

A IMPORTÂNCIA DAS COLEÇÕES BIOLÓGICAS NA RECUPERAÇÃO DA HISTÓRIA EVOLUTIVA DE UMA ESPÉCIE DE AVE EM EXTINÇÃO: O CABURÉ-DE-PERNAMBUCO (*GLAUCIDIUM MOOREORUM*)

Heverly Suzany Gouveia de Menezes¹; Luciano Nicolas Naka²

¹Estudante do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ambientais.- CCB – UFPE; E-mail: hsuzany@hotmail.com, ²Docente/pesquisador do Depto de Zoologia – CCB – UFPE; E-mail: lnaka1@tigers.lsu.edu.

Sumário: O Brasil é conhecido por sua grande biodiversidade (LEWINSOHN E PRADO, 2006) e também por ter uma grande quantidade de espécies endêmicas. Porém, o país também é campeão em número de espécies ameaçadas de extinção. No Brasil, 40% das aves endêmicas encontram-se ameaçadas de extinção (IUCN, 2013). A maior parte destas espécies ocorre na Floresta Atlântica, a qual é considerada um dos 25 *hotspots* mundiais prioritários para a conservação, devido ao seu alto grau de ameaça e endemismo (MYERS *et al*, 2000). Dentro deste bioma, o Centro de Endemismo de Pernambuco, localizado na Floresta Atlântica do Nordeste (PRANCE 1982), representa a mais ameaçada porção de floresta da região Neotropical, onde menos de 2000 km² de floresta ainda restam, e os maiores fragmentos não superam os 5000 ha (SILVA *et al*, 2002). Um total de 33 taxóons de aves endêmicas desta região encontra-se sob alguma classificação de ameaça (BARNETT *et al*, 2005; MARINI E GARCIA, 2005). Uma delas, é o Mutum-de-Alagoas (*Mitu mitu*), que já foi considerada extinta na natureza (SILVEIRA *et al*, 2003). Um caso ainda mais dramático é representado pelo Caburé-de-Pernambuco (*Glaucidium mooreorum*), que foi recentemente descrita para a ciência, mas já é considerada como uma das espécies mais criticamente ameaçadas de extinção (SILVA *et al*, 2002). Ela foi descrita em 2002 a partir de dois espécimes coletados próximos de Tamandaré na década de 80.

Palavras-chave: coleções biológicas; caburé-de-pernambuco; dna ancião

INTRODUÇÃO

Estes dois exemplares representam os únicos dois espécimes depositados em coleções zoológicas do mundo, e fazem parte do acervo permanente da Coleção de Aves da UFPE (SILVA *et al*, 2002). As relações evolutivas do Caburé-de-Pernambuco permanecem incertas, pois não existem análises filogenéticas que corroborem a sua independência evolutiva, ou que confirmem qual população de corujas deu origem a este endemismo. O conhecimento da sua história evolutiva é especialmente relevante, pois além de fornecer conhecimentos sobre suas possíveis necessidades ecológicas, pode contar a história das conexões das hiléias da Floresta Atlântica e da Amazônia, iluminando a história evolutiva da região. Este projeto tem como principal objetivo utilizar os dois únicos espécimes do Caburé-de-Pernambuco depositados em coleções zoológicas para O objetivo é utilizar os dois únicos espécimes do Caburé-de-Pernambuco depositados na Coleção de Aves da UFPE para realizar a caracterização genotípica, elucidar a história evolutiva e suas conexões históricas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para obter material genômico de *Glaucidium mooreorum* foi necessário extrair DNA ancião dos espécimes depositados na coleção. O DNA foi extraído a partir de um pequeno

pedaço (25 mg) da pele dos exemplares em questão. Após termos retirado uma pequena porção de tecido dos pés das corujas A extração foi realizada com o kit de extração DNAeasy Blood & Tissue (produzido pela Quiagen), onde adaptamos o protocolo do fabricante, segundo Ohlson et al (2012) para DNA ancião, onde adiciona-se DTT (Ditiotreitrol), um forte agente redutor, na etapa da lise do tecido e um bloqueador de inibidores de PCR, o DMSO. Para amplificar o DNA, utilizamos um par de primer universal para genes mitocondriais (NADH Dehydrogenase 2) – H6313 e L5215 (Tabela 1). As amostras obtidas a partir da extração de DNA ancião do Caburé-de-Pernambuco, foram enviados para USP, onde especialista em DNA ancião estão realizando o sequenciamento.

Tabela 1. Lista de primers universais que serão utilizados para sequenciar os genes NADH Dehydrogenase 2 (ND2) (PATEL et al, 2009).

Gene e primer	Sequencia (5' - 3')
ND2 H6313	CTCTTATTTAAGGCTTTGAAGGC
ND2 L5215	TATCGGGCCCATACCCCGAAAAT

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da leitura dos artigos foi possível desenvolver o método para extração de DNA ancião. O DNA extraído não obteve uma boa amplificação (Figura 1). No entanto, estão sendo tomadas medidas que possam nos ajudar a obter um resultado mais concreto e elucidar a história evolutiva da *Glaucidium mooreorum*.

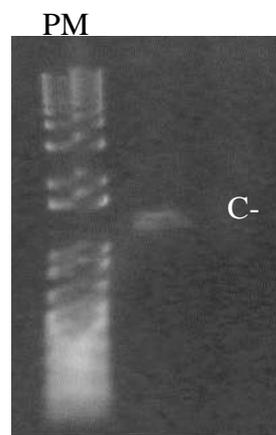


Figura 1 - Separação eletroforética de fragmentos amplificados por PCR de *Glaucidium mooreorum*. Controle negativo da reação (C-), peso molecular em pares de base (PM).

