

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

**POLIMORFISMO DO GENE MITOCONDRIAL MT-ATP SUBUNIDADE 6 (ATP6)  
NA ESPÉCIE *ODONTESTHES HUMENSIS*.**

Gabrielle WAISHAUPT\*<sup>1</sup>, Lusma MELLO<sup>1</sup>, Vanessa SEIDEL<sup>1</sup>, Rafael TAVARES<sup>2</sup>.

\*autor para correspondência: gwaishaupt@gmail.com

<sup>1</sup>Acadêmico do curso de Zootecnia– UFSM, *campus* de Palmeira das Missões.

<sup>2</sup> Professor do Departamento de Zootecnia e Ciências biológicas– UFSM, *campus* de Palmeira das Missões.

**Abstract:** The aim of this study was to identify the polymorphism of the mitochondrial ATP subunit 6 gene in the *Odontesthes humensis* species. The assembly was carried out with the Bowtie2 program, using as reference the mitochondrial ATP 6 gene of the species *Odontesthes sp.* The total of 684 reads aligned to 888 base pairs of the reference gene, revealing 43 sites of polymorphism between species. Polymorphism of the mitochondrial ATP 6 gene of the *Odontesthes humensis* species was identified from the new generation sequencing, being of great relevance for the future works of conservation and genetic improvement.

**Palavras-chave:** filogenética, peixe-rei, piscicultura, sequenciamento

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

## Introdução

O peixe-rei (*Odontesthes humensis*) habita as águas doces, comum na região Sul do país, Uruguai e Argentina. No estado do Rio Grande do Sul, tem relevância na pesca artesanal e grande aceitação pela população devido a ótima qualidade de sua carne. Além disso, a alta taxa reprodutiva e amplo espectro alimentar sugerem grande potencial para cultivo (ROS; DOMÍNICO, 2006; TAVARES, 2014), mas seus níveis de produção ainda são baixos. Entretanto, com a busca de alternativas de espécies locais para substituir a crescente invasão de espécies exóticas usadas na piscicultura regional, o peixe-rei, tem sido objeto de estudos relacionados a sua reprodução e bioecologia (MIRANDA; 2013).

Neste aspecto, é de grande importância a pesquisa filogenética para o estudo da evolução e caracterização genética da espécie. As mitocôndrias são estruturas celulares de grande interesse neste estudo, pois possui genoma compacto com estrutura e organização simples, é de herança exclusiva materna (BLUTER, 2010) e presente em organismos em número haplóide, o que impede (ou torna raros) os eventos de recombinação, sendo capaz de diferir populações geográficas com eficiência pela identificação dos haplótipos ou clones de DNA Mitocondrial (mtDNA).

O gene mitocondrial (MT)-ATP6 é responsável por fornecer informações para produção da proteína MT-ATP 6, essencial para a função mitocondrial normal, pois forma uma parte da enzima chamada ATP sintase. Esta enzima, é responsável pela etapa final da fosforilação oxidativa e em outro segmento converte uma molécula chamada adenosina difosfato (ADP) em ATP. O gene foi selecionado por possuir uma região codificante que poderia ser facilmente identificada e por apresentar uma baixa taxa de substituição do que a região controle, baseado geralmente em conhecimentos de mtDNA de peixes (TOLEDO FILHO et al., 1992).

O seguinte trabalho teve como objetivo identificar o polimorfismo do gene mitocondrial ATP6 na espécie *Odontesthes humensis*, indicando a variabilidade existente no indivíduo e 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 humensis* foi gerada por um sequenciador GAllx (Illumina, USA) no modo *paired-end*, obtendo sequências com 150 pares de bases (pb). A qualidade de cada *read* foi analisada com o programa FastQC. A remoção dos adaptadores e *reads* de baixa qualidade foi realizado com o programa Trimmomatic. Posteriormente, para a verificação da eficiência da filtragem foi utilizado novamente o programa FastQC. A montagem por referência foi feita com o programa Bowtie2 sendo utilizado como referência o gene mitocondrial ATP6 da espécie *Odontesthes sp.* (GenBank: 6799851) com comprimento de 888 pares de base (pb). O arquivo no formato SAM, gerado na montagem, foi transformado em formato BAM com o programa Samtools e o programa Tablet foi utilizado para a visualização dos *reads* montados contra a referência.

### Resultados e Discussão

O sequenciamento do DNA resultou em aproximadamente 1.265.204 *reads*, entretanto o tamanho do genoma de *O. humensis* é desconhecido, embora genomas de peixes que foram pesquisados apresentam em média 1,250 Gbp (KATAGIRI et al., 2005; JIANG et al., 2013); desta forma, a cobertura total foi de aproximadamente 15% do genoma da espécie, sendo estes de 36 a 150pb, um total de 46 *reads* alinharam a 888 pb do gene de referência ATP 6 de *Odontesthes sp.*, gerando uma *contig* 684 pb, mostrando ainda 43 sítios de polimorfismo (SNP's) (figura 1).

