

ESTUDO DE OCORRÊNCIA DE EPHEMEROPTERA NA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ

Gabriella Fernanda Moreno Silva (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Alessandra Valéria de Oliveira (Coorientadora), Roger Paulo Mormul (Orientador). E-mail: roger@nupelia.uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas / Genética Molecular e de Microrganismos.

Palavras-chave: *COI*; Identificação molecular; Zoobentos.

RESUMO

A planície de inundação do alto Rio Paraná é uma área de grande importância ecológica com alta biodiversidade, entretanto pertence a uma das bacias mais represadas no continente Sul-americano, o que prejudica as comunidades aquáticas. A ordem Ephemeroptera compreende invertebrados bentônicos, extremamente sensíveis às alterações ambientais, grupo com raras pesquisas moleculares na região. A identificação correta desses organismos é essencial para a compreensão da sua biologia. Entre os marcadores moleculares empregados para a identificação de espécies está o gene mitocondrial citocromo c oxidase (*COI*), funcionando como “DNA barcoding”. O objetivo do projeto foi identificar e caracterizar molecularmente e morfológicamente indivíduos de Ephemeroptera da planície de inundação do alto Rio Paraná. Foram coletados espécimes de Ephemeroptera em cinco pontos da planície. A identificação morfológica dos espécimes revelou representantes da família Caenidae, assim como a análise do gene *COI* de um indivíduo analisado.

INTRODUÇÃO

A planície de inundação do alto Rio Paraná abarca uma extensa região do território brasileiro, muito biodiversa e de elevada importância ecológica. Entretanto, é uma bacia intensamente represada e povoada, o que afeta negativamente os ecossistemas presentes no rio com a homogeneização das comunidades nativas, invasão biológica, extinção de espécies e perda de habitat (Agostinho *et al.*, 2008).

Em meio a essa diversidade biológica destacam-se os invertebrados bentônicos, importantes na ciclagem de nutrientes e no fluxo de energia. Entre eles a ordem Ephemeroptera contempla representantes de todas as funções ecológicas e são notavelmente sensíveis às alterações ambientais, amplamente utilizados para biomonitoramento de ambientes aquáticos. No Brasil, foram registradas a ocorrência de 10 famílias, 82 gêneros e 447 espécies, grande maioria pertencente às famílias Baetidae e Leptophlebiidae (Salles *et al.*, 2004).

Porém, existem poucos estudos moleculares com Ephemeroptera na região da planície de inundação do alto Rio Paraná. Um estudo anterior revelou a presença de representantes de Baetidae no local, mas não foi possível uma identificação específica devido à carência de sequências de DNA desse grupo em bancos de dados genéticos. Tal fato destaca a importância da associação entre a taxonomia tradicional com a molecular para a descrição de espécies e melhor compreensão da ecologia dos grupos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletados espécimes de Ephemeroptera associados a macrófitas aquáticas, em cinco pontos da bacia hidrográfica do alto Rio Paraná. As coletas foram realizadas com a utilização de um quadrado de PVC (policloreto de vinil) de 0,5 cm x 0,5 cm que delimitou a área amostral. As amostras foram enviadas para o professor Frederico Falcão Salles da Universidade Federal de Viçosa para caracterização morfológica, que analisou peças bucais, pernas e brânquias (ninfas), asas e genitália (adultos).

Posteriormente, os espécimes foram direcionadas ao laboratório de Genética Molecular do Nupélia, onde ocorreu a extração de DNA utilizando o Kit DNeasy® Blood and Tissue (QIAGEN®), seguindo as instruções do fabricante. O DNA extraído foi quantificado no espectrofotômetro NanoDrop Lite. Os *primers* LCO 1490 e HCO 2198 foram utilizados para amplificar parcialmente o gene *COI*, e a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) seguiu a proposta de Ball et al. (2005). Os *amplicons* foram verificados em gel de agarose 1%, purificados com Polietilenoglicol-NaCl e em seguida sequenciados através do sequenciador automático ABI 3500.

O programa BioEdit foi utilizado para analisar e editar as sequências nucleotídicas e o alinhamento destas foi realizado por meio do algoritmo *ClustalW*, implementado no software MEGA 7 (Kumar et al., 2016), em que também foi calculada a distância genética *p*. Foram obtidas no *GenBank* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>), através da ferramenta *BlastN*, sequências similares de *COI* de espécimes de diferentes famílias de Ephemeroptera. Estas sequências foram comparadas com a sequência obtida neste estudo e também com sequências obtidas por Geovanna Ortelã, no ano de 2023. Todas essas sequências foram utilizadas para a construção da árvore gênica no MEGA 7, aplicando o método de Máxima Verossimilhança.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A identificação morfológica revelou que os indivíduos amostrados são pertencentes ao gênero *Caenis*. Na análise molecular foi identificado um provável representante da família Caenidae. O haplótipo obtido foi agrupado com um representante de *Caenis* (Figura 1), no entanto com valor de distância genética de 16,6% (em relação à *Caenis ulmeriana*) e baixo percentual de identidade (inferior ou igual a 83,33%) em comparação às outras sequências de *COI* depositadas nos bancos de dados. Melo et al. (2018) apontou a ocorrência dessa família na região, mas ainda há certa carência de dados genéticos de Ephemeroptera em bancos de

dados, o que impossibilitou a identificação a nível específico dos espécimes estudados.

