

XIV Salão Iniciação Científica da PUCRS

Códigos de barra de DNA de Tetrapoda: Construção de uma rede integrada de DNA barcoding

Maísa Capra Bertoldo (Bolsista), Tiago Ferraz da Silva, Carla S. Fontana e Eduardo Eizirik (Orientador).

Laboratório de Biologia Genômica e Molecular, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 6681, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

Resumo

A identificação de materiais biológicos em nível de espécie é de suma importância, tanto do ponto de vista acadêmico (p.ex. em investigações ecológicas) quanto em aplicações práticas, como o monitoramento do tráfico de animais e o controle de pragas em plantações. Com o objetivo de padronizar as sequências de DNA utilizadas para identificação de espécies, e os procedimentos empregados neste processo, surgiu em 2003 a proposta conhecida como *DNA barcoding*, que implica a construção de grandes bases de dados de segmentos genômicos padronizados, as quais contam com forte embasamento taxonômico, curadoria detalhada e vinculação a coleções científicas. Em 2010 foi lançado oficialmente o projeto *iBOL* (*International Barcode of Life*), o qual almeja a geração de *DNA barcodes* de cinco milhões de indivíduos representando cerca de 500 mil espécies de eucariotos até 2015. O Brasil participa como um líder Latino-Americano ('nó regional') na iniciativa *iBOL*, oficialmente reconhecido a partir da constituição da rede nacional BrBOL (<http://brbol.org>), financiada pelo CNPq em 2010. Nosso grupo de pesquisa lidera o projeto da rede BrBOL com foco no grupo Tetrapoda (anfíbios, répteis [incluindo aves] e mamíferos), o qual inclui também a participação de 23 outras instituições presentes em todas as regiões do país. No âmbito deste projeto, o presente estudo tem como foco a geração de dados de *DNA barcodes* de mamíferos e aves, com ênfase em amostras vinculadas às coleções de Ornitologia e Mastozoologia do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS. A metodologia utilizada inclui a retirada de uma alíquota de tecido de cada animal, extração de DNA genômico empregando kits específicos, amplificação por PCR de um fragmento de 650pb do gene mitocondrial *citocromo c oxidase subunidade I (COI)* utilizando protocolos padronizados e *primers* otimizados para cada grupo, quantificação do produto de PCR em gel de agarose 1%, purificação com as enzimas *exonuclease I* e *Shrimp alkaline phosphatase* ou com PEG 8000, e sequenciamento de ambas as fitas do DNA em sequenciador automático. A seguir, se realiza um controle de qualidade minucioso das sequências e seu posterior depósito na base de dados internacional *BOLD systems*. Até o momento foram obtidas e triadas amostras de 642 indivíduos representando 204 espécies distintas de aves e 438 espécies de mamíferos. Deste total, *DNA barcodes* de alta qualidade já foram gerados de 250 indivíduos distintos, representando 204 espécies de aves e 46 de mamíferos.

Palavras-chave

Barcoding; COI; Tetrápodes; iBOL; BrBol.

