13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

Diversidade críptica de Mycodrosophila nos Neotrópicos revelada por meio da técnica de DNA-Barcode

RUBIRA, Alana Rodrigues; BESSA, Maiara Hartwig; MACHADO, Stela; GOTTSCHALK, Marco Silva; ROBE, Lizandra Jaqueline (Orientador) alana.rubira@gmail.com

Evento: Congresso de Iniciação Científica Área do conhecimento: Genética Molecular

Palavras-chave: monofilia recíproca; impedimento taxonômico; Drosophilidae.

1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho procura testar a utilidade da tecnologia do DNA-Barcode na identificação e descoberta de espécies Neotropicais dentro do gênero *Mycodrosophila*.

A maioria dos estudos a respeito de drosofilídeos foca em espécies que utilizam frutos fermentados como substrato de alimentação e/ou oviposição (Döge et al., 2007). A escolha do gênero *Mycodrosophila*, de hábitos micófagos, partiu da necessidade de fazer frente ao impedimento taxonômico que tem dificultado maiores avanços no conhecimento de questões evolutivas e ecológicas relacionadas ao gênero.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A família Drosophilidae possui 77 gêneros com mais de 4.200 espécies descritas, das quais 77 estão dentro do gênero *Mycodrosophila* (Bächli, 2014). Segundo Gottschalk et al. (2008), foram descritas 304 espécies de drosofilídeos no Brasil, das quais apenas três foram atribuídas ao gênero alvo do presente trabalho.

A utilização da taxonomia morfológica para identificação de espécies possui limitações, como a presença de plasticidade fenotípica, variabilidade intraespecífica para caracteres empregados e a existência de táxons crípticos (Hebert et al. 2004), além do impedimento taxonômico, que vem dificultando o progresso de estudo científicos em diversas áreas (de Carvalho et al., 2007). A técnica do DNA-Barcode, proposta por Hebert et al. (2003), se baseia no uso de sequências do gene mitocondrial citocromo-oxidase subunidade I (COI) como códigos de barra na identificação e descobertas de espécies. Essa técnica é capaz de distinguir indivíduos de diferentes espécies porque a variação genética interespecífica excede a variação intraespecífica. Porém, o teste de utilidade da técnica requer a adoção de estratégias integrativas, com o uso em conjunto de técnicas taxonômicas clássicas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Drosofilídeos adultos foram coletados de fungos encontrados em diversos munícipios do Brasil com auxílio de um aspirador entomológico. Após a coleta, os indivíduos foram fixados em álcool absoluto e levados ao laboratório para

13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

identificação taxonômica através de morfologia externa e genitalia masculina (preparada de acordo com Wheeler & Kambysellis, 1966).

O DNA foi extraído de cada espécime com utilização de kit e fragmentos do gene COI foram amplificados com os primers TYJ/C1N (Simon et al., 1994). Os amplicons obtidos foram purificados e enviados para sequenciamento.

Após a montagem e alinhamento das sequências, a análise de dados foi feita através do programa MEGA 6.0. O modelo Kimura 2-parâmetros foi utilizado para calcular as distâncias intra e interespecíficas, enquanto a construção da filogenia foi feita através do algoritmo de Neighbor-Joining.

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Foram amostrados e sequenciados um total de 57 espécimes de *Mycodrosophila*, e estes foram atribuídos a cinco morfotipos diferentes. Pela aplicação do DNA-Barcode, foi possível verificar a presença de pelo menos três pares de espécies crípticas, totalizando uma amostragem de oito espécies, das quais seis são novas para a ciência. Todas as espécies mostraram-se reciprocamente monofiléticas, e um barcoding-gap foi verificado entre as distâncias intraespecíficas máximas e interespecíficas mínimas (3,6% e 4,6%, respectivamente, com uma diferença de pelo menos 1%).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados neste trabalho mostram a utilidade da técnica do DNA-Barcode na descoberta de espécies, visto que pela análise morfológica identificou-se cinco espécies e a técnica utilizada apresentou oito.. Além disso, foi possível aumentar o número de espécies de *Mycodrosophila* localizadas no Brasil (de três para oito), sendo seis delas permanecendo por ser descritas.

REFERÊNCIAS

Bächli, G. TaxoDros: The Database on Taxonomy of Drosophilidae, v. 1.03, Database 2014/07. http://www.taxodros.uzh.ch/.

Döge, J.S., Gottschalk, M.S., Bizzo, L.E.M., Oliveira, S.C., Schmitz, H.J., Silva, V.L., Hofmann, P.R.P. 2007. The genus *Zygothrica* Wiedemann 1830 (Diptera, Drosophilidae) in Santa Catarina state, southern Brazil: distribution and ecological notes. Biota Neotrop. 7,33-36.

Gottschalk, M.S., Hofmann, P.R.P., Valente, V.L.S., 2008. Diptera, Drosophilidae: historial occurrence in Brazil. Check List 4, 485-518.

Herbert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & de Waard, J.R. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. Proc. R. Soc. Lond. B 270, 313-321.

Hebert, P.D.N., Penton, E.H., Burns, J. M., Janzen, D.H. & Hallwachs, W. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveal cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101, 14812-14817.

Simon C, Frati R, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. Ann Entomol. Soc. Am. 87, 651-701.

Wheeler, M.R. & M.P. Kambysellis. 1966. Notes on the Drosophilidae (Diptera) of Samoa. Univ. Texas. Pub. 6615, 533-595