

Utilização de DNA *Barcoding* para a identificação de mamíferos aquáticos registrados em águas brasileira

Jéssica Sartor,¹ & Larissa Rosa de Oliveira,^{1,2}

¹ Laboratório de Ecologia de mamíferos/ Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), Av. Unisinos, 950, Bairro Cristo Rei, São Leopoldo, RS, CEP 93022-000, Brasil

² Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul (GEMARS), Rua Machado de Assis, 1456, Osório, RS, CEP 95520-000, Brasil

jesartor@gmail.com

Bolsista de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação – PIBIT CNPq/UNISINOS – nº 800801/2014-8 e 122698/2015-0

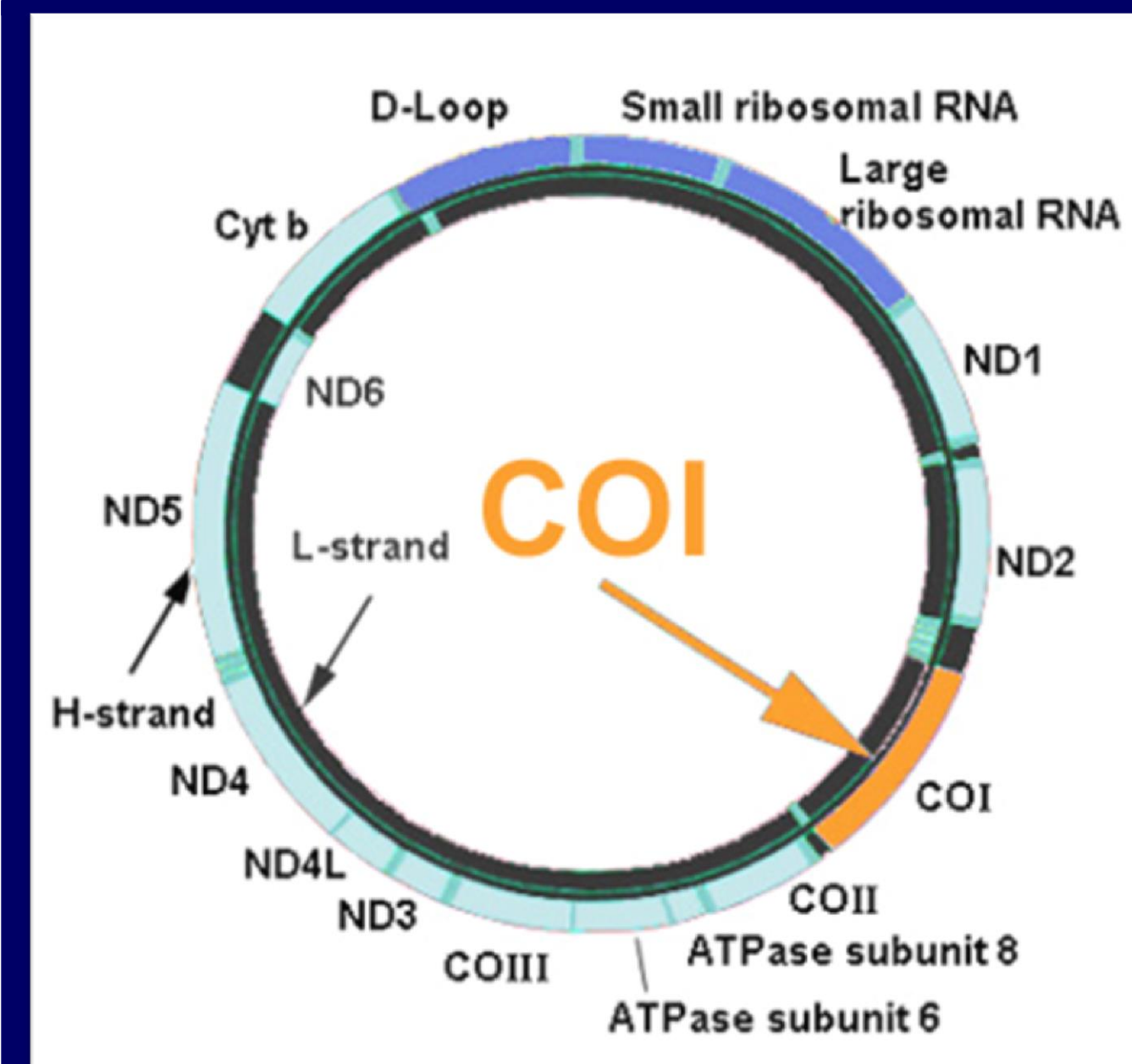


Fig. 1. Gene mitocondrial COI.



Foto: Sholl et al. (2013)

Fig. 2. Cetáceos em avançado estado de decomposição.



