

TESTE DO DNA BARCODE NA SEPARAÇÃO DE ESPÉCIES DE CICLÍDEOS NA BACIA DO RIO TRAMANDAÍ

Zwanziger, CB; Ramos-Fregonezi, AMC; Hirschmann, A; Fagundes, NJR; Malabarba, LR.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Rio Grande do Sul, RS – Brasil

LABORATÓRIO DE ICTIOLOGIA

<http://www.ufrgs.br/ictio/>
cristinazwa@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Do genoma mitocondrial foi proposta a utilização de um marcador universal que consiste em aproximadamente 650 pares de base a partir da extremidade 5' do gene citocromo C oxidase da subunidade I (COI) batizado de "código de barras de DNA": o DNA *barcode* (HEBERT *et al.*, 2003). O DNA barcode tem revelado espécies crípticas – difíceis de identificar usando os métodos morfológicos tradicionais – e é especialmente útil quando os dados morfológicos estão ausentes, como em metagenômica e análises forenses (HEBERT *et al.*, 2004). Espécies contêm diferentes linhagens genéticas, e reconhecer novas taxa permite revelar populações isoladas que tenham "status de espécie", permitindo uma melhor organização da diversidade biológica (LAHAYE *et al.*, 2008). A tarefa de catalogar grupos taxonômicos é urgente para contrabalançar a homogeneização genética que pode ser resultado de fatores antrópicos (MCKINNEY; LOCKWOOD, 1999). Isso é particularmente importante em ambientes como ecossistemas de água doce Neotropicais, que sofrem com impactos da atividade humana como o consumo de água, irrigação, barragens hidrelétricas e poluição por efluentes industriais e domésticos (PRINGLE *et al.*, 2000). O potencial desses métodos aumenta as estimativas de esforços para a conservação da biodiversidade a nível mundial (LAHAYE *et al.*, 2007). O projeto de pesquisa global *The Fish Barcode of Life Initiative* (FISH-BOL) possui o propósito de obter as sequências do DNA *barcode* de todas as espécies de peixes existentes e os respectivos dados de vouchers em uma biblioteca para auxiliar na identificação molecular desses organismos (BECKER; HANNER; STEINKE, 2011). Assim, o objetivo desse estudo é acessar a diversidade da fauna de peixes de água doce da bacia do Rio Tramandaí (Figura 1), uma drenagem costa atlântica do sul do Brasil.

MÉTODOS

O DNA barcode de 9 espécies de peixes, morfologicamente delimitados, será obtida com procedimentos moleculares mínimos descritos em estudos semelhantes. O material está catalogado na coleção de tecidos do Laboratório de Ictiologia, que se encontra Departamento de Zoologia, no Instituto de Biociências da UFRGS. O gene COI foi amplificado por PCR com primers universais. As sequências foram alinhadas com o programa BioEdit e checadas visualmente. A distância Kimura-2-Parâmetros (KIMURA, 1980) foi usada para comparar as sequências e gerar a árvore filogenética utilizando o método Neighbor-joining, estimadas no programa MEGA v5.0 com 1000 replicações de bootstrap (TAMURA *et al.*, 2011).



Fig. 1: Bacia do Rio Tramandaí

RESULTADOS E CONCLUSÕES

Nossos resultados preliminares para 15 espécimes de 6 espécies de ciclídeos sugere que o método DNA barcode é uma ferramenta eficiente para delimitar espécies nessa família. Indivíduos de algumas espécies formaram grupos monofiléticos na árvore de Neighbor-joining (figura 2). De acordo com esse resultado, a distância genética média entre as espécies foi 0,20 e dentro das espécies 0,0009. Esse resultado não nos surpreende, pois de acordo com a literatura as espécies de Cichlidae são razoavelmente bem definidos morfologicamente. Caracterizar os "códigos de barras de DNA" das demais espécies será importante para apreciar plenamente a utilidade deste método para a ictiofauna de água doce das drenagens costeiras do sul do Brasil.

