

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Rineloricaria* DA BACIA DO ALTO RIO PARANÁ

Sergio João Sartor Neto (PIBIC/CNPq), Laura Ivana Ramos (Coorientadora), Carlos Alexandre Fernandes (Orientador). E-mail: cafernandes@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas / Genética Animal

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

RESUMO

A família Loricariidae, da ordem Siluriformes, apresenta desafios taxonômicos devido à presença de espécies crípticas, especialmente no gênero *Rineloricaria*. O DNA *barcoding*, utilizando o marcador mitocondrial *COI*, tem se mostrado eficiente na identificação e delimitação de espécies em grupos complexos. O presente estudo teve como objetivo avaliar a diversidade genética de *Rineloricaria langei* na bacia do rio Iguaçu por meio do marcador mitocondrial *COI*, a fim de investigar sua variação intraespecífica e relações interespecíficas dentro do gênero, contribuindo para a delimitação taxonômica e para o entendimento da diversidade críptica no grupo. Foram coletados 20 indivíduos no rio Iraí, e o DNA foi extraído a partir de fígado, amplificado com *primers* FishF1 e FR1d, sequenciado e analisado com os programas BioEdit, MEGA 7 e DnaSP v6. A análise de diversidade haplotípica revelou 18 haplótipos, com diversidade haplotípica (H_d) de 0,870 e diversidade nucleotídica (π) de 0,06329. Entre os indivíduos estudados, predominaram três haplótipos, sendo H1 encontrado em 18 indivíduos. A distância genética intraespecífica em *R. langei* foi baixa (0,4%), enquanto que a distância interespecífica variou de 3,6% (*R. parva*) a 11,2% (*R. pentamaculata*), compatível com valores de espécies distintas em peixes neotropicais. A árvore gênica agrupou os indivíduos de *R. langei* em um clado distinto, evidenciando clara separação em relação às demais espécies analisadas.

INTRODUÇÃO

A família Loricariidae, pertencente à Siluriformes, está dividida em sete subfamílias. Loricariinae, segunda maior em número de espécies, inclui o gênero *Rineloricaria* (Bleeker, 1862), que reúne cerca de 65 espécies descritas, encontradas desde a América Central até o sul do Brasil e norte da Argentina.

Evidências moleculares indicam que *Rineloricaria* forma um grupo monofilético; ainda assim, o gênero apresenta desafios taxonômicos, sobretudo pela presença de complexos de espécies e de formas crípticas morfológicamente semelhantes. Avanços citogenéticos e moleculares têm contribuído de modo decisivo para identificar espécies pouco estabelecidas ou crípticas. Entre essas ferramentas, o DNA *barcoding*, baseado na sequência do gene da subunidade I da

citocromo *c* oxidase (*COI*), tem sido eficaz na identificação e delimitação taxonômica, especialmente em grupos biologicamente complexos, como os peixes. A técnica permite o sequenciamento em múltiplos táxons com um conjunto reduzido de *primers* (Pereira *et al.*, 2013). Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade genética de *Rineloricaria langei* na bacia do rio Iguaçu por meio do marcador mitocondrial *COI*, a fim de investigar sua variação intraespecífica e relações interespecíficas dentro do gênero, contribuindo para a delimitação taxonômica e para o entendimento da diversidade críptica no grupo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Um total de 20 indivíduos, sendo 8 machos e 12 fêmeas de *R. langei* foi coletado no rio Iraí (25°28'49.2" S; 49°06'12.8" W) pertencente a bacia do rio Iguaçu, no município de Piraquara, Paraná (BR). A determinação do sexo dos indivíduos foi realizada por inspeção macroscópica.

O DNA foi extraído a partir de amostras de fígado utilizando o kit Promega Wizard® Genomics, seguindo as instruções do fabricante. A amplificação do marcador mitocondrial *COI* foi realizada com os *primers* FishF121 e FR1d. Os produtos da PCR foram analisados em gel de agarose a 1%, e o tamanho dos fragmentos foi estimado com base no marcador padrão Ladder 100 pb. As amostras amplificadas foram purificadas conforme protocolo descrito por Rosenthal *et al.* (1993), e o sequenciamento foi realizado em uma empresa privada.

As sequências obtidas foram editadas e alinhadas utilizando os programas BioEdit 7 e MEGA 7, respectivamente. Sequências de *Rineloricaria* disponíveis em bancos de dados foram utilizadas para comparação. O alinhamento foi realizado empregando o algoritmo *Clustal W*. Os índices de diversidade nucleotídica e haplotípica foram calculados utilizando o programa DnaSP v6. Por fim, valores de distância genética *p* e uma árvore de máxima verossimilhança, baseada em 1.000 reamostragens de *bootstrap*, foi construída com o MEGA 7. O acesso ao patrimônio genético dos espécimes foi concedido pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SISGEN, registro A569863).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de diversidade haplotípica revelou 18 haplótipos, com uma diversidade haplotípica (*Hd*) de 0,870. Foram identificados 123 sítios polimórficos (*S*) e a diversidade nucleotídica (π) foi de 0,06329. Entre os indivíduos deste estudo, foram encontrados três haplótipos distintos: H1 (*n* = 18), H2 (*n* = 1) e H3 (*n* = 1), indicando predominância do haplótipo H1 na população analisada. Quando consideradas todas as sequências incluídas na análise, os haplótipos mais frequentes foram H1 (*n* = 18), H8 (*n* = 5) e H9 (*n* = 5), conforme resultados obtidos no DnaSP.

