

OS MARCADORES MOLECULARES EM PEIXES E SUAS APLICAÇÕES EM PUBLICAÇÕES DA BASE DE DADOS DO SCIELO

Luciano Seraphim Gasques¹
Keroly Poi Beloni²
Jussara Ricardo de Oliveira³

GASQUES, L. S.; BELONI, K. P.; OLIVEIRA, J. R. de. Os marcadores moleculares em peixes e suas aplicações em publicações da base de dados do scielo. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 16, n. 1, p. 47-50, jan./jun. 2013.

RESUMO: Dentre as principais técnicas de análise genética, o emprego de marcadores moleculares tem exercido um papel representativo nos últimos anos. Essas ferramentas têm sido constantemente utilizadas para a resolução de problemas taxonômicos, no melhoramento genético de espécies, nos estudos de variações do genoma, na análise filogenética e evolutiva, na verificação de polimorfismo nas populações entre outros. Visando analisar a contribuição dos marcadores moleculares para a ictiologia e apontar possíveis direções para o desenvolvimento de sua utilização, o objetivo deste trabalho foi verificar os principais marcadores moleculares, assim como, o objetivo de sua utilização em artigos presentes na base de dados do Scielo.org. Entre os resultados destaca-se a utilização predominante dos marcadores do tipo RAPD e entre os objetivos da utilização dos marcadores, a análise de variabilidade genética. Os resultados apontam para a escassa utilização de marcadores no melhoramento genético e manejo de peixes, indicando uma possibilidade inexplorada com grande potencial para o desenvolvimento da ictiologia.

PALAVRAS-CHAVE: Ictiologia. RAPD. Variabilidade genética.

THE MOLECULAR MARKERS OF FISHES IN THE PUBLICATIONS OF SCIELO DATABASE

ABSTRACT: Among the genetic analysis techniques, the use of molecular markers has had a representative role in recent years. These tools have been often used for the resolution of taxonomic problems, genetic breeding of species, genetic variation studies, evolutionary and phylogenetic analysis, populations polymorphism verification, among others. Focusing on analyzing the contribution of molecular markers for ichthyology and on identifying possible directions for its use and development, the objective of this study was to verify the use of molecular markers as well as its use purpose in articles from Scielo database. The results show prevalent use of RAPD markers and the most recurrent objective was genetic variability analysis. It also points out the lack use of genetic markers for genetic breeding and fish management, indicating an unexplored area with a great potential for ichthyology development.

KEY WORDS: Ichthyology. RAPD. Genetic variability.

LOS MARCADORES MOLECULARES EN PECES Y SUS APLICACIONES EN PUBLICACIONES DE LA BASE DE DATOS DE SCIELO

RESUMEN: Entre las principales técnicas de análisis genéticos, el uso de marcadores moleculares ha tenido un papel representativo en los últimos años. Esas herramientas han sido utilizadas constantemente para resolver problemas taxonómicos, en mejoramiento genético de especies, en los estudios de variaciones del genoma, en el análisis filogenético y evolutivo, en la verificación de polimorfismo en las poblaciones, entre otros. Con el objetivo de analizar la contribución de los marcadores moleculares para la ictiología y señalar posibles direcciones para el desarrollo de su uso, el objetivo de este estudio fue verificar los principales marcadores moleculares, así como el propósito de su uso en artículos presentes en la base de datos de Scielo.org. Entre los resultados se destaca el uso predominante de los marcadores del tipo RAPD y entre los objetivos de utilización de los marcadores, el análisis de variabilidad genética. Los resultados apuntan para la escasa utilización de marcadores en el mejoramiento genético y manejo de peces, lo que indica una posibilidad aún no explotada con gran potencial para el desarrollo de la ictiología.

PALABRAS CLAVE: Ictiología. RAPD. Variabilidad genética.

Introdução

A biotecnologia está envolvida no cotidiano do desenvolvimento científico e tecnológico em nossa sociedade. A sua evolução tem levado a avanços econômicos importantes no desenvolvimento da agricultura, da medicina e dos processos industriais (CANALES, 2007). Entre as técnicas de análise genética os marcadores moleculares, também co-

nhecidos como marcadores genéticos ou ainda biomarcadores, ocupam papel de destaque devido ao grande potencial de utilização para a obtenção de informações genéticas das espécies.

Lewin (1990) define marcadores genéticos como “alelos de interesse em um experimento”, enquanto para Borém (2005) marcadores genéticos são “alelos utilizados para identificar um gene, segmento cromossômico ou cromosso-

¹Professor da Universidade Paranaense – Campus de Umuarama, Paraná, Praça Mascarenhas de Moraes, 4282, Zona III, 87502-210. lsgasques@unipar.br;

²Bióloga – Umuarama, Paraná, kerolybeloni@yahoo.com.br;

³Professora da UniCesumar - Centro Universitário de Maringá - Paraná – Cornélio Procópio – jussara.ricardo.oliveira@gmail.com.

mo” e marcador molecular é um “seguimento cromossômico que pode ser utilizado para detectar diferenças genéticas entre dois ou mais indivíduos”. Na prática, a literatura utiliza os termos “marcadores genéticos” e “marcadores moleculares” como sinônimos que aparecem extensivamente empregados em trabalhos científicos que visam a caracterização genética de um indivíduo até a de grupos de organismos.

