



BIODIVERSIDADE DE CLADOCERA NO RESERVATÓRIO DA USINA HIDRELÉTRICA DE FURNAS (UHEF) UTILIZANDO DNA BARCODE

Cíntia Bruno de Abreu, Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, Instituto de Ciências da Natureza;
Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Biodiversidade. cinthiaabreu123@gmail.com ;

Maria José dos Santos Wisniewski, Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, Instituto de Ciências da Natureza; Laboratório de Limnologia. czw@uol.com Tereza Cristina Orlando, Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, Instituto de Ciências da Natureza; Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Biodiversidade. tecrisorlando@gmail.com

INTRODUÇÃO

O Subfilo Crustacea inclui diversas classes, dentre elas o grupo Phyllozoa (RUPPERT; BARNES, 2005), na qual está inserida a ordem Cladocera (ROCHA & GÜNTZEL, 1999). Estes são ótimos indicadores tróficos, habitam principalmente ambientes aquáticos, compondo um importante grupo de zooplâncton, que possui uma função muito importante na transferência de energia de produtores primários para outros níveis tróficos. Em Minas Gerais foi detectada grande riqueza de espécies de cladóceros, por meio de ferramentas morfológicas. O Reservatório da UHEF está inserido na Bacia do Rio Grande, a segunda em maior riqueza do estado (WISNIEWSKI *et al*, 2011). Dentre as técnicas existentes em Biologia Molecular, pode-se destacar o DNA barcode, que tem como base um segmento do gene mitocondrial, o citocromo c oxidase subunidade 1 (COI), que constitui uma ferramenta importante na identificação e consequente detecção da biodiversidade (VERNOOY *et al*, 2010), considerando que a identificação puramente morfológica é muito complexa para determinadas espécies, pode haver uma subestimação da biodiversidade (MATZEN *et al*, 2011).

OBJETIVOS

Verificar a biodiversidade de espécies do grupo Cladocera, a partir da divergência genética da sequência do marcador molecular da região COI.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado com organismos coletados no Reservatório da UHEF, utilizando rede de plâncton (malha de 68 µm). Posteriormente realizou-se a extração de DNA, seguida das reações de PCR para amplificação da região COI. As amostras foram sequenciadas na empresa Genomic-Engenharia Molecular. As sequências foram analisadas em programas de bioinformática (MEGA 5.0) e comparadas com as sequências já depositadas no BOLD (<http://www.boldsystems.org/>) para o estabelecimento da diversidade genética.

RESULTADOS

O tamanho do fragmento amplificado da região COI foi de aproximadamente 650 pares de base para as espécies *Diaphanosoma spinulosum*, *Ceriodaphnia dubia* e *Ceriodaphnia silvestrii*, isoladas do Reservatório da UHEF. Após a análise das sequências verificou-se uma divergência genética de 3,4 a 32,2% entre *D. spinulosum* e as outras quatro espécies do mesmo gênero, já depositadas no BOLD (GQ924684; EU702159; EU702145). Para o

gênero *Ceriodaphnia* as duas sequências obtidas da região COI foram comparadas com as sequências das seis espécies existentes no BOLD, até o momento. A divergência genética encontrada entre *C. dubia* (isolado brasileiro) e *C. silvestrii* foi de 17,2%, entre *C. dubia* (isolado brasileiro) e 4 isolados de *C. cf laticaudata* (JN233855; EU702040; EU702039; EU702038) foi de 2,5 e 2,8% e entre *C. dubia* (isolado brasileiro) e dois isolados de *C. dubia* (EU702083; EU702070) foi de 12,1 e 11,7%. Já a divergência obtida entre *C. laticaudata* (EU702084) e os 4 isolados de *C. cf laticaudata* foi de 23,2 e 23,4%.

DISCUSSÃO

Com relação ao gênero *Diaphanosoma* as divergências genéticas estão de acordo com o esperado para espécies diferentes, que devem ser superiores a 3% para COI (HEBERT *et al*, 2003). Para o gênero *Ceriodaphnia* a grande divergência genética encontrada entre *C. laticaudata* e os três isolados de *C. cf laticaudata* indica que esta última está erroneamente identificada e que a taxonomia desses indivíduos precisa ser revista. O isolado brasileiro de *C. dubia* exibe elevada divergência genética se comparado com os dois isolados de *C. dubia* (um do México e outro do Canadá), mostrando que este isolado não deveria ter sido identificado como tal. Além disso, este isolado apresenta baixa divergência genética com os três isolados de *C. cf laticaudata*, valores estes condizentes com o status da mesma espécie (HEBERT *et al*, 2003). Estes dados reforçam que a região COI pode ser utilizada como importante ferramenta para acessar a biodiversidade destes organismos, mostrando que alguns isolados devem ter sua taxonomia revisada, para conhecimento real da biodiversidade de Cladocera tanto do Reservatório da UHEF, quanto em escala global.

CONCLUSÃO

A análise da região COI de isolados de Cladocera da UHEF possibilitou a diferenciação de 5 espécies de *Diaphanosoma* e 8 isolados de *Ceriodaphnia*, incluindo espécies distintas que necessitam de revisão taxonômica, que é extrema importância para determinação da sua função no ambiente e consequente preservação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HEBERT, P.D.N., A. CYWINSKA, S.L. BALL and J.R. deWAARD. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B: 270: 313-321.
- MATZEN da SILVA J, CREEER S, dos SANTOS A, COSTA AC, CUNHA MR, *et al*. (2011) Systematic and Evolutionary Insights Derived from mtDNA COI Barcode Diversity in the Decapoda (Crustacea: Malacostraca). PLoS ONE 6(5): e19449. doi:10.1371/journal.pone.0019449;
- ROCHA, O. and GÜNTZEL, AM. (1999). Crustáceos branquiópodos. In: ISMAEL, D., VALENTI, WC., MATSUMURA-TUNDISI, T. and ROCHA, O. Biodiversidade do estado de São Paulo, Brasil: invertebrados de água doce. vol. 4. São Paulo: FAPESP. p. 110-144.
- SANTOS-WISNIEWSKI, M.J., MATSUMURA-TUNDISI, T., NEGREIROS, N.F., SILVA, L.C., SANTOS, R.M. & ROCHA, O. O estado atual do conhecimento da diversidade dos Cladocera (Crustacea, Branchiopoda) nas águas doces do estado de Minas Gerais. Biota Neotrop. 11(3) <http://www.biotaneotropica.org.br/v11n3/pt/abstract?inventory+bn01511032011>;
- RONNIE VERNOOY, EJNAVARZALA HARIBABU, MANUEL RUIZ MULLER, JOSEPH HENRY VOGEL, PAUL D. N. Hebert, David E. Schindel, Junko Shimura, Gregory A. C. Singer; Barcoding Life to Conserve Biological Diversity: Beyond the Taxonomic Imperative; PLoS Biology | www.plosbiology.org 1 July 2010 | Volume 8 |; pág 1-5.
- RUPPERT, E.E.; BARNES, R.D. Zoologia do Invertebrados. 6. ed. São Paulo: Roca, 2005; p.731-737 e 766.

Agradecimento

Bolsa de Iniciação Científica PIBICT/FAPEMIG/2013-2014 à C.B.A e apoio financeiro FAPEMIG Universal APQ 01518-9.