A análise das sequências do marcador mitocondrial *COI* revelou baixa divergência genética entre os indivíduos de *R. langei* analisados neste estudo, com valores de distância genética máxima de 0,4%. Em relação à *R. langei* e outras

espécies do gênero, os valores de distância p variaram de 3,6% (*R. parva*) a 11,2% (*R. pentamaculata*). Esses valores são compatíveis aos encontrados entre espécies distintas de peixes neotropicais, corroborando estudos que consideram divergências superiores a 2% como indicativas de diferenciação específica (Hebert *et al.*, 2003). Resultados semelhantes foram obtidos por Cius *et al.* (2017), que relataram divergência intraespecífica superior a 3% em *Rineloricaria aff. langei*, associada a diferenças cariotípicas, sugerindo a ocorrência de linhagens crípticas.

A árvore gênica resultou na formação de dois grandes grupos (Figura 1). O primeiro incluiu indivíduos de *R. parva*, *R. nudipectoris*, *R. nigricauda* e *R. latirostris*. Já o segundo grupo, foi formado pelos espécimes de *R. langei* deste estudo, juntamente com sequências de *R. zawadzkii*, um exemplar de *R. parva*, *R. paraibensis* e *R. pentamaculata*.

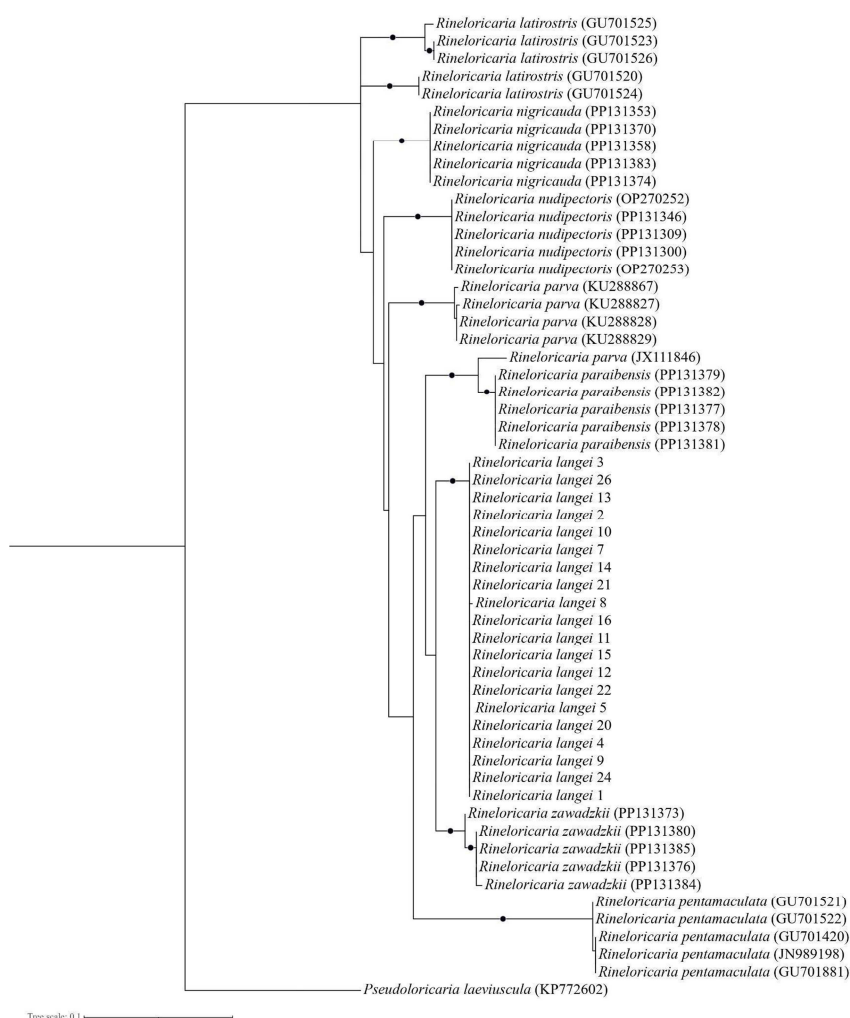


Figura 1 – Árvore gênica construída com sequências do marcador *COI* de *Rineloricaria*, utilizando o método de máxima verossimilhança com 1000 reamostragens de *bootstrap*. *Pseudoloricaria laeviscula* foi utilizado como grupo externo.

CONCLUSÕES

O marcador mitocondrial *COI* demonstrou eficiência na diferenciação de *R. langei* em relação a outras espécies do gênero. Assim, a árvore gênica evidenciou uma clara delimitação e separação dessa espécie, reforçando o potencial do *COI* como ferramenta para a delimitação de táxons em *Rineloricaria*.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. Claudio Henrique Zawadzki pela identificação dos espécimes. Agradeço também ao CNPq pelo financiamento da bolsa PIBIC e ao laboratório de Genética Molecular pela contribuição na realização deste estudo.

REFERÊNCIAS

- HEBERT, P. D.N. *et al.* Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313-321, 2003. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rspb.2002.2218>. Acesso em: 18 de agosto de 2025.
- CIUS, A. *et al.* Evidência de novas espécies de *Rineloricaria* (Siluriformes, Loricariidae) na bacia do rio Iguaçu, Paraná utilizando dados citogenéticos e de DNA barcoding. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 38, n. 1 supl., p. 165-165, 2017. Disponível em: <https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/29315/0>. Acesso em 18 de agosto de 2025.
- PEREIRA, L. H.G. *et al.* Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna?. **BMC genetics**, v. 14, n. 1, p. 20, 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2156-14-20>. Acesso em 18 de agosto de 2025.