Embora o termo “marcadores moleculares” tenha sido inicialmente empregado para o uso de isoenzimas, nos últimos anos os marcadores baseados em sequências de DNA tem se destacado em relação aos demais, e por este motivo um grande número de diferentes tipos de marcadores tem sido validados. Entre os marcadores mais utilizados baseados na análise de ácidos nucleicos destacam-se o RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), o RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), os STS (*Sequence Tagged Site*), os minissatélites, os microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*), SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*), PCR (*Polymerase Chain Reaction*) com *primers* específicos, ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*), QTL (*Quantitative Trait Locus*), SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) (BOREM; CAIXETA, 2006; BUSO, 2005) entre outros. Outra possibilidade para a caracterização genética é a associação de dois ou mais tipos de marcadores, como no caso da técnica PCR-RFLP onde o RFLP é precedido por um PCR de um ou mais loci específicos para aumentar a especificidade do marcador.

Os objetivos para a utilização dos marcadores moleculares nas pesquisas científicas têm sido muito diversos. O seu uso tem auxiliado pesquisas sistemáticas envolvendo a caracterização molecular e identificação de espécies, nos estudos biogeográficos, na produção (por meio do melhoramento genético), na identificação de características genéticas específicas de plantas e animais, no monitoramento genético e manejo de espécies (mediante análise da variabilidade genética), na análise de *pedigree* e endogamia, na área da profilaxia (por meio do diagnóstico de doenças infecciosas, genéticas e na identificação de predisposições a doenças), na identificação genética do sexo, na análise de distância genética e reconstrução de relações filogenéticas, na identificação de indivíduos híbridos e aplicações para reconstrução de genealogias (AVISE, 2004; BOREM; CAIXETA, 2006; FALEIRO, 2007; POVH et al, 2008, TOEWS; BRELSFORD, 2012).

Para a ictiologia, as possibilidades da utilização de marcadores também são muito amplas, levando em consideração que os vertebrados são passíveis da maior parte das aplicações dos marcadores, podendo-se ainda expandir o número de ensaios e escopos, variando de acordo com as especificidades de cada marcador e suas possíveis combinações. Uma possível utilização constante na ictiologia tem sido o monitoramento da variabilidade genética das populações naturais (BIGNOTTO et al, 2009).

Visando analisar a contribuição dos marcadores na ictiologia e apontar possíveis direções para o desenvolvimento de sua utilização, o objetivo deste trabalho foi verificar o uso dos principais marcadores moleculares, assim como, o objetivo de sua utilização em artigos presentes na base de dados do *Scielo*.

Material e Métodos

A metodologia utilizada foi a bibliometria (MACIAS-CHAPULA, 1998; SPINAK, 2001; VANTI, 2002). Os parâmetros adotados para este trabalho foram:

a) Delimitação da fonte dos dados:

A fonte de artigos selecionada foi o banco de dados *Scielo* (www.scielo.org.br), no qual apresenta publicações ibero-americanas, advindas, principalmente, dos seguintes países: Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, Costa Rica, Cuba, Espanha, México, Portugal e Venezuela.

b) Estratégias da pesquisa dos dados:

Visando ampliar os resultados foram analisados todos os trabalhos resultantes da pesquisa com os termos “marcadores; peixes”, “*markers; fishes*”, “*marcadores; peces*”, e suas respectivas formas no plural e associações entre plural e singular. Também foram investigadas as siglas ou nomes dos principais marcadores (EST, ISSR, microssatélite/*microsatelite*, minissatélite/*minisatelite*, PCR, QTL, RAPD, RFLP, SCAR, e STS) juntamente com uma das palavras (peixe, *fish* ou *pece*) e suas respectivas formas no plural.

As palavras-chave foram pesquisadas sob os parâmetros “todos os índices” e “regional” para incorporar toda a base de dados. Todos os artigos publicados até a data da pesquisa que retornaram como resultado da busca foi considerado na análise.

c) Tratamento dos dados:

Os artigos catalogados foram os presentes na base de dados até o mês de novembro de 2011. Artigos recuperados na pesquisa, mas que não tratavam do tema foram desconsiderados na tabulação dos dados, enquanto que os artigos alvo da pesquisa tiveram as variáveis “marcadores utilizados na pesquisa” e “objetivos da pesquisa” tabuladas. Os registros apresentados em duplicidade, assim como os artigos de revisão, foram desconsiderados na análise.

Resultados e Discussão

Foram identificados 147 artigos, dos quais 49 (33,33%) foram artigos de pesquisa originais que utilizaram marcadores moleculares com alguma finalidade no estudo de peixes.

Os tipos de marcadores moleculares utilizados foram: o RAPD com 32 utilizações; o SPAR com sete utilizações; os marcadores baseados em sequenciamento (seq.) com cinco vezes; o RFLP com o emprego em quatro trabalhos; a PCR com *primer* específico em três ocasiões; o AFLP, as isoenzimas (isoe), o ISSR e o QTL com uma artigo cada, cujas frequências podem ser observadas na Figura 1.

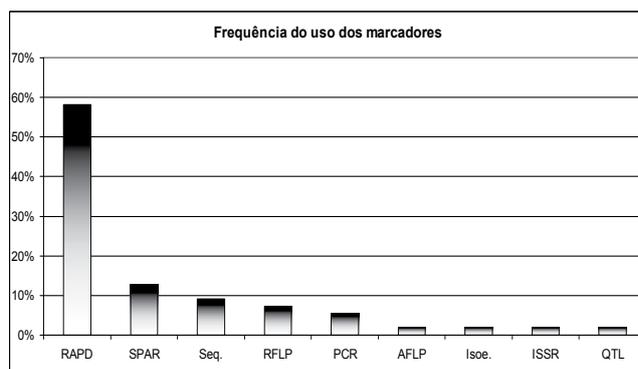


Figura 1: Frequência do uso dos marcadores moleculares no estudo de peixes encontrados na base de dados *Scielo*.

O marcador do tipo RAPD, mesmo sendo o de mais difícil reprodutibilidade (BORÉM; CAIXETA, 2006), foi o mais utilizado em todos os trabalhos. Canales (2007) investigou a produção de trabalhos empregando marcadores moleculares na América Latina e Caribe, e verificou que os principais grupos de pesquisa de marcadores genéticos encontram-se nos seguintes países: Estados Unidos, Canadá, Reino Unido, Bélgica, China e Índia, e que os países como o Brasil, México, Argentina, Colômbia e Uruguai estão entre os que utilizam os marcadores em larga escala, no entanto esta produção não parece refletir em publicações desta base de dados.

Especula-se que a produção com os marcadores mais confiáveis e de boa reprodutibilidade produzem resultados mais confiáveis, e que talvez esses trabalhos tenham preferência para a publicação em revistas internacionais de alto impacto, uma vez que as principais revistas da área de ciências biológicas não estão indexadas no banco de dados do *Scielo*, entretanto, para confirmar esta especulação é necessário que se verifique as publicações de autores nacionais e compare as suas publicações em revistas indexadas no *Scielo* e em bancos de dados que indexam revistas internacionais de alto impacto, verificando dessa forma quais os marcadores preferencialmente utilizados nas publicações nacionais e nas internacionais.

Quando avaliados os principais objetivos das pesquisas, em alguns artigos foram encontrados mais que um objetivo e assim sendo a somatória dos objetivos é maior que o número de trabalhos encontrados. Os objetivos puderam ser compilados em seis categorias principais: “variabilidade genética”, que inclui os estudos que compreendem a variabilidade intra e interespecíficas, estrutura genética de populações e diversidade genética, encontrados em 31 artigos; “identificação de espécies”, que inclui estudos de diferenciação genética e de identificação de espécies, em seis artigos; “estudos de evolução”, que inclui artigos que apresentaram objetivos relativos a estudos de filogenia, biogeografia e evolução, observados em cinco artigos. Já os artigos cujo objetivo era a padronização de técnicas específicas com marcadores em peixes ou ainda a padronização de coleta “*in vivo*” de material para a pesquisa foram identificados como “Desenvolvimento de técnica” e encontrados em quatro trabalhos. Dois trabalhos foram realizados para a “identificação de patógenos” para sua utilização como diagnóstico. E por último, a categoria “outros” foi criada para incorporar três dos artigos encontrados que tratavam de variados objetivos

específicos: estudo de características quantitativas, identificação da origem de uma invasão e verificação da taxa de fertilização na população. Os dados (percentual) relacionados a esses objetivos podem ser visualizados na Figura 2.

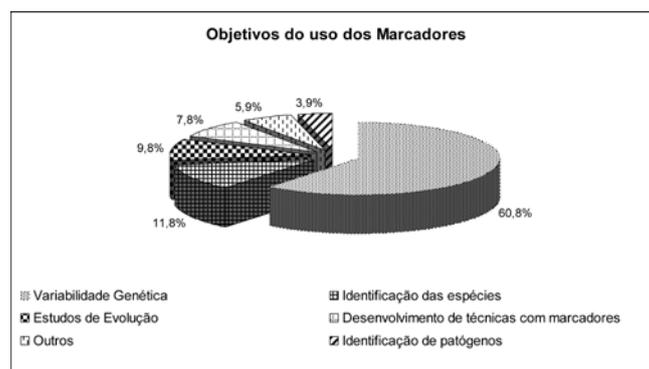


Figura 2: Frequência dos objetivos identificados nos artigos encontrados na busca no *Scielo* com o tema “marcadores moleculares”.

