

Estimativa da diferenciação genética de *Microsternarchus bilineatus* Fernández-Yépez, 1968 (Gymnotiformes: Hypopomidae) em quatro localidades no rio Negro, Amazônia, Brasil.

Carolina Rabelo MAIA¹; José Antônio ALVES-GOMES²; Renata SCHMITT³

¹Bolsista PIBIC INPA/CNPq; ²Orientador Pesquisador INPA/CPBA/LFCE; ³Colaboradora PCI-INPA/CPBA/LFCE

A ordem dos peixes elétricos Neotropicais, os Gymnotiformes, apresenta distribuição restrita à região Neotropical, alcançando maior diversidade de espécies e abundância em número de indivíduos na bacia Amazônica (Albert, 2001). Segundo Alves-Gomes *et al.* (1995), os Gymnotiformes são representados por sete famílias: Electrophoridae, Gymnotidae, Sternopygidae, Apterontidae, Eigenmanniidae, Rhamphichthyidae e Hypopomidae. Dentre os representantes da família Hypopomidae, *Microsternarchus* Fernández-Yépez, 1968 é tido como um gênero monotípico, ou seja, com apenas uma espécie nominal descrita, *Microsternarchus bilineatus* Fernández-Yépez, 1968. Contudo, estudos recentes, fundamentados principalmente na Descarga do Órgão Elétrico (DOE), sugerem que o gênero *Microsternarchus* pode apresentar espécies ainda não descritas (Nogueira, 2006). Com o objetivo de se obter uma estimativa da variabilidade genética presente na região controle (*D-Loop*) do DNA mitocondrial de *Microsternarchus bilineatus*, foram selecionados para este estudo indivíduos de quatro tributários localizados ao longo do alto e médio rio Negro: Mapí ($N = 10$) e Aduiá ($N = 12$) na margem esquerda e Açaituba ($N = 17$) e Quimicuri ($N = 10$) na margem direita, totalizando 49 indivíduos seqüenciados. A extração de DNA foi realizada seguindo o protocolo de Sambrook (1989), com modificações e a amplificação dos fragmentos de DNA foi realizada pela técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) com os primers FTTF e 12SR1. O Perfil de temperatura adotado para a amplificação foi de 35 ciclos com desnaturação à 92°C por 1 min, anelamento à 59°C por 1 min e extensão à 72°C por 1 min. Os fragmentos amplificados foram purificados e posteriormente seqüenciados. A leitura automática dos fragmentos no seqüenciador de DNA MegaBACE 1000 (GE-Healthcare) foi realizada após estes serem submetidos a um tratamento de precipitação, para a eliminação do produto não incorporado durante a reação de seqüenciamento. Depois de editadas e compiladas com o auxílio do programa BIOEDIT 6.0.7 (Hall, 1999), as seqüências foram alinhadas manualmente e submetidas a análises filogenéticas e de diversidade genética com o auxílio dos programas PAUP 4.0b10 (Swofford, 2002), MEGA 3.1 (Kumar *et al.*, 2004) e ARLEQUIN 2.0 (Schneider *et al.*, 2002). A topologia obtida pelo método da Máxima Parcimônia (MP) recuperou pelo menos três grupos monofiléticos distintos, separando os indivíduos do alto rio Negro (tributários Mapí e Açaituba) dos indivíduos do médio rio Negro (Aduiá e Quimicuri). A divergência genética entre estes grupos (tabela 1) mostra valores elevados, sugerindo que *Microsternarchus* necessita de uma revisão taxonômica com a descrição de novas espécies. Schmitt (2005) em sua dissertação de mestrado, encontrou distâncias genéticas inferiores a 7% entre indivíduos de linhagens distintas. A Análise de Variância Molecular (AMOVA) mostrou valores significativos de variabilidade genética entre as localidades ($F_{ST} = 0,7664$), sugerindo uma estruturação genética para a espécie. Os valores de F_{ST} evidenciados entre os pares de localidades, corroborados pelo número de migrantes (N_m) entre as mesmas (tabela 2), mostram fluxo genético entre as localidades do alto rio Negro (Açaituba e Mapí), porém isolamento genético entre estes dois tributários e os tributários do médio rio Negro (Aduiá e Quimicuri). Esta análise também indica fluxo genético entre os tributários Aduiá e Quimicuri, ainda que menos evidente.

Tabela 1 – Valores médios de divergência genética (\pm erro padrão) calculados a partir da distância p para cada grupo monofilético recuperado nas análise de MP.

	Alto rio Negro	Médio rio Negro 1	Médio rio Negro 2	Médio rio Negro 3
Alto rio Negro	0,0000 \pm 0,0000			
Médio rio Negro 1	0,0762 \pm 0,0081	0,0000 \pm 0,0000		
Médio rio Negro 2	0,0760 \pm 0,0082	0,0160 \pm 0,0037	0,0000 \pm 0,0000	
Médio rio Negro 3	0,0682 \pm 0,0079	0,0582 \pm 0,0075	0,0536 \pm 0,0070	0,0000 \pm 0,0000

Tabela 2 – Valores de F_{ST} (Índice de Fixação) na diagonal inferior e de Nm (Número de Migrantes) na diagonal superior. Os valores significativos de F_{ST} estão marcados por asterisco.

	Aduiá	Quimicuri	Mapí	Açaituba
Aduiá		1,1630	0,0648	0,0529
Quimicuri	0,30067*		0,2258	0,1676
Mapí	0,88521*	0,68886*		6,3916
Açaituba	0,90425*	0,74895*	0,07255	

Nível de Significância = 0,01

Estes resultados indicam a necessidade de uma revisão sistemática do grupo e chamam atenção para um problema que tem se tornado comum, a subestimativa da biodiversidade amazônica, uma vez que o conhecimento da biologia das espécies é fundamental para políticas públicas de manejo e conservação.

Palavras-chave: peixes elétricos, DNA mitocondrial, região controle.

Bibliografias citadas

- Albert, J.S. 2001. Species diversity and phylogenetical systematics of American knifefishes (Gymnotiformes, Teleostei). *Miscellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan*, 190: 1-129.
- Alves-Gomes, J.A.; Ortí, G.; Haygood, M.; Meyer, M.; Heiligenberg, W. 1995. Phylogenetic analysis of the South American electric fishes (Order Gymnotiformes) and the evolution of their electrogenic system: A synthesis based on morphology, electrophysiology, and mitochondrial sequence data. *Molecular Biology and Evolution*, 12(2): 298-318.
- Fernández-Yépez, 1968. Contribución al conocimiento de los peces Gymnotiformes. *Evencias*, (20): 1-7.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- Kumar, S.; Tamura, K; Nei, M. 2004. MEGA3: integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Brief. Bioinform.* 5 (2004), pp. 150-163.
- Nogueira, A.P.R. 2006. *Estudo do comportamento do gênero Microsternarchus Fernández-Yépez, 1968 durante o período reprodutivo*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 75p.
- Sambrook, J.; Maniatis, T.; Fritsch, E.F. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schmitt, R. 2005. *Filogeografia de Hypopygus lepturus Hoedeman, 1962 (Gymnotiformes: Rhamphichthyidae) ao longo do médio rio Negro, Amazônia*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 131p.
- Schneider, S.; Roessli, D.; Excoffier, L. 2000. Arlequin v. 2.000: A software for population genetic analysis. Genetics and biometry laboratory. University of Geneva, Switzerland.
- Swofford, D. 2002. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Version 4. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts.