

CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE OSTRAS *Crassostrea* spp. DA REGIÃO DE GRACIOSA E SANTIAGO DO IGUAPE - BA, POR MEIO DE MARCADORES ISSR

Rafael Bittencourt VIEIRA^{1*}; Darcilúcia Oliveira do Carmo de ALMEIDA^{2*}; Ricardo Franco Cunha MOREIRA³; Soraia Barreto Aguiar FONTELES³; Norma Suely Evangelista-BARRETO³; Karina Zanoti FONSECA³.

¹ Engenheiro de Pesca, Mestrando em Ciência Animal - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

² Bolsista PNP/CAPEs, Programa Ciência Animal- Núcleo de Engenharia de Pesca e Aquicultura, UFRB.

³ Professor (a) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

*e-mails: rafabvieira@yahoo.com.br; darciluciac@yahoo.com.br

Recebido em 17/08/2016

Resumo - A atividade de ostreicultura de espécies nativas no Brasil, geralmente, é realizada de forma empírica e carece de desenvolvimento de tecnologia para se consolidar. A genética se apresenta como uma importante ferramenta nessa busca. A caracterização genética e a determinação da variabilidade genética das populações naturais são os primeiros passos a serem dados no sentido de se desenvolver a atividade de forma comercial. No presente trabalho foi realizado um estudo, por meio de marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*), sobre a genética de trinta e três exemplares de ostras do gênero *Crassostrea* provenientes de Graciosa, sub-região do baixo sul, município de Taperoá, Bahia e trinta e três provenientes de Santiago do Iguape, banhado pela baía do Iguape, povoado pertencente ao município de Cachoeira, Bahia. As populações estudadas apresentaram alta variabilidade genética intrapopulacional. A variabilidade se mostrou maior entre os indivíduos de cada população do que entre as duas populações. Portanto, as populações de ostras estudadas oferecem a possibilidade de formação de plantel com boa diversidade genética, permitindo a utilização em cultivos e em programas de conservação. Devido a grande variabilidade genética encontrada, não foi possível caracterizar geneticamente as populações de *Crassostrea* spp. A prática realizada com marcador ISSR se apresentou efetiva e permitiu inferir com segurança sobre a variabilidade genética das populações amostradas. Cita-se, portanto, que mais estudos devem ser realizados com pontos de coleta compreendidos, geograficamente, entre a região de Graciosa e Santiago do Iguape, a fim de se construir um mapeamento da interação genética entre as duas populações.

Palavras-Chave: Variabilidade genética, População natural, Ostreicultura

CHARACTERIZATION GENETICS OF OYSTERS *CRASSOSTREA* spp. GRACIOSA REGION AND IGUAPE SANTIAGO - BA, BY MEANS OF MARKERS ISSR

Abstract - The oyster farming activity of native species in Brazil usually is carried out empirically and lacks technology development to consolidate. The gene appears as an important tool in this quest. Genetic characterization and the determination of the genetic variability of natural populations are the first steps to be taken in order to develop commercial activity form. In this work a study was conducted by ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) markers on the genetics of 33 gender oyster copies *Crassostrea* from Graciosa, from down south sub-region, the municipality of Taperoá, Bahia and 33 from Santiago do Iguape, bathed in the bay Iguape, village in the municipality of Cachoeira, Bahia. The populations studied showed high genetic variability intra population, however, the variability was larger among individuals of each population than between the two populations. Therefore, the populations studied oysters offer the possibility of squad

training with good genetic diversity allowing its use in crops and conservation programs. Due to the great genetic variability found, was not genetically characterize populations of *Crassostrea* spp. The practice carried out with ISSR marker performed effectively and safely possible to infer on the genetic variability of the sampled populations. Quotes, therefore, that further studies should be carried out with collection points understood geographically between the region of Graciosa and Santiago do Iguape in order to build a mapping of genetic interaction between the two populations.

Keywords: Genetic variability, Natural populations, Oyster farming

INTRODUÇÃO

Definidas como moluscos bivalves, filtradores, pertencentes a família *Ostreidae* (RIOS, 1994) as ostras são utilizadas como fonte de alimento desde a antiguidade. Contudo, a atividade de ostreicultura teve início no século XIX na França, por meio de cultivos em balsas flutuantes (MARQUES, 1997).