A análise das outras espécies do gênero *Glaucidium* também foram utilizadas para que possamos fazer a avaliação das relações filogenéticas entre elas e *G. mooreorum*. As espécies estudadas foram: *Glaucidium brasilianum*, *Glaucidium hardyi* e *Glaucidium minutissimum*, cujo DNA já foi extraído e amplificado (figura 2).

Tabela 2 – Espécies do gênero *Glaucidium* avaliadas no projeto de acordo com a figura 4.

	Espécie	Tombo
1	<i>Glaucidium brasilianum</i>	83269
2	<i>Glaucidium brasilianum</i>	83270
3	<i>Glaucidium brasilianum</i>	83271
4	<i>Glaucidium brasilianum</i>	90884
5	<i>Glaucidium brasilianum</i>	88825
6	<i>Glaucidium brasilianum</i>	88652
7	<i>Glaucidium brasilianum</i>	88653
8	<i>Glaucidium hardyi</i>	81871
9	<i>Glaucidium hardyi</i>	84592
10	<i>Glaucidium hardyi</i>	93277
11	<i>Glaucidium minutissimum</i>	76482
12	<i>Glaucidium minutissimum</i>	76483
13	<i>Glaucidium minutissimum</i>	90885
14	<i>Glaucidium minutissimum</i>	90886
15	<i>Glaucidium minutissimum</i>	90887
16	<i>Glaucidium minutissimum</i>	91318
17	<i>Glaucidium minutissimum</i>	88505

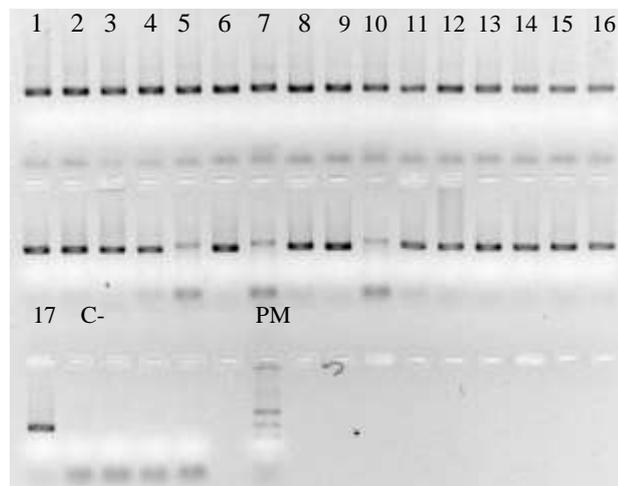


Figura 2 - Separação eletroforética de fragmentos amplificados por PCR de *Glaucidium brasilianum*, *Glaucidium minutissimum* e *Glaucidium hardyi*. Controle negativo da reação (C-), peso molecular em pares de base (PM). As correspondentes espécies podem ser observadas na tabela 2.

Apesar da dificuldade de obter DNA de espécie anciã, obtivemos sucesso em amplificar esse DNA com um gene mitocondrial universal. Com a utilização de *primers* específicos, será possível uma melhor amplificação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Luciano Naka, que descobriu formas de realizarmos o projeto, mesmo nas dificuldades que tivemos. Ao nosso colaborador, Dr. Gustavo Bravo do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, responsável pelo seqüenciamento dos espécimes dessa coleção. E aos colaboradores do Laboratório de Genética Evolutiva Aplicada, onde estamos realizando os trabalhos de laboratório.

REFERÊNCIAS

Lewinsohn, T.M. & P.I. Prado. Biodiversidade Brasileira: síntese do estado atual do conhecimento. São Paulo: Editora Contexto. 176p, 2002.

IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Versão 2013.2.
<www.iucnredlist.org>.

Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Fonseca G. A. B., Kent, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853–858, 2000

Prance G.T. Forest refuges: evidences from woody angiosperms. In: Prance G.T. (ed.), *Biological Diversification in the Tropics*. Columbia University Press, New York, pp. 137–158, 1982.

Silva, J. M. C., Coelho, G., Gonzaga, L. P. Discovered on the brink of extinction: a new species of Pygmy-Owl (Strigidae: Glaucidium) from Atlantic forest of northeast Brazil. *Ararajuba* 10: 123-130, 2002

Silveira, L. F., Olmos, F., Long, A. The Alagoas Curassow: world's rarest cracid. *Bulletin of the IUCN/Birdlife/WPA Cracid Specialist Group* 17: 31-34, 2003

Barnett, J. M., Carlos, C. J., Roda, S. A. Renewed hope for the threatened avian endemics of northeastern Brazil. *Biodiversity and Conservation* 14: 2265–2274, 2005.

Marini, M. A., Garcia, F. I. Conservação de aves no brasil. *Megadiversidade* 1, 95-102, 2005.

Marinoni, L., Peixoto, A. L. As coleções biológicas como fonte dinâmica e permanente de conhecimento sobre a biodiversidade. *Cienc. Cult.*;62(3):54-57, 2010.

Ohlson, J.I., Irestedt, M., Fjeldså, J. & Ericson, P.G.P. Nuclear DNA from a 180-year-old study skin reveals the phylogenetic position of the Kinglet *Calyptura Calyptura cristata* (Passeriformes: Tyrannides). *Ibis*, 154, pp. 533-541, 2012.

