

INTRODUÇÃO

Pseudocorynopoma doriae (Perugia, 1891) é uma espécie de peixe neotropical da subfamília Stevardiinae (Characidae) e é facilmente identificável pela sua quilha localizada entre a mandíbula e as nadadeiras pélvicas, assim como sua nadadeira dorsal altamente desenvolvida nos machos maduros (fig.1). O dimorfismo sexual dessa espécie é ainda verificável na nadadeira anal, sendo ela muito mais longa e com ganchos nos machos adultos da espécie.

Distribui-se pelas bacias da laguna dos Patos e do rio Uruguai, assim como pelas bacias costeiras. Sua distribuição é relativamente ampla, quando comparada a de outras espécies de Characidae na região. Considerando que o gênero *Cyanocharax* se distribui por essas mesmas bacias, porém com algumas espécies que são endêmicas de apenas uma bacia, é natural supor que existam diferenças, mesmo que não sejam no nível de espécie, entre as diversas populações de *Pseudocorynopoma doriae*. Além dessas três regiões, a bacia do rio Uruguai possui uma sub-bacia peculiar, com alta diversidade de ictiofauna e relativo endemismo, que é a bacia do rio Negro e que, portanto, merece ser analisada separadamente como uma quarta bacia.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho consiste em identificar as relações de parentesco existentes entre as diferentes populações de *Pseudocorynopoma doriae*, assim como averiguar se existe processo de especiação ou mesmo se estas populações constituem espécies diferentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

O DNA foi extraído de amostras de tecido da coleção de peixes do Departamento de Zoologia da UFRGS seguindo uma variação do protocolo de precipitação por sal (Medrano et al., 1990). O material extraído foi submetido posteriormente a ampliação pela técnica de PCR com os primers específicos para o gene mitocondrial Citocromo Oxidase (COX I). O sucesso das reações foi verificado com eletroforese em gel de agarose 1% com tampão Tris-Borato-EDTA (TBE) e corante. Biotium's GelRed Nucleic Acid Gel Stain (fig.2).

Para análise dos dados, os cromatogramas foram construídos e analisados através do programa phred/phrad/consed (Ewing et al., 1998; Gordon et al., 1998). As seqüências consenso foram alinhadas usando o software Muscle 3.6 (Edgar, 2004). Estatísticas básicas, tal como diversidade nucleotídica e frequência nucleotídica foram calculadas com o software DnaSP (Rozas et al., 2003). A rede de haplótipos foi feita usando-se do software network com algoritmo de Medium Joining.

Concomitantemente à análise molecular está sendo feita a análise morfológica de parâmetros métricos e contagens de raios e escamas.



Fig.1 - Exemplar macho adulto de *Pseudocorynopoma doriae* (Perugia, 1891)

RESULTADOS PRELIMINARES E DISCUSSÃO

Apenas 9 amostras foram seqüenciadas e 26 foram analisadas morfológicamente. Das 26, duas são da região costeira, quatro da bacia do Patos, seis são da bacia do rio Negro e 14 pertencem à bacia do rio Uruguai.

A rede de haplótipos (fig.3) não demonstra diferenças significativas entre a maioria das espécimes. No entanto, um dos haplótipos encontra-se afastado dos demais por 15 mutações no seu gene COX I. Mesmo considerando o número pequeno de amostras essa é uma diferença que indica uma distinção real, visto que o indivíduo 684 (haplótipo 4) é o único representante da bacia da laguna dos Patos na rede, enquanto o restante faz parte ou da bacia do rio Uruguai ou do rio Negro.

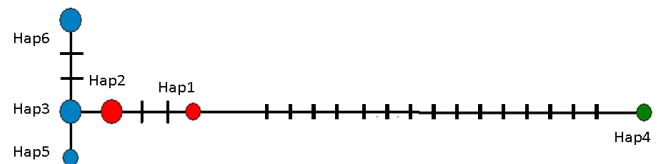


Fig.3 - Rede de haplótipos

- Hap_1: 636G (negro) Negro = vermelho
- Hap_2: 636H e 199A (negro) Uru = azul
- Hap_3: 2 196B e 89A (uru) Patos = verde
- Hap_4: 1 684 (patos)
- Hap_5: 1 89B (uru)
- Hap_6: 2 196A e 64 (uru)

As análises morfológicas, embora contassem com um tamanho amostral maior que o da molecular, não apresentaram qualquer diferença notável até o momento (tab.1). A diferença entre indivíduos dentro de uma mesma bacia mostrou-se bem maior do que a de indivíduos de bacias diferentes.

