

**As Ciências do Mar
em todos os seus Aspectos**

**Tayronne de Almeida Rodrigues
João Leandro Neto
Dennyura Oliveira Galvão
(Organizadores)**

Tayronne de Almeida Rodrigues
João Leandro Neto
Dennyura Oliveira Galvão
(Organizadores)

As Ciências do Mar em todos os seus Aspectos

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Executiva: Prof^a Dr^a Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Lorena Prestes
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^a Dr^a Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof^a Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof.^a Dr.^a Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
C569	As ciências do mar em todos os seus aspectos [recurso eletrônico] / Organizadores Tayronne de Almeida Rodrigues, João Leandro Neto, Dennyura Oliveira Galvão. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-448-1 DOI 10.22533/at.ed.481190907 1. Biologia marinha. 2. Ciências marinhas. 3. Oceanografia. I. Rodrigues, Tayronne de Almeida. II. Leandro Neto, João. III. Galvão, Dennyura Oliveira. CDD 551.46
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

O mar representa para o Homem desde as mais antigas datas uma fonte de mistérios, um universo repleto de criaturas com formas fantásticas e inimagináveis e essa forma de pensar tornava mais restrita a exploração marinha e o aprofundamento de pesquisas. Em 380 A.C., o filósofo grego Aristóteles foi o primeiro a estudar os oceanos com um cunho mais científico.

As ciências do mar lidam diretamente com região costeira e a região oceânica, pois trabalha em seus diferentes aspectos, com a cultura, a função dinâmica dos sistemas e também a interação do homem com esses princípios, considerando os aspectos biológicos, físicos e químicos. A oceanografia se divide em cinco áreas: oceanografia física, oceanografia química, oceanografia biológica, oceanografia geológica e oceanografia social. Possui também subáreas: paleoceanografia, a biogeoquímica marinha, a ecotoxicologia marinha, podendo existir outras.

Esta obra é de grande relevância, pois apresenta estudos pertinentes para a comunidade acadêmica que busca ampliar seus conhecimentos nos estudos sobre as Ciências do Mar. Apresentamos este volume em onze capítulos com abordagem em pesquisas científicas sobre os macroinvertebrados, biodiversidade algal, mudanças climáticas, moluscos marinhos, medicina popular, variabilidade genética, modelagem oceânica, oceanografia operacional e etnofarmacologia. Que estas contribuições possam refletir em futuros estudos para o crescimento das ciências do mar e todos os seus aspectos.

Tayronne de Almeida Rodrigues
João Leandro Neto
Dennyura Oliveira Galvão

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
INDICADORES BIOLÓGICOS DE ECOSSISTEMAS AQUÁTICOS	
Thamires Barroso Lima	
Carmen Helen da Silva Rocha	
Jamerson Aguiar Santos	
Gabriel Silva dos Santos	
Simone Karlla Lima e Silva	
DOI 10.22533/at.ed.4811909071	
CAPÍTULO 2	14
USE OF PEN SQUID (<i>Loligo sp</i>) FOR THE TREATMENT OF RESPIRATORY DISEASES: AN ETHNOPHARMACOLOGICAL SURVEY	
Giovanna dos Passos	
Ana Angélica Steil	
DOI 10.22533/at.ed.4811909072	
CAPÍTULO 3	20
MONITORAMENTO DA MALACOFAUNA DE COSTÕES ROCHOSOS NA ÁREA DA CENTRAL NUCLEAR ALMIRANTE ÁLVARO ALBERTO, BAÍA DA ILHA GRANDE, ANGRA DOS REIS/RJ, BRASIL	
Rodrigo Martins de Amorim	
João Pedro Garcia Araújo	
DOI 10.22533/at.ed.4811909073	
CAPÍTULO 4	29
MALACOFAUNA ACOMPANHANTE DA PESCA INDUSTRIAL DE ARRASTO CAMAROEIRO NA PLATAFORMA DO AMAPÁ, LITORAL NORTE DO BRASIL	
Wagner Cesar Rosa dos Santos	
Rafael Anaisce das Chagas	
Mara Rúbia Ferreira Barros	
Marko Herrmann	
Alex Gargia Cavalleiro de Macedo Klautau	
DOI 10.22533/at.ed.4811909074	
CAPÍTULO 5	43
MONITORAMENTO DA DIVERSIDADE DE MACROALGAS NA ILHA DA TRINDADE: CONSERVAÇÃO E IMPLICAÇÕES ECOLÓGICAS, FRENTE AS MUDANÇAS CLIMÁTICAS	
Franciane Pellizzari	
DOI 10.22533/at.ed.48119090745	
CAPÍTULO 6	65
VARIABILIDADE GENÉTICA DE DUAS LINHAGENS COMERCIAIS DE CAMARÃO EXPOSTAS EXPERIMENTALMENTE AO VÍRUS DA MIONECROSE INFECCIOSA (IMNV)	
Lucas Lima de Oliveira	
Jamille Martins Forte	
Luiz Fagner Ferreira Nogueira	
Rodrigo Maggioni	
DOI 10.22533/at.ed.48119090746	
CAPÍTULO 7	78
A REDE DE MODELAGEM E OBSERVAÇÃO OCEANOGRÁFICA (REMO): BREVE HISTÓRICO E ESTÁGIO ATUAL	
Janini Pereira	

Clemente Augusto Souza Tanajura
Mauro Cirano
Afonso de Moraes Paiva
Cesar Reinert Bulhões de Moraes
João Bosco Rodrigues Alvarenga
Renato Parkinson Martins
Jose Antonio Moreira Lima

