



GENOTIPAGEM DE DIFERENTES POPULAÇÕES DE ESPÉCIES DE MUSGOS BIPOLARES POR MEIO DA TÉCNICA DE DNA BARCODING

Giovanna Melo Nishitani¹; Marcelo Henrique Soller Ramada²; Maria Victoria Magalhães de Vargas²; Stephan Machado Dohms²

¹Ciências Biológicas – Universidade Católica de Brasília;

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia – Universidade Católica de Brasília.

E-mail: giovanna.nishitani@a.ucb.br; marcelo.ramada@p.ucb.br;
mariavictoriamagalhaes@gmail.com; stephan.dohms@p.ucb.br.

RESUMO

Os musgos fazem parte do segundo maior grupo de plantas terrestres, estando presentes dos polos aos trópicos. Seu desenvolvimento em ambientes inóspitos revela o potencial desses organismos, que possuem compostos químicos de atividade biológica relevantes para o desenvolvimento ambiental, biotecnológico e farmacológico. Essas plantas prevalecem na macroflora da Antártica e são amplamente distribuídas no Ártico, visando potenciais aplicações no desenvolvimento de medicamentos antimicrobianos, antivirais e antitumorais. No entanto, a identificação das espécies pode ser dificultada pela variabilidade fenotípica. Atualmente, sua identificação taxonômica é realizada por caracteres morfológicos. Como alternativa, métodos moleculares podem fortalecer a identificação e comparação entre diferentes populações e sua origem biogeográfica. Neste trabalho, são utilizadas técnicas de DNA *Barcoding*, que envolve amplificação e sequenciamento de DNA, para distinguir espécies e populações de *Sanionia uncinata* e *Bryum pseudotriquetrum*, comparando as sequências em bancos de dados como o GenBank.

Palavras-chave: Musgo. Identificação. DNA *Barcoding*.

INTRODUÇÃO

As briófitas, consideradas as plantas terrestres mais antigas, formam um grupo criptogâmico e avascular que inclui os musgos, amplamente distribuídos em ecossistemas extremos como a Antártica e o Ártico, onde desempenham papel ecológico relevante e possuem compostos bioativos de interesse biotecnológico e farmacológico (Alves et al., 2022; Visnadi, 2015). Diversas espécies apresentam distribuição bipolar, como *Sanionia uncinata* e *Bryum pseudotriquetrum* (Biersma et al., 2017; Ochrya et al., 2008).

Apesar de sua relevância, a identificação taxonômica dessas espécies por caracteres morfológicos é dificultada pela notável plasticidade fenotípica em resposta a condições ambientais extremas (Valente, 2020). A técnica de DNA *barcoding*, proposta por Hebert et al. (2003), constitui uma abordagem eficaz e complementar à taxonomia clássica, permitindo a identificação molecular de espécies e a investigação de sua origem biogeográfica por meio da comparação de sequências de DNA com bancos de dados como o GenBank.

OBJETIVO

Desenvolver técnicas de DNA *Barcoding* em espécimes de *Sanionia uncinata* e *Bryum pseudotriquetrum* provenientes da Antártica e do Ártico, visando amplificar e sequenciar regiões



específicas do DNA e comparar as sequências obtidas com dados disponíveis em bancos de dados, contribuindo para a identificação molecular dessas espécies.

MÉTODO

Foram selecionados três espécimes de cada polo para cada espécie, previamente identificados por caracteres morfológicos. A partir de cultivos líquidos axênicos, foi realizada a extração de DNA genômico, seguiu o método de Doyle & Doyle (1987), com adaptações, empregando tampão CTAB, com quantificação por fluorometria (Qubit™) e avaliação de qualidade por eletroforese em gel de agarose 1%. A amplificação das regiões de interesse foi realizada por PCR (primers ITS1/ITS4, 18F/25R e trnL-trnF), com produtos enviados para sequenciamento Sanger no Laboratório de Biotecnologia da UCB. As sequências obtidas foram comparadas a registros do GenBank via BLASTn (Query Cover > 95%; Percent Identity > 98%), alinhadas no programa MEGA (Kumar et al., 2008) e submetidas à análise filogenética de Máxima Verossimilhança no IQ-TREE v. 1.6.12, com suporte de ramos calculado por 5.000 réplicas de bootstrap ultrarrápido (Hoang et al., 2018), sendo reportados apenas valores de suporte superiores a 70%.

