

AVALIAÇÃO POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DO CAMARÃO VERMELHO *Pleoticus muelleri* (BATE, 1888)

Fernanda de Sousa Almeida¹, Carolina Ofir de Moraes², Fabíola Cristina Ribeiro de Faria³

Estudante do curso Ciências Biológicas; e-mail: fernanda.almeida46@etec.sp.gov.br¹

Mestre em Biotecnologia; e-mail: carolina.ofir@gmail.com²

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

Área do conhecimento: Biotecnologia.

Palavras-chave: Diversidade genética; Estrutura populacional; *Pleoticus*; Camarão Santana.

INTRODUÇÃO

Camarões do gênero *Pleoticus* (BATE, 1888) são organismos de hábitos demersais e podem ser encontrados em fundos lamosos e areno-lamosos, entre 5 e 730 metros de profundidade e temperatura variando entre 6°C e 23°C. A espécie *Pleoticus muelleri*, também conhecida como “camarão Santana” ou “camarão vermelho”, atinge no máximo 190 mm de comprimento (HOLTHUIS, 1980) ocorrendo ao longo do Atlântico Ocidental – do Espírito Santo, no Brasil, até Santa Cruz, na Argentina. Está presente no mercado de frutos do mar da culinária mundial, principalmente nos países da América do Sul, o que reflete em uma importância econômica (FAO, 2009). A atividade reprodutiva do camarão vermelho ocorre em diferentes núcleos ao longo de sua distribuição, ou seja, as populações de diferentes localidades se reproduzem em períodos distintos, o que pode ocasionar uma barreira ao fluxo gênico e isolamento reprodutivo (FERNÁNDEZ *et al.*, 2011). Há, na literatura, dados morfométricos e ecológicos que apontam a existência de, pelo menos, dois estoques de *P. muelleri* no Atlântico Sul Ocidental (CASTILHO *et al.*, 2008a, b). E também, por análises do gene mitocondrial 16S, foram encontrados dois padrões de restrição em diferentes regiões da Argentina que sugerem a existência de dois estoques geneticamente distintos de *P. muelleri* (PASCOAL *et al.*, 2008). No entanto, os dados obtidos até o presente não permitem maiores conclusões, o que acaba gerando dificuldades para a implementação de um manejo sustentável para a espécie.

OBJETIVOS

Avaliar a existência de diferentes estoques de *P. muelleri* ao longo de sua distribuição. Verificando a diversidade genética intra e interpopulacional, avaliando e comparando a estruturação genética das diferentes populações de *P. muelleri* ao longo de sua distribuição por meio de marcadores moleculares mitocondriais (COI e 16S) e nuclear (28S).

METODOLOGIA

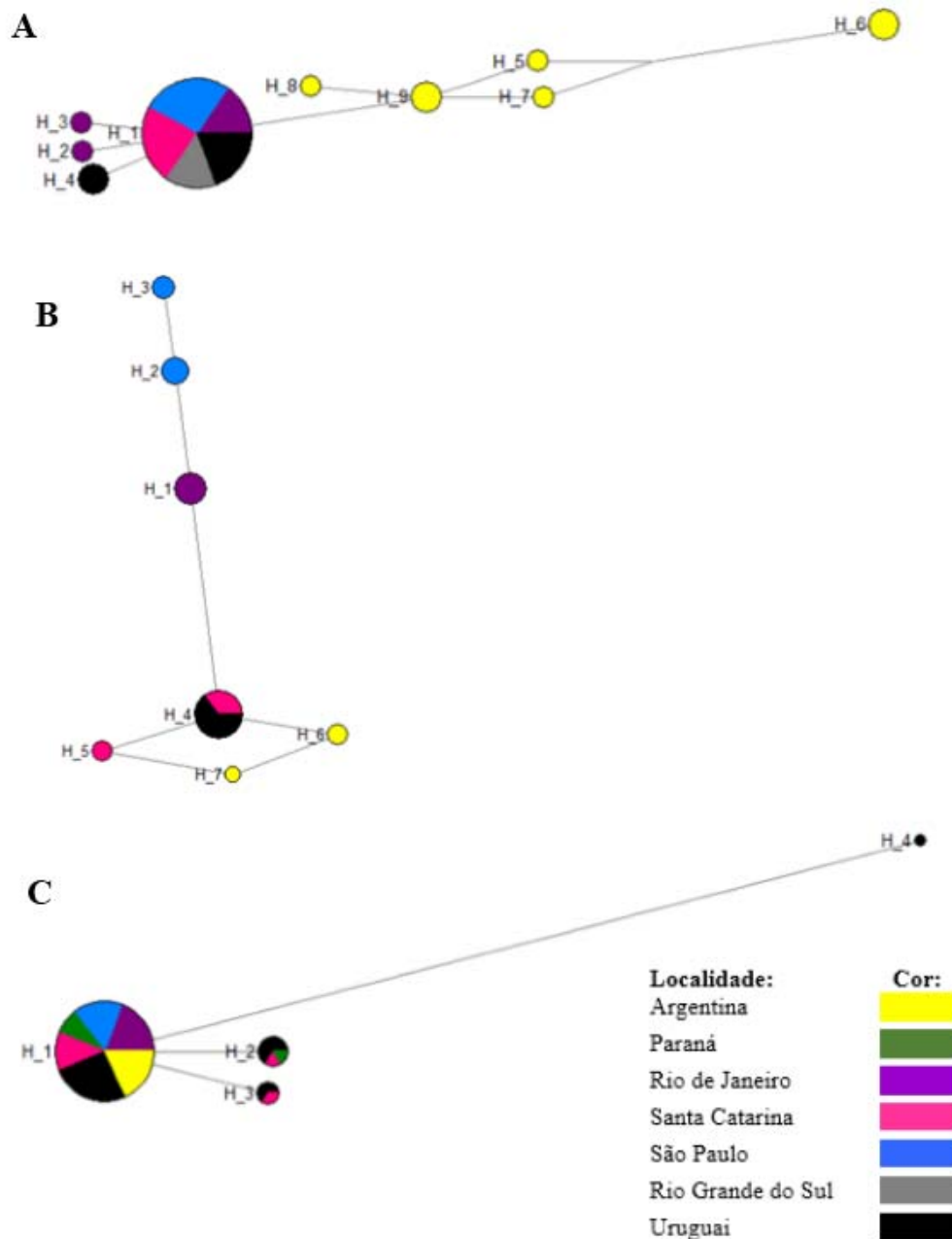
As sequências utilizadas no presente estudo foram obtidas a partir de amostras de tecido muscular retirada de representantes de *P. muelleri* depositados na coleção carcinológica do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP) e do *GenBank*. As localidades estudadas foram Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Uruguai e Argentina. O gDNA foi extraído utilizando-se kit comercial

Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) seguindo o protocolo do fabricante. Os fragmentos de interesse foram amplificados via reação de PCR, utilizando-se Kit Comercial *GoTaq® G2 Green Master Mix* (Promega), e iniciadores universais para artrópodes - 16S (PALUMBI *et al.*, 1991), COI (FOLMER *et al.*, 1994) e 28S (CHOUDHURY e WERREN, 2006) e verificados em gel de agarose 2%. Os produtos de PCR contendo os fragmentos de interesse foram enviados para DNA da *Humanizing Genomics Macrogen*, na Coreia do Sul, para purificação e sequenciamento. As sequências foram comparadas às sequências depositadas no banco de dados NCBI (*GenBank*) e editadas e alinhadas no programa *BioEdit Sequence Alignment Editor* (HALL, 2009). A identificação e caracterização dos haplótipos mitocondriais e nucleares, os índices de diversidade genética incluindo o número de haplótipos (NH), a diversidade de haplótipos (Hd) e a diversidade de nucleotídeos (π), utilizando o modelo de substituição Tamura-Nei (TAMURA e NEI, 1993) foram calculados no ARLEQUIN 3.1. As redes de haplótipos foram construídas utilizando o método *Median-Joining NetWork* (BANDELT *et al.*, 1999) no programa NETWORK 4.6.1.3 (*Copyright 2004-2015 Fluxus Technology Ltda*). Para a conversão de arquivos de entradas foi utilizado o DnaSP 5.10.01 (ROZAS *et al.*, 2010). A estruturação populacional foi analisada através do ARLEQUIN 3.1, utilizando a medida de divergência genética F_{ST} e a diferenciação genética foi medida através da análise de pareamento para F_{ST} .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidas 112 sequências das quais 90 foram apresentaram boa qualidade com picos bem definidos e com distância constante entre eles, enquanto que 22 foram descartadas pela má qualidade, apresentando picos mal definidos e sobreposições. A diversidade haplotípica (Hd) obtida para todos os fragmentos analisados foi alta, quando comparada a outros trabalhos, variando de 0.7874 para o fragmento 16 S e 0,253 para o 28S, enquanto que a diversidade nucleotídica (π) foi baixa (< 5%) variando de 0,001847 para o fragmento 16S e 0,000468 para o 28S. A população da Argentina apresentou a maior diversidade haplotípica (Hd = 0.9048; Hd = 0.6000) para os fragmentos COI e 16S, respectivamente. Para o fragmento 28S a maior diversidade haplotípica foi obtida para a população do Uruguai (Hd = 0.4980). Um alto valor de diversidade haplotípica e associado a um baixo valor de diversidade nucleotídica indica um acúmulo de mutações após um Efeito Gargalo (*Bottleneck*). Neste evento ocorre uma redução drástica no tamanho da população em pelo menos uma geração e esta volta a crescer posteriormente, no entanto, mais com uma variação genética reduzida (DE CARLI, 2012). Os índices de F_{ST} obtidos para o COI e 16S apontam para uma estruturação populacional. Concordando com os resultados de F_{ST} obtidos, as árvores haplotípicas (Figura 1) indicam a existência de pelo menos três estoques diferentes sendo eles: Rio de Janeiro + São Paulo, Santa Catarina + Rio Grande do Sul + Uruguai e Argentina, o que corrobora com o que foi indicado por Schumann (Comunicação pessoal) a partir de análises morfométricas. Os resultados encontrados no projeto estão de acordo com o que foi observado por Castilho *et al.*, (2008 a, b) e Pascoal *et al.* (2008), pois há indícios da existência de mais de um estoque de *P. muelleri* ao longo de sua distribuição. Sabe-se que a cada ano a atividade de pesca aumenta, principalmente na região da Argentina, e o fato de existir um estoque geneticamente distinto para esta localidade pode ser um fator preocupante, pois acaba levando a constante diminuição desta população, o que deve ser revertido com políticas de manejo para a espécie.