DOI 10.22533/at.ed.48119090747

CAPÍTULO 8 88

METAL CORRELATIONS IN A RECIPROCAL MUSSELS TRANSPLANTATION: INDICATION OF PHYSIOLOGICAL RESPONSES AND BIOAVAILABILITY CONTRASTS

Ricardo O'Reilly Vasques
Aline Soares Freire
Bernardo Ferreira Braz
Ricardo Erthal Santelli
Olaf Malm
Wilson Machado

DOI 10.22533/at.ed.48119090748

CAPÍTULO 9 103

ANALYSIS OF THE CORRELATION BETWEEN SALINITY AND ENVIRONMENTAL VARIABLES IN THE ESTUARY OF THE PARAÍBA DO SUL RIVER - BRAZIL

Glenda Camila Barroso
Leonardo Bernado Campaneli da Silva
Vicente de Paulo Santos de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.48119090749

CAPÍTULO 10 118

GESTÃO DO ECOSISTEMA MANGUEZAL NO BRASIL

Mônica Maria Pereira Tognella
Marelce de Cássia Ribeiro Tosta
Gilberto Fonseca Barroso
Maykol Hoffman
Eduardo Almeida Filho

DOI 10.22533/at.ed.481190907410

CAPÍTULO 11 144

PROTOCOLO PARA CULTIVO DE ESPÉCIES DE MANGUEZAL

Mônica Maria Pereira Tognella
Andreia Barcelos Passos Lima Gontijo
Ully Depolo Barcelos
Gilberto Fillmann
Adriano Alves Fernandes
Antelmo Ralf Falqueto
Kamyla da Silva Pereira Amorim
Mateus Sandrini

DOI 10.22533/at.ed.481190907411

CAPÍTULO 12 158

INVESTIGANDO OS INVERTEBRADOS DA PLANÍCIE DE MARÉ DA PRAIA DO FORTE (NATAL, RIO GRANDE DO NORTE) PARA AULAS DE CAMPO EM ZOOLOGIA E EDUCAÇÃO AMBIENTAL

Roberto Lima Santos

Elineí Araújo de Almeida

DOI 10.22533/at.ed.481190907412

SOBRE OS ORGANIZADORES..... 164

VARIABILIDADE GENÉTICA DE DUAS LINHAGENS COMERCIAIS DE CAMARÃO EXPOSTAS EXPERIMENTALMENTE AO VÍRUS DA MIONECROSE INFECCIOSA (IMNV)

Lucas Lima de Oliveira

Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
Fortaleza – CE

Jamille Martins Forte

Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
Fortaleza – CE

Luiz Fagner Ferreira Nogueira

Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
Fortaleza – CE

Rodrigo Maggioni

Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR
Fortaleza – CE

RESUMO: A produção do camarão *Litopenaeus vannamei* em 2010, foi responsável por 71,8% da produção mundial de todas as espécies de camarões marinhos. No Brasil, foi estimada a produção de 70 mil toneladas em 2010. *L. vannamei* é uma espécie exótica e o acesso a recursos genéticos desta espécie são limitados. O presente trabalho teve como objetivo examinar e comparar a variabilidade genética de duas linhagens comerciais do camarão *L. vannamei*, uma linhagem de crescimento e outra de resistência ao IMNV, por meio de genotipagem de marcadores microssatélites em

conjuntos multiplex. Cada amostra foi submetida a uma reação de PCR-multiplex para dois conjuntos de locos: conjunto 1 (TUMXL8.256; TUMXL8.32; PVAN0013) e conjunto 2 (CNM-MG384; CNM-MG421; PVAN1003). Análises estatísticas incluíram o cálculo de estimadores de diversidade genética e de índices de fixação. Observou-se elevado índice de endogamia (F_{IS}) em ambas as linhagens estudadas (L.C= 0,4482 e L.R= 0,3777), bem como elevado índice de diferenciação genética (F_{ST} = 0,1530). A linhagem de crescimento apresentou heterozigosidade observada superior (H_o = 0,2147) à linhagem de resistência (H_o = 0,0745). Em conclusão, a análise de locos de microssatélites revelou diferenças genéticas significativas entre as populações além de apresentarem sinais de endocruzamento elevados e variabilidade genética reduzida.

PALAVRAS-CHAVE: microssatélites, PCR Multiplex, variabilidade genética, genotipagem, *Litopenaeus vannamei*.

ABSTRACT: Production of shrimp *Litopenaeus vannamei* in 2010 accounted for 71.8% of world production of all species of marine shrimp. In Brazil, the production of 70 thousand tons was estimated in 2010. *L. vannamei* is an exotic species and access to genetic resources of this species is limited. The objective of the present work was to examine and compare the

genetic variability of two commercial strains of shrimp *L.vannamei*, one strain of growth and one of resistance to IMNV, by means of genotyping of microsatellite markers in multiplex sets. Each sample was submitted to a multiplex PCR reaction for two sets of loci: set 1 (TUMXL8.256; TUMXL8.32; PVAN0013) and set 2 (CNM-MG384; CNM-MG421; PVAN1003). Statistical analyzes included the estimation of genetic diversity and fixation indices. A high inbreeding index (FIS) was observed in both strains studied (L.C = 0.4482 and L.R = 0.3777), as well as a high genetic differentiation index (FST = 0.1530). The growth line showed higher observed heterozygosity (Ho = 0.2147) to the resistance line (Ho = 0.0745). In conclusion, analysis of microsatellite loci revealed significant genetic differences among populations in addition to showing signs of high inbreeding and reduced genetic variability.

KEY WORDS: microsatellite, multiplex PCR, genetic variability, genotyping, *Litopenaeus vannamei*.

