

Diversidade genética em Trichechus manatus manatus mantidos em cativeiro na ilha de Itamaracá-PE

ANGELA DE OLIVEIRA CORBELLINI¹
DANIEL THOMPSEN PASSOS²
JOCIERY EINHARDT VERGARA-PARENTE³
RÉGIS PINTO DE LIMA³
TANIA DE AZEVEDO WEIMER⁴

RESUMO

Este trabalho investigou a variabilidade genética de animais da espécie T. manatus manatus, provenientes do programa de conservação de peixes-boi do Centro Mamíferos Aquáticos (CMA). Foram estudados 8 microsatélites, em todos os animais re-introduzidos pelo CMA nos últimos dois anos, n=11. Os baixos níveis de diversidade genética observados não parecem específicos desta população, mas característicos da espécie, como um todo. O conhecido decréscimo populacional sofrido por esses animais não parece ter aumentado a endogamia, já que a heterozigose esperada foi superior à observada, na maioria dos sistemas polimórficos.

Palavras-chave: *diversidade genética, Trichechus manatus manatus, microsatélites.*

¹ Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária/ULBRA – Bolsista PIBIC/CNPq

² Professor do Curso de Medicina Veterinária/ULBRA

³ Centro Mamíferos Aquáticos, Ilha de Itamaracá, PE

⁴ Professora – Orientadora do Curso de Medicina Veterinária/ULBRA e Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada/ULBRA, Programa de Pós-Graduação em Diagnóstico Genético Molecular/ULBRA e Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular/UFRGS (taw@ulbra.tcche.br)

ABSTRACT

This paper investigated the genetic diversity of *T. manatus manatus* animals from the “Centro Mamíferos Aquáticos” manatee conservation program. Eight microsatellites were analyzed in all the animals reintroduced by CMA in the last two years, $n=11$. The low genetic diversity levels observed does not seem to be specific of this population, but characteristic of the species as a whole. The known population decrease undergone by these animals does not seem to increased the endogamy, since the expected heterozygosity was higher than the observed one in most of the polymorphic systems.

Key words: genetic diversity, *Trichechus manatus manatus*, microsatellites.

INTRODUÇÃO

O peixe-boi é um mamífero aquático da família Trichechidae pertencente à ordem Sirenia que engloba três espécies: *Trichechus senegalensis* (peixe-boi Africano), *Trichechus inunguis* (peixe-boi Amazônico) e *Trichechus manatus* que se divide em duas subespécies *Trichechus manatus latirostris* (peixe-boi da Florida) e *Trichechus manatus manatus* (peixe-boi marinho) (HUSAR, 1978; HATT, 1934; DOMNING & HAYEK, 1986). As subespécies se assemelham bastante morfológicamente, mas diferem pela distribuição, *T. manatus latirostris* sendo encontrada nas águas do sudeste dos EUA e norte do Golfo do México, no inverno migram para fugir das baixas temperaturas e o *T. manatus manatus*, distribuindo-se nas regiões do nordeste e norte do Brasil (LIMA, 1997; LUNA 2001).

As espécies da ordem Sirenia fazem parte da lista internacional de animais ameaçados de extinção; várias causas contribuem para isso, como caça indiscriminada, pesca predatória, encalhe e ciclo reprodutivo (LIMA, 1997; LUNA 2001). A gestação dura em média treze meses e após o nascimento a mãe

acompanha o filhote por dois anos, o que dificulta ainda mais a reposição de descendentes (THORNBACK & JENKINS, 1982; MARMONTEL, 1995).

Estudos populacionais com marcadores moleculares têm fornecido subsídios para compreender a evolução de diferentes populações e espécies. Entre os marcadores, os microsatélites, por se distribuírem aleatoriamente por todo o genoma, apresentarem alto grau de polimorfismo, co-dominância e facilidade de detecção, são ferramentas ideais para o estudo da diversidade genética e evolução de populações, raças e espécies, sendo bastante úteis, também, na identificação individual, determinação de paternidade e diagnóstico pré-natal (ARROYO et al., 1994; GLOWATSKI-MULLIS et al., 1995).

GARCIA-RODRIGUEZ et al. (2000), isolaram e caracterizaram 14 microsatélites no DNA de *T. manatus latirostris*, observando que estes marcadores podem ser utilizados na análise de todas as espécies da ordem Sirenia.

Este trabalho teve como objetivo estudar a variabilidade genética de animais da espécie *T. manatus manatus*, provenientes do Centro

de Mamíferos Aquáticos/IBAMA (CMA), na Ilha de Itamaracá, PE, que mantém um programa de monitoramento, tratamento e re-introdução de peixes-boi que enalham nas praias do norte e nordeste brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O DNA foi extraído a partir de células sanguíneas pelo método de MILLER *et al.* (1988), e/ou de tecidos, obtidos por biópsia de cauda, pela técnica de fenol-clorofórmio (SAMBROOK *et al.*, 2001).

Foram analisados oito microssatélites, num total de 11 animais, por amplificação do DNA pela reação em cadeia da polimerase (PCR), empregando-se pares de iniciadores (primers) específicos, conforme descrito por GARCIA-RODRIGUEZ *et al.* (2000). Os produtos da PCR foram analisados em gel de poliacrilamida a 10,5 % e corados com nitrato de prata.

