

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DAS ESPÉCIES *Coryphaena hippurus* e *C. equiselis* ORIUNDAS DA PESCA COMERCIAL NO LITORAL SUL-SUDESTE DO BRASIL

Keila Taira Macedo ¹; Juliana Beltramin De Biasi ²; Alexandre Wagner Silva Hilsdorf ³

Estudante do Curso de Ciências Biológicas; e-mail: keila_tmacedo@hotmail.com¹

Laboratório de Genética de Organismos Aquáticos e Aquicultura; e-mail: jubbiasi@gmail.com²

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: wagner@umc.br³

Área de Conhecimento: Biotecnologia aplicada a recursos naturais e agronegócios.

Palavras-chave: PCR Multiplex; Dourado; Coryphanidae.

INTRODUÇÃO

A família Coryphaenidae possui um único gênero *Coriphaena*, com duas espécies, *C. hippurus* (Linnaeus, 1758) e *C. equiselis* (Linnaeus, 1758), são muito semelhantes, o que acaba por dificultar a sua identificação. É um peixe ósseo marinho, caracterizado por sua natação rápida, considerado pelágico (MENEZES; FIGUEIREDO, 1980; COLLETTE, 2000, MENEZES *et al.*, 2003).

Caracteriza-se por possuir corpo alongado que pode chegar até dois metros de comprimento, de cor dourado-metálica com manchas escuras nos flancos e verde-azulado no dorso, quando vivos. São peixes de vida curta e crescimento rápido, o dimorfismo sexual em adultos é outra característica marcante do gênero: os machos apresentam o perfil da cabeça curvo, enquanto nas fêmeas o perfil é regularmente curvo. É possível distinguir *C. hippurus* de *C. equiselis* pelo agrupamento dos dentículos do dorso da língua, apresentam agrupamento de dentículos em forma oval e trapezoidal, respectivamente (GIBBS e COLLETTE, 1959).

Popularmente conhecidas como palombeta ou dourado (do-mar), as duas espécies são importantes no recurso pesqueiro, desempenhando papel nas pescas comerciais, recreacionais e artesanais em todo o Oceano Atlântico (ERDMAN, 1956). Apresentam morfologia similar e justamente por isso *C. equiselis* é muitas vezes capturado e confundido como *C. hippurus*, (KRAUL, 1999).

Em um estudo realizado na procura de juvenis de espécies de *Coryphaena*, capturados nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, apresentou somente 5 registros de exemplares juvenis de *C. equiselis*, enquanto *C. hippurus* foram registrados 257 exemplares. (ZAVALA-CAMIN, 1986).

A correta identificação em nível de espécie facilitaria programas de manejo e conservação adequados das espécies, uma vez que, a similaridade morfológica entre as espécies do gênero *Coryphaena* prejudicam sua correta identificação. Caso haja a correta identificação das espécies, tendo em vista que em águas brasileiras possa haver dois estoques distintos, e cada uma pode responder de maneira diferente a exploração pela pesca, a identificação correta pode facilitar gestões que visem a exploração sustentável desse recurso.

OBJETIVOS

O objetivo do trabalho foi testar a técnica de PCR multiplex na região do DNA mitocondrial denominada Citocromo b, para *C. equiselis* e *C. hippurus*, utilizando primers universais descritos por Palumbi *et al.*, (1991) e Rocha-Olivares *et al.*, (1999), espécies-específicos descritos por Palumbi, *et al.*, (1991) e verificar a hipótese da ocorrência de *C. equiselis* no litoral sul-sudeste do Brasil.

METODOLOGIA

Foram utilizados organismos fixados em etanol 95% da biblioteca do Laboratório de Genética de Organismos Aquáticos e Aquicultura – LAGOAA, obtidos ao longo da costa brasileira (Santos/SP, Ilhabela/SP, Barra do Una/SP e Cabo Frio/RJ) entre julho de 2010 e maio de 2012, totalizando 224 amostras.

Para a extração de DNA foi realizada com o protocolo de fenol- clorofórmio, posteriormente as amostras foram analisadas quanto a concentração e integridade de DNA e fotografados sob luz UV para confirmação da integridade de DNA.

Para amplificação dos fragmentos mitocondriais que correspondem ao gene que codifica a região citocromo b foram utilizados iniciadores universais para ambas as espécies (Gludg-L - 5' TGA CTT GAA RAA CCA YCG TTG 3') descrito por Palumbi *et al.*,(1991) e (revThrRV - 5' TCC GAC ATC TGG ATT ACA A 3') descrito por Rocha-Olivares *et al.*,(1999) e dois iniciadores espécies-específicos para *C. equiselis* (CequiselisR- 5' TCT TTA TAA GAG AAG TAT GGG TGG AAG 3') e *C. hippurus* (ChippurusR- 5' GTG GAG GAD TAA GAG GTG CAC 3) descritos por Palumbi, *et al.*, (1991).

Para amplificação da região do DNA mitocondrial citocromo b, as condições foram estabelecidas para reações de PCR contendo 2,0 µl de DNA template, 0,5µl de cada primer (forward, reverse e espécie-específicos), 2,5 µl de MgCl₂, 2,5 µl de Buffer (NH₄)₂SO₄, 1,0µl de dntp, 0,5 de enzima Taq(U) além de 15,0µl de água esterelizada, atingindo um produto final de 25,0 µl. Um termociclador foi utilizado (PTC-220 (MJ Reserch Inc. Waltham. MA), programado para desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos de amplificação, constituído de 15 segundos à 95°C, 30 segundos à 66°C e 60 segundos à 72°C, e 5 minutos à 72°C para extensão final.