1 | INTRODUÇÃO

A produção da espécie *Litopenaeus vannamei* é a mais representativa dentre as espécies cultiváveis no mundo, sendo o principal representante dos camarões peneídeos no setor da carcinicultura, no qual foi responsável por cerca de 76% da produção de camarões marinho no mundo (FAO, 2014; 2016). A região nordeste do Brasil é a principal representante da produção de camarão marinho do país, onde, das quase 70 mil toneladas de camarão produzido 35 mil toneladas é oriundo do estado do Ceará (MAPA, 2012).

O Brasil possui cerca de 1.000.000 hectares de áreas em potencial para utilização na carcinicultura, bem como está estrategicamente posicionado geograficamente em uma região que possibilita a produção durante o ano inteiro na região nordeste, onde estão presentes os principais produtores do país (ABCC, 2016; MAPA, 2012). No entanto, o setor ainda enfrenta inúmeros desafios, dentre eles a manifestação de doenças virais são os maiores causadores de perdas na produção do setor (ROCHA, 2007;).

Uma série de medidas regulatórias foi implantada visando à limitação de importação de reprodutores de *L. vannamei*, espécie exótica no Brasil, impulsiona a redução do germoplasma, resultando em elevados índices de endocruzamento e diminuição da variabilidade genéticas dos estoques (FREITAS e GALETTI-JUNIOR, 2002). De forma a obter melhor desempenho da espécie frente a essas barreiras, já é possível obter no mercado pós-larvas fruto do melhoramento genético, tanto para o crescimento como para patógenos específicos, em especial ao vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV). Dentre as principais doenças de origem viral, o vírus da mionecrose infecciosa (IMNV) tem sido alvo de estudos para detecção molecular devido às elevadas perdas nos cultivos de *L. vannamei* nas Américas (LIGHTNER, 2011).

O vírus da mionecrose infecciosa surgiu no Brasil, em 2002 no Piauí, desde

então causou sérios danos ao setor produtivo nos anos seguintes, esse prejuízo foi o suficiente para qualificá-lo como uma das doenças virais de notificação obrigatória pela Escritório Internacional de Epizootias – OIE (ABCC, 2016).

Inúmeros programas de melhoramento genético estão disponíveis, visando mudar a média fenotípica de alguma característica de interesse, onde por meio do monitoramento zootécnico da espécie o melhoramento é alcançado (FALCONER, 1987). Porém as seleções artificiais dessas alterações podem provocar distúrbios na variabilidade genética da população. Atualmente o monitoramento da diversidade genética é aferido diretamente na aquicultura utilizando marcadores moleculares, que se mostram eficientes na identificação de locos associados às características de interesse selecionadas em programas de melhoramento. (BENZIE 2000; BRAVINGTON e WARD, 2004; CHISTIAKOV et al., 2006). Dentre os principais marcadores utilizados os marcadores de seleção assistida (MAS) são os mais utilizados, no qual os marcadores microssatélites apresentam-se como os mais eficientes nas análises de populações, e destacam-se tanto pela sua abundância pelo genoma, quanto pelo elevado grau de polimorfismo (CHISTIAKOV et al., 2006; LIU; CORDES, 2004).

A técnica de PCR-multiplex é comumente aplicado às análises com marcadores moleculares do tipo microssatélites por permitir ampliações de múltiplos alelos em uma única reação, bem como garanti aumento da robustez e definição das regiões amplificadas (HENEGARIU et al., 1997).

2 | SITUAÇÃO DA CARCINICULTURA NO BRASIL E NO MUNDO

O cenário da aquicultura atualmente é promissor. Nos últimos anos houve um aumento significativo da produção de pescado em ambientes de cultivo continental, de cerca de 34,3 milhões de toneladas em 2009, para 47,1 em 2014 (FAO, 2016), enquanto que a produção por capturas do ambiente natural permaneceu quase constante desde 2009. Do total de pescado produzido, capturas e aquicultura, observou-se um crescente aumento de seu uso para consumo humano, de 18,1 kg de consumo per capita em 2009 para 20,1 kg em 2014, indicando a demanda por proteína animal marinha (FAO, 2016). A produção do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* ou camarão branco do pacífico, representa cerca de 76% da produção de camarões peneídeos do mundo, cerca de 3,5 milhões de toneladas (FAO 2014; 2016).

O Brasil, tem um enorme potencial de produção aquícola devido ao fato de possuímos cerca de 1.000.000 de hectares de áreas que podem ser utilizadas para a carcinicultura, bem como um posicionamento geográfico estratégico para tal, no qual temos os estados do Nordeste como os principais produtores do país (ABCC, 2016; MAPA, 2012). O histórico de produção de camarão marinho no Brasil mostra que o setor ainda está em expansão desde a introdução da espécie *Litopenaeus vannamei*. Entre 1997 e 2007 *L. vannamei* tornou-se a principal espécie a ser cultivada no mundo,

com 70,11% de representatividade na produção, desbancando a espécie *Penaeus monodon*, a principal até então (ROCHA; ROCHA, 2009). Em paralelo, a carcinicultura marinha brasileira cresceu numa média de 72,3% durante o mesmo período, 1997 (3.600 t) e 2003 (90.190 t), ocupando a liderança mundial de produtividade nesse ano (6.083 kg/ha/ano) (ABCC, 2016).

Entretanto, o Brasil tem enfrentado desafios importantes na tentativa de manter a produtividade do camarão marinho, como o surgimento de doenças como o IMNV e o WSSV, associados às enchentes dos anos de 2004, 2008 e 2009. No ano de 2004 a produção brasileira sofreu uma queda considerável na produção, de 90.180 t em 2003, para 76.000 t em 2004 (ROCHA, 2007). Além disso, com empecilhos fiscais na obtenção de licenças ambientais para instalações de fazendas, associado à falta de investimento no setor, a produção de camarão no Brasil não conseguiu manter-se no topo da produção mundial (ABCC, 2016).