As ostras são organismos que apresentam crescimento rápido e são encontradas em várias partes do mundo, inclusive em todo o litoral baiano (SILVA, 2007). A atividade extrativista sobre os estoques de ostras nativas no Brasil evidencia a existência de recursos naturais, que têm potencialidades para exploração econômica, o clima tropical do litoral da Bahia viabiliza o cultivo e o torna uma boa opção de geração de alimento e renda (SILVA, 2007; GRADVOHL, 2014).

Na reprodução das ostras ocorre a liberação de óvulos e espermatozoides na água, pelas fêmeas e pelos machos, respectivamente. Os óvulos, quando fecundados, eclodem dando início a fase larval, pelágica, movimentando-se por meio das correntes, que possibilitam o deslocamento dos indivíduos (MELO, 2010). Nessa fase, as ostras são denominadas sementes (POLI, 2006).

As ostras são capturadas sem separação por espécie. Há diferenças quanto à coleta entre as espécies. A coleta da ostra de mangue é comparativamente mais fácil por ela estar fixa às raízes, sendo assim de fácil acesso, enquanto para a ostra de pedra, esta é coletada por meio de mergulho por estar fixada ao substrato e em local com profundidade relativamente grande (SANTOS et al, 2016).

O cultivo de ostras consiste, basicamente, em coletar as sementes na natureza ou adquiri-las de laboratórios produtores, acondicioná-las em uma espécie de gaiola chamada de lanterna e mantê-las em água livre de contaminação e com boa quantidade de matéria orgânica, essa última será filtrada e utilizada como alimento. A identificação das espécies de ostras na fase de semente é importante para determinar a disponibilidade de larvas no ambiente, uma vez que se devem selecionar os pontos mais adequados para captação de larvas e subsidiar atividades de cultivo adequadas à espécie na região (SIQUEIRA, 2008); as condições ideais para o crescimento das ostras mantidas nas lanternas são oferecidas pelo ambiente, o local de cultivo será determinado pelas condições naturais do local a ser escolhido pelos produtores (POLI, 2006).

Na costa brasileira, o cultivo de ostras da espécie *Crassostrea* spp. tem um grande potencial de desenvolvimento, devido à extensão do litoral aliado às características oceanográficas favoráveis (POLI, 2006; SIQUEIRA, 2008).

O Brasil possui diversos recursos naturais, dentre eles as ostras *Crassostrea* spp, todavia, é

um país que carece de desenvolvimento de pesquisa, que permita o melhor aproveitamento dessa riqueza no sentido de se extinguirem os grandes problemas sociais e diferenças econômicas existentes (SIQUEIRA, 2008). A implantação de uma ostreicultura melhorada com a utilização das novas tecnologias disponíveis incluindo a genética, utilizando espécies nativas pode diminuir a pressão sobre as populações naturais e, concomitantemente, elevar a produtividade. Além de melhorar a renda das comunidades, pois a atividade beneficia os pescadores artesanais, promovendo a permanência desses no local de origem por meio da geração de empregos e renda (PEREIRA et al, 2000; SIQUEIRA, 2008). O cultivo de ostras gera maior receita do que o de outros moluscos por necessitar de pouca ou quase nenhuma mão de obra, embora haja algum custo de implantação. Devido a esse fator a procura pela atividade na forma comercial tem aumentado (SEBRAE, 2010).

De acordo com o boletim de estatística divulgado, em 2012, pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) a captura de ostras no Brasil no ano de 2011 foi de 1.233,7 t. Já a produção de cultivos no Brasil em 2011 somou 2.538,4 t de ostras (MPA, 2012).

O plano de desenvolvimento para a aquicultura brasileira – 2015/2020 lançado em 2015 pelo MPA prevê investimento da ordem de R\$500.000.000,00 na aquicultura brasileira e estipula a meta de incremento da produção nacional de ostras em 10.000 toneladas até 2020 (MPA, 2015). As espécies exploradas nos cultivos brasileiros são representadas, em grande parte, pela *Crassostrea gigas*, que apresenta grande produção no sul do Brasil, porém essa é exótica e só se adapta em águas com temperaturas mais amenas (MELO, 2010). A ostra nativa *Crassostrea* spp. carece, ainda, de tecnologia que permita melhor desenvolvimento em seu cultivo (GRADVOHL, 2014). A genética pode e deve ser utilizada continuamente no sentido de se incrementar a produção, uma vez que se trata de uma ferramenta eficaz para melhorar diversas variáveis, tais como: velocidade de crescimento e sobrevivência (PEREIRA et al, 2000). A ostra nativa é bem aceita pelo mercado consumidor, portanto fatores como variabilidade e melhoramento genético devem estar presentes na pauta de quem busca ampliar e se profissionalizar na atividade de ostreicultura (SIQUEIRA, 2008).