Foto: Ignacia Moreno/Acervo GEMARS

Fig. 3. Espécime de *Balaenoptera acutorostrata* encontrada na costa do Rio Grande do Sul.



Foto: Acervo GEMARS

Fig. 6. Espécime encontrado na costa do Rio Grande do Sul e identificado como *Megaptera novaeangliae* cf. mas geneticamente era *Eubalaena australis*.

INTRODUÇÃO

A proposta de identificação padronizada de diferentes taxa da fauna e flora da Terra, utilizando sequências de DNA foi denominada “código de barras de DNA” (DNA *Barcoding*) [1]. Esta iniciativa visa tanto facilitar o descobrimento de novas espécies quanto permitir uma segura identificação de exemplares coletados, a partir de um marcador molecular. O segmento de DNA escolhido corresponde a uma região de 648 pb do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI) (Fig. 1). A identificação específica de mamíferos aquáticos torna-se complexa devido a difícil visualização em mar aberto, similaridade morfológica entre espécies e devido ao estado de decomposição que alguns espécimes são encontrados. O Brasil possui 37,2% da biodiversidade de mamíferos aquáticos do mundo [2], dos quais são frequentemente encontrados encalhados e em avançado estado de decomposição (Fig. 2) [3] na costa. Neste sentido, o DNA *Barcoding* torna-se uma ferramenta de grande valia na correta identificação destas espécies.

OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo auxiliar na identificação de espécimes de mamíferos aquáticos encontrados em avançado estado de decomposição na costa do Brasil. Desta forma, pretende-se gerar sequências de DNA da região padronizada do gene COI destes espécimes a fim de identificá-los e posteriormente disponibilizar as sequências em bancos de dados do BOLD SYSTEMS (<http://www.barcodinglife.com>) e na rede brasileira de DNA *Barcodes* (<http://www.brbol.org/>).

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido em colaboração com 13 instituições brasileiras, as quais disponibilizaram as amostras utilizadas no mesmo. As amostras foram coletadas ao longo da costa brasileira (Fig. 3) a partir de encalhes e biópsias.

A partir de uma amostra de tecido o DNA genômico foi extraído, a região COI foi amplificada (utilizando um mix de três pares de primers específicos [4]) e sequenciada. As sequências geradas foram alinhadas, revisadas e editadas manualmente. A partir do portal NCBI e do portal BOLD elas foram comparadas com sequências já depositadas em bancos de dados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso desse marcador demonstrou um alto grau de confiabilidade na identificação da maioria das espécies. Como resultado, até o momento temos um total de 128 sequências, contemplando 32 taxa (Tabela 1), correspondendo a 59,2% da biodiversidade do Brasil (Figura 4 [5]). Em três amostras tivemos incongruências morfológicas e moleculares, ou seja, a identificação morfológica foi diferente da identificação genética, duas delas foram com espécies congênicas, onde morfológicamente foram identificadas como *Kogia sima* e geneticamente como *Kogia breviceps*. A consulta ao material de coleção foi fundamental para sua correta identificação como *Kogia breviceps* (Fig. 5). A terceira amostra incongruente era oriunda de um encalhe encontrado em avançado estado de decomposição (Fig. 6), o qual foi identificado apenas pela presença de cracas como *Megaptera novaeangliae* cf. (= a confirmar). Contudo, foi geneticamente identificado como *Eubalaena australis*, espécie mais abundante para época e local de coleta (RS) [5]. Salienta-se a importância da integração da análises morfológicas e moleculares (espécimes depositados em coleções) para o sucesso da abordagem de sistemática molecular.

