

Desenho de *primers* para tilápia, carpa e truta, três espécies de pescado comercializadas no Paraná, visando a identificação de fraude alimentar.

AISSA CARNIEL¹; CAMILA CLOZATO²;

IFPR, campus Paranavaí¹, IFPR, campus Paranavaí², ✉camila.lara@ifpr.edu.br

RESUMO

A fraude alimentar em pescado é uma das mais comuns de violação da legislação alimentar. O Paraná é responsável por 29,3% da produção do Brasil. Algumas das espécies mais comuns em cativeiro: Tilápia (*Oreochromis niloticus*); Carpa (*Cyprinus carpio*); Truta (*Oncorhynchus mykiss*). O objetivo desse projeto é o desenho de iniciadores (*primers*), utilizando o método de *barcoding* e os genes mitocondriais *Citocromo Oxidase subunidade I (COI)* e *Citocromo subunidade B (Cytb)*. A metodologia utilizada foi a obtenção de sequências de *COI* e *CytB* das três espécies no *GenBank*, alinhadas no *software MEGA*, realizando então a análise do primer *in silico* por meio da ferramenta *Oligo Analyser*, obtendo dessa forma um par de primers com características satisfatórias para cada uma das espécies;

INTRODUÇÃO

A fraude alimentar é definida como uma violação intencional na legislação alimentar, com o intuito de ganho econômico.

Dentre as principais fraudes praticadas na indústria alimentícia, destaca-se o pescado, a fraude por troca de espécies e o erro de rotulagem. Diante desse contexto, considerando-se o consumo crescente de pescado, torna-se necessário o desenvolvimento de ferramentas analíticas confiáveis e sensíveis, para identificação de diferentes espécies de pescado. A identidade das espécies pode ser conhecida utilizando diversos métodos baseados na análise de moléculas de DNA, tal como a técnica de taxonomia molecular, o *barcode* genético. Este projeto propõe a desenvolver técnicas de biologia molecular aplicadas à prática da taxonomia molecular, a começar pelo desenho de primers específicos para as espécies mais comumente produzidas e comercializadas na região, visando a amplificação dos genes *Citocromo Oxidase subunidade I (COI)* e *Citocromo subunidade B (CytB)*, amplamente utilizados na ferramenta de *barcodes*.

METODOLOGIA

Foi realizada a padronização de técnicas de biologia molecular, com desenho de iniciadores (*primers*) específicos para três das espécies mais comercializadas no Paraná, sendo elas a tilápia, carpa e truta, com o intuito de identificar possíveis fraudes, através do método de taxonomia molecular, utilizando os genes *Citocromo Oxidase subunidade I (COI)* e *Citocromo subunidade B (CytB)*, amplamente empregados nessa metodologia. Múltiplas sequências das três espécies foram obtidas no *GenBank* e alinhadas no *software MEGA*, de modo que fosse possível encontrar um fragmento dentro de regiões mais conservadas entre as diferentes sequências alinhadas. Após identificada e selecionada a região, utilizou-se a ferramenta *Oligo Analyser*, que permite a análise do primer *in silico*, a fim de estimar a sua eficácia e simular as características do mesmo. Realizando pesquisas na literatura de testes de outros primers, para verificar e comparar os mesmos, em relação aos iniciadores desenvolvidos nesse projeto.

RESULTADOS

Obtivemos um par de *primers* com características satisfatórias para cada uma das espécies. A porcentagem de G-C variou de 50% a 61.1%; comprimento do primer entre 18 e 22 pares de base; a temperatura de anelamento variou em 61.1°C a 64.6°C, gerando *amplicons* de 593 a 641 pares de bases.

Tabela 1 – Dados em % de conteúdo GC e comprimento dos *primers*.

Espécie do pescado	Nome do primer	Porcentagem de CG	Comprimento do primer
Tilápia	ORNI_COI_1_F	50.0	22
Tilápia	ORNI_COI_1_R	52.4	21
Carpa	CYCAR_COI_1_F	57.9	19
Carpa	CYCAR_COI_1_R	61.1	18
Truta	ONMY_COI_1_F	61.1	18
Truta	ONMY_COI_1_R	52.6	19

Tabela 2 – Temperatura de anelamento e comprimento do fragmento amplificado.

Espécie do pescado	Nome do primer	Temperatura de anelamento	Comprimento do fragmento amplificado
Tilápia	ORNY_COI_1_F	64.6	641
Tilápia	ORNY_COI_1_R	61.9	641
Carpa	CYCAR_COI_1_F	64.4	599
Carpa	CYCAR_COI_1_R	61.1	599
Truta	ONMY_COI_1_F	62.2	593
Truta	ONMY_COI_1_R	63.2	593

CONCLUSÃO

Foi possível desenhar iniciadores para todas as espécies alvo do projeto. Mediante aos resultados apresentados e as próximas ações a serem realizadas, espera-se que esse trabalho contribua para a identificação correta das espécies comercializadas, bem como a garantia da segurança alimentar dos consumidores.

AGRADECIMENTO

Agradeço ao Instituto Federal do Paraná por me proporcionar a oportunidade de trabalhar em um projeto científico que possui uma temática relevante no contexto atual, além de financiar o edital interno da Pró-reitora de Pesquisa, Extensão e Inovação do IFPR para pagamento de bolsa PIBIC-Jr e Auxílio ao Pesquisador.

BIBLIOGRAFIA

- Carvalho, D. C., Neto, D. A. P., Brasil, B. S. A. F., & Oliveira, D. A. A. (2011). DNA barcoding unveils a high rate of mislabeling in a commercial freshwater catfish from Brazil. *Mitochondrial DNA*, 22(S1), 97–105.
- Mohammed-Geba, K., El-Nab-SE-SH, A. E., & Nofal, A. I. (2017). DNA barcoding identifies a unique haplotype of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* thriving in Egyptian freshwater and brackish water lakes. *Int J Ecotoxicol Ecobiol*, 2, 172-177.