A técnica de microssatélites identifica regiões do genoma, que contêm número variável entre uma a cinco bases de repetições em tandem (HILLIS et al., 1996). São classificados em quatro grupos: 1) compostos (GAGAGAATATATAT); 2) imperfeitos (AGAGAGTGAGAG); 3) interrompidos (AGAGCCCAGAG) e 4) perfeitos (ACACACACACAC). Tais regiões são amplificadas via PCR e são úteis em estudos genéticos por serem altamente polimórficos e estarem amplamente distribuídos pelo genoma, os microssatélites vem sendo empregados em estudos de

âmbito populacional e comportamental de diferentes espécies (BORÉM e CAIXETA, 2009).

Espera-se que o levantamento realizado neste trabalho possa contribuir com informações consistentes sobre as populações de ostras nativas brasileiras, permitindo a preservação e o cultivo de forma mais efetiva, contribuindo no avanço da ostreicultura da ostra do mangue de forma comercial, como já ocorre com o cultivo da *Crassostrea gigas* no estado de Santa Catarina (MELO, 2010).

Com isso, objetivou-se verificar a variabilidade genética entre as populações amostradas na região de Taperoá e Santiago do Iguape, utilizando marcadores ISSR. As espécies do gênero *Crassostrea* são cultivadas na região de Graciosa pertencente ao município de Taperoá, Bahia (13°33'59.5"S, 38°57'28.6" O), e Santiago do Iguape (12°41'04.18" S, 38°51'39.15" O), banhado pela baía do Iguape, povoado pertencente ao município de Cachoeira, Bahia. Esses locais se distanciam por aproximadamente 100 km que é basicamente a mesma distância de alcance das sementes de ostra *Crassostrea gigas* cultivadas em Santa Catarina no sul do Brasil (MELO, 2010).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados trinta e três exemplares de ostra do gênero *Crassostrea* (Figura 01 A) provenientes de Graciosa, sub-região do baixo sul, município de Taperoá, Bahia e trinta e três provenientes de Santiago do Iguape, banhado pela baía do Iguape, povoado pertencente ao município de Cachoeira, Bahia (Figura 01 B).



Figura 01 – Espécimes de *Crassostrea* spp coletadas em Santiago do Iguape (A). Mapa do Estado da Bahia indicando os pontos de coleta de *Crassostrea* spp realizadas no estudo (B).
Fonte: INPE e Libra Developmenseed

As ostras foram obtidas de cultivos particulares e foram transportadas vivas ao Laboratório

de Genética de Organismos Aquáticos (LAGOA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Após a coleta, as ostras foram colocadas em recipiente higienizado. Já no laboratório foi retirado 1cm³ de material biológico proveniente do músculo adutor de cada exemplar. Foram testados doze *primers* ISSR (Tabela 01), desses foram escolhidos os cinco por se apresentarem mais informativos.

Tabela 01: Relação dos *Primers* ISSR testados e das temperaturas de anelamento utilizadas

Número do <i>Primer</i>	Sequência de bases do <i>Primer</i>	Temperatura °C
ISSR 10	(GA)8YG	54 e 56
ISSR 11	(CT)8RA	54 e 56
ISSR 12	(AC)8YG	54 e 56
ISSR 13	GGACGGACGGACA	54 e 56
ISSR 14*	GGACGGACGGACC	54 e 56*
ISSR 15*	GGACGGACGGACT	54 e 56*
ISSR 16	AACCAACCAACCAACC	54 e 56
ISSR 17*	GGACGGACGGACGGAC	54 e 56*
ISSR 18	TAGGTAGGTAGGTAGG	54 e 56
ISSR 19*	GACAGACAGACAGACA	54 e 56*
ISSR 20	GGATGGATGGATGGAT	54 e 56
ISSR 21*	AAGCAAGCAAGCAAGC	54 e 56*

* Cinco *Primers* ISSR escolhidos e das temperaturas de anelamento utilizados no trabalho

Foi utilizado o protocolo Fenol-clorofórmio, descrito por Sambrook et al (1989), para extração de DNA total a partir de tecido de organismos aquáticos, como descrito no Quadro 01.

