



AValiação DA Diversidade Genética DE CEPAS DE Lactococcus spp. Isoladas DE Peixes Nativos NO BRASIL ATRAVÉS DAS TÉCNICAS DE RAPD-PCR E BOX-PCR

XVII Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos, 1ª edição, de 04/10/2023 a 06/10/2023
ISBN dos Anais: 978-65-5465-040-3

BARBANTI; Angelo Carlo Chaparro¹, ROSÁRIO; Angélica Emanuely Costa do², NOGUEIRA; Luiz Fagner Ferreira³, PILARSKI; Fabiana⁴, PÁDUA; Santiago Benites de⁵, RANZANI-PAIVA; Maria José Tavares⁶, GALLANI; Silvia Umeda⁷, LEAL; Carlos Augusto Gomes⁸, FIGUEIREDO; Henrique César Pereira⁹, TAVARES; Guilherme Campos¹⁰

RESUMO

A lactococose é uma enfermidade causada por bactérias Gram-positivas do gênero *Lactococcus*, que causam, principalmente, septicemia hemorrágica hiperaguda. Esta doença tem sido considerada emergente e pode apresentar-se como risco para a produção aquícola mundial. No Brasil, os agentes etiológicos detectados em surtos de lactococose são: *L. garvieae* (LG), *L. petauri* (LP) e *L. formosensis* (LF). O estudo de diversidade genética das amostras de *Lactococcus* spp. possui uma importância epidemiológica, fornecendo informações das relações genéticas entre isolados e indicando distribuição geográfica e temporal. O objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade genética dos isolados brasileiros de *Lactococcus* spp. obtidos de espécies de peixes nativos, através das técnicas de BOX-PCR e RAPD-PCR. Para tanto, foram utilizados 36 isolados (LG = 14; LP = 17; LF = 5), obtidos de diferentes espécies de peixes nativos (pintado = 3; cachara = 2; surubim híbrido = 11; pirarucu = 10; tambaqui = 3; matrinxã = 4; pacamã = 1; trairão = 1; pirarara = 1) cultivados em seis estados (AM; BA; MG; MS; PA, SP). Todos esses isolados foram identificados previamente à nível de espécie pelo sequenciamento do gene *gyrB*. Os isolados foram estriados em ágar MRS e incubados à 28°C por 72 h. Após o crescimento, colônias foram coletadas para extração de material genético e quantificação. O DNA foi usado como template nas reações de RAPD-PCR e BOX-PCR. Os amplicons foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5%, corados com brometo de etídio, e visualizados em transiluminador. As imagens foram capturadas usando fotodocumentador e analisadas usando o software BioNumerics. Coeficiente de Dice e abordagem UPGMA foram usados para avaliar a similaridade entre os padrões de bandas identificados. Isolados que apresentaram similaridade $\geq 80\%$ foram considerados clonalmente relacionados. O poder discriminatório das técnicas foi calculado usando o índice de diversidade de Simpson e o índice ajustado de Rand (*IR*) foi calculado para quantificar a congruência entre os diferentes métodos. Os 14 isolados de LG avaliados apresentaram 06 padrões genéticos distintos no RAPD-PCR e 05 no BOX-PCR, com similaridade de 29.02% e 64.33% e poder discriminatório de 0.813 e 0.780, respectivamente. Os 17 isolados de LP apresentaram 6 padrões de bandas no RAPD-PCR e 3 no BOX-PCR, com similaridade de 56.86% e 63.88% e poder discriminatório de 0.654 e 0.412, respectivamente. Enquanto os isolados de LF apresentaram 04 padrões de bandas no RAPD-PCR e 02 no BOX-PCR, com similaridade de 47.21% e 59.52% e poder discriminatório de 0.900 e 0.4, respectivamente. Pelo *IR* observou-se uma baixa congruência entre as

¹ Universidade Nilton Lins, angelocarloch@gmail.com

² Universidade Nilton Lins, angelicamano0807@gmail.com

³ Universidade Federal de Minas Gerais, fagnerfnogueira@outlook.com

⁴ Caunesp, fapilarski@hotmail.com

⁵ Vaxxinova Brasil, santiago.padua@vaxxinova.com.br

⁶ Instituto de Pesca, mranzanipaiva@gmail.com

⁷ Universidade Nilton Lins, silviaugallani@gmail.com

⁸ Universidade Federal de Minas Gerais, leal.cag@gmail.com

⁹ Universidade Federal de Minas Gerais, figueiredoh@yahoo.com

¹⁰ Universidade Federal de Minas Gerais, gc Camposvet@hotmail.com

técnicas de RAPD-PCR e BOX-PCR para isolados de LG (0.329) e LP (0.007). Por outro lado, os isolados de LF demonstraram uma congruência de $IR = 1$. Ambas as técnicas de genotipagem permitiram a discriminação de isolados de *Lactococcus* spp. em diferentes grupos genéticos, contudo, a técnica de RAPD-PCR teve um maior poder discriminatório, independente da espécie bacteriana. É possível concluir que os isolados brasileiros de *Lactococcus* spp. obtidos de peixes nativos constituem uma população geneticamente diversa. Financiamento: CAPES (Processo: 88881.200614/2018-01) e FAPEMIG (APQ-01227-22)

PALAVRAS-CHAVE: genotipagem, lactococose, peixes

¹ Universidade Nilton Lins, angelocarloch@gmail.com
² Universidade Nilton Lins, angelicamanu0807@gmail.com
³ Universidade Federal de Minas Gerais, fagnerfnogueira@outlook.com
⁴ Caunesp, fapilarski@hotmail.com
⁵ Vaxxinova Brasil, santiago.padua@vaxxinova.com.br
⁶ Instituto de Pesca, mranzanipaiva@gmail.com
⁷ Universidade Nilton Lins, silviaugallani@gmail.com
⁸ Universidade Federal de Minas Gerais, leal.cag@gmail.com
⁹ Universidade Federal de Minas Gerais, figueiredoh@yahoo.com
¹⁰ Universidade Federal de Minas Gerais, gc camposvet@hotmail.com