Segundo (FAO 2016), o Brasil ocupou a 14^o posição na produção total em aquicultura em 2014 (562,5 mil toneladas), no qual 65,1 mil toneladas representam a produção de crustáceos, liderados pela produção do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* produzido principalmente na região nordeste, responsável por mais da metade da produção total, e onde só o estado do Ceará produziu cerca de 35 mil toneladas (MAPA, 2012).

2.1 Impacto do IMNV Sobre o Cultivo de Camarão

Dentre a inúmeras dificuldades que o setor luta para enfrentar, as doenças virais têm se mostrado como uma das principais problemáticas a serem enfrentadas e as que mais causam prejuízos aos produtores (LIGHTNER, 2011). O Brasil possui quatro das cinco doenças virais de notificação obrigatória pelo Escritório Internacional de Epizootias - OIE (WSSV, IMNV, NHP-B e IHHNV-1) (ABCC, 2016). Estas, são apontadas como as mais preocupantes, por apresentarem alto grau de mortalidade, afetando a produtividade (ABCC, 2016).

No Brasil, o Vírus da mionecrose infecciosa (IMNV), foi uma das doenças que mais causaram impactos na produção, em especial na região Nordeste, onde foi primeiramente identificada no estado do Piauí, em setembro de 2002. Após seu primeiro relato, os sintomas da doença foram observados nos municípios do litoral oeste do Ceará, e posteriormente foi disseminando ao litoral leste. Pouco tempo depois, migrando sentido leste, os sintomas foram relatados em fazendas nos Estados do Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco.

A sintomatologia consiste na perda de transparência do músculo abdominal paralela a uma mortalidade diária de indivíduos a partir de 7g. Os indivíduos infectados apresentam necrose nos músculos do abdômen e do cefalotórax, macroscopicamente é possível observar a evolução da doença pelas mudanças de cor nas regiões

afetadas, os primeiros estágios apresentam coloração opaca e aspecto leitoso, conforme a doença alcança estágios mais avançados as regiões afetadas atingem tons alaranjados (NUNES; MARTINS; GESTEIRA 2004) . Essas características, seguidos de inúmeros estudos sobre o vírus, concluíram que este teve origem no Brasil, e os danos causados nos primeiros anos de surto, o colocaram na lista de doenças de notificação obrigatória Escritório Internacional de Epizootias - OIE no ano de 2008.

2.2 Definição de Microssatélites e Sua Utilização em Aquicultura

Marcadores moleculares microssatélites, ou *short tandem repeats* (STRs), são sequências genômicas que se repetem em tandem e estão presentes em todos genomas de eucariotos. Como características, podem alcançar uma variação de 1 a 6 pares de bases, possuem caráter hereditário codominante e apresentam alto grau de polimorfismo (CHISTIAKOV et al, 2006). Apresentam um tamanho relativamente pequeno e são de fácil amplificação por meio de PCR. Essas características o tornam uma excelente ferramenta molecular em inúmeras áreas, tanto em estudos nos setores da biologia, como análises forenses e epidemiológicas, quanto em setores comerciais, como em ciências agrárias e aquicultura. No setor da aquicultura, esses marcadores vêm sendo amplamente utilizados pelo fato de serem úteis no mapeamento de características quantitativas (QTL), na construção de mapas de ligação, seleção assistida e, principalmente, na caracterização do material genético e seleção de reprodutores (CHISTIAKOV et al., 2006; O'CONNELL et al, 1997).

Para a espécie de camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, muitos estudos obtiveram sucesso na utilização de marcadores moleculares microssatélites no âmbito de monitorar a variabilidade genética de estoques selvagens e cultivados (MEEHAN et al., 2003; PÉREZ et al., 2005; VALLES-JIMENEZ et al., 2005; MAGGIONI et al., 2013; MONTALDO et al., 2013). Para a Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), espécie de peixe importante na aquicultura nacional, um estudo recente de caracterização genética foi desenvolvido utilizando marcadores microssatélites, a qual mostrou-se eficiente para determinar índices de variabilidade genética em linhagens de cultivo (FORTE, 2015).

Estes trabalhos têm evidenciado o papel fundamental do uso de marcadores moleculares microssatélites no desenvolvimento do setor da aquicultura, sendo uma importante ferramenta para selecionar ou identificar linhagens com características de interesse, tanto para resistência à patógenos, quanto para seleção de reprodutores (CHISTIAKOV et al., 2006; GJEDREM & BARANSKI, 2009; NOGUEIRA, 2016).

3 | MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção das Amostras

A aquisição das amostras foi feita a partir de duas empresas comerciais especializadas na produção de pós-larvas selecionadas para o crescimento (L.C) e outra empresa especializada na produção de pós-larvas selecionadas para a resistência (L.R).

3.2 Extração de DNA

O DNA do tecido muscular foi extraído utilizando o protocolo de extração PCI-Proteinase-K, descrito por (SAMBROOK et al. 1989).

3.3 Variabilidade Genética Por Marcadores Moleculares Microssatélites

A avaliação de variabilidade genética foi feita a partir dos conjuntos multiplex desenvolvidos por Forte (2014). O painel multiplex é composto por seis locos divididos em dois conjuntos (tabela 1), no qual foram utilizados nas análises de variabilidade genética entre as linhagens de crescimento (L.C) e a linhagem de resistência ao IMNV (L.R). Foi adicionado um marcador fluorescente (cauda m13) em cada loco microssatélite.