As frequências gênicas foram computadas por contagem direta e os parâmetros de diversidade genética [heterozigose esperada (H) e conteúdo de informação polimórfica (PIC)] foram avaliados pelos métodos de NEI (1978) e BOTSTEIN *et al.* (1980), respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora o número de animais investigados seja pequeno (n=11), representa toda a população de indivíduos reabilitados pelo CMA, nos últimos dois anos.

Entre os sistemas investigados, três não apresentaram variação, enquanto nos demais, verificaram-se entre dois e cinco alelos (Tabela 1). Os microssatélites que se apresentaram monomórficos, neste estudo, haviam sido descritos como polimórficos (com dois ou três alelos) em animais dessa espécie que habitam as Antilhas ou a Flórida. Por outro lado, entre os marcadores polimórficos, um havia sido descrito como não variável (TmaA09), enquanto outro (TmaE08) apresentou apenas três alelos, contra os cinco aqui observados (GARCIA-RODRIGUEZ *et al.*, 2000).

Os valores de diversidade genética (H e PIC, Tabela 1), estimados para os sistemas variáveis, apresentaram valores intermediários, mas similares aos observados na sub-espécie *T. manatus latirostris* (26-63%; GARCIA-RODRIGUEZ *et al.*, 2000). Convém salientar que a baixa diversidade não decorre de aumento de homozigose, já que, na maioria dos casos, os valores da heterozigose observada são superiores aos da esperada.

Tabela 1 - Frequências alélicas e parâmetros de diversidade genética em oito microssatélites em animais da espécie *T. manatus manatus*.

TmaA02	TmaE02	TmaM79	TmaA03	TmaA09	TmaE11	TmaE26	TmaE08
*251 1	*156 1	*172 1	*205 0,27 *207 0,73	*167 0,5 *175 0,5	*146 0,14 *148 0,86	*187 0,14 *197 0,86	*163 0,50 *167 0,27 *169 0,04 *171 0,14 *175 0,04
H 0	H 0	H 0	H 0,42 h 1,00	H 0,52 h 0,27	H 0,25 h 0,09	H 0,25 h 0,36	H 0,68 h 0,64
PIC 0	PIC 0	PIC 0	PIC 0,32	PIC 0,38	PIC 0,21	PIC 0,21	PIC 0,60

H: heterozigose esperada; h: heterozigose observada; PIC: conteúdo de informação polimórfica.

CONCLUSÕES

1. Os baixos valores de diversidade genética observados não parecem ser específicos desta população, mas uma característica da espécie como um todo.

2. Apesar do conhecido decréscimo populacional sofrido por esta subespécie, nos últimos tempos, por encalhe ou caça e pesca predatórias, esses animais não parecem estar sob efeito de alto grau de endogamia, já que a heterozigose esperada foi superior à observada, na maioria dos sistemas polimórficos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARROYO, E. et al. Prenatal exclusion of paternity by PCR-RFLP analysis of VNTR. **Journal Forensic Sciences**, v.39, p. 566-572, 1994.

BOTSTEIN, D. et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, p.314-331, 1980.

DOMNING, D.P.; HAYEK, L.C. Interspecific and intraspecific morphological variation in manatees (Sirenia: *Trichechus*). **Marine Mammal Science**, v.2, p. 87-144, 1986.

GARCIA-RODRIGUEZ, A.I. et al. Isolation and characterization of microsatellite DNA markers in the Florida manatee (*Trichechus manatus latirostris*) and their application in selected Sirenian species. **Molecular Ecology - Primer Notes**, v.9, p. 2161-2163, 2000.

GLOWATSKI-MULLIS, M.L. et al.

Microsatellite-based parentage control. **Animal Genetics**, v. 26, p. 7-12, 1995.

HATT, R.T. A manatee collected by the American Museum Congo Expedition, with observations on the recent manatees. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 66, p. 533-536, 1934.

HUSAR, S.L. *Trichechus manatus*. **Mammalian Species**, v. 93, p. 1-5, 1978.

LIMA, R.P. **Peixe-boi marinho (*Trichechus manatus*):** distribuição, status de conservação e aspectos tradicionais ao longo do litoral nordeste do Brasil. 1997. 81f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1997.

LUNA, F. O. **Distribuição, status de conservação e aspectos tradicionais do Peixe-boi marinho (*Trichechus manatus*) no litoral norte do Brasil.** 2001. 122f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2001.

MARMONTEL, M. Age and reproduction in female Florida manatees. In: O'SHEA, T. J.; ACKERMAN, B. B.; PERCIVAL, H. F. (Eds). **Population Biology of The Florida Manatee.** Washington, DC: U.S. Dept. Interior, 1995. p. 98-119. (National Biological Service Information and Technology Report 1).

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v. 16, n. 3, p. 1215, 1988.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, p. 583-590, 1978.

SAMBROOK, E.; RUSSEL, J. **Molecular Cloning**. A Laboratory Manual. 3.ed. New York: Cold Spring Harbor, 2001. v.2, p.8.18–8.96.

THORNBAC, J.; JENKINS, M. Caribbean manatee. In: **Red Data Book**. Mammalia. International Union Conservation Nature Natural Resources, v.1. p.429-438, 1982.