Pode-se notar que a maioria (60,8%) dos trabalhos (Figura 2) tinha como objetivo estudos da variabilidade genética, identificação de espécies (11,8%) e estudos evolutivos (9,8%), que na maior parte foram utilizados para o conhecimento das espécies e estrutura de populações e visavam ao conhecimento da diversidade ou o estabelecimento de parâmetros para o manejo destas espécies. Dessa forma, a maioria dos objetivos encontrados pode ser considerada como objetivos de pesquisa básica. Apenas três trabalhos puderam ser classificados como pesquisa aplicada por visarem interesses econômicos diretos como o melhoramento genético, como exemplos, o artigo que teve como objetivo o estudo de caracteres quantitativos (QTLs) e dois que tiveram como objetivo o diagnóstico de doenças infectocontagiosas em peixes. Com base nessa análise, questiona-se se a subutilização dos marcadores genéticos para fins econômicos na ictiologia, expressa nesta base de dados, é refletida nas outras bases de dados internacionais.

Outras áreas importantes que os marcadores poderiam ser utilizados para o desenvolvimento da ictiologia também estão sub-representadas, como o caso da conservação das espécies nativas e em programas de melhoramento genético das espécies de peixes de interesse comercial. Por outro lado, o alto índice de trabalhos que tem como objetivo o estudo de variabilidade genética de populações pode também refletir ensaios iniciais para o manejo de espécies de peixes, uma vez que esses dados podem ser utilizados posteriormente em programas de manejo de espécies invasoras e ameaçadas (FALEIRO, 2007).

Conclusão

Pode-se concluir que o principal tipo de marcador molecular utilizado nas publicações ibero-americanas é o RAPD e que os principais objetivos de sua utilização nestas publicações é a análise de variabilidade genética e estudos de filogenia de peixes, sendo ainda escassa a utilização de marcadores para o melhoramento genético nos parâmetros dessa pesquisa para o manejo de espécies de peixes, apontando assim uma possibilidade de estudo.

Talvez análises futuras considerando bancos de da-

dos internacionais possam revelar trabalhos que possuam enfoque econômico ou ainda aplicações que possam ser importantes ao desenvolvimento da ictiologia. Este é um assunto de interesse, pois indica possibilidades de novos projetos com o propósito de melhorias, tanto para a sociedade como para o meio ambiente.

para medir o registro da informação e a difusão do conhecimento. **Ciência da Informação**, Brasília, v. 31, n. 2, p.152-162, 2002.

Recebido em: 30/04/2012

Aceito em: 22/05/2013

Referências

AVISE, J. **Molecular markers, natural history, and evolution**. 2. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2004. 684 p.

BIGNOTTO, T. S. et al. Genetic divergence between *Pseudoplatystoma corruscans* and *Pseudoplatystoma reticulatum* (Siluriformes: Pimelodidae) in the Paraná River Basin. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 69, n. 2, p. 681-689, 2009.

BORÉM, A. CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. Viçosa: Independente, 2006. 374 p.

BORÉM, A. **Glossário agrônomo**. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 117 p.

BUSO, G. S. C. **Marcadores moleculares e análise filogenética**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 22 p.

CANALES, H. Los marcadores moleculares y su impacto en la actividad de investigación y desarrollo agropecuario: un análisis bibliométrico. **Revista de Protección Vegetal**, La Habana, v. 22, n. 1, p. 57-64, 2007.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

LEWIN, B. **Genes IV**. New York: Oxford University Press Inc, 1990. 703 p.

MACIAS-CHAPULA, C. A. O papel da infometria e da cienciometria e sua perspectiva nacional e internacional. **Ciência da Informação**, v. 27, n. 2, p. 134-140, 1998.

POVH, J. A. et al. Monitoreo genético en programas de repoblamiento de peces mediante marcadores moleculares. **Ciencia e Investigación Agraria**, Santiago, v. 35, n. 1, p. 5-15, 2008.

SPINAK, E. Indicadores cienciométricos. **ACIMED**, Ciudad de La Habana, 2011. Disponível em: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102494352001000400007&lng=es>. Acesso em: 05 maio 2013.

TOEWS, D. P. L.; BRELSFORD, A. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. **Molecular Ecology**, v. 21, p. 3907-3930, 2012.

VANTI, N. A. P. Da bibliometria à webometria: uma exploração conceitual dos mecanismos utilizados