É evidente, no entanto, que o tamanho amostral tanto molecular quanto morfológico não permite qualquer conclusão. É interessante perceber que, mesmo com pouquíssimas amostras uma diferença significativa entre a população da laguna dos Patos e a da bacia do Uruguai já é perceptível. As amostras continuam sendo analisadas e os dados continuam sendo levantados para que em um futuro próximo alguma conclusão sólida possa ser obtida a respeito do assunto.



Fig.2 - Amostras de PCR em gel de agarose. De cima para baixo: Lowmass; branco; 636G; 636H; 636L; 684; 693F e 1277A (as duas últimas amostras não foram seqüenciadas)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Medrano, J.F., Aasen, E. & Sharrow, L. 1990. DNA extraction from nucleated red blood cells. *Biotechniques*, 8 (1): 43.

Ewing, B., Hillier, L., Wendl, M.C., Green, P., 1998. Base-calling of automated sequencer traces 487 using phred. I. Accuracy assessment. *Genome Res* 8, 175-185.

Rozas, J., Sanchez-DelBarrio, J.C., Messeguer, X. & Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism 364 analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19 (18): 2496-2497.

Apoio financeiro:



Tab.1 -Valores mínimos, máximos, média e Desvio Padrão das medidas e contagens

| | BACIAS COSTEIRAS | | | | | BACIA DO PATOS | | | | | BACIA DO URUGUAI | | | | | BACIA DO NEGRO | | | | | |
|----------------------------|------------------|----------|----------|----------|--|----------------|----------|----------|----------|--|------------------|----------|----------|----------|--|----------------|----------|----------|----------|--|--|
| | Min | Max | Mean | SD | | Min | Max | Mean | SD | | Min | Max | Mean | SD | | Min | Max | Mean | SD | | |
| Standard length (mm) | 51,32 | 61,4 | 56,36 | - | | 43,1 | 53,46 | 50,1375 | - | | 44,92 | 66,2 | 53,74143 | - | | 42,14 | 60,72 | 54,10333 | - | | |
| Percent of Standard Length | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Predorsal length | 57,87217 | 59,28339 | 58,57778 | 0,997878 | | 56,59991 | 61,32251 | 58,8204 | 2,161365 | | 54,89426 | 60,63408 | 57,58164 | 1,585159 | | 57,19836 | 61,57522 | 59,18305 | 1,491047 | | |
| Prepelvic length | 43,15961 | 58,41777 | 50,78869 | 10,78915 | | 45,77331 | 46,96056 | 46,13617 | 0,556299 | | 41,76191 | 46,78985 | 44,77915 | 1,525362 | | 42,28715 | 46,94582 | 45,06555 | 1,904549 | | |
| Prepectoral length | 25,70033 | 26,26656 | 25,98344 | 0,40039 | | 26,11791 | 27,38701 | 26,6963 | 0,640774 | | 24,83139 | 26,31925 | 27,08584 | 2,895153 | | 25,45587 | 27,50356 | 26,68135 | 0,749271 | | |
| Prenal length | 60,9509 | 61,10749 | 61,02919 | 0,11073 | | 59,40106 | 62,62161 | 61,49917 | 1,438245 | | 59,84894 | 64,24039 | 62,00268 | 1,430117 | | 59,7532 | 65,06838 | 62,68088 | 1,627911 | | |
| Body depth | 35,34202 | 37,80203 | 36,57202 | 1,739488 | | 34,53055 | 40,19828 | 36,44982 | 2,55288 | | 30,78807 | 37,22298 | 34,4181 | 1,665073 | | 32,33326 | 38,4552 | 35,12951 | 2,288477 | | |
| Caudal peduncle depth | 10,55375 | 12,86048 | 11,70711 | 1,63111 | | 9,096233 | 12,14936 | 10,56184 | 1,437219 | | 9,818731 | 13,65298 | 11,36395 | 1,080294 | | 8,979063 | 10,51244 | 9,8267 | 0,609702 | | |
| Caudal peduncle length | 10,85347 | 12,78502 | 11,81924 | 1,365811 | | 9,701347 | 12,01668 | 10,39059 | 1,089064 | | 31,75363 | 35,96524 | 33,7998 | 1,375739 | | 32,22534 | 38,39582 | 35,06078 | 2,415829 | | |