RESULTADOS

A extração de DNA genômico foi bem sucedida para a maioria das amostras de *B. pseudotriquetrum* e para as amostras antárticas de *S. uncinata* (Tabela 1), com destaque para a amostra GR42119, cuja concentração extremamente baixa (0,254 ng/μL) provavelmente por degradação do material. Além disso, ocorreu que as três amostras árticas de *S. uncinata*, não puderam ser extraídas por falta de material vegetal suficiente.

Tabela 1

Quantificação das amostras de DNA genômico de *B. pseudotriquetrum* e *S. uncinata*.

Amostra	Quantificação (ng/μL)
BPQ08	600 (too high)
BPQ06	59,2
GR40149.2 (desc.)	600 (too high)
OABII046	600 (too high)
OABII203-A	89,8
IEBA10	600 (too high)
GR42119	0,254
GR42179	600 (too high)
SU03	19,5

Nota. Valores obtidos por fluorometria (Qubit™, Thermo Scientific).

Fonte: Elaborada pela autora (2026).

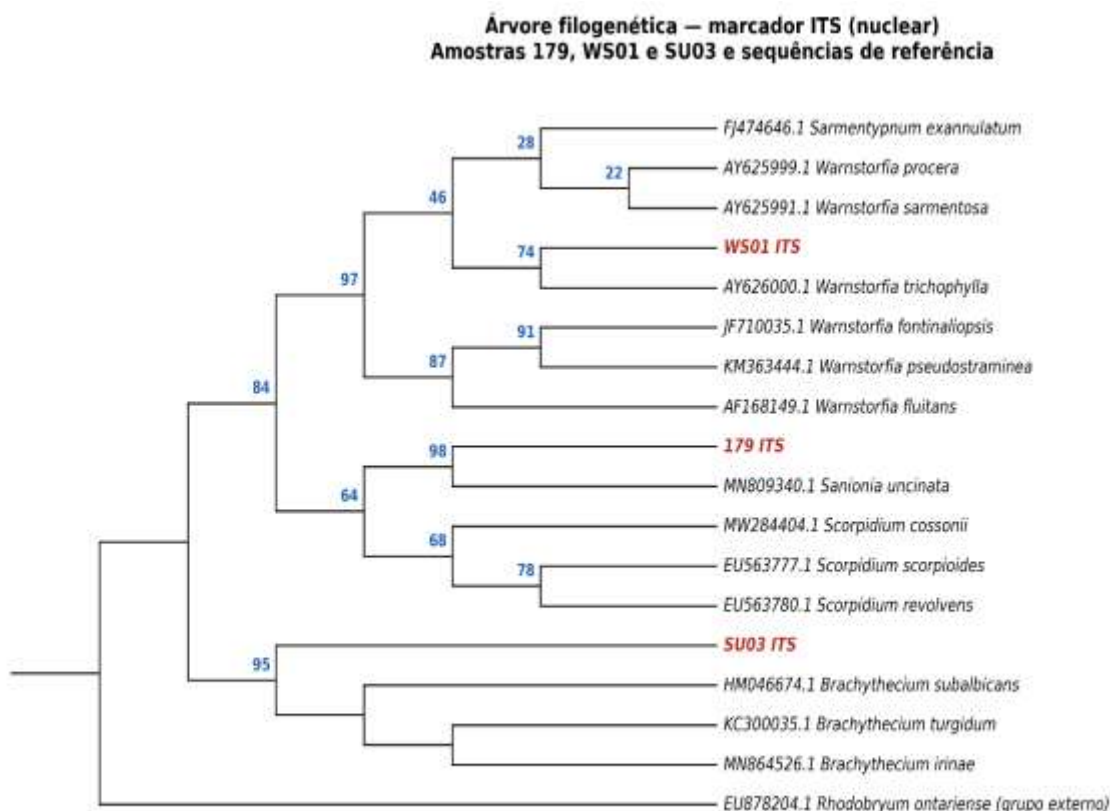
Nas análises filogenéticas com os marcadores trnL/trnL-trnF (cloroplasto) e ITS (nuclear), as amostras 179 e 010 tiveram sua identificação de campo confirmada por dois marcadores independentes e concordantes, sendo a 179 como *S. uncinata*, suporte de 87–98% e a 010 como *B.*



