

INTRODUÇÃO:

A análise da dieta de pequenos roedores herbívoros tem sido um desafio para os pesquisadores. Novas técnicas de biologia molecular envolvendo o uso do íntron trnL (UAA) como DNA *barcoding* em plantas têm sido aplicadas na análise de fezes e conteúdos estomacais de diferentes animais com este tipo de dieta. *Ctenomys flamarioni* (Fig. 1) e *Ctenomys minutus* (Fig. 2) são roedores herbívoros, fossoriais, que habitam a planície costeira do Sul do Brasil e possuem uma pequena área onde ocorrem em simpatria, nas proximidades da Praia do Barco, no Rio Grande do Sul. Os objetivos deste trabalho são: (1) organizar uma base de dados de sequências do íntron trnL (UAA) de diferentes espécies vegetais que ocorrem na região de simpatria entre essas duas espécies de Ctenomídeos (Praia do Barco), e em áreas onde estas espécies ocorrem separadamente (Tramandaí – *C. flamarioni*, e Passo de Torres – *C. minutus*); (2) comparar estas sequências com as sequências obtidas de fezes desses roedores para verificar a composição da dieta quando há sobreposição de hábitat e quando estes ocorrem separadamente.



José Stolz



Tati Noviski

Figura 1 - *Ctenomys flamarioni*.

Figura 2 - *Ctenomys minutus*.

MATERIAL E MÉTODOS:

- ✓ Até o momento 10 amostras de plantas foram analisadas, sendo estas provenientes de Tramandaí e da Praia do Barco (Fig.3);
- ✓ A extração de DNA das plantas foi realizada utilizando o método descrito por Roy *et al.*, 1992;
- ✓ A amplificação do íntron trnL (UAA) foi realizada utilizando os primers *c* e *d* de Taberlet *et al.*, 1991, e o sequenciamento das amostras utilizando o primer *d*;
- ✓ Os eletroferogramas foram visualizados através do programa Chromas Lite versão 2.01, e as sequências foram editadas e analisadas no programa MEGA 4.0;

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

- As plantas coletadas pertencem a 5 famílias botânicas diferentes, com predomínio de Poaceae devido aos locais de coleta serem caracterizados pela vegetação de “restinga” (Projeto Radam Brasil, 1986) (Tabela 1);
- Em média 532pb foram amplificados, variando entre 440 e 597pb. Sendo que esta diferença no tamanho das sequências se deve às inúmeras inserções e deleções ao longo do íntron, comparando as diferentes espécies analisadas (Fig. 4);
- As amostras de *Panicum racemosum* (P. Beauv.) Spreng apresentaram pouca variação entre si, as variações ocorrem no início do íntron devido algumas inserções e/ou deleções. As 2 amostras do gênero *Axonopus* P. Beauv, apresentaram o mesmo haplótipo. A comparação das sequências das demais espécies demonstrou que cada uma apresenta um haplótipo distinto, permitindo a diferenciação entre as espécies e demonstrando a eficácia do íntron trnL (UAA) como DNA *barcoding* das espécies vegetais analisadas até o momento;
- Uma pequena região de aproximadamente 93pb, correspondente a alça P6 (Fig. 5), localizada próxima da extremidade 5’ do íntron, apresentou-se bastante variável sendo flanqueada por regiões bem conservadas. Levando em consideração estas características, esta região será utilizada na análise das fezes das duas espécies *C. flamarioni* e *C. minutus*.

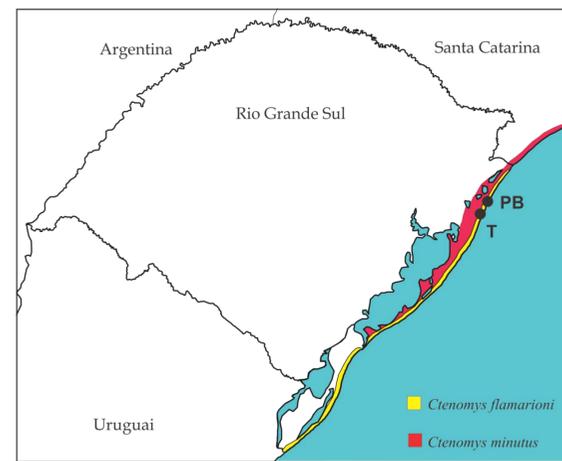


Figura 3 - Mapa de distribuição de *Ctenomys flamarioni* e de *C. minutus*. Os pontos pretos representam pontos de coleta. T - Tramandaí e PB - Praia do Barco.

Tabela 1 – Número de coleção, nomes científicos das espécies, famílias, e locais de coleta das 10 amostras de plantas analisadas.