Quadro 01: Método de extração de DNA total a partir de tecido de organismos aquáticos descrito por Sambrook et al (1989).

Passo	Diretriz
01	Colocar um pequeno pedaço de tecido que já estava fixado em álcool em um micro tubo tipo eppendorf. Cortar em pequenos pedaços, com o cuidado de lavar com água destilada e secar as tesouras e pinças utilizadas antes de passar para outra amostra (evitar contaminação) e deixar 2h na estufa a 37° C para retirar o excesso de álcool da fixação.
02	Adicionar o tampão de extração: 4µl (microlitros) de Tris-Cl 1M pH 8,0 + 160µl de EDTA 0,25M Ph 8,0, em cada tubo eppendorf.
03	Adicionar 20 µl de SDS 10% (espécie de sabão para limpar o material).
04	Nessa etapa completa-se com 216 µl de água destilada.
05	Levar a estufa a 37° C por uma hora.
06	Colocar 2 µl de Proteinase K (20µl/ml), deixar overnight.
07	Adicionar de 1 volume de fenol – agitar durante 15 min; (+ ou – 400 µl).
08	Centrifugar por 5 min. a 6000 RPM; em outro tubinho conservar o sobrenadante.
09	Por 1 volume de fenol de igual valor (+ ou - 350 µl) – agitar durante 15 min.
10	Centrifugar por 5 min. a 6000 rpm; em outro tubinho conservar o sobrenadante (retirar agora 300 µl) e descartar o material que precipitou (de baixo).
11	Por um volume de igual valor de Álcool isoamílico-clorofórmio (1:20), (agora 300 µl) e agitar por 15 min.
12	Centrifugar por 10 min a 6000 rpm; em outro tubinho conservar o sobrenadante (retirar agora 250 µl) e descartar o material que precipitou (de baixo).
13	Por NaCl 6M em um volume correspondente a 10% do volume final.
14	Agitar cuidadosamente.
15	Por etanol absoluto gelado em um volume correspondente a 2,5 x o volume que ficou no tubo; Agitar cuidadosamente e verificar se forma a nuvem de DNA.
16	Centrifugar por 5 min a 13000 rpm
17	Lavar com etanol a 70% (+ ou – 1 ml).
18	Centrifugar por 5 minutos a 13000 rpm.
19	Por os tubinhos de ponta cabeça para secar em papel de filtro e deixar overnight.
20	No dia seguinte diluir em TE (tampão) +/- 100 µl, deixar 48 h na estufa a 37° C para diluir bem o DNA.
21	Levar ao espectrofotômetro para medir a concentração e o volume de cada amostra.
22	Verificar a necessidade de se aplicar RNase em alguma amostra que não se apresente satisfatoriamente.
23	Estocar em freezer a -20 ⁰ C.

As amostras de DNA selecionadas foram diluídas a taxa de 1: 20 µl e submetidas ao processo de amplificação pela reação em cadeia de polimerase, PCR. Esse processo foi realizado com a utilização do Termociclador Veriti da marca Applied Biosystems, empregando-se *primers* tetranucleotídicos de sequência repetitiva simples (ISSR - *Inter Simple Sequence Reapets*). As amostras foram levadas a corridas eletroforéticas em gel de agarose a 2,0%, em tampão TBE 1x, corados com 4 µL de brometo de etídio e levadas à cuba de eletroforese. As corridas eletroforéticas ocorreram com voltagem de 60 V e 100 mA durante duas horas e quarenta e cinco minutos. A tabela de códigos binários construída utilizou como base a presença ou ausência de bandas reproduzíveis do marcador dominante visualizadas nos géis de agarose, admitindo um (1) para presença e (0) para a ausência de banda.

Para avaliar a variação significativa entre as populações do estudo, foi realizada a análise de variância molecular (AMOVA; Excoffier et al, 1992) por meio do programa computacional

ARLEQUIN 3.01. A avaliação do fluxo gênico (N_m), a diversidade genética (G_{ST}), a Diversidade de gene de Nei (H), o índice de Shannon (I) e a Porcentagem de bandas polimórficas (PBP) foram realizados no programa POPGENE versão 1.32 (YEH & BOYLE, 1997). O dendrograma foi obtido com base na distância genética de Nei (1978) pelo método par a par de médias ponderadas (UPGMA), com 1000 permutações de *bootstrap* com o uso do programa computacional MEGA 6.06 (TAMURA et al, 2013).