| Length of anal-fin base | 33,97394 | 36,22369 | 35,09882 | 1,590816 | | 32,84685 | 37,69173 | 35,13545 | 2,210276 | | 20,6572 | 56,02569 | 38,78885 | 13,99894 | | 20,97545 | 54,34923 | 33,6921 | 15,13764 | | |
| Dorsal-fin length | 21,00977 | 45,79111 | 33,40044 | 17,52306 | | 22,34339 | 47,36543 | 33,74525 | 12,92156 | | 10,79697 | 16,53265 | 13,34923 | 1,811658 | | 11,66584 | 15,18445 | 13,35391 | 1,335774 | | |
| Pelvic-fin length | 10,60261 | 13,48402 | 12,04331 | 2,037469 | | 31,46323 | 35,54059 | 33,58929 | 1,932393 | | 29,14367 | 35,17371 | 33,3673 | 1,714733 | | 31,30217 | 35,73781 | 33,49377 | 1,683969 | | |
| Pectoral-fin length | 29,65798 | 35,17147 | 32,41473 | 3,898628 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Head length | 22,94788 | 23,96726 | 23,45757 | 0,720812 | | 22,79914 | 24,86732 | 24,19394 | 0,937095 | | 23,31634 | 25,78404 | 24,36177 | 0,792807 | | 22,83806 | 24,26074 | 23,34799 | 0,594611 | | |
| Percent of Head Length | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Rostrum length | 22,43902 | 27,25337 | 24,8462 | 3,404257 | | 20,51774 | 29,31818 | 23,82665 | 4,000106 | | 23,91454 | 29,5057 | 26,39258 | 1,576753 | | 23,48754 | 30,38229 | 26,45434 | 2,274603 | | |
| Maxillar length | 23,33333 | 23,91767 | 23,6255 | 0,41319 | | 19,17546 | 25 | 22,36002 | 2,862367 | | 18,99693 | 25,52648 | 22,38175 | 2,111826 | | 22,43461 | 26,0274 | 24,66217 | 1,323828 | | |
| Eye diameter | 27,82115 | 28,61789 | 28,21952 | 0,563378 | | 27,12121 | 32,53425 | 29,81888 | 2,669218 | | 25,96726 | 32,43243 | 29,20363 | 1,503405 | | 28,14454 | 31,86734 | 30,79812 | 1,427623 | | |
| Interorbital width | 31,93798 | 36,09756 | 34,01755 | 2,941576 | | 33,76524 | 34,41781 | 34,09529 | 0,362048 | | 28,46313 | 36,49402 | 33,86898 | 2,38395 | | 34,1637 | 37,99567 | 36,04559 | 1,788013 | | |
| Counts | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Non ramified anal-fin rays | 4 | 4 | 4 | 0 | | 4 | 9 | 6,25 | 2,061553 | | 4 | 8 | 4,857143 | 1,027105 | | 4 | 8 | 5,5 | 1,516575 | | |
| Ramified anal-fin rays | 31 | 34 | 32,5 | 2,12132 | | 29 | 39 | 33,5 | 4,203173 | | 28 | 37 | 33,5 | 2,875627 | | 32 | 38 | 35,66667 | 2,33809 | | |
| Dorsal-fin rays | 11 | 11 | 11 | 0 | | 9 | 11 | 10,25 | 0,957427 | | 10 | 11 | 10,64286 | 0,497245 | | 11 | 11 | 11 | 0 | | |
| Pelvic-fin rays | 6 | 6 | 6 | 0 | | 5 | 6 | 5,75 | 0,5 | | 6 | 6 | 6 | 0 | | 6 | 6 | 6 | 0 | | |
| Pectoral-fin rays | 10 | 11 | 10,5 | 0,707107 | | 10 | 11 | 10,75 | 0,5 | | 10 | 12 | 11,28571 | 0,726273 | | 11 | 12 | 11,33333 | 0,516398 | | |
| Caudal-fin rays | 19 | 19 | 19 | 0 | | 19 | 19 | 19 | 0 | | 19 | 19 | 19 | 0 | | 19 | 19 | 19 | 0 | | |
| Lateral line scales | 41 | 42 | 41,5 | 0,707107 | | 37 | 41 | 39 | 1,825742 | | 36 | 44 | 41,42857 | 2,17377 | | 38 | 42 | 40 | 1,788854 | | |
| List-dorsal scales | 7 | 7 | 7 | 0 | | 7 | 8 | 7,5 | 0,57735 | | 7 | 8 | 7,285714 | 0,513553 | | 7 | 8 | 7,5 | 0,547723 | | |
| List-ventral scales | 6 | 6 | 6 | 0 | | 5 | 7 | 6,25 | 0,957427 | | 7 | 8 | 7,285714 | 0,488807 | | 6 | 7 | 6,666667 | 0,516398 | | |
| Predorsal scales | 20 | 21 | 20,5 | 0,707107 | | 14 | 22 | 17,75 | 3,5 | | 18 | 22 | 20,07143 | 1,730464 | | 17 | 19 | 17,86667 | 0,516398 | | |
| Caudal peduncle scales | 21 | 22 | 21,5 | 0,707107 | | 18 | 20 | 19 | 1,414214 | | 14 | 22 | 18,71429 | 2,301457 | | 16 | 18 | 16,66667 | 1,032796 | | |