Número	Espécie	Família	Local de coleta
P 09	<i>Panicum racemosum</i> (P. Beauv.) Spreng.	Poaceae	Tramandaí
P 10	<i>Panicum racemosum</i> (P. Beauv.) Spreng.	Poaceae	Tramandaí
P 12	<i>Panicum racemosum</i> (P. Beauv.) Spreng.	Poaceae	Tramandaí
P 40	<i>Axonopus</i> sp. P. Beauv.	Poaceae	Praia do Barco
P 44	<i>Axonopus</i> sp. P. Beauv.	Poaceae	Praia do Barco
P 50	<i>Panicum racemosum</i> (P. Beauv.) Spreng.	Poaceae	Praia do Barco
P 07	<i>Senecio ceratophylloides</i> Griseb	Asteraceae	Tramandaí
P 11	<i>Solanum americanum</i> Mill.	Solanaceae	Tramandaí
P 08	<i>Hydrocotyle bonariensis</i> Lam.	Araliaceae	Tramandaí
P 47	<i>Blutaparon portulacoides</i> (A. St.-Hil.) Mears	Amaranthaceae	Praia do Barco

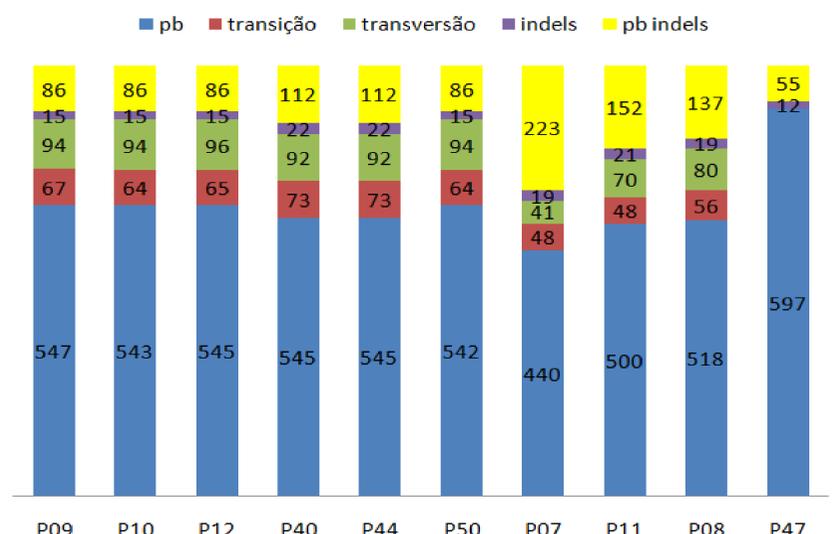


Figura 4 – Número total de pares de base amplificados para cada uma das amostras em azul, número de transições em vermelho, número de transversões em verde, número de inserções e/ou deleções em roxo, e o número de pares de base encontrados ao longo das InDels em amarelo.

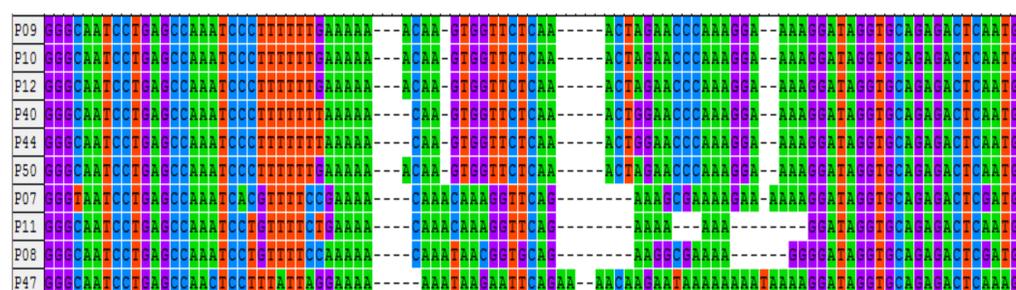


Figura 5 – Sequências da alça P6 do íntron trnL (UAA) das 10 amostras vegetais analisadas até o momento. Regiões flanqueadoras conservadas, grande variabilidade interespecífica no interior da alça, e variabilidade intra-específica inexistente.

PERSPECTIVAS FUTURAS:

- ✓ Delimitar a região de simpatria entre as duas espécies;
- ✓ Aumentar o número de sequências de plantas da região de interesse, coletando nas 4 estações do ano para melhor identificação e amostragem das diferentes espécies;
- ✓ Extração de DNA das fezes com Dneasy Plant Kit (Qiagen);
- ✓ Amplificação das amostras de DNA de fezes utilizando os primers *g* e *h* (amplificação da alça P6; Taberlet *et al.*, 2007);
- ✓ Clonagem e sequenciamento dos produtos da PCR;
- ✓ Comparar as sequências obtidas das amostras de fezes com as sequências das plantas do banco de dados;
- ✓ Qualificar a dieta de *C. flamarioni* e *C. minutus*.