RESULTADOS

Utilizando-se como base os resultados da análise de variância molecular (AMOVA) e o índice de fixação da população total (F_{ST}), presentes na Tabela 02, em que se observa que 81,35 % da variação total se encontra dentro das populações e 18,65 % entre as populações, portanto há maior variação genética dentro das populações do que entre as populações com significância estatística. Observa-se, também, o Índice de fixação população total de 0,18646.

Tabela 02: Análise de variância molecular dentro e entre as populações da espécie *Crassostrea spp.*

Fontes de Variação	Grau de Liberdade (gl)	Soma dos quadrados	Componentes de variância	Percentual de variação
Entre populações	1	66.076	1.76848 Va	18.65%
Dentro das populações	64	493.818	7.71591 Vb	81.35%
Total	65	559.894	9.48439	

*Índice de fixação População total $F_{ST}=0,18646$

Na Tabela 03 estão apresentados os resultados referentes às medidas de comparação de distância genética de Nei (1972) das populações do estudo. Foi observado que as medidas para comparação da distância genética variaram de 0,0521 a 0,9493, o valor máximo estimado da distância de Nei ficou entre a população de cultivo de Graciosa e o valor mínimo em Santiago do Iguape.

Tabela 03: Distância genética de Nei (1972) (diagonal superior) e distância genética (diagonal inferior) por comparação par a par entre as populações cultivadas da espécie *Crassostrea spp.*

Locais	Graciosa	Santiago do Iguape
Graciosa	****	0.9493
	0.0521	****

Os resultados presentes na Tabela 04 indicam que o índice de Shannon (I) apresenta que a diversidade entre as populações variou de 0,4177($\sigma\pm 0,2151$) na população de Graciosa e 0,3500 ($\sigma\pm 0,2399$) para a população de Santiago do Iguape. A média de diversidade genética de Nei teve variação entre 0,2700 ($\sigma\pm 0,1627$) e 0,2233 ($\sigma\pm 0,1755$), sendo a menor média apresentada pelas amostras de cultivo de Santiago do Iguape e a maior média pelas de Graciosa. O valor inferido no número de alelos observados encontra-se entre 1,9216 ($\sigma\pm 0,2715$) para Graciosa e 1,8627 ($\sigma\pm 0,3475$) para Santiago do Iguape. Para o número de alelos efetivos a população de Graciosa apresentou 1,4407($\sigma\pm 0,3304$) e a população de Santiago do Iguape, uma vez mais, apresentou valores menores, da ordem de 1,3619 ($\sigma\pm 0,3419$).

Tabela 04: Diversidade genética entre populações cultivadas da espécie *Crassostrea spp.*

Locais	na	ne	H	I	n° de loci polimórficos	% de loci polimórficos
Graciosa	1,9216 ($\sigma\pm 0,2715$)	1,4407 ($\sigma\pm 0,3304$)	0,2700 ($\sigma\pm 0,1627$)	0,4177 ($\sigma\pm 0,2151$)	47	92,16
Santiago do Iguape	1,8627 ($\sigma\pm 0,3475$)	1,3619 ($\sigma\pm 0,3419$)	0,2233 ($\sigma\pm 0,1755$)	0,3500 ($\sigma\pm 0,2399$)	44	86,27

*na = número de alelos observados

*ne = número efetivo de alelos

*H = diversidade genética de Nei (1972)

*I = índice de informação de Shannon

Com base na Tabela 05, observou-se que a diversidade genética total (H_T) para todas as populações foi de 0,2659 ($\sigma\pm 0,0206$) e a diversidade esperada (H_S) 0,2466 ($\sigma\pm 0,0177$). A diferenciação genética estimada pela média (G_{ST}) resultou em 0,0725 e o número de migrantes nas populações indicado pelo fluxo gênico, resultou 6,3929.