pseudotriquetrum, com suporte de até 100% no trnL e 53-75% no ITS. Por outro lado, duas amostras revelaram discrepâncias relevantes entre identificação morfológica e identidade molecular, também confirmadas por dois marcadores independentes, a amostra 046, que se agrupou com *Pohlia* (trnL 94%; ITS 99-100%) em vez de com o clado *Bryum/Ptychostomum* esperado, e a amostra SU03, que se agrupou com o clado de *Brachythecium* (trnL-trnF 94-96%; ITS 95%) em vez de com *Sanionia uncinata* (Figura 1).

Figura 1

Árvore filogenética (ITS) das amostras 179 e SU03 e sequências de referência.



Números nos nós = valores de suporte de bootstrap. Em vermelho/negrito: amostras deste estudo (179 ITS, WS01 ITS, SU03 ITS). Grupo externo: *Rhodobryum ontariense*. Topologia redesenhada para fins de legibilidade (cladograma, não proporcional a distância genética).

Nota. Números nos nós indicam valores de suporte de bootstrap; em destaque, as amostras deste estudo.

Fonte: Elaborada pelos autores (2026).

CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que o fluxo de trabalho estabelecido é funcional e capaz de gerar árvores filogenéticas informativas, confirmando a identidade molecular de parte das amostras e revelando discrepâncias relevantes entre identificação morfológica e identidade molecular em outras duas, o que evidencia a utilidade do DNA *barcoding* como ferramenta complementar à taxonomia morfológica clássica em grupos de identificação difícil, como os musgos bipolares aqui estudados. Como limitações, destacam-se a degradação de uma amostra e a impossibilidade de extração das



amostras árticas de *S. uncinata*, o que restringe comparações entre polos nesta etapa. Como perspectivas futuras, proponho a repetição das extrações pendentes, a reamplificação da amostra SU03 e a ampliação do número de marcadores e amostras por população, de modo a atender ao objetivo mais amplo do projeto, para a compreensão evolutiva e adaptativa da brioflora polar.

REFERÊNCIAS

- Alves, R. J. M., et al. (2022). Volatile chemical composition of *Octoblepharum albidum* Hedw. (Bryophyta) from the Brazilian Amazon. *BMC Chemistry*, 16(1), 76.
- Biersma, E. M., Jackson, J. A., Hyvönen, J., Koskinen, S., Linse, K., Griffiths, H., & Convey, P. (2017). Global biogeographic patterns in bipolar moss species. *Royal Society Open Science*, 4(7), 170147.
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19(1), 11–15.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 270(1512), 313–321.
- Hoang, D. T., Chernomor, O., von Haeseler, A., Minh, B. Q., & Vinh, L. S. (2018). UFBoot2: Improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular Biology and Evolution*, 35(2), 518–522.
- Kumar, S., Nei, M., Dudley, J., & Tamura, K. (2008). MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in Bioinformatics*, 9(4), 299–306.
- Ochyra, R., Lewis Smith, R. I., & Bednarek-Ochyra, H. (2008). *The illustrated moss flora of Antarctica*. Cambridge University Press.
- Valente, D. V. (2020). *DNA Barcode dos gêneros Schlotheimia Brid. e Macromitrium Brid. para o Brasil* [Tese de doutorado, Universidade de Brasília].
- Visnadi, S. R. (2015). Brioflora do Parque Estadual Intervales, São Paulo, Brasil: uma importante área para conservação da biodiversidade da Mata Atlântica do Sudeste brasileiro. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi-Ciências Naturais*, 10(1), 105–125.

Financiamento: Universidade Católica de Brasília