1059 pb do gene mitocondrial ATPase. Os resultados sugerem que a variabilidade genética encontrada é similar a encontrada em estudos de maior abrangência geográfica. A rede de haplótipos gerada, mostrou dois haplogrupos dentro dos quais estão distribuídos cinco haplótipos (H) referentes a este estudo distribuídos de forma semelhante à rede haplotípica disponibilizada na literatura.

Palavras-chave: recursos pesqueiros, DNA mitocondrial, variabilidade genética, conservação de recursos genéticos animais

Genetic structure of Pirarucu (*Arapaima gigas*) from North Region of Brazil (Santarem, PA)

Abstract: The pirarucu (*Arapaima gigas*) is a fish found in the Amazon and Araguaia / Tocantins which has great economic importance for local populations. Studies to evaluate the genetic structure of natural populations of Arapaima are needed in order to provide information for the management of the species in their natural habitat. Thus, this study examined four communities near the region of Santarém-PA (N = 99) by sequencing 1059 bp of the mitochondrial ATPase gene. The results suggest that the genetic variability found is similar to that found in studies of greater geographic coverage. The network of haplotypes generated haplogroups showed two of which are distributed in five haplotypes (H) in the said study is similar to distributed network haplotype available in the literature.

Keywords: fishery resources, mitochondrial DNA, genetic variability, conservation of animal genetic resources

Introdução

O pirarucu (*Arapaima gigas*) é um peixe de bastante importância econômica na região da Bacia Amazônica e Araguaia/Tocantins, pois este faz parte da dieta da população local. Por conta disso, esse peixe vem sendo sobrepesado por pescadores. Recentemente, estudos avaliando os níveis de variabilidade genética nessas regiões foram realizados (Hrbek et al., 2005, Leão, 2009) por meio da utilização de marcadores nucleares e contidos no DNA mitocondrial (mtDNA). O objetivo do presente trabalho foi testar a hipótese de que a utilização de um maior número de amostragem em apenas uma região da Bacia Amazônica pode ser indicativo de confirmação de grande parte da diversidade genética do pirarucu dentro da Bacia Amazônica.

Material e Métodos

Amostras de sangue de pirarucu foram coletadas em quatro comunidades próximas a região de Santarém – PA: Santa Maria – MA (n=47), Pixuna – PI (n=26), Mucurituba – MU (n=09) e Itapera – MI (n=17). O DNA foi extraído a partir de modificações no protocolo proposto por Miller et al. (1988). Para a amplificação, via PCR, foram utilizados quatro pares de primers para a região da ATPase (Hrbek et al., 2005 e Quenouille et al., 2004) por meio do kit Qiagen® Q Solution e a reação de sequenciamento seguiu o protocolo proposto pelo fabricante (Applied Biosystems). A edição e alinhamento foi realizada a partir dos softwares SeqScape (Applied Biosystems) e MEGA v.5.02. Para estimar os índices de diversidade intra e inter populacional foram usados os softwares DNAsp



v.5 ,Arlequin v.3.5 e Network v.4.1.1.2. As análises foram organizadas da seguinte forma: (1) sequências geradas neste trabalho analisadas de forma independente, somente com a referência, disponível no GenBank [EF513611.1] e (2) sequências geradas neste trabalho padronizada e analisadas em conjunto com as provenientes do GenBank (Hrbek et al., 2005), além da referência.

Resultados e Discussão

Foram amplificados e sequenciados 95 indivíduos, sendo que o tamanho total do fragmento foi 1.059 pares de base para a região ATPase do mtDNA. A posição deste amplicon dentro do genoma do DNA mitocondrial do pirarucu, sequenciado por Hrbek e colaboradores (2008), foi entre 7.731 a 8.790. Foram observados nove SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*), sendo um deles *singleton* que por sua vez formaram cinco haplótipos (Tabela 1). O haplótipo 13 (H13) foi mais frequente, compondo indivíduos das quatro populações de Santarém. Além disso, houve a presença de dois haplótipos diagnósticos para indivíduos de Santa Maria (MA). A diversidade nucleotídica (π) dentro das populações variou de 0,00035 \pm 0,00009 para PI a 0,00243 \pm 0,00096 para MU e a diversidade haplotípica (h) variou de 0,3250 \pm 0,1251 para MI a 0,5283 \pm 0,0673 para MA. A análise de variância molecular (AMOVA) demonstrou que 5,49% ($p < 0,06549$) de toda a diversidade observada foi em razão de diferenças entre os locais de coleta. Ao comparar as sequências do presente trabalho com as disponíveis no GenBank (Hrbek et al., 2005) foram observados dois haplogrupos principais (Figura 1) semelhantes aos identificados pelo mesmo autor, no entanto, apesar de próximos, não houve a identificação de haplótipos idênticos entre estes dois estudos. Estes resultados sugerem, para esta espécie, que a estrutura genética principal foi identificada em um mesmo ponto de coleta com uma maior amostragem do que estudo realizado em uma amostragem de oito localidades diferentes dentro da Bacia Amazônica Hrbek e colaboradores (2005). Este resultado pode implicar diferentes estratégias de conservação para espécies/ grupos de similar padrões migratórios.