Tabela 05: Estimativa de diversidade genética, diferenciação populacional (G_{ST}) e fluxo gênico (N_m) entre populações cultivadas da espécie *Crassostrea spp.*

	H_T	H_S	G_{ST}	N_m
População total	0,2659 ($\sigma\pm 0,0206$)	0,2466 ($\sigma\pm 0,0177$)	0,0725	6,3929

* H_T = diversidade total

* H_S = diversidade esperada

* G_{ST} = diferenciação populacional

* N_m = estimativa do fluxo gênico

Observa-se na Tabela 06 que a porcentagem de Polimorfismo chegou a 92,16% nas amostras de Graciosa, provocado pela localização de quarenta e sete locos polimórficos e a 86,27% nas amostras de Santiago do Iguape correspondentes a presença de quarenta e quatro locos polimórficos. A análise de agrupamento gerou o dendrograma exposto na Figura 2, agrupando as populações de Graciosa e Santiago do Iguape no mesmo lado.

Tabela 06: Polimorfismo das populações da espécie *Crassostrea spp.* analisadas no trabalho.

Locais	Número de polimorfismo	Porcentagem de polimorfismo %
Graciosa	47	92.16
Santiago do Iguape	44	86.27

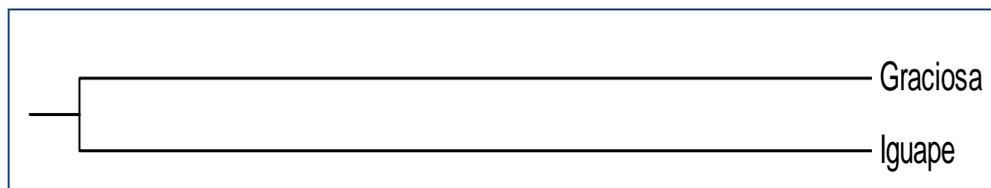


Figura 2: Dendrograma derivado por meio de UPGMA (Unweighted pair group method, arithmetic mean) das duas populações cultivadas de *Crassostrea spp* baseado na distância genética de Nei (Nei, 1972).

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos indicam que as técnicas genéticas utilizadas foram capazes de atender parte das perguntas realizadas, sanando a maioria os questionamentos impulsores do estudo. Esse fato vai ao encontro do que afirmaram Varela et al (2007), segundo estes autores, a genética moderna é imprescindível no entendimento e compreensão dos sistemas biológicos, permitindo a assimilação dos processos naturais, a fim de reproduzi-los em ambientes artificiais ou naturais com o intuito de preservar as espécies, incrementar a produção e oferecer longevidade ao processos produtivos.

Os marcadores ISSR foram aplicados com o objetivo de avaliar a diversidade genética entre as populações de *Crassostrea spp* de duas populações de cultivo localizadas em Graciosa e Santiago do Iguape. Por meio dos resultados obtidos no trabalho pode-se inferir que os marcadores

moleculares utilizados se mostraram eficientes na geração de informações sobre as populações de *Crassostrea* spp. De acordo com Andrade (2014), no marcador ISSR a taxa evolutiva de mudanças é consideravelmente mais alta do que em qualquer outro tipo de marcador de DNA, aumentando a probabilidade de polimorfismos nessas sequências. Dessa forma, o marcador escolhido propiciou o cumprimento dos objetivos propostos no trabalho.

Por meio das análises pode-se inferir que as duas populações de *Crassostrea* spp estudadas possuem baixa variabilidade entre si (18,65%), porém apresentam alta taxa de variabilidade genética (81,25%) entre os espécimes de cada população separadamente. Todavia observou-se que a diversidade genética total (HT) foi maior que a diversidade esperada (H_s). De acordo com Alarcón et al (2004), a diversidade genética é uma importante característica de espécies que estão em processo de domesticação, pois aquelas com níveis mais elevados de diferenciação são mais propensas a apresentar atributos genéticos para características produtivas.

A diferença entre a variabilidade genética de cada população na AMOVA pode ser atribuída a interação do genótipo com o meio, pois essa interação ocorre nos organismos e provoca modificações genótípicas e fenotípicas (KANG, 1998). Fatores como diferença de salinidade e temperatura relativas às condições físico-químicas da água nos pontos de coleta poderiam ocasionar diferenças genótípicas e fenotípicas interferindo na variabilidade genética de cada população. A interação do genótipo com o meio torna os organismos vivos passíveis da atuação de ações evolutivas como deriva genética, processos de mutação, forças adaptativas, dentre outros que podem modificar ao longo dos anos a sua estrutura genética (KANG, 1998).

A análise de variância molecular gerou um Índice de fixação de população total (F_{ST}) de 0,18646. De acordo com Wright (1978), os valores de F_{ST} que se encontram entre 0 e 0,05 configuram baixa estruturação genética; entre 0,05 e 0,15, estruturação moderada; entre 0,15 e 0,25, estruturação alta e acima de 0,25, forte estruturação genética.