As reações de PCR multiplex foram realizadas em um volume final de 10 μ L, contendo Qiagen Multiplex PCR Master Mix (2X), 0,3 μ M do primer mix (2,94 μ M de *primer forward*, 3 μ M de *primer reverse* e 0,06 μ M da cauda fluorescente) e 200 ng de DNA genômico. O protocolo de termociclagem foi o seguinte: desnaturação a 94°C/4 minutos, seguidos de 35 ciclos de 94°C/30 s, 56°C/45 s e 72°C/60 s, 8 ciclos de 53°C/45 s e 72°C/45 s, e uma extensão final a 72°C/30 s. Os produtos obtidos primeiramente foram avaliados por meio de gel de eletroforese, onde a integridade dos produtos foram verificados, em seguida foram lidos em sequenciador automático capilar ABI3500 (Applied Biosystems, CA, USA) com o marcador de peso molecular GS-600 LIZ®, onde foram obtidos genótipos para ambas as linhagens utilizando o software GeneMapper Versão 4.0.

	Microsatélites (ID)	Sequência (5' – 3')	Am- plicon (pb)	Tipo de repetição
Conjunto PCR 1	TUMXLV8.256	*GGACTCACACTTCTGGTTC GGCTGCACCTTGTAAGTC	184	(AAT) ₄ ...
	TUMXLV8.32	*TTACCGCCTAAGAGCGAATG TGTCCTTTTCGTACCAGTCAAG	238	(CA) ₃ ... (TA) ₄
	PVAN0013	*TGCTCTGGTAACGACAAACG AGACCTGTGGCGAAGTGC	302	(TA) ₅ ... (AT) ₄
Conjunto PCR 2	CNM-MG421	*TTTCTGCCACGGAGTT CTGTTGCCCAAATAGC	162	(AAT) ₅
	PVAN1003	*ATATTTTCATGCGTTCCGAGG GACTATCTCACGCGCCTCTC	167	(GT) ₉ ... (AT) ₂ (GT) ₆
	CNM-MG384	*ATCGGGAATACAATCG AACCCCTAACAAACAATAAG	245	(AAA- CA) ₅

Tabela 1. Conjuntos de marcadores moleculares microsatélites, cada conjunto representa uma reação de PCR-multiplex, onde cada loco foi marcado com um fluoróforo adicionado na cauda M13.

*Cauda M13 (TGTAACGACGGCCAGT)

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4 Análises de dados

As análises de estimadores de diversidade genética e de índices de fixação (H_o) e esperada (H_e), índices de F de Wright (COCKERHAM & WEIR, 1993) bem como as análises de equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foram obtidos através da plataforma online GENEPOP, versão 4.2 (RAYMOND E ROUSSET, 1995) O índice de diversidade alélica (F_{ST}) foi obtido pelo programa FSTAT (GOUDET, 2002). A determinação de alelos nulos foi obtida pelo software Micro-Checker 2.2.3.

4 | RESULTADOS

4.1 Análise de Variabilidade genética

Os alelos de cada marcador foram claramente identificados pelo software. Os resultados das análises utilizando o software GENEPOP 4.2 estão disponíveis na

tabela 2 os valores obtidos para heterozigidade observada (H_o) e para o índice de endogamia (F_{is}) estão destacados na figura 1. As frequências alélicas de cada loco em suas populações são apresentadas nos gráficos de frequência alélica da figura 2.

População	Locos						Média
	PVANO 013	CNM-MG384	CNM-MG42	TUMXLV8 .256	TUMXLV 8.32	PVAN1 003	
L.C (n=45)							
Na	4	12	4	5	6	3	5,6666
H_o	0,2444	0,2666	0,3111	0,1555	0,1555	0,1555	0,2147
H_e	0,5154	0,5220	0,3740	0,4560	0,4735	0,1848	0,4209
F_{is}	0,5293	0,4934	0,1700	0,6621	0,6746	0,1600	0,4482
P_{valor}	0,0000	0,0000	0,0002	0,0000	0,0000	0,0300	
L.R (n=38)							
Na	1	5	5	2	1	2	2,6666
H_o	0	0,0263	0,1315	0,0526	0	0,2368	0,0745
H_e	0	0,3309	0,5037	0,0519	0	0,2858	0,1953
F_{is}	-	0,6098	0,7415	-0,0137	-	0,1735	0,3777
P_{valor}	-	0,0000	0,0000	1,0000	-	0,2927	
F_{st}	0,4190	-0,0090	0,0050	0,1960	0,2860	0,0410	0,1530

Tabela 2 – Variabilidade genética das duas populações de *L. vannamei* para os seis locos de microssatélites estudados.

Fonte: Elaborado pelo autor.

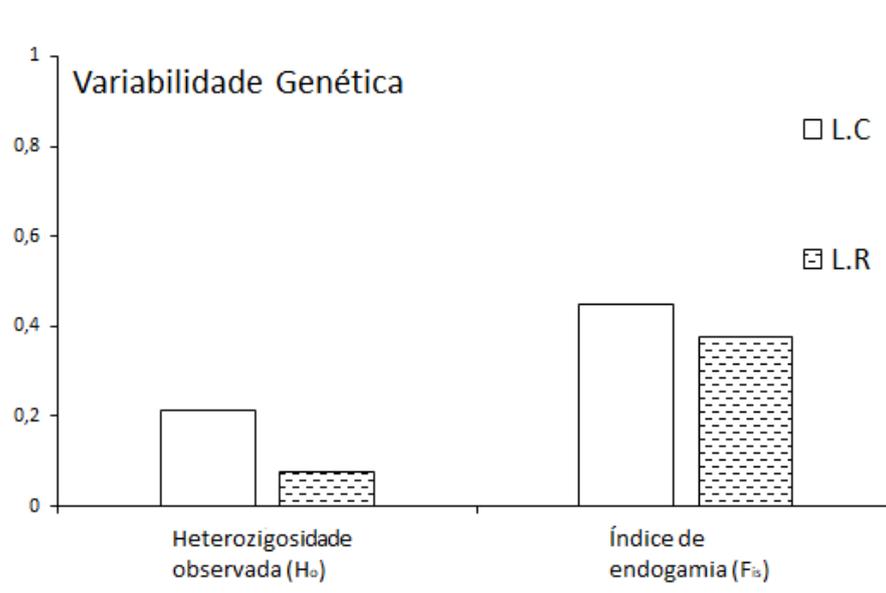


Figura 1 - Frequências de heterozigidade observada (H_o) e índice de endogamia (F_{is}) de ambas as linhagens estudadas.

