CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E MORFOLÓGICA DE *Wanderbiltiana virginella* (Coleoptera: Chrysomelidae)

Érica Cheremeta (PIBIC/CNPq), Mara Cristina de Almeida (Orientador), Tiago Marafiga Degrandi (Coorientador), ericacheremeta04@gmail.com, almeidamara@uol.com.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/ DEBIOGEM - Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética.

Genética, Genética Animal.

Palavras-Chave: *Morfologia, COI, filogenia, citogenética.*

Resumo

A subfamília Alticinae é muito diversa; no entanto, apesar do elevado número de espécies, as análises citogenéticas são escassas. O presente trabalho caracteriza e diferencia geneticamente e morfologicamente *Wanderbiltiana virginella*, utilizando técnicas citogenéticas convencionais e marcadores moleculares, além de análises morfológicas. Os resultados mostraram a presença de três grupos distintos, sendo um deles do gênero *Wanderbiltiana.*

Introdução

A subfamília Alticinae contém cerca de 10.000 espécies, mas apenas 230 foram analisadas citogeneticamente. A ampliação desses estudos pode ajudar a esclarecer suas relações filogenéticas, dado que há muitas divergências na classificação (SMITH; VIRKKI, 1978). O gênero *Wanderbiltiana*, em particular *W. virginella*, também necessita de mais investigações genéticas e morfológicas, destacando a importância da pesquisa para a conservação da biodiversidade.

Material e Métodos

Os indivíduos foram coletados no Distrito de Itaiacoca, Ponta Grossa – PR, sendo dissecados para preparações citogenéticas, moleculares e posteriormente fixados para análises morfológicas. As análises morfológicas foram realizadas em um estereomicroscópio Medilux MDL-F, fotografada em um estereomicroscópio Leica® M205 C com câmera digital em tempo real MC170 HD (Leica®), utilizando o software LAS 4.8.0 (Leica®). A extração de DNA genômico dos indivíduos foi realizada segundo a técnica de Sambrook e Russel (2001), com alterações. O gene COI foi amplificado utilizando os *primers* descritos por KIM et al. (2003), e o produto foi purificado e enviado para sequenciamento por terceiros. As análises foram feitas utilizando os softwares *BioEdit e MEGA 11.* As filogenias foram construídas com modelos de máxima verossimilhança (ML), neighboor-joining (NJ) e máxima parcimônia (MP), com critério de substituição de nucleotídeo T92+G (Tamura 3-parameter + distribuição de Gamma discreta). As demais sequências utilizadas foram obtidas na plataforma NCBI com os números de acesso: AY308976.1 (*Alagoasa lineola*), OM608125.1 (Chrysomelidae sp.), AY191607.1 (*Diabrotica undecimpunctata)* e AF479462.1 (*Wanderbiltiana concolor*). A técnica de hibridação *in situ* fluorescente (FISH) foi segundo PINKEL et al. (1986), utilizando sondas de 18S e 5S de *Omophoita octoguttata*.

Resultados e Discussão

As análises citogenéticas confirmaram que *Wanderbiltiana virginella* possui um número diploide 2n= 22, com 20 autossomos e 2 sexuais gigantes e assinápticos, com segregação correta. A FISH com sondas de 18S e 5S não evidenciou marcação. Os indivíduos foram analisados pela morfologia externa e agrupados posteriormente em três grupos. Os indivíduos de cada grupo foram analisados pela morfologia interna, separando-os pelo tamanho e formato do lobo médio. A análise do sequenciamento do COI dos indivíduos de cada grupos confirma a ocorrência dos três grupos obtidos pela morfologia externa e interna. As análises de matriz de distância mostram a presença de três espécies distintas, com diferenças de 18,19% entre os grupos 1 e 2, 16,91% entre os grupos 1 e 3 e 24,13% entre os grupos 2 e 3. As sequências também foram comparadas na plataforma NCBI com a ferramenta BLAST, revelando similaridades: grupo 1 com *Alagoasa* sp., o grupo 2 com *Wanderbiltiana* sp., e o grupo 3 com a família Chrysomelidae. Os dados de alinhamento das sequencias foram usados para construir árvores filogenéticas, onde os ramos obtidos confirmam os três grupos propostos com base na morfologia.

Conclusão ou Conclusões

Conclui-se os indivíduos analisados pertencem a 3 espécies separadas e estas são muito semelhantes morfologicamente. E somente indivíduos de um grupo pertencem a *Wanderbiltiana virginella.*

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pela oportunidade da bolsa e a Prof.ª Dr.ª Mara Cristina de Almeida pelo auxílio e ensinamentos obtidos no decorrer do trabalho.

AZAMBUJA, M.; ROSOLEN, L. A. M.; ARTONI, R. F.; SANTOS, M. H.; ALMEIDA, M. C.**.** Cytogenetic and Molecular Characterization of Three Mimetic Species of the Genus Alagoasa Bechyné 1955 (Coleoptera: Alticinae) from the Neotropical Region. **Cytogenet Genome Res.** v. 160, n 4, p. 214-223. doi: 10.1159/000507560. Epub 2020 May 6.

.BORROR, D.J.; DeLONG, D.M. **Introdução ao estudo dos insetos.** São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, 1988. 653p

SMITH, S. G.; VIRKKI, N**. Animal Cytogenetic, Insecta 5: Coleoptera**. Berlin: Gebruder Borntraeger, 1978. v. 3

ISSN 1676-0093