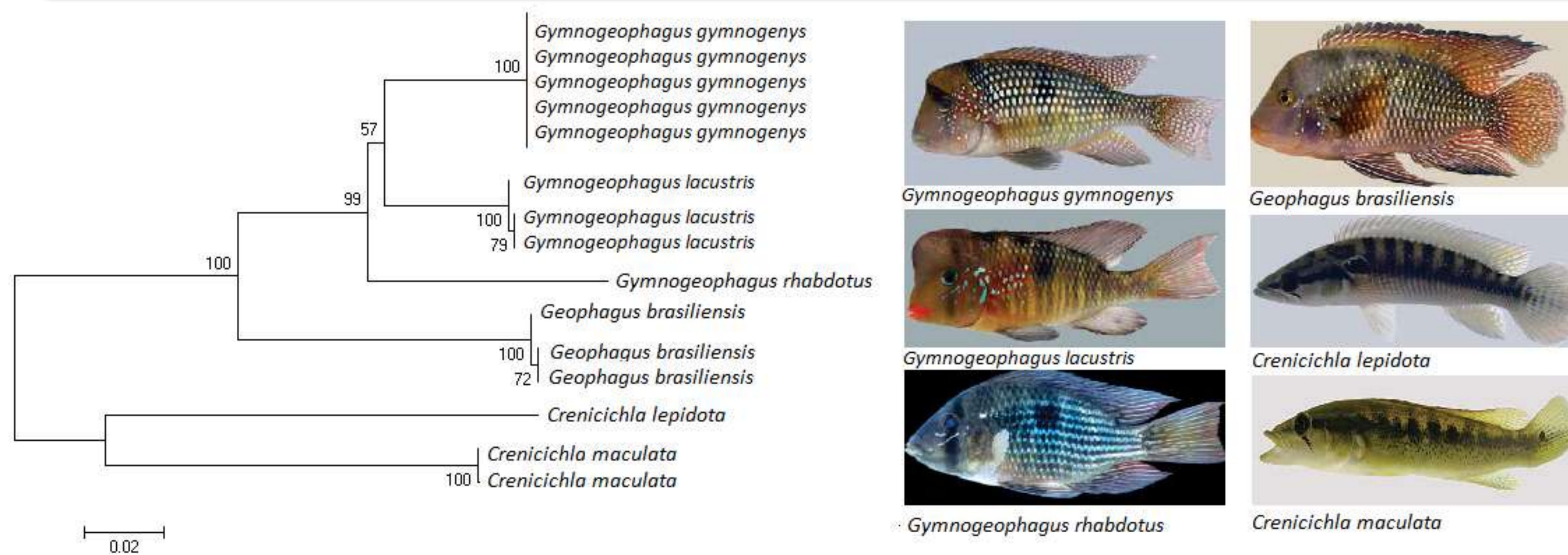


Fig. 2: Árvore filogenética com o método Neighbor-joining mostrando as distâncias genéticas (K2P) entre 15 espécimes da família Cichlidae. Os números acima dos nós indicam os valores de *bootstrap*.

Referências bibliográficas:

- BECKER, S.; HANNER, R.; STEINKE D. Five years of FISH-BOL: brief status report. *Mitochondrial DNA*, Nova Zelândia, v. 22, p. 3–9, 2011.
- HEBERT, P.D.N.; CYWINSKA, A.; BALL, L.S.; WAARD, R.J. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, Londres, v. 270, p. 313-321, 2003.
- HEBERT, P. D.N.; PENTON H.E.; BURNS, M.J.; JANZEN H.D.; WALLWACHS, W. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *PNAS*, Washington, v. 101, p. 14812-14817, 2004.
- KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, New York, v.16, p. 111–120, 1980.
- LAHAYE, R.; BANK, V.D.B.; BOGARIN, D.; WARNER, J.; PUPULIN, F.; GIGOT, G.; MAURIN, O.; DUTHOIT, S.; BARRACLOUGH, G.T.; SEVOLAINEN, V. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *PNAS*, Washington, v. 105, n. 8, p. 2923–2928, 2008.
- MCKINNEY, M.L.; LOCKWOOD, J.L. Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. *Trends in Ecology and Evolution*, Londres v. 14, p. 450–453, 1999.
- PRINGLE, C.M.; SCATENA F.N.; PAABY-HANSEN, P.; NUNEZ-FERRERA, M. River conservation in Latin America and the Caribbean. In: *Global perspectives on river conservation: Science, policy and practice*, Nova Iorque, p. 41–78, 2000.
- TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, Chicago, v. 28, p. 2731–2739, 2011.