

## UTILIZAÇÃO DOS MARCADORES MOLECULARES rDNA 5S NA DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Hypostomus* sp. DA BACIA DO RIO IVAÍ

**Mariana Augusto Monteiro<sup>1</sup>; Lilian Camargo Ottoni<sup>1</sup>; Alessandra Valéria de Oliveira<sup>2</sup>**

**RESUMO:** Os peixes constituem quase metade do número total de vertebrados. No entanto, um percentual de 30 a 40% de toda a diversidade existente na ictiofauna Neotropical, até o momento, não foi reconhecida. Dentro da família Loricariidae, o gênero *Hypostomus* possui cerca de 120 espécies e só na bacia do rio Paraná, incluindo o rio Ivaí, há mais de 16 espécies sem um consenso em relação a sua taxonomia. Estes peixes apresentam uma ampla variação morfológica e de cor, o que dificulta a identificação de espécies, levando a necessidade de mais estudos para uma identificação específica. As técnicas baseadas em marcadores moleculares tem sido utilizadas na identificação da diversidade das espécies de peixes neotropicais, entre elas se destacando a técnica do rDNA 5S, que consiste de seqüências que codificam o rRNA 5S e são separadas umas das outras por espaçadores não transcritos. O uso das repetições do rDNA 5S permite isolar os espaçadores não transcritos das mais diferentes espécies sem um conhecimento prévio do genoma da espécie em questão. Desta forma este trabalho objetiva obter marcadores moleculares úteis para a diferenciação genética de populações de *Hypostomus* sp. na bacia do rio Ivaí, utilizando a técnica rDNA 5S, o que poderá contribuir para uma melhor caracterização taxonômica do grupo na região. Serão utilizados para este trabalho espécimes de *Hypostomus* já coletados no ano de 2007 e 2008, durante o desenvolvimento de outros projetos. De cada espécime coletado serão retiradas amostras de tecido muscular, que já estão fixadas em álcool etílico comercial e estocadas em freezer -20 °C. A metodologia utilizada para a extração de DNA total será baseada em fenol/clorofórmio. Amostras de tecido muscular retiradas de cada indivíduo serão maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em tampão PS, tampão TH e proteinase K por 90 minutos em banho-maria a 37 °C. Posteriormente, o DNA será purificado por extração com fenol/clorofórmio e clorofórmio, respectivamente, e precipitado com solução salina e etanol absoluto gelado. O *pellet* será ressuspenso em tampão TE com RNase. Será feita quantificação através de eletroforese em gel de agarose 1,00%, por meio de comparação com DNA de fago  $\lambda$  de concentração conhecida. Cada um dos indivíduos terá seu DNA submetido à amplificação em um termociclador, com a utilização dos *primers* 5S1 e 5S2. Além destes também serão utilizados tampão Tris-KCl, MgCl<sub>2</sub>, dNTP, a enzima Taq-polimerase e água. Após o DNA ser amplificado, será utilizado para separação de seus fragmentos o gel de agarose 1,4 %, corado com brometo de etídio. A visualização será feita em um transluminador sob luz UV. Os resultados esperados visam verificar a presença de polimorfismo genético entre diferentes populações de *Hypostomus* sp. na bacia do rio Ivaí. Dessa forma a identificação de diferentes populações de *Hypostomus* sp. nesta bacia, poderá contribuir com os estudos taxonômicos, o que poderá auxiliar em futuros estudos de autoecologia e o manejo do grupo na bacia do rio Ivaí, que é uma das bacias mais industrializadas do estado do Paraná e vem sofrendo com diversas ações antrópicas.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Hypostomus*; Marcadores moleculares; rDNA 5S.

<sup>1</sup> Discentes do Curso de Biomedicina. Departamento de Biomedicina do Centro Universitário de Maringá – Cesumar, Maringá – Paraná. Bolsistas do programa de bolsas de Iniciação Científica do Cesumar (PROBIC) [marianaa.monteiro@yahoo.com.br](mailto:marianaa.monteiro@yahoo.com.br); [lilianottoni@yahoo.com.br](mailto:lilianottoni@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Docente do Curso de Biomedicina. Departamento de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Maringá – Cesumar, Maringá – Paraná. [alessoli@cesumar.br](mailto:alessoli@cesumar.br)