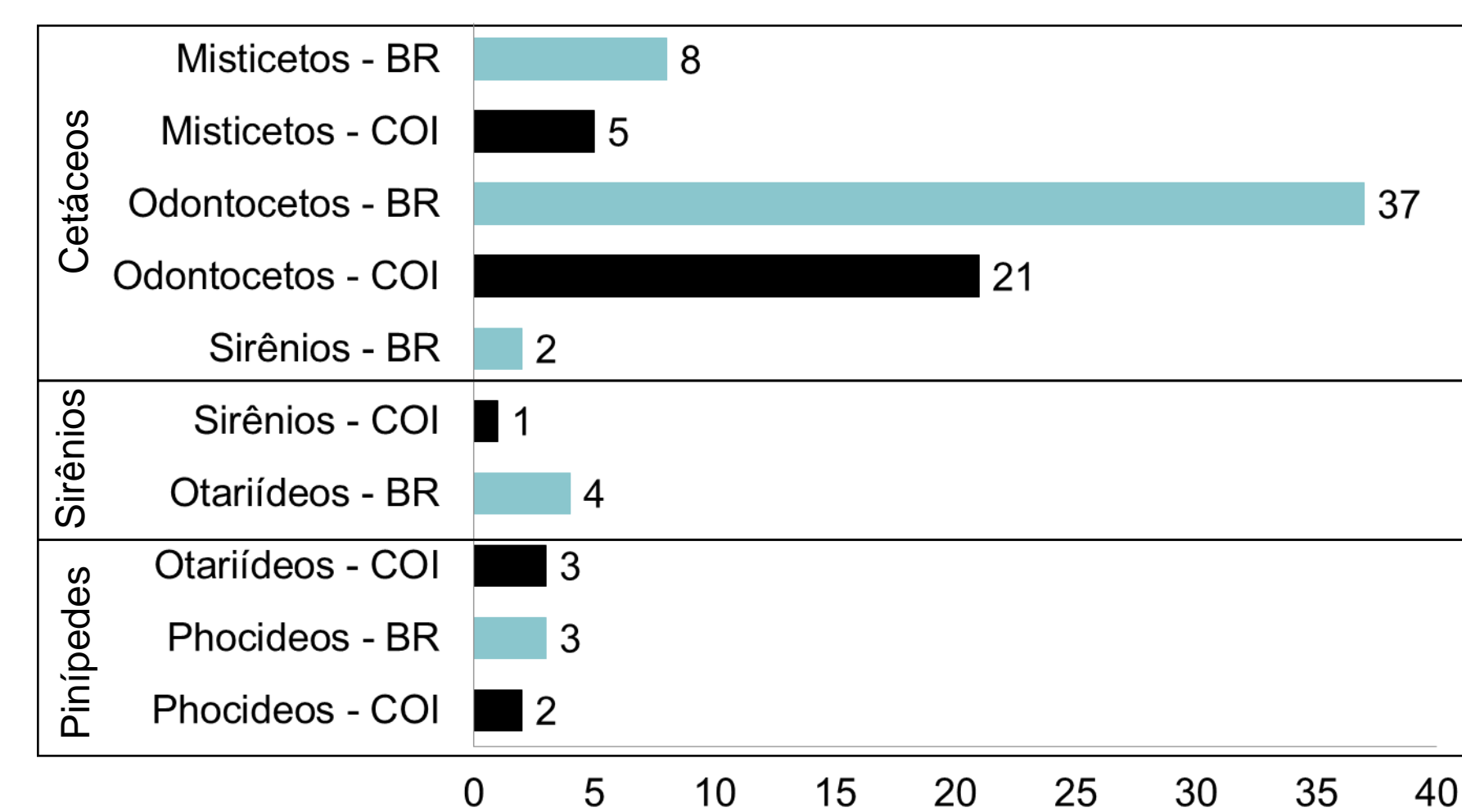


Fig. 4. Gráfico com o número de indivíduos de mamíferos aquáticos por táxon, os quais já foram registrados no Brasil (BR) e com o gene COI sequenciado (COI) no decorrer do trabalho.