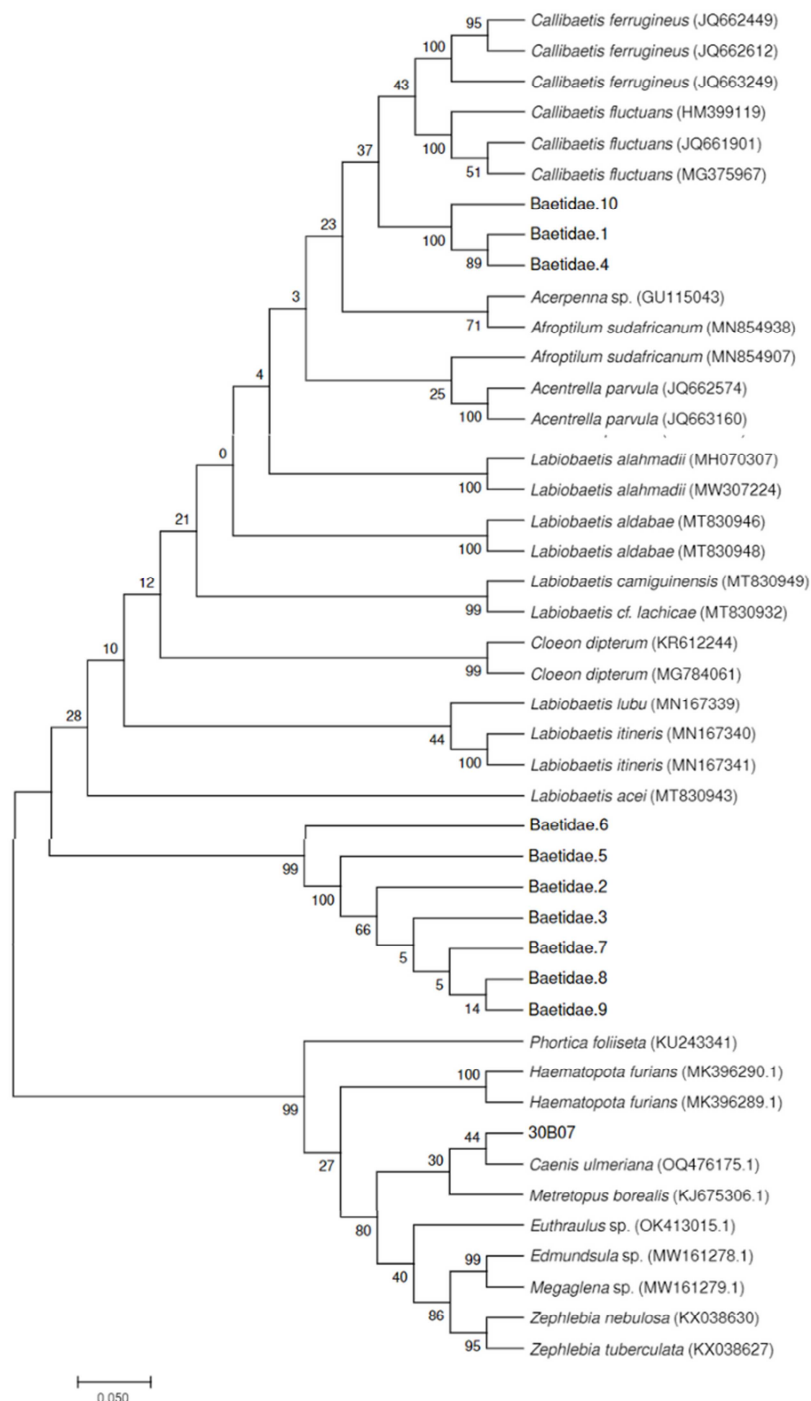


Figura 1 – Dendrograma de Máxima Verossimilhança com 1.000 reamostragens de *bootstrap*, demonstrando as relações entre espécimes de Ephemeroptera. 30B07 – Haplótipo obtido nesse estudo.

CONCLUSÕES

Os resultados indicam a presença da família Caenidae entre os espécimes de Ephemeroptera coletados na planície de inundação do alto Rio Paraná. Devido à escassez de dados genéticos de Ephemeroptera em bancos de dados, não foi possível a identificação específica dos indivíduos, enfatizando a necessidade de mais estudos genéticos com esse grupo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pela bolsa concedida, que tornou possível a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, A. A.; PELICICE, F. M.; GOMES, L. C. Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impacts and management related to diversity and fisheries. **Brazilian Journal of Biology = Revista Brasileira de Biologia**, v. 68, n. 4 Suppl, p. 1119-1132, nov. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/5ycwcWLBLM6jN9gMQMcysdK/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 13 ago. 2024.

BALL, S.; et al. Biological identifications of mayflies (Ephemeroptera) using DNA barcodes. **J. N. Am. Benthol. Soc.**, v. 24, n. 3, p. 508-524, set. 2005. Disponível em: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1899/04-142.1>. Acesso em: 13 ago. 2024.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33 (7), p. 1870-1874, jul. 2016. Disponível em: <https://academic.oup.com/mbe/article/33/7/1870/2579089?login=false>. Acesso em: 15 ago. 2024.

MELO, S. M. et al. Effects of food availability and habitat features on the Ephemeroptera species composition at seasonal and spatial scales from neotropical floodplain rivers. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 1, p. 160–168, fev. 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/kJg7c8tVkKfkCzk37wWM9BC/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 15 ago. 2024.

SALLES, F.; et al. As espécies de Ephemeroptera (Insecta) registradas para o Brasil. **Biota Neotropica**, v. 4, n. 2, p. 1-34, out. 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bn/a/tyXG6BYkthK8st7NjcD3s4k/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 15 ago. 2024.