Observa-se também que a quantidade de polimorfismos encontrados para as duas populações foi alta corroborando com os resultados de Daltro (2013), que verificou a presença de grande número de polimorfismos nas amostras de ostras do gênero *Crassostrea*, coletadas na Baía do Iguape demonstrando boa variabilidade genética nos indivíduos, características que tornam os indivíduos distantes geneticamente uns dos outros na mesma população.

Existe fluxo gênico para todos os locos das populações estudadas que foi estimado em $Nm = 6,3929$ migrantes por geração de acordo com Nei (1972). Esse dado oferece a informação de que as populações de ostra se encontram em bom estado de heterogeneidade genética. De acordo com Romero e Cetina (2011), a manutenção das espécies depende diretamente do comportamento do

fluxo gênico e da estrutura genética populacional. Melo (2010) encontrou ostras da espécie *Crassostrea gigas*, que são exóticas, fixadas a aproximadamente 100 km de seus respectivos pontos de cultivo, demonstrando a capacidade de dispersão das sementes no ambiente seja por locomoção própria ou impulsionada pelas correntes marinhas, transportando, obviamente, seus genes.

Foi constatada grande variabilidade genética intrapopulacional, esse dado corrobora com o observado por Daltro (2013), que constatou características polimórficas que tornam alguns indivíduos distantes geneticamente de outros na mesma população. Assim sendo, as duas populações de ostras oferecem a possibilidade de formação de plantel com diversidade genética, oferecendo a prática de seleção de caracteres desejados pelo produtor, e de serem utilizadas em programas de conservação e melhoramento genético, todavia, de acordo com Gradvohl (2014) o cultivo de ostras, apesar de estar sendo realizado há mais de dez anos na região de Graciosa, ainda carece de informações que propicie que se alcance o mesmo sucesso obtido com a *Crassostrea gigas*, em Santa Catarina.

As populações estudadas apresentaram alta variabilidade genética intrapopulacional e alta estruturação genética, portanto oferecem a possibilidade de formação de plantel com boa diversidade genética permitindo a utilização em cultivos e em programas de conservação. A variabilidade mostrou ser maior entre os indivíduos de cada população do que entre as duas populações, esse fato é compreensível pela própria biologia da reprodução do organismo que lança óvulos e espermatozoides na água. Logo, se sugere que sejam realizados mais estudos com pontos de coleta compreendidos geograficamente entre a região de Graciosa e Santiago do Iguape, a fim de se construir um mapeamento da interação genética entre as duas populações. Sugere-se também o estudo oceanográfico com o objetivo de se identificar as correntes existentes entre os dois pontos de coleta. Esses estudos são sugeridos com o objetivo de se conseguir mais informações genéticas inerentes a essas populações, o que permitirá a implementação de programas ambientais de monitoramento, cultivo, conservação e melhoramento genético. Quanto a esse último, ficou explicitado no trabalho, a possibilidade de melhoramento por seleção de caracteres desejados, para tal sugere-se que os ostreicultores sejam capacitados a realizar essa seleção por programas apropriados ou mesmo por projetos de extensão da própria Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

CONCLUSÕES

As populações estudadas apresentaram alta variabilidade genética intrapopulacional e alta estruturação genética.

A variabilidade mostrou ser maior entre os indivíduos de cada população do que entre as duas populações. Devido a grande variabilidade genética encontrada entre as populações e ao fluxo genético existente entre elas não foi possível caracterizar, geneticamente, as populações de *Crassostrea* spp em separado, ou seja, não se conseguiu distinguir uma população da outra por meio das técnicas utilizadas no trabalho.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam agradecimentos a CAPES pela concessão de bolsa Pós-Doutorado à segunda autora.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, I. S. Caracterização citogenética molecular e estudo da variabilidade genética por marcadores ISSR e COI na espécie *Lonchorhina aurita* (Chiroptera: Phyllostomidae). Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 51f, 2014.

BORÉM, A.; E CAIXETA. E.T. Marcadores Moleculares, 2^o Ed, Viçosa: UFV, 2009.

DALTRO, A. C. Aspectos Socioeconômicos e Qualidade dos Moluscos Bivalves Através do Monitoramento Microbiológico e Genético. Tese (Mestrado), Cruz das Almas; Bahia; Maio. 117p., 2013.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, v. 131, p. 479-491, 1992.