Fonte: dados da pesquisa.

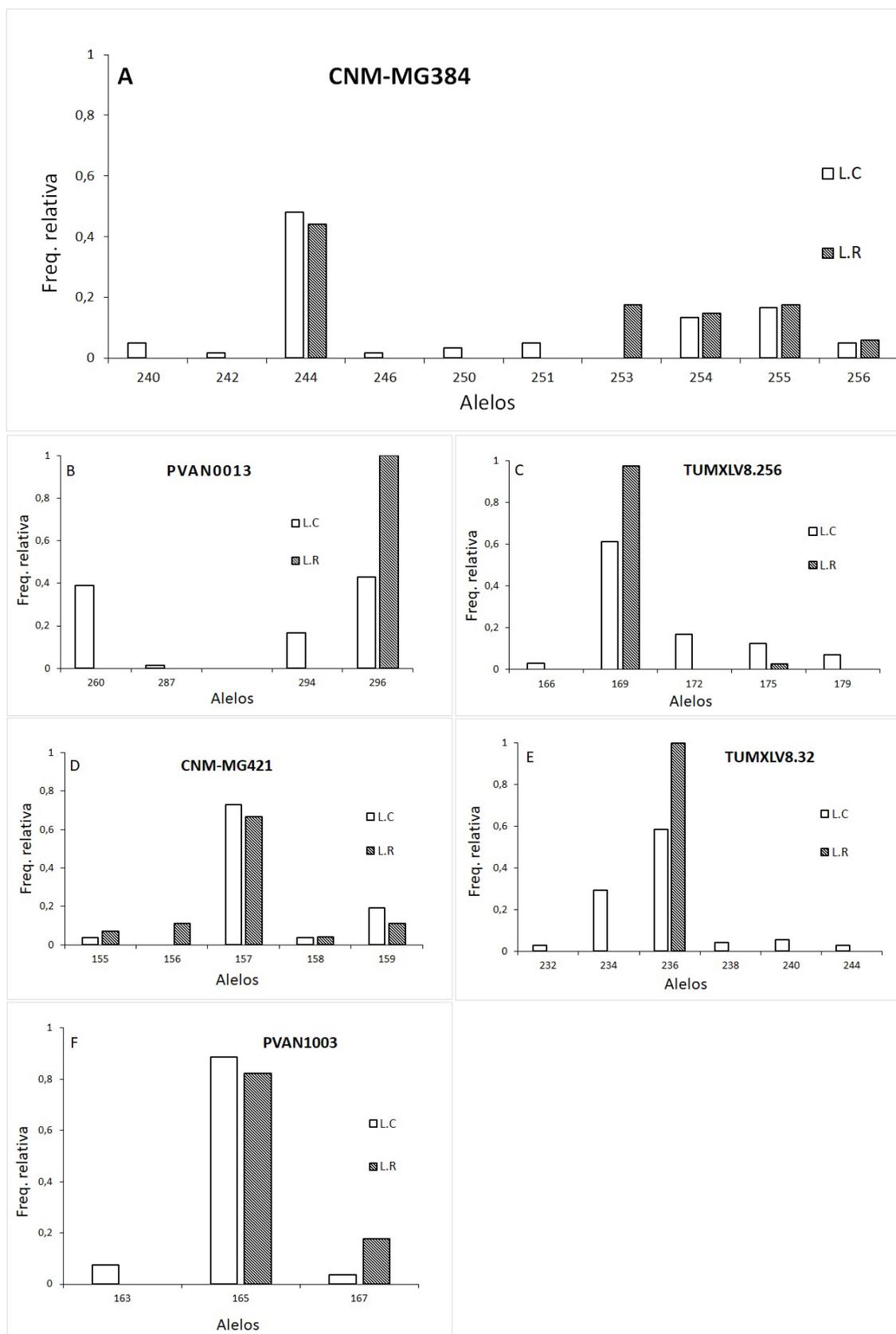


Figura 2 - Frequência alélica dos 6 locos microssatélites analisados: A) CNM-MG384; B) PVAN0013; C) CNM-MG421; D) TUMXLV8.256; E) TUMX LV8.32 e F) PVAN1003. L.R e L.C representam a linhagem de resistência e linhagem de crescimento respectivamente.

Os valores de (F_{IS}) indicaram elevado índice de endogamia para ambas as linhagens do estudo (L.C= 0,4482 e L.R=0,3777), estes valores representam uma média obtida a partir de todos os locos analisados, no qual, todos, com exceção do

loco TUMXLV8.256, observou-se índice elevado. O índice de diferenciação genética entre as linhagens estudadas foi representativo ($F_{ST} = 0,1530$).

Os locos TUMXLV8.32 e PVAN0013 apresentaram-se monomórficos (apenas um alelo) na linhagem de resistência, esse fato impediu a obtenção dos dados de heterozigosidade e equilíbrio de Hardy-Weinberg para esses marcadores. Com base nos outros locos a linhagem de resistência apresentou menor frequência de heterozigotos ($H_o = 0,0745$) ao comparado à linhagem de crescimento ($H_o = 0,2147$).

5 | DISCUSSÃO

Foi possível determinar com eficiência os genótipos para ambas as linhagens estudadas com o auxílio dos painéis multiplex de microssatélites desenvolvidos por Forte (2014).

As linhagens selecionadas para o crescimento tendem a apresentar alto nível de homozigose, pois visam à homogeneidade de tamanho e a alta taxa de crescimento, desse modo tornando-as mais suscetíveis a doenças infecciosas. Enquanto linhagens selecionadas para a resistência a enfermidades, podem apresentar maior número de heterozigotos, bem como redução nas taxas de crescimento (BENZIE, 2009; NOGUEIRA, 2016). No presente estudo observou-se uma característica oposta, no qual foi observado maior número de heterozigotos na linhagem de crescimento (L.C) frente à linhagem de resistência (L.R).

Foi observado que a intensa pressão de seleção para a característica de resistência ao IMNV, bem como o histórico de manejo da empresa, parece estar tanto reduzindo a variabilidade de L.R como reduzindo o índice de endogamia. Essa configuração genética pode ser obtida a partir de um forte efeito gargalo impregnada na fundação destas populações, associado a um manejo voltado para a manutenção da variabilidade genética da linhagem (MAGGIONI et al., 2013). Contudo, este cenário corrobora com as limitadas informações de histórico de manejo levantadas para esta linhagem comercial.

A estratégia de melhoramento utilizada para seleção à resistência ao IMNV utilizada pelo empreendimento de origem dos camarões analisados no experimento consiste na exposição direta de inúmeras famílias de *L.vannamei* a doses sub-letais do IMNV. Os sobreviventes de cada geração em cada família são selecionados como reprodutores da linhagem de resistência, contudo, toda esta linhagem é fruto de um mesmo par de reprodutores obtidos a mais de 10 anos, de acordo com as informações do empreendimento.

Para a linhagem selecionada para o crescimento (L.C) tanto variabilidade genética quanto o índice de endogamia mostraram-se muito superior à linhagem de resistência. Novamente este cenário parece está de acordo com a estratégia de manejo utilizada para seleção da característica de crescimento pelo laboratório comercial em questão. As informações adquiridas relatam que as pós-larvas são geradas

a partir do cruzamento de diversas linhagens de caráter homozigoto selecionadas para o crescimento. Estes cruzamentos geram uma prole com maior característica heterozigótica, permitindo explicar a grande desproporção entre a heterozigosidade observada e esperada, e também o alto índice de endocruzamento observado.

A diversidade observada entre as frequências alélicas de L.C e L.R foi comprovada e seguramente representam o acúmulo de diferenças genéticas presentes entre ambas as populações comerciais analisadas no trabalho. Estas diferenças são fortemente apoiadas no elevado índice de diferenciação genética observada. Resultados análogos já foram observados em outras pesquisas utilizando linhagens de camarão marinho cultivado no Brasil. (FREITAS & GALETTI JUNIOR, 2002; FRANCISCO & GALETTI JUNIOR, 2005; MAGGIONI, 2013).

6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os conjuntos de genotipagem mostram-se eficientes, possibilitando as estimativas de variabilidade genética, que foram concisas, indicado reduzida variabilidade e traços de endocruzamento em ambas as populações. Em divergência ao esperado, a linhagem de resistência apresentou menor variabilidade frente à linhagem de crescimento. Toda via, estes resultados corroboram com os dados levantados pelo histórico de manejo dos empreendimentos.

REFERÊNCIAS

ABCC. **Revista Associação Brasileira de Produtores de Camarão**, edição Junho de 2016. Rua Valdir Targino 3625 Candelária, Natal, RN: [s.n.], 2016. Disponível em: <<http://abccam.com.br/site/revista-abcc-edicao-junho-de-2016/>>. Acesso em: 26 nov. 2017.

ABCC. **Revista Associação Brasileira de Produtores de Camarão**, edição Junho de 2017. Rua Valdir Targino 3625 Candelária, Natal, RN: [s.n.], 2017. Disponível em: <<http://abccam.com.br/site/wp-content/uploads/2017/06/REVISTA-ABCC-EDI%C3%87%C3%83O-JUNHO-2017.pdf>>. Acesso em: 26 nov. 2017.

BENZIE, J.A.H. **Population genetic structure in penaeid prawns**. *Aquaculture Research*, v. 31, n. 1, p. 95–119, 2000.

BENZIE, J.A.H. (2009). **Use and exchange of genetic resources of penaeid shrimps for food and aquaculture**. *Reviews in Aquaculture*, v. 1, n. 3-4, p. 232-250.

BRAVINGTON, M. V. e WARD, R. D. **Microsatellite DNA markers: evaluating their potential for estimating the proportion of hatchery-reared offspring in a stock enhancement programme**. *Molecular Ecology*, v. 13, p. 1287–1297, 2004.

CHISTIYAKOV, D.A; HELLEMANS, B; VOLCKAERT, F. A. M. **Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics**. *Aquaculture*, v. 255, n. 1-4, p. 1–29, 2006.

FALCONER, D.S. **Introdução à genética quantitativa**, Trad. SILVA, M.A. & SILVA, J.C. Viçosa, UFV. Imprensa Universitária, 1987. 279p

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2012**. Roma: FAO, p.230, 2012.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2014**. Roma: FAO, p.40, 2014

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. FAO. 2016. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2016**. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200

FORTE, J. M. **Aplicações de marcadores moleculares nas principais espécies da aquicultura do nordeste brasileiro**. UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR, 2014. Disponível em: <<http://www.repositoriobib.ufc.br/00001a/00001ab5.pdf>>.