Os polimorfismos de base única (SNPs) são trocas ocorridas no DNA onde um nucleotídeo é trocado por outro e vice-versa (Pennisi, 1998). (tabela 1).

Tabela 1- Alterações de nucleotídeos do gene MT-ATP subunidade 6 das espécies *O. humensis* e *O. sp.*

Posições(pb)	<i>O. humensis</i>	<i>O. sp.</i>
49	A	G
51	T	G
54	C	A

Promoção e Realização:

Apoio Institucional:

Organização:

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

87	C	T
96	T	C
115	C	T
120	T	C
153	C	T
168	G	A
172	G	A
192	C	T
204	A	G
231	A	G
261	G	A
276	T	C
282	C	T
291	C	T
294	A	G
321	C	A
327	G	A
330	G	A
333	T	A
342	G	A
351	G	A
352	C	T
354	A	G
372	C	T
378	G	A
396	A	G
399	G	C
408	T	C
417	T	C
420	T	C
450	C	A
472	G	A
477	C	G
507	T	C
564	A	G
567	C	A
585	G	A
591	T	C
600	T	C

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

Fonte: Programa Tablet.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:

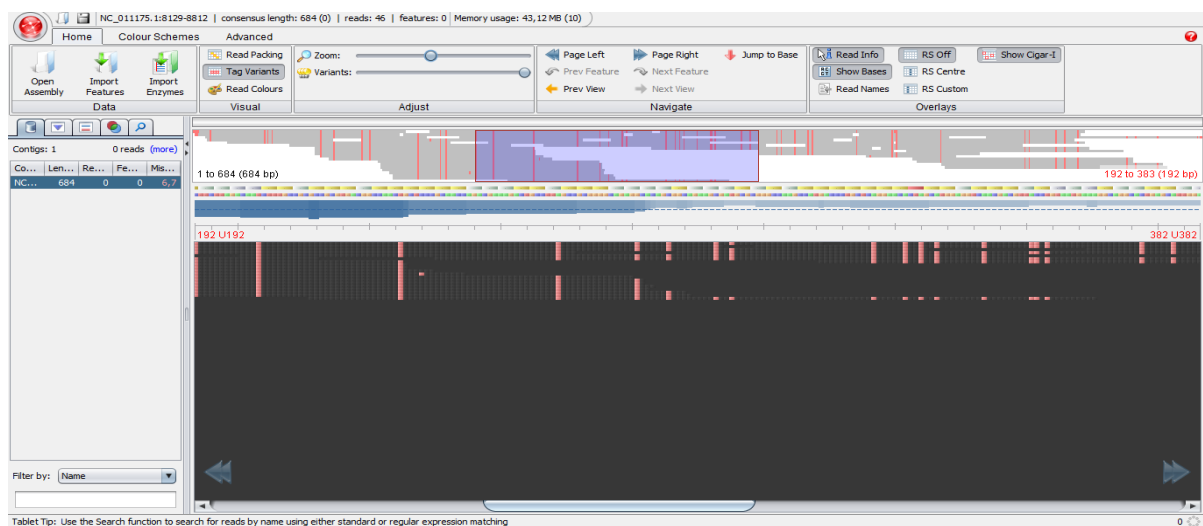


Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Figura 1- Visualização dos reads montados contra a referência



Fonte: ProgramaTablet.

### Conclusão

A partir do sequenciamento de nova geração identificou-se o polimorfismo do gene mitocondrial MT-ATP subunidade 6 (ATP6) da espécie *Odontesthes humensis*.

### Referências

- PENISSE, E. A Closer Look at SNPs Suggests Difficulties. *Science*. 281:1787-1789, 1998;
- MIRANDA, A.L. Ultrastructure of fresh and post thawed sperm of pejerrey *Odontesthes bonariensis*. *Neotrop. ichthyol.* vol.11 no.4 Porto Alegre,2013;
- TAVARES, R.A.; NUNES, M.D.; ALMEIDA, D.B. et al. Identification of microsatellite loci with amplification potential in "pejerrey" (*Odontesthes humensis*). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* vol.66 no.6 Belo Horizonte, 2014;
- TOLEDO FILHP, S.A., ALMEIDA TOLEDO, L.F., FORESTI, F. *Cadernos de ictiogenética: Conservação genética de peixes em projetos de repovoamento de reservatórios*. São Paulo: Coordenadoria de Comunicação Social, Universidade de São Paulo, 1992.