

## USO DE DNA *BARCODE* PARA A IDENTIFICAÇÃO DE MINHOCAS ENCONTRADAS NUM GRADIENTE ALTIDUNAL NA FLORESTA ATLÂNTICA – PARANÁ

Eliza Busch<sup>(1)</sup>, Elodie da Silva<sup>(2)</sup>, Guilherme Borges Xarão Cardoso<sup>(1)</sup>, Herlon Nadolny<sup>(1)</sup>, Guilherme Schuhli<sup>(2)</sup>, Samuel Wooster James<sup>(3)</sup>, Alexander Feijoo<sup>(4)</sup> e George Gardner Brown<sup>(2)</sup>

- (1) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. E-mail: elodie\_dasilva@live.fr ;  
(2) Embrapa Florestas, Colombo, PR;  
(3) University of Iowa, Iowa City, IA, EUA;  
(4) Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia.

A Floresta Atlântica no Brasil é um dos hotspots de biodiversidade mundial, mas foi bastante alterada, hoje restando apenas 7-13% do bioma original, com a maior parte sendo nas áreas montanas e submontanas do litoral. Cerca de 150 espécies de minhocas são conhecidas nesse bioma existindo várias áreas que ainda não foram realizadas coletadas de minhocas. As minhocas podem ser identificadas por características morfológicas ou moleculares. As análises moleculares surgiram como ferramenta auxiliar nos estudos de taxonomia de oligoquetas, facilitando e acelerando o processo de identificação de espécies, especialmente para indivíduos pequenos, juvenis e casulos. O DNA *barcode* é um pequeno segmento padronizado do DNA, baseado no gene citocromo oxidase I (COI mitocondrial) com 658 pares de base (pb). Esse método serve tanto para a diferenciação de espécies já conhecidas quanto para a identificação de novas espécies e já foi utilizado em vários estudos com minhocas. Os objetivos do presente trabalho foram de i) identificar as espécies de minhocas presentes num gradiente altitudinal no Pico Caratua com o uso de DNA *barcode*, na Floresta Ombrofila Mixta e ii) avaliar o efeito da altitude sobre a riqueza específica das minhocas. As minhocas foram coletadas em parcelas localizadas em um gradiente altitudinal do Pico Caratua: 1000, 1150, 1300, 1450, 1600, 1750 e 1820 m ( $\pm 30$ m) pelo método de escavação e triagem manual de monólitos. Os indivíduos foram fixados em álcool 80% para posterior identificação em laboratório. Em total foram utilizados 176 indivíduos para extração de DNA. A análise das sequências do gene COI foi feita através de Neighbor-Joining (NJ) com MEGA 4.0 usando o modelo Kimura-2 parâmetros (K2P). As sequências COI foram separadas em espécies potenciais segundo a divergência entre as sequências de nucleotídeos e identificadas morfológicamente. Essa metodologia permitiu a separação das sequências em grupos correspondendo a espécies potenciais, sendo a diversidade intra-específica de 1-4% e a distância inter-específica de 16-28%. Quinze espécies foram identificadas, tanto morfológicamente quanto geneticamente, sendo um *Fimoscolex* n.sp., três *Kerriona* n.sp., seis *Glossoscolex* spp. (10 novas espécies!), *Urobenus brasiliensis*, *Andiorrhinus duseni*, além de duas *Amyntas* (*A. corticis*, *A. gracilis*) e uma espécie não identificada da família Ocneroдрilidae. Das 15 espécies encontradas, 12 espécies eram nativas, duas espécies exóticas e uma com origem duvidosa. A distribuição das espécies mudou de acordo com a altitude, mas nenhum efeito significativo foi encontrado para a riqueza específica.

No gradiente altitudinal (1000-1850 m), quinze espécies foram identificadas com o método de DNA *barcode*. A riqueza específica não foi correlacionada com altitude, entretanto, as espécies exóticas foram encontradas apenas na altitude mais baixa e próxima a atividades humanas.

Palavras-chave: identificação molecular, Oligoquetas, biodiversidade, Floresta Ombrófila Mista, Parque do Pico Paraná.

Apoio financeiro: CNPq, CAPES