

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO MITOCONDRIAL CITOCROMO OXIDASE I DA ESPÉCIE *ODONTESTHES HUMENSIS*

Vanessa SEIDEL*¹, Lusma de MELLO¹, Gabrielle WAISHAUP¹, Alexandra Möller ALVES¹, Rafael Aldrighi TAVARES²

*autor para correspondência: vanessaseidel0@gmail.com

¹Universidade Federal de Santa Maria, Palmeira das Missões, RS, Brasil

²Professor do Departamento de Zootecnia e Ciências biológicas- UFSM, campus de Palmeira das Missões

Abstract: The aim of this study was try to characterize the Mitochondrial Cytochrome oxidase I gene of *Odontesthes humensis*. Assembly was carried out by reference through the Bowtie2 program, using as reference the mitochondrial cytochrome oxidase I gene of the *Odontesthes Bonariensis* species. The totals of 53 reads aligned to 652 base pairs of the reference gene, revealing 7 sites of differentiation between species. From the new generation sequencing the mitochondrial cytochrome oxidase I gene of the species *Odontesthes humensis* was characterized, being of great relevance to the base of future works of conservation and genetic improvement.

Palavras-chave: Melhoramento, peixe-rei, sequenciamento, variabilidade

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Introdução

O peixe-rei apresenta pequeno porte, podendo chegar aproximadamente 30 centímetros, sua alimentação baseasse em microcrustáceos, moluscos, plâncton, algas e insetos pequenos. Distribuem-se basicamente em regiões subtropicais e temperadas, em ambientes de água doce, estuário e mar. No Brasil o peixe-rei encontra-se principalmente nas lagoas Mangueira e Mirim, observando-se grande variedade da espécie, sendo como as mais encontradas *O. bonariensis* e *O. humensis*.

O cultivo da espécie de peixe-rei não é desenvolvido suficientemente para alcançar níveis comerciais, sendo sua comercialização através da coleta de populações naturais. O ponto inicial para que exista maior sucesso no cultivo da espécie é a consolidação de um programa de melhoramento genético. Para a implantação deste, deve-se ter como base uma grande variabilidade genética e a definição da espécie a ser produzida, alcançando-se assim as melhorias desejadas para gerações sucessivas (TAVARES et al., 2011).

É de grande relevância entender e observar a caracterização de uma região mitocondrial, onde o sequenciamento nos mostra a grande variabilidade genética existente entre as espécies, podendo ser observadas evoluções cada vez mais detalhadas. Baseados em DNA mitocondrial os marcadores moleculares possuem herança materna, contrariando os nucleares com herança biparental. A herança materna, por sua vez, esta conservada em muitos dos genes localizados no genoma mitocondrial, sendo relevante ao se considerar questões de filogenia e importância taxonômica. Um dos marcadores mitocondriais constantemente utilizado é Citocromo Oxidase I (COI ou Cox1), proposto para a identificação molecular em nível de espécie (HEBERT et al., 2003).

O objetivo do trabalho visa a caracterização do gene mitocondrial COI da espécie *Odontesthes humensis*, revelando a variabilidade existente no indivíduo, e consequentemente, na espécie.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Material e Métodos

A biblioteca de DNA, da espécie *Odontesthes bonariensis*, foi obtida a partir de um sequenciador GAIx (Illumina, USA) no modo *paired-end*, para a obtenção de sequências com 150 pares de bases (pb).

Utilizou-se o programa FastQC para analisar a qualidade de cada *read*. Posteriormente ocorreu a remoção dos adaptadores e a remoção de *read* de baixa qualidade com o programa Trimmomatic. As sequências das extremidades dos *reads* foram removidas quando as médias de qualidade fossem inferiores a *Phred* 15 em intervalos de quatro bases. Também foram removidos os *reads* com comprimentos menores que 32pb. Para a verificação da eficiência da filtragem foi utilizado novamente o programa FastQC.

O programa Bowtie2 realizou a montagem por referência, sendo utilizado como referência o gene mitocondrial COI da espécie *Odontesthes bonariensis* (GenBank: 111793.1) com comprimento de 652 pb.

Gerou-se na montagem o arquivo no formato SAM, este por sua vez, foi transformado em formato BAM com o programa Samtools e posteriormente as *reads* montadas contra a referência foram visualizadas através do programa Tablet.

Resultados e Discussão

O sequenciamento do DNA resultou em aproximadamente 1.265.204 *reads*, sendo estes de 35 a 151pb, subdivididos em dois arquivos *paired-end*. Posteriormente realizou-se a filtragem através do programa Trimmomatic, as bases restantes apresentam-se de boa qualidade, com valores de *Phred* acima de 24.

Os totais de 53 *reads* alinharam a 652 pares de base do gene de referência COI de *O. bonariensis* (figura 1), revelando 7 sítios de diferenciação entre as espécies (tabela 1). Segundo Bolzan (2011), o estudo dessa região do mtDNA, também denominado de DNA barcoding, utiliza sequências parciais de DNA do gene COI possibilitando identificar e designar espécimes desconhecidos e espécies

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



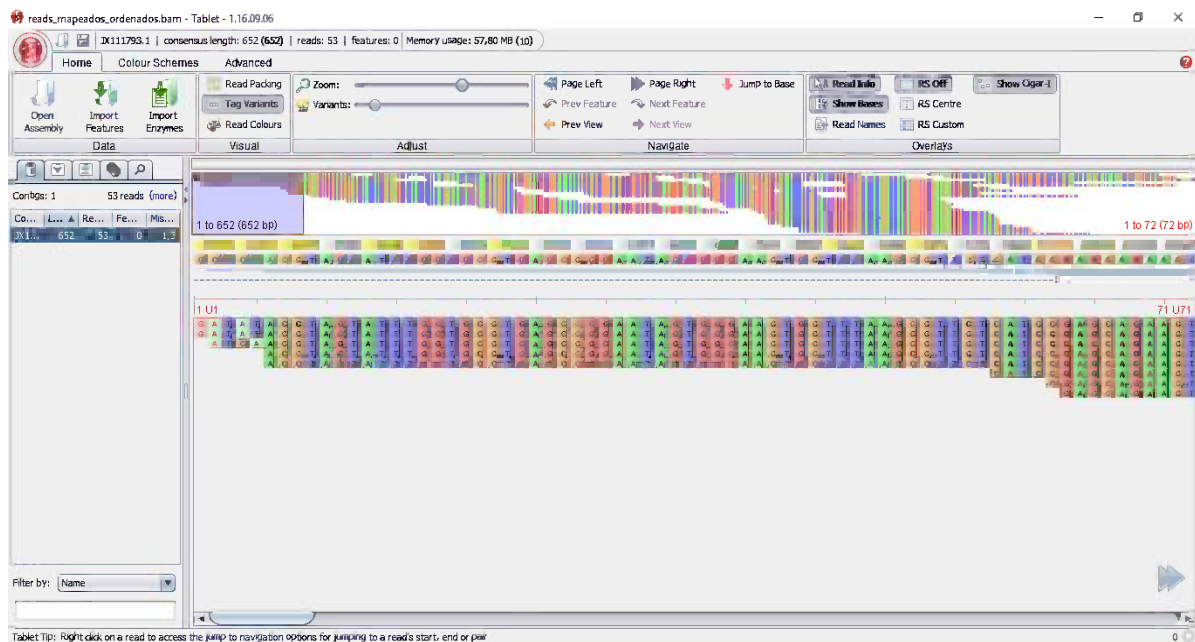
Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

previamente descritas, e, facilitar a descoberta e o diagnóstico de novas espécies, auxiliando a desvendar a diversidade.

Figura 1: Reads mapeados da espécie *O. bonariensis* contra o gene COI da espécie *O. humensis*.



Fonte: Programa Tablet

Tabela 1. Alterações de nucleotídeos do gene COI das espécies *O. humensis* e *O. bonariensis*.

Posições (pb)	<i>O. humensis</i>	<i>O. bonariensis</i>
1	C	G
2	C	A
223	T	C
280	A	G
421	G	A
496	T	C

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

508	A	G
-----	---	---

Fonte: Programa Tablet

pb – pares de base; A – adenina; T – timina; C – citosina; G – guanina.

Conclusão

A partir do sequenciamento de nova geração identificou-se o gene mitocondrial citocromo oxidase I da espécie *Odontesthes humensis* a partir do gene mitocondrial citocromo oxidase I da espécie *Odontesthes bonariensis*. A caracterização de regiões mitocondriais, são de grande relevância, pois servem de base para futuros trabalhos de conservação e melhoramento genético.

Referências

Bolzan, A. R. 2011. DNA *barcode* de *Drosophilídeos micófagos* pertencentes ao gênero *Hirtodrosophila*, *Mycodrosophila* e *Zigothrica*. Dissertação (M.S.c.) Universidade Federal da Santa Maria. Santa Maria, Brasil.

Herbert, P. D. N.; Ratnasingham, S.; Deward, J. R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society. Biological Sciences (Series B)* 270:96–99.

IBAMA- Estituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renovados. 2008. Estatística da pesca 2006 Brasil: grandes regiões e unidades da federação. IBAMA, Brasília.

Tavares, R. A.; Nunes, M. D.; Almeida, D. B.; Silva, J. C.; Vaz, B. S.; Moreira, C. G. A.; Dionello, N. J. L.; Piedras, S. R. N.; Moreira, H. L. M. 2011. Utilization of microsatellite markers to form families of “pejerrey” *Odontesthes bonariensis* in a genetic breeding program. *Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science* 63:1263-1267