Todos produtos de PCR foram observados em gel de agarose à 2% em TAE e banhados em brometo de Etdio, gerando amplicons separados de acordo com o tamanho e como marcado será utilizado o 100pb.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

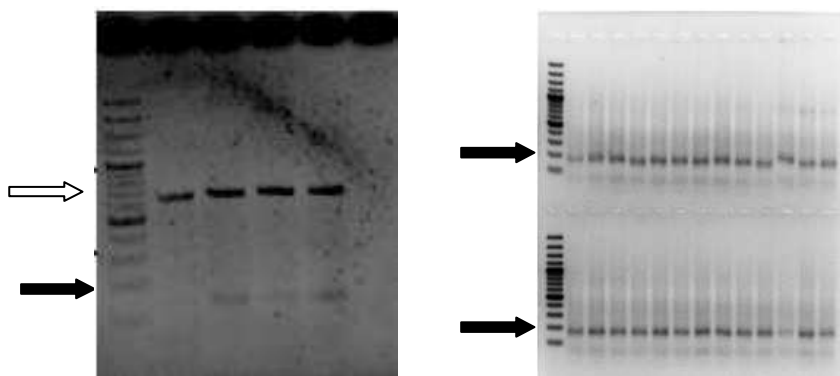
As 224 amostras foram identificadas como *C. hippurus* (figura 1), portanto neste trabalho não há nenhuma amostra identificada como *C. equiselis*. Apesar do dourado possuir alto potencial pesqueiro, Oxenford (1999) afirma que o pequeno número de estudos biológicos sobre o gênero *Coryphaena* e o correto monitoramento em nível de espécie de desembarques pesqueiros acabam por dificultar uma correta identificação estatística pesqueira, sendo que existe a possibilidade das espécies em estudo responderem de maneira diferente ao esforço exercido pela pesca

A inexistência de *C. equiselis* neste estudo, pode estar associada ao baixo número amostral ou a pequena área amostrada, uma vez que Zavala e Camin (1986) comprovaram a existência de *C. equiselis* fundamentada em cinco exemplares registrados na procura de juvenis de espécies de *Coryphaena*, capturados nas regiões Sudeste do Brasil.

Pimenta, *et al.*, (2011) analisou a frota de pequeno porte em Cabo Frio(RJ) de 2003 a 2010, onde o gênero *Coryphaena* representou 58,8 % do total capturado naquele período, indicando que o gênero é tratado como espécie alvo por este tipo de frota.

Figura 1- Eletroforese em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo com os produtos de amplificação. A seta branca indica 700pb (primers universais) e a seta preta indica aproximadamente 200pb (*C. hippurus*).

Figuras A e B- Eletroforese horizontal: Canaleta 1: marcador GeneRuler 100bp DNA Ladder.



CONCLUSÕES

A técnica de PCR Multiplex utilizada mostrou-se eficaz para a identificação da espécie, todas as amostras analisadas são *C. hippurus*, sendo assim não houve a ocorrência de *C. equiselis*, porém o número amostral pode ser considerado baixo para afirmar que a espécie não ocorra na região Sul e Sudeste do Brasil.

Estudos indicam a baixa ocorrência de *C. equiselis* quando comparada a *C. hippurus*, porém com o crescente aumento da pesca do dourado no litoral brasileiro faz com que novos estudos são necessários para a correta identificação e conservação das espécies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COLLETTE, B. B. Family Coryphaenidae. FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes. The Living Marine Resources of The Western Central Pacific. Carpenter, K.E.; Niem, V.H. Rome, **FAO**, v. 4, p. 2656-2658, 2000.

ERDMAN , D. S. Recent fish records from Puerto Rico. **Bulletin of Marine Science**, p. 6:315-348, 1956.

GIBBS, R. H.; COLLETTE, B. B. On the indentification, distribution and biology of the dolphins, *Corypahena hippurus* and *C. equiselis*. **Bulletin of Marine Science or the Gulf and Caribbean**, v. 9, n. 2, p. 117-152, 1959.

KRAUL, S. Seasonal abundance of the dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, in Hawaii and the tropical Pacific Ocean. **Scientia Marina**, v. 63, n. 3-4,p. 261-266. 1999.

MENEZES N. A.; FIGUEIREDO, J. L. **Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil. IV. Teleostei (3)**, Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 96, 1980.

MENEZES, N. A.; BUCKUP, P. A.; FIGUEIREDO, L.; MOURA, R. L. **Catálogo das espécies de peixes marinhos do Brasil**. São Paulo. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, p. 160, 2003.

OXENFORD, H. A. Biology of the dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in the western central Atlantic: a review. **Scientia Marina**, v. 63, n. 3-4, p. 277-301, 1999.

PALUMBI, S.; MARTIN, A.; ROMANO, S.; MCMILLAN, W.O.; STICE, L.; GRABOWSKI, G. The Simple fool's guide to PCR. **Spec Publ University of Hawaii, Department of Zoology e Kewalo Marine Laboratory**, Honolulu, HI, v.20, 1991.

PIMENTA, E.G.; VIDAL, M.; LIMA, G.; BERBERT, A.; AMORIM, A.F. Fishery analysis of yellowfin caught by Cabo Frio, Rio de Janeiro – Brazil, small-size fleet (2003-2010). **Collective Volume of Scientific Papers, ICCAT**, Madri. 2011.

ZAVALA-CAMIN, L.A. Conteúdo estomacal e distribuição do dourado *Coryphaena hippurus* e ocorrência de *C. equiselis* no Brasil(25 S-33 S). **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 5-14, 1986.