Figura 1 - Rede de haplótipos construída a partir do fragmento mitocondrial COI (A), 16S (B) e 28S (C). O tamanho dos círculos é proporcional a frequência de haplótipos.



CONCLUSÕES

Utilizando os marcadores moleculares mitocondriais, COI e 16S, e o marcador nuclear 28S, foi possível observar a alta diversidade genética intra e interpopulacional em diferentes populações do Camarão Vermelho (*Pleoticus muelleri*) ao longo de sua distribuição analisada no presente trabalho, que compreende desde o Rio de Janeiro (Brasil) até Punta Clara (Argentina). Deste modo, foi constatada a existência de diferentes estoques de *Pleoticus muelleri*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTILHO, A. L.; COSTA, R. C.; FRANZOZO, A.; Negreiros-Franzozo, M. L.. Reproduction and recruitment of the South American red shrimp, *Pleoticus muelleri*

(Crustacea: Solenoceridae), from the southeastern coast of Brazil. **Marine Biology Research**, v. 4, 2008a.

CASTILHO, A. L.; PIE, M. R.; FRANSOZO, A.; PINHEIRO, A. P.; COSTA, R. C.. The relationship between environmental variation and species abundance in shrimp community (Crustacea: Decapoda: Penaeoidea) in South-eastern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 2008b.

CHOUDHURY, R.; WERREN, J. H.. **Unpublished primers**. (<http://troi.cc.rochester.edu/wolb/FIBR/downloads.html#protocols>). University of Rochester. Document last modified, 2006.

DE CARLI, Pedro. **Pesquería del langostino (*Pleoticus muelleri*, BATE 1888) en Patagonia Argentina: Estructura genética poblacional y manejo sustentable**. Punta Arenas, 2012. 105f. Tese (Magistério em Ciências), Universidade Magallanes.

FAO (Fishers and Agriculture Department). The State of World Fisheries and Aquaculture. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2009.

FERNÁNDEZ, M.; HERNÁNDEZ, D.; ROUX, A. Analysis of the relationship between relative abundance of mature, impregnated females of *Pleoticus muelleri* (Bate, 1888) (Crustacea, Decapoda) and environmental variables through statistical models. **Latin American journal of aquatic research**, v. 39, n. 1, 2011.

FOLMER, O.; BLACK, M.; HOEH, W.; LUTZ, R.; VRIJENHOEK, R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, 1994, 3:294-299.

HOLTHUIS, L. B. Shrimps and prawns of the world: An annotated catalogue of species of interest to fisheries. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, v. 1, n. 125, 1980.

PALUMBI, S. R.; MARTÍN, A.P.; ROMANO, S.L.; McMILLAN, W.O.; STICE, L.; GRABOWSKI, G.. The Simple Fool's Guide to PCR. **Dept. of Zoology, University of Hawaii**, 1991.

PASCOAL, A.; VELÁZQUEZ, J. B.; CEPEDA, A.; GALLARDO, J. M.; MATA, P. C.. A polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method based on the analysis of a 16S rRNA/tRNA^{Val} mitochondrial region for species identification of commercial penaeid shrimps (*Crustacea:Decapoda: Penaeoidea*) of food interest. **Eletrophoresis**, v. 29, n. 15, 2008.

AGRADECIMENTOS

AGRADEÇO A UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES E A MINHA ORIENTADORA PROFESSORA FABIÓLA CRISTINA PELA CONFIANÇA E A OPORTUNIDADE EM REALIZAR ESTE ESTUDO. AGRADEÇO A DEUS PELO DOM DA VIDA E POR TODA A FORÇA AO LONGO DESTE ANO. TAMBÉM GOSTARIA DE AGRADECER AOS MEUS FAMILIARES PELA AJUDA E COMPREENSÃO DURANTE A EXECUÇÃO DESTE PROJETO. E,

POR FIM, AGRADEÇO AOS MEUS AMIGOS QUE ME ACOMPANHARAM E ME APOIARAM NOS MOMENTOS MAIS DIFÍCEIS, DE UM MODO ESPECIAL: MARIA CATARINA, JUSSARA VAINI, CAROLINA OFIR, DÉBORA YUMI E EDGAR SOUZA.