Tabela 1. Relação de haplótipos (H) identificados para o gene mitocondrial ATPase nas populações de *Arapaima gigas* amostradas neste estudo e frequência desses haplótipos nas populações estudadas.

Haplótipos	Frequência dos haplótipos nas comunidades amostradas				
	MA	MI	MU	PI	Total
H13	29	13	06	20	68
H14	04	.	.	.	04
H15	11	.	.	06	17
H16	01	.	.	.	01
H17	.	03	02	.	05

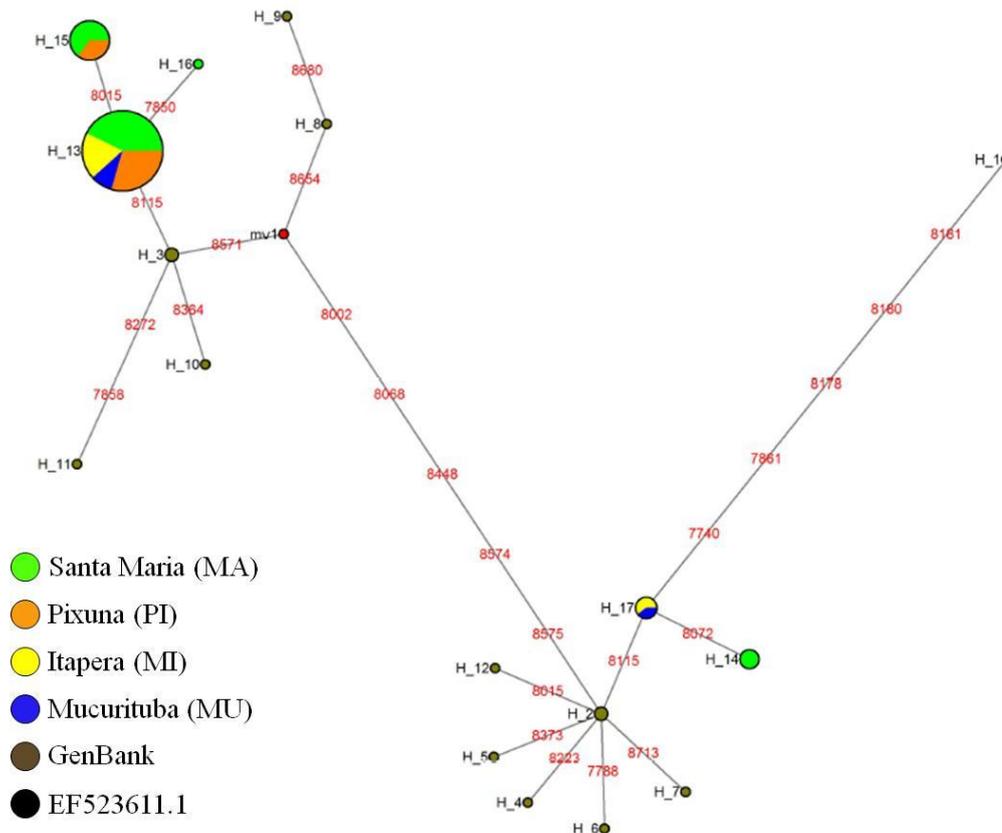


Figura 1. Rede Median-Joining obtida a partir das sequências da ATPase das populações de pirarucu amostradas em Santarém-PA e das sequências disponíveis no GenBank, sendo H1 referente a Hrbek et al., (2008) e as demais Hrbek et al., (2005). Os círculos representam os haplótipos identificados e possuem tamanho proporcional a sua frequência.

Conclusões

A estrutura populacional de pirarucu na região de Santarém mostrou uma relativa baixa variabilidade genética entre as quatro populações avaliadas. Além disso, a hipótese de que amostragens maiores em uma região limitada da Bacia Amazônica podem ser usadas como indicativo da diversidade genética existente dentro de grandes bacias hidrográficas é plausível. Desta forma, estudos mais específicos e econômicos podem vir a contribuir para um programa de manejo mais perspicaz para conservação e melhoramento desta espécie.

Literatura citada

- HRBEK, T., FARIAS I.P., CROSSA, M., et al. Population genetic analysis of *Arapaima gigas*, one of the largest freshwater fishes of the Amazon basin: implications for its conservation. **Animals Conservation**, v.8, p. 297-308, 2005.
- HRBEK, T., FARIAS, I.P. The complete mitochondrial genome of the pirarucu (*Arapaima gigas*, Arapaimidae, Osteoglossiform). **Genetics and molecular Biology**, v.31, p.293-302, 2008.
- LEÃO, A.S.A. Análise da variabilidade genética das populações de pirarucu (*Arapaima gigas*, Schinz, 1822) dos principais tributários do rio Amazonas através do uso de marcadores microsatélites. **Dissertação de mestrado** INPA/UFAM, Manaus.
- MILLER, S.A., CYKES, D.D., POLESKY, H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v.16, p.1215, 1988.
- QUENOUILLE, B., BERMINGHAM, E., PLANES, S. (2004). Molecular systematics of the damselfishes (Teleostei: Pomacentridae): Bayesian phylogenetic analyses of mitochondrial and nuclear DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 31 (1), p. 66-88.
- WRIGHT, S. Evolution and the genetics of population, variability within and among natural populations. The **University of Chicago Press**, Chicago, 1978.