

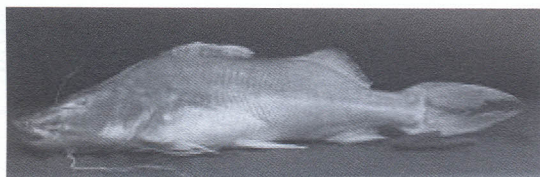
GEN-05

VIABILIDADE DE MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA A PIRAMUTABA (*Brachyplatystoma vaillantii*) DA AMAZÔNIA.

Guimarães, G.M.¹, Alves-Gomes, J. A.²; Formiga-Aquino K.³

¹Bolsista/PIBIC/CNPq;²Orientador Pesquisador INPA/CPBA;³Co-orientadora Pesquisadora INPA/CPBA;

A piramutaba (Figura 01), pertence à Ordem Siluriformes, família Pimelodidae, gênero *Brachyplatystoma*. Espécie de grande porte que possui o corpo cinza na região dorsal e claro na região ventral, nadadeira adiposa mais alongada, e tamanho máximo conhecido de 105cm (Barthem & Goulding, 1997). A hipótese sugerida sobre o ciclo de vida postula que a piramutaba é capaz de percorrer, em média, 5000km para realizar sua migração que vai desde as cabeceiras dos afluentes do rio Solimões/Amazonas, onde se reproduzem e nascem, até o Estuário Amazônico no Pará



(Barthem & Goulding, 1997). O estuário amazônico é a principal área de pesca da piramutaba tanto para a pesca artesanal quanto para a industrial; a última, no

Figura 01 – piramutaba – *Brachyplatystoma vaillantii* (foto cedida por Batista & Formiga, 2004). entanto é a mais importante desde a década de 60, ano em que o governo federal passou a estimular através de incentivos fiscais, a ampliação do aparelhamento da atividade pesqueira no norte do Brasil (Brito et al., 1975). A descoberta do DNA como fonte de informação genética representou um grande avanço para o conhecimento da biologia no nível molecular (Cooper, 2001). Experimentos no início dos anos 80, mostraram que o genoma dos eucariotos são densamente ocupados por diferentes seqüências repetidas, umas mais complexas e outras mais simples. A seqüência simples é denominada de Microssatélites ou SSR (seqüências simples repetidas). Os microssatélites têm sido extremamente úteis em estudos de mapeamento gênico, relações de parentescos (Chakraborty e Kimmel, 1999), variação intraespecífica (Moritz e Hillis, 1996), hibridação, historia populacional e filogeografia. Atualmente, a utilização dos microssatélites tem sido bastante difundida na análise de polimorfismos (Matioli e Passos – Bueno, 2001). Diante deste cenário, este estudo propõe testar e validar marcadores moleculares microssatélites para a piramutaba (*B. vaillantii*) na Amazônia, a partir de locos desenvolvidos para dourada (*B. rousseauxii*), gerando subsídios para caracterização de estoques pesqueiros.

A extração de DNA foi realizada utilizando o método de CTAB (Doyle & Doyle, 1990).

Foram utilizados 18 marcadores microssatélites desenvolvidos para a dourada (*B. rousseauxii*), os quais foram testados via Reação da Polimerase em Cadeia (PCR), em 10 espécimes de piramutaba (Tampão 1X; DNTP 0,16mM; Primer F e Primer R 0,14uM; Taq polimerase 0,05U/uL). Testes de gradientes de temperatura de anelamento foram realizados para encontrar uma melhor temperatura, e nestes testes também foram utilizados clones de bactérias contendo insertos de DNA da dourada como controle positivo para se obter um uma comparação e certificação de que o fragmento correto estava sendo amplificado. Os marcadores utilizados e que apresentaram resultados satisfatório para a piramutaba (*B. vaillantii*), encontram-se na Tabela 01, e também sua temperatura de anelamento. Até o momento foi possível identificar através de genotipagem, polimorfismo para o primers 4 e 7. Os demais, estão sendo analisados. Estes resultados são de grande importância para obter dados para o estudo populacional, fornecendo informações relevantes para o plano de conservação e manejo da piramutaba.

Tabela 01. Marcadores de microssatélites desenvolvidos para a dourada com ampliações positivas para a piramutaba com respectivas temperaturas de anelamento.

Primers	Nome	Motivo de Repetição	Tamanho do fragmento	Temperatura de anelamento que amplificaram para a piramutaba
P1	BR1CTE1_F BR1CTE1_R	(GT)16	254	58°
P3	BR1C08_F BR1C08_R	(CT)5 gt (CT)10	235	63°
P4	BR1C08_F BR1C08_R	(GA)10 ca (GA)5	238	49°
P6	BR1G07_F BR1G07_R	(GT)5 gg (GT)5	190	61°
P7	BR1H08_F BR1H08_R	(TCCA)5 tcta (TCCA)3	126	58°
P8	BR3B11_F BR3B11_R	(GT)8 gc (GT)4	191	53°
P11	BR3D06_F BR3D06_R	(CA)19	139	59°
P13	BR3G07_F BR3G07_R	(CA)9 (GA)11	351	62°

Barthem, R. B.; Goulding M, 1997. *Os bagres balizadores: Ecologia, Migração e Conservação de peixes amazônicos*. Brasília: Sociedade Civil Mamirauá, CNPq.

Britto. R.C.C. Santos, D.A.B. Torres, M.A.S.F., Braga, M.S. 2000. *A pesca empresarial do Pará*. Belém: Idesp

Chakraborty, R. E Mimmel, M., 1999. *Statistics of microssatélites loci: estimation of mutation rate and patterns of population expansion* "IN" *Microssatélites: Evolution and applications* (eds Db. Goldstein e C. Schlotterer) pp 139-150. Oxford University Press, New York.

Cooper, G. M. 2001. *A célula: uma abordagem molecular*/ trad. Itabajara da Silva Vaz Jr. et al.-2ed. Porto Alegre: Artmed Editora. 712p.

Doyle, J. J.; Doyle, J. L. 1990. *Isolation of plants DNA from fresh tissue Focus.13:13* 15p.

Matioli, S. R.; Passos-Bueno, M. R. S. 2001. *Métodos baseados em PCR para análise de polimorfismo de ácidos nucléicos; reconstrução filogenética: métodos probabilísticos*. In: Matioli, S. R. *Biologia molecular e evolução*. Holos Editora, Ribeirão Preto, 202p.