GRADVOHL, M. P. G. M.; Avaliação técnico-financeira de um cultivo da ostra-do-mangue *Crassostrea brasiliana* (LAMARCK, 1818) na comunidade de Graciosa, município de Taperoá, Bahia. 71 ft; Tese (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza: 2014.

HILLIS, D. M.; CRAIG, M.; MABLE, B. K. *Molecular Systematics*, Second Edition. Canada. Copyright, 1996.

KANG, M.S. Using genotype-by-environment interaction for crop cultivar development. *Advances in Agronomy*, v.62, p.199-252, 1998.

MARQUES, H.L.A. Criação comercial de mexilhões: Métodos e etapas, a produção e seus custos, a colheita e a comercialização. São Paulo: Nobel. 111 p., 1997.

MELO, A. G. C.; VARELA, E. S.; BEASLEY, C. R.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I.; GAFFNEY, P.M.; REECE, K.S.; & TAGLIARO, C. H. Molecular identification, phylogeny and geographic distribution of Brazilian mangrove oysters (*Crassostrea*). *Genetics and Molecular Biology*, vol.33 no.3 São Paulo 2010.

MELO C.M.R, SILVA F.C, GOMES C.H.A.M, CAVA A.M., LAZOSKI C. *Crassostrea gigas* in natural oyster banks in southern Brazil. *Biol Invasions* 12:441-449. 2010.

MPA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura. Brasília, MPA, 2012.

MPA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura. Brasília, MPA, 2015.

NEI, M. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106:283-292. 1972.

NEI, M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann. Hum. Genet.* 41:225-233. 1978

PEREIRA, O.M.; MACHADO, I.C.; HENRIQUES, M.B.; GALVÃO, M.S.N.; BASTOS, A.A. Avaliação do estoque da ostra *Crassostrea brasiliana* (Lamarck, 1819) no manguezal da região estuarina-lagunar de Cananéia (25°S; 48°W). *B. Inst. Pesca*, 26(1): 49 – 62, 2000.

POLI, C.R. Cultivo de *Crassostrea gigas* (Thunberg,1795) no Sul do Brasil. Tese de Livre Docência. UFSC, Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, 114 p., 2006.

RIOS, E. C. Seashells of Brazil. Rio Grande, RS, Ed. Fundação Universidade Rio Grande. 368p., 1994.

ROMERO, F. R.; CETINA, J. T. Discontinuidad geográfica y variabilidad genética en *Crassostrea rhizophorae* guilding del sureste de México. *Universidad y Ciencia*, Villahermosa, v. 27, n. 1, p. 71-83, 2011.

SANTOS, N. M. V.; SOUSA NETO, A. P. De; CUNHA, F. E. de A.; FERNANDES, C. A. F. A produção extrativista da ostra *Crassostrea* spp. na região do Delta do Rio Parnaíba, Brasil. *Rev. Bras. Eng. Pesca* 9 (1), 01-11, 2016.

SAMBROOK J, FRITSCH E.F. AND MANIATIS T. *Molecular cloning. A Laboratory Manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 1989.

SEBRAE, Serviços Brasileiro de Apoio as Micros e Pequenas Empresas. - *Cultivo de Ostras em Alagoas*, Maceió. 2010.

SIQUEIRA, K. L. F. Avaliação do sistema de cultivo de ostra do gênero *Crassostrea* (SACCO, 1897) no estuário do Rio vaza-barris (Sergipe). 77p.UNIT, Aracaju, 2008.

SILVA, J.R.; BOEHS, G. Ocorrência e distribuição de larvas de ostras *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) na baía de Camamu, Bahia. In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil. Caxambu - MG. Anais. Boehs Sociedade de Ecologia do Brasil. 2007.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.06. *Molecular Biology And Evolution*, v. 30, p. 2725-2729, 2013.

VARELA. E.S; BEASLEY. C.R., SCHNEIDER. H, SAMPAIO .I, MARQUES-SILVA N.S. TAGLIARO CH.; Molecular phylogeny of mangrove oysters (*Crassostrea*) from Brazil. *J Molluscan Stud* 73:229-234. 2007.

YEH, F.C., BOYLE, T.J.B. Population genetics analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian Journal of Botany*, 129: 157, 1997.