FRANCISCO, A.K; GALETTI JUNIOR, P.M. **Genetic distance between broodstocks of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* (Decapoda, Penaeidae) by mtDNA analyses**. Genetics and Molecular Biology, v.28, p.258-261, 2005. DOI: 10.1590/S1415-47572005000200014.

FREITAS, P.D; GALETTI JUNIOR, P.M. **PCR-based VNTR core sequence analysis for inferring genetic diversity in the shrimp *Litopenaeus vannamei***. Genetics and Molecular Biology, v.25, p.431-434, 2002. DOI: 10.1590/S1415-47572002000400012.

GJEDREM, T; BARANSKI, M. **Selective Breeding in Aquaculture: An Introduction**, pp. 221. Springer, New York, 2009.

GOUDET, J. FSTAT (vers.1.2): **a computer program to calculate F-statistics**. Journal of Heredity, v.86, n., p.485–186, 1995.

HENEGARIU, O; HEEREMA, N.A., DLOUHY, S.R; VANCE, G.H; VOGT, P.H. **Multiplex PCR: Critical Parameters and Step-by-Step Protocol**. BioTechniques, v.23, p.504-511, 1997.

LIGHTNER, D.V. **Epizootiology, distribution and the impact on international trade of two penaeid shrimp viruses in the Americas**. Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties. v. 15, p.579-601. 1996b

LIGHTNER, D.V. **Virus diseases of farmed shrimp in the Western Hemisphere (the Americas): A review**. Journal of Invertebrate Pathology, v. 106, n. 1, p. 110–130, jan. 2011

LIU, Z.J; CORDES, J.F. **DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics**. Aquaculture, v. 238, n. 1-4, p. 1–37, 2004

MAGGIONI, R. et al. **Genetic variability of marine shrimp in the Brazilian industry**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 48, n. 8, p. 968–974, 2013.

MEEHAN, D. et al. **High frequency and large number of polymorphic microsatellites in cultured shrimp, *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* [Crustacea:Decapoda]**. Marine biotechnology, v. 5, n. 4, p. 311–30, 2003.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**, 2010. Brasília, 2012.

MONTALDO, H. H. et al. **Evaluation of genetic variability loss in a captive population of Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* using microsatellite and pedigree information**. Electronic Journal of Biotechnology, v. 16, n. 4, 2013.

NOGUEIRA, L.F.F. **Análise do Snp C892t do Gene Hsp70 como marcador de resistência do**

camarão *Litopenaeus vannamei* ao vírus da mionecrose infecciosa - IMNV. UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR, 2016. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/17883>>.

NUNES, A.J.P.; MARTINS, P.C.; GESTEIRA, T.C. **Carcinicultura Ameaçada. Panorama da Aquicultura.** Rio de Janeiro.v. 14.p.37-57. jun. 2004.

PÉREZ, F. et al. **Development of EST-SSR markers by data mining in three species of shrimp: *Litopenaeus vannamei*, *Litopenaeus stylirostris*, and *Trachypenaeus birdy*.** Marine biotechnology (New York, N.Y.), v.7, n.5, p. 554–69, 2005.

OIE. **International Aquatic Animal Health Code and Diagnostic Manual of Aquatic Animal Diseases**, 5th Edn. Office International de Epizooties, Paris. (http://www.oie.int/eng/normes/en_acode.htm). 2002.

RAYMOND, M; ROUSSET, F. **GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism.** Journal Heredity, v.86, p.248-249, 1995.

ROCHA, I.P. **Panorama da carcinicultura brasileira em 2007. Panorama da Aqüicultura**, 104: 26-31. 2007.

ROCHA, I.P; ROCHA, D.M. **Produção Mundial de Camarão: principais produtores, mercados e oportunidades para o Brasil.** Revista da ABCC. Ano XI nº1: p. 50-59, 2009

SAMBROOK, J. et al. **Molecular cloning: A laboratory manual.** 2nd ed. Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor, 1989.

VALLES-JIMENEZ, R.; CRUZ, P.; PEREZ-ENRIQUEZ, R. **Population genetic structure of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: microsatellite DNA variation.** Marine Biotechnology, v.6, n.5, p. 475–84, 2005.

SOBRE OS ORGANIZADORES

TAYRONNE DE ALMEIDA RODRIGUES Filósofo e Pedagogo, especialista em Docência do Ensino Superior e em Biodiversidade. Desenvolve pesquisas na área das ciências ambientais, filosofia do ensino, educação ambiental e ética. É defensor do desenvolvimento sustentável, com relevantes conhecimentos no processo de ensino-aprendizagem. E-mail: tayronnealmeid@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9378-1456>

JOÃO LEANDRO NETO Filósofo, especialista em Docência do Ensino Superior e Gestão Escolar. Publica trabalhos em eventos científicos com temas relacionados a pesquisa na construção de uma educação valorizada e coletiva. Dedicar-se a pesquisar sobre métodos e comodidades de relação investigativa entre a educação e o processo do aluno investigador na Filosofia, trazendo discussões neste campo. Também é pesquisador da arte italiana, com ligação na Scuola de Lingua e Cultura – Itália. Amante da poesia nordestina com direcionamento as condições históricas do resgate e do fortalecimento da cultura do Cariri. E-mail: joaoleandro@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1738-1164>

DENNYURA OLIVEIRA GALVÃO Possui graduação em Nutrição pela Universidade Federal da Paraíba, mestrado pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte e doutorado em Ciências Biológicas (Bioquímica Toxicológica) pela Universidade Federal de Santa Maria (2016). Atualmente é professora titular da Universidade Regional do Cariri. E-mail: dennyura@bol.com.br LATTES: <http://lattes.cnpq.br/4808691086584861>

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-448-1