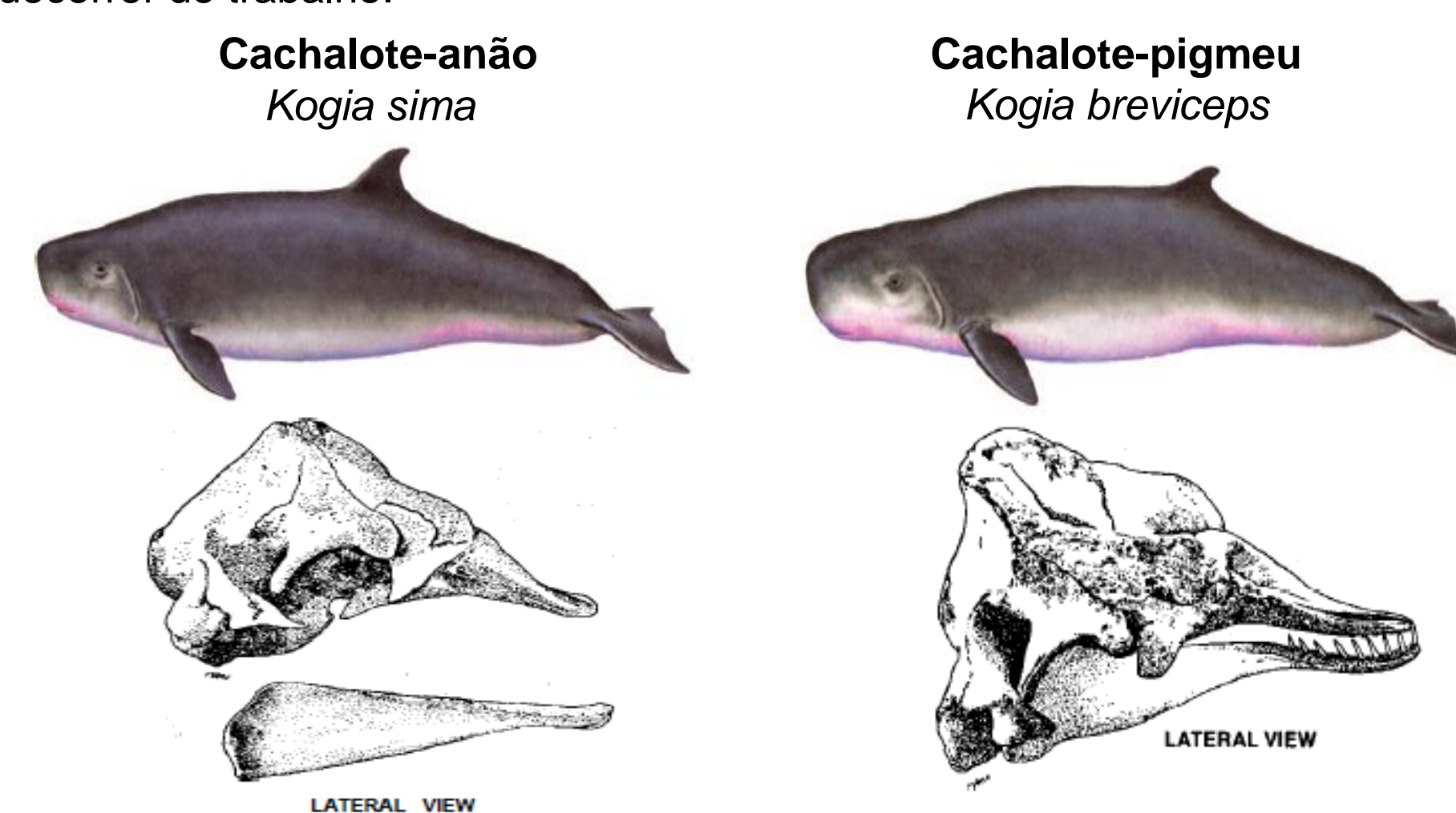


Fig. 5. Morfologia externa e craniana de espécimes de *Kogia* spp..
Fonte: Jefferson et al. (1993) [6].

Tabela 1. Espécimes de mamíferos aquáticos sequenciados para o gene COI.

Taxas:	n:
<i>Megaptera novaeangliae</i>	9
<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	1
<i>Balaenoptera bonaerensis</i>	1
<i>Balaenoptera brydei</i>	3
<i>Eubalaena australis</i>	8
<i>Physeter macrocephalus</i>	8
<i>Kogia breviceps</i>	3
<i>Kogia sima</i>	4
<i>Orcinus orca</i>	1
<i>Pseudorca crassidens</i>	4
<i>Globicephala melas</i>	1
<i>Tursiops truncatus</i>	5
<i>Delphinus sp</i>	2
<i>Sotalia fluviatilis</i>	1
<i>Sotalia guianensis</i>	11
<i>Stenella attenuata</i>	1
<i>Stenella coeruleoalba</i>	2
<i>Stenella frontalis</i>	9
<i>Steno bredanensis</i>	3
<i>Lagenodelphis hosei</i>	3
<i>Inia araguaiaensis</i>	3
<i>Inia geoffrensis</i>	2
<i>Pontoporia blainvillei</i>	15
<i>Berardius arnuxii</i>	1
<i>Ziphius cavirostris</i>	2
<i>Mesoplodon europaeus</i>	1
<i>Arctocephalus australis</i>	5
<i>Arctocephalus tropicalis</i>	1
<i>Otaria flavescens</i>	5
<i>Mirounga leonina</i>	1
<i>Lobodon carcinophaga</i>	1
<i>Trichechus manatus</i>	11

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Hebert, P. Cywinska, A. L. Ball, S. R. DeWaard, J. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. Royal Society*. V.270, 313-321, 2003;
- [2] www.marinemammalscience.org
- [3] Sholl, T. G. C., Moura, J.F., Ott P. H., Bonvicino, C.R., Reis, E.C., Tavares, D.C., Siciliano, S. Cytochrome b sequencing for the species identification of whale carcasses washed ashore in Brazil. *Marine Biodiversity Records*, 6; e30; 2013;
- [4] INOVA et al., 2007;
- [5] Lodi, L., Borobia, Monica. Baleias, Botos e Golfinhos do Brasil. *Technical Books* 2013;
- [6] Jefferson, T. A., Leatherwood, S., Webber, M., FAO species identification guide Marine Mammals of the World. FAO. 1993;

AGRADECIMENTOS: