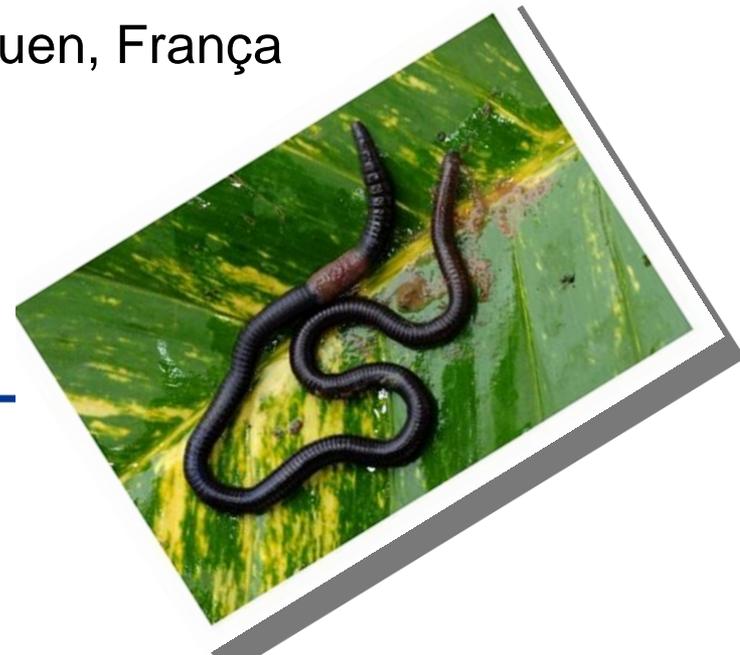


Códigos de Barras do DNA e a diversidade de invertebrados terrestres: o caso das minhocas

George Brown, Elodie da Silva, Guilherme Schuhli,
Marcos G. da Rosa, UDESC
Samuel James, University of Iowa, EUA
Marie L.C. Bartz, Universidade Positivo
Eliza Busch, Herlon Nadolny, UFPR
Thibaud Decaëns, Université de Rouen, França

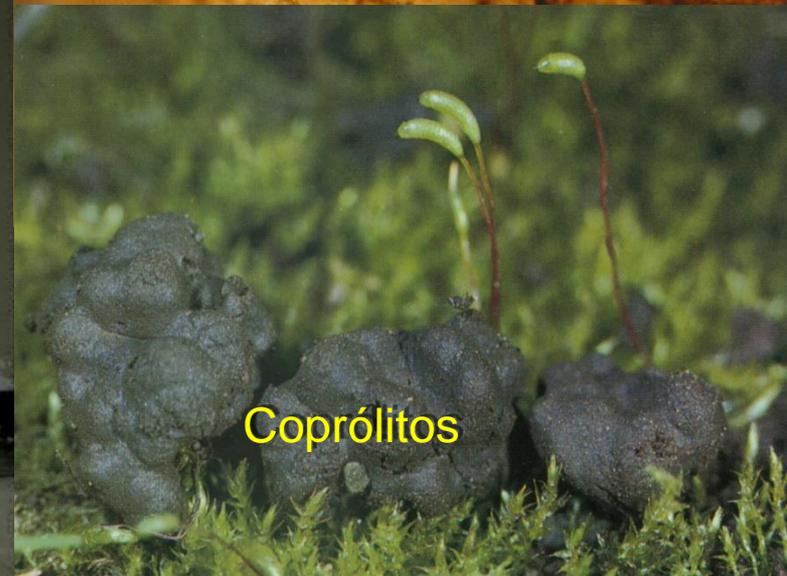
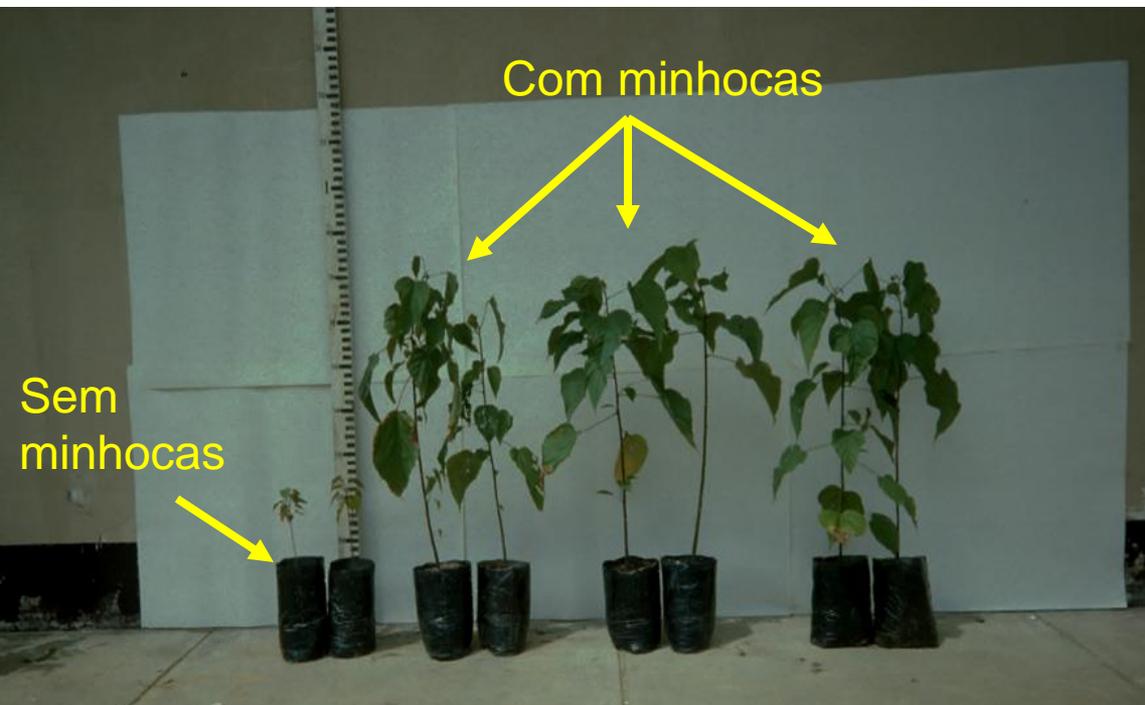


Embrapa
Florestas

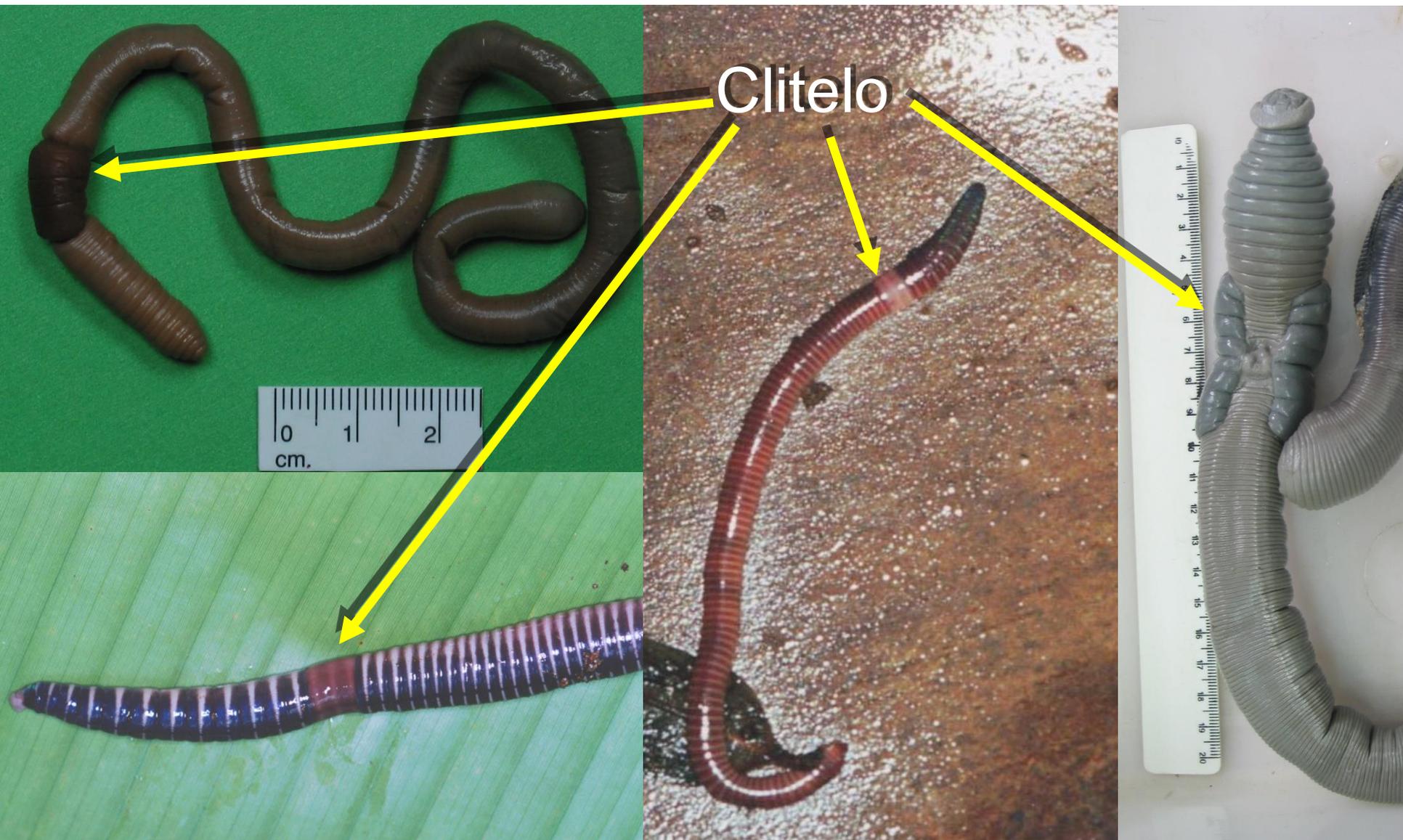


Porquê minhocas:

- Serviços ecossistêmicos
 - Engenheiras do ecossistema
 - Promovem cresc. vegetal
 - Isca, usos medicinais, alimento



Morfologia somente com exemplares adultos



Anatomia interna complicada!

- Muitos caracteres avaliados
- Alta variabilidade para alguns

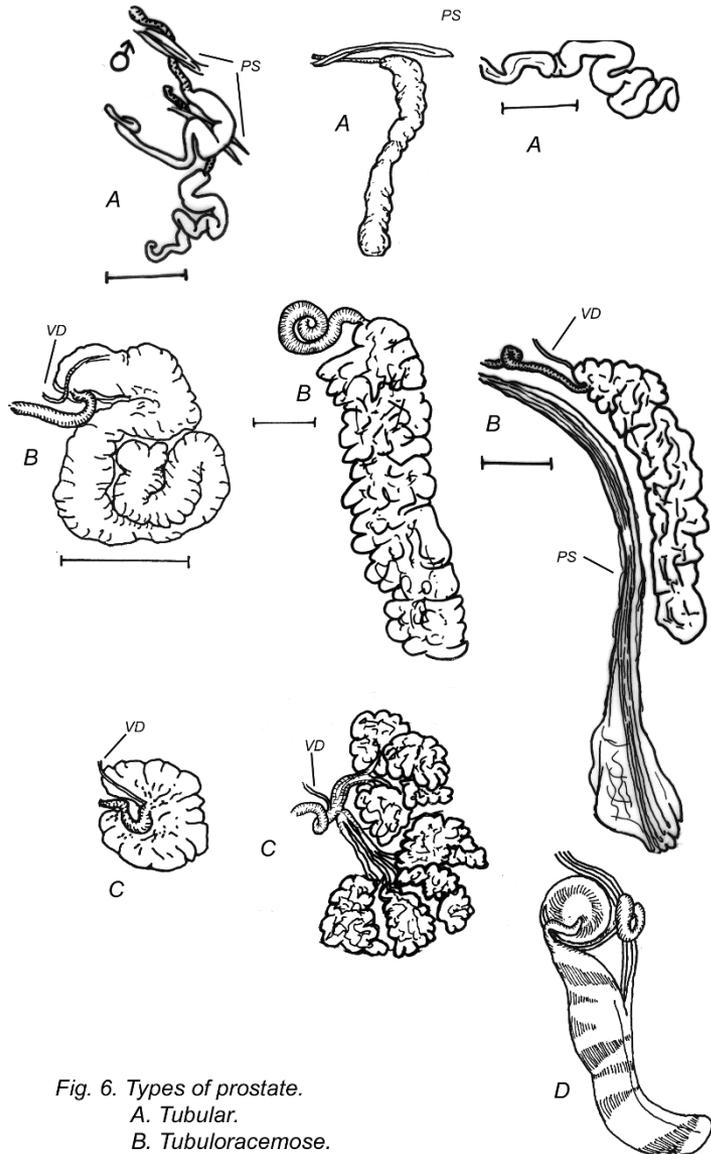
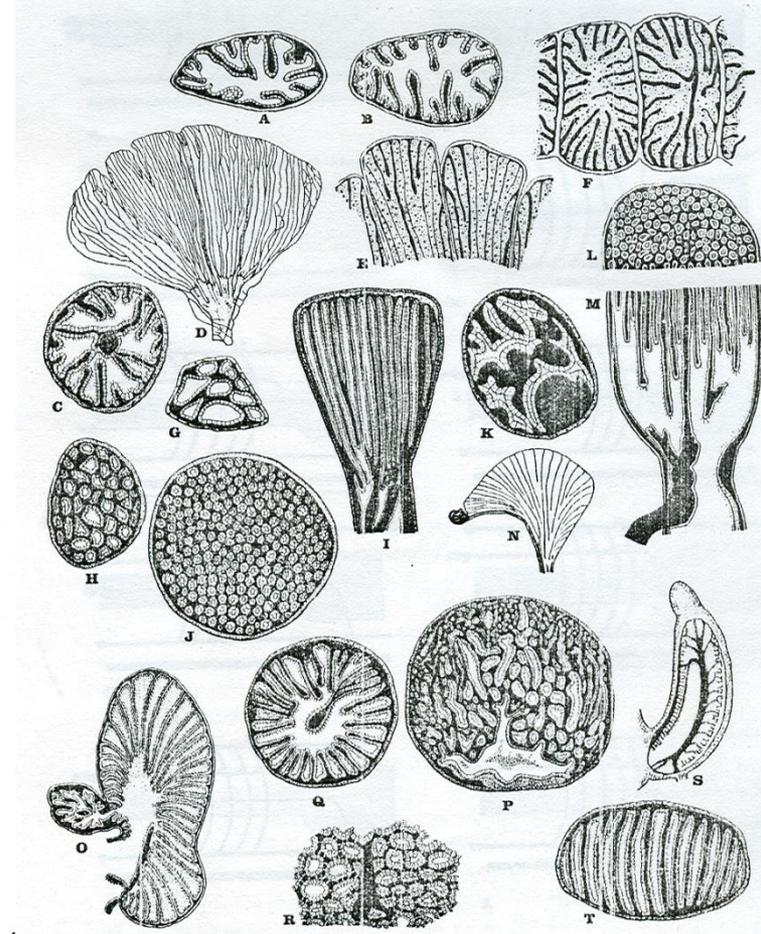
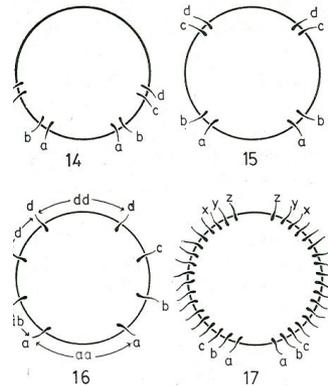


Fig. 6. Types of prostate.
A. Tubular.
B. Tubuloracemose.



Alta diversidade, ~ 5800 sp. no mundo, 280 conhecidas no Brasil, mas >1000 estimadas



Alto endemismo...

- **Mayor parte das spp. restritas a pequenas áreas e hábitats específicos**
 - **baixa capacidade de dispersão**
 - **sensíveis a fragmentação e desmatamento**



Espécies pequenas com taxonomia difícil (e abundantes no Brasil)

Ocnerodrilidae

- Espécies de áreas alagadas
- Bromélias e serapilheira

Dichogastrini

- Solos agrícolas
- Serapilheira, minhocários



Nova espécie



Extinto



Impedimento taxonômico
Espécies ameaçadas



Aposentados



Como o Barcoding do DNA pode ajudar?



Home | About Us | Contact Us | 30/7/2012 | Text size: | Search

iBOL Terrestrial Biosurveillance
Earthworm barcode of life

Progress

specimens barcoded: 2572
species barcoded: 217
unnamed barcode clusters found: 535

Progress Reports

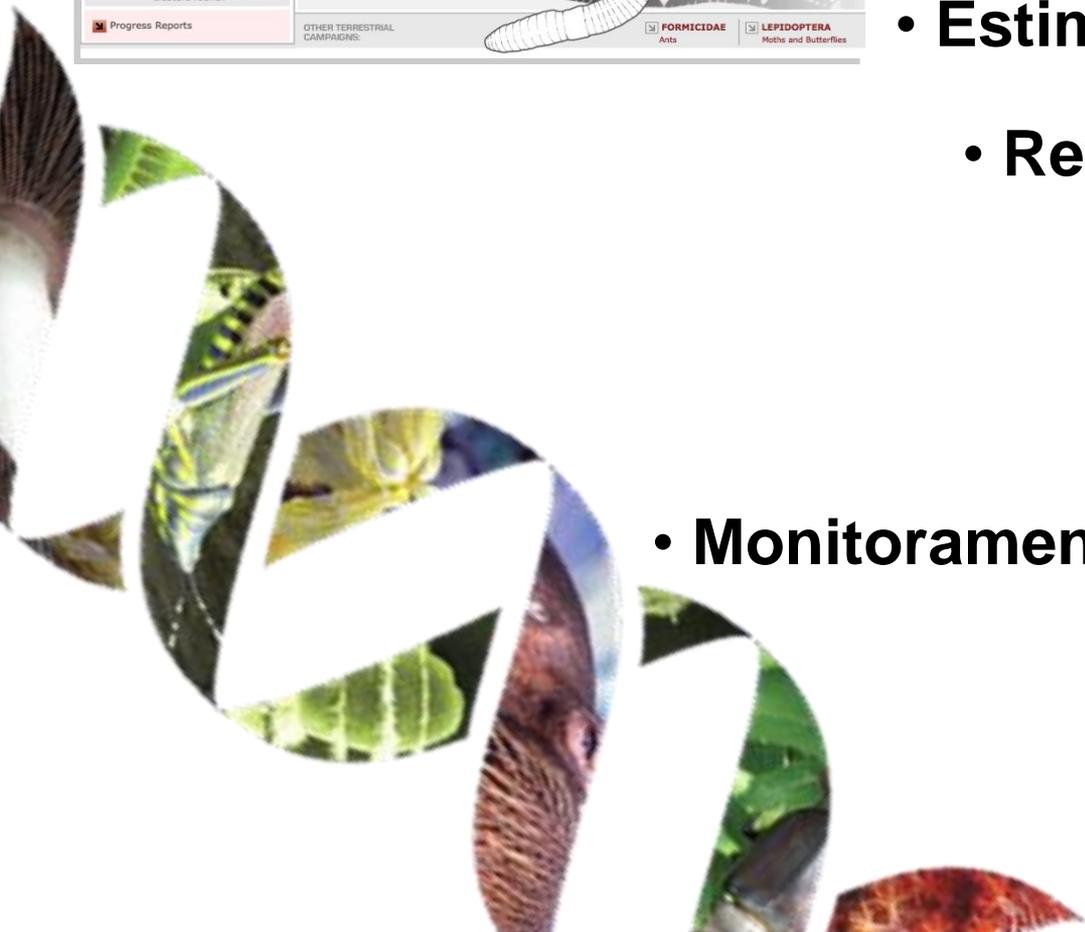
OTHER TERRESTRIAL CAMPAIGNS:

- FORMICIDAE
Ants
- LEPIDOPTERA
Moths and Butterflies

Archipherefilma middletoni (James, 2001)

Merophine sp.

- Identificação de espécies
- Estimativas de biodiversidade
 - Revelar diversidade críptica
 - Filogenias
 - Ecologia
- Monitoramento de espécies invasoras
 - Barcoding ambiental



1º Passo: Construção de uma biblioteca de DNA

- O international Barcode of Life (iBOL)
Rede de taxonomistas para uma ampla gama de grupos taxonômicos



international
BARCODE
OF LIFE

Sitemap Contact

About Us Working Groups Resources News and Events Get Involved Search



Making Every Species Count

Building a Bioliterate World

What would it be like to live in a bio-literate world - a world where you could know, in minutes, the name of any animal or plant - any time, anywhere? And not just its name but everything about it - what are its habits, is it endangered, is it dangerous, should it even be there or is it an invader from somewhere else?

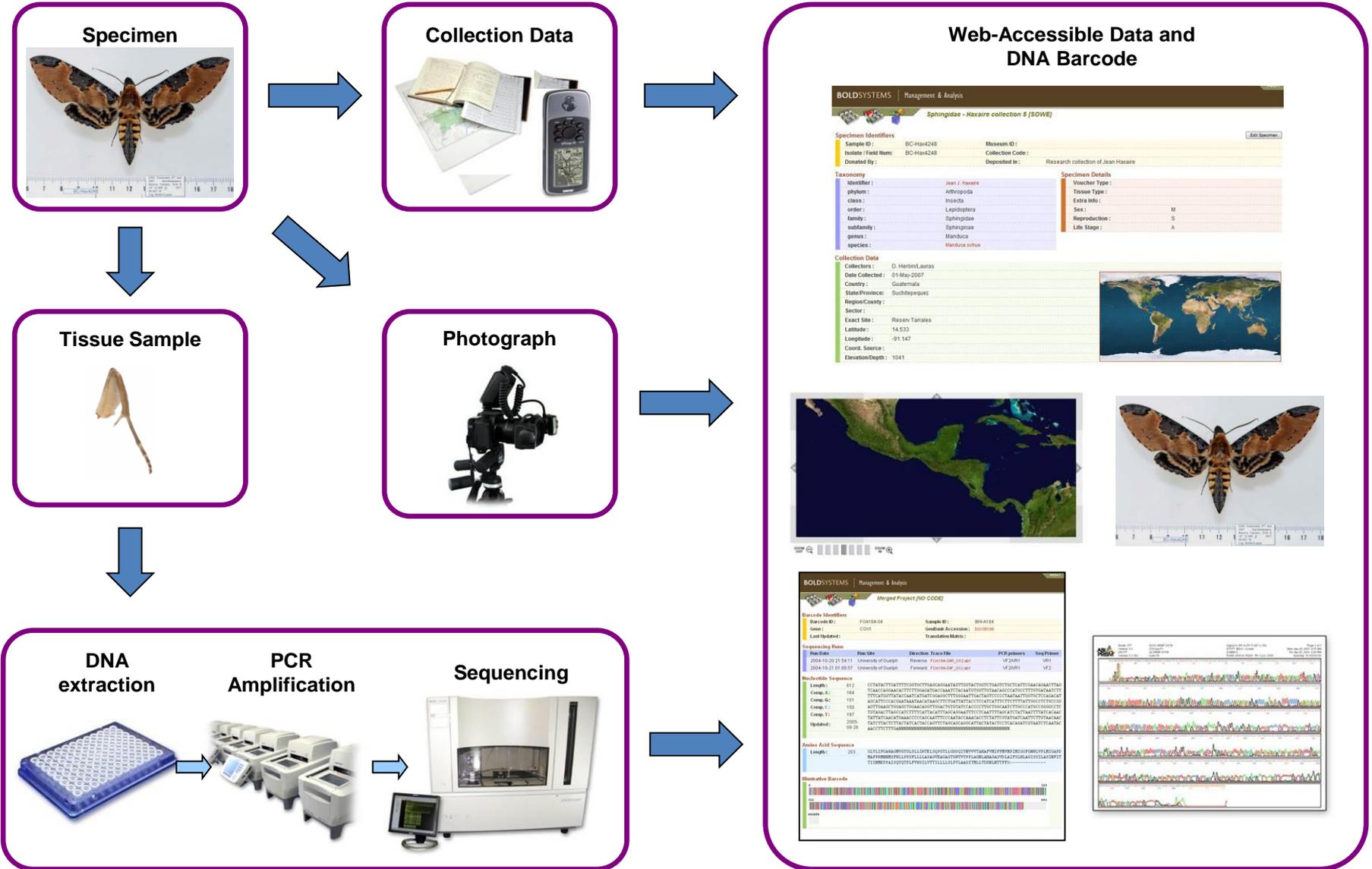
How could we use that knowledge to protect our planet's biodiversity and promote human health and well-being?

The International Barcode of Life project (iBOL), the largest biodiversity genomics initiative ever undertaken, is unlocking the door to that world by creating a digital identification system for life.



Construção da biblioteca

DNA barcoding workflow



Construção de uma biblioteca de DNA

- Uma plataforma de bioinformática (BOLD), o “Barcode of Life Data Systems”

BOLD SYSTEMS Databases | Taxonomy | Identification | Workbench | Resources Log In

Advancing species identification and discovery by providing an integrated environment for the assembly and application of DNA barcodes.

Formally described species	Sequence statistics
Animals 115,770	Barcode clusters for animals 218,495
Plants 39,999	Sequences 1,970,252
Fungi & Other Life 2,373	Barcode Sequences 1,738,857

Taxonomy Search

Notice: BOLD 3 is officially out of beta and has replaced the previous version at this location. Version 2.5 continues to be available at v2.boldsystems.org and will be maintained until December 2012.

feedback

- BOLD pode ser usado para manipulação de sequências, análises, comparações, mapeamentos

O iBOL inclui minhocas, colêmbolos e formigas

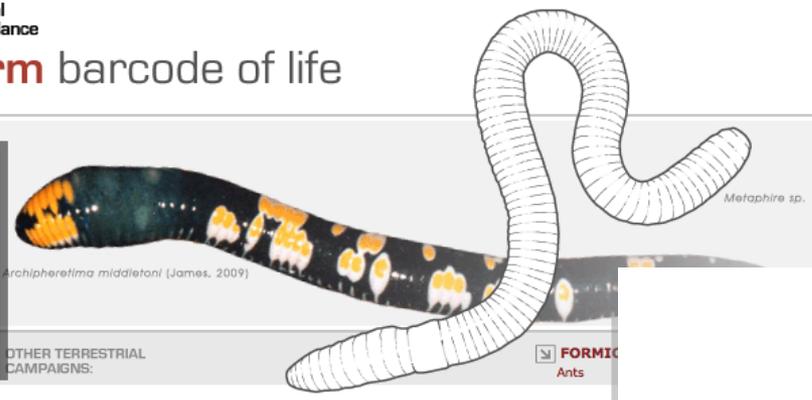
Home | About Us | Contact Us | 30/7/2012 | Text size: + - | Search

iBOL Terrestrial Biosurveillance
Earthworm barcode of life

Progress

specimens barcoded:	2572
species barcoded:	217
unnamed barcode clusters found:	535

Progress Reports



OTHER TERRESTRIAL CAMPAIGNS: **FORMICANTS** Ants

Science

- Vision
- Species Checklists
- Collection Protocols
- Submit Data **BOLDSYSTEMS**
- Lab Procedures

Welcome to Earthworm Barcode of Life, the campaign that aims to obtain DNA barcodes for the earthworms of the world.

DNA barcoding promises great advances in species discovery and broad dissemination of taxonomic knowledge by providing a framework for a first-pass taxonomic screening of earthworm diversity using a single standardized gene marker - a 658 base pair fragment of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene. This is especially true considering the actual context of discovery of large portion of cryptic diversity in the group. It will be impossible to achieve our ambitious goal without the active involvement of many institutions and experts worldwide. Therefore the campaign seeks to assemble a broad global coalition of leading researchers, museums, and other institutions with interest in earthworm taxonomy and biodiversity.

iBOL - The Terrestrial Barcode Initiative DNA barcode of life (2010-2019) will be the first of three reports on invertebrate and Haptophyta barcode of life detailed guide to the areas and

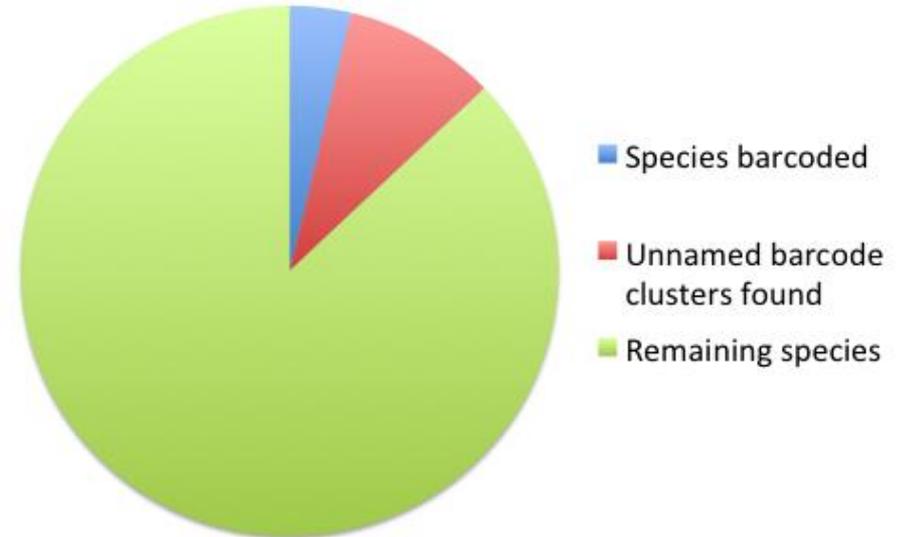
Progresso

Espécies alvo: 5829

Especimens com barcode: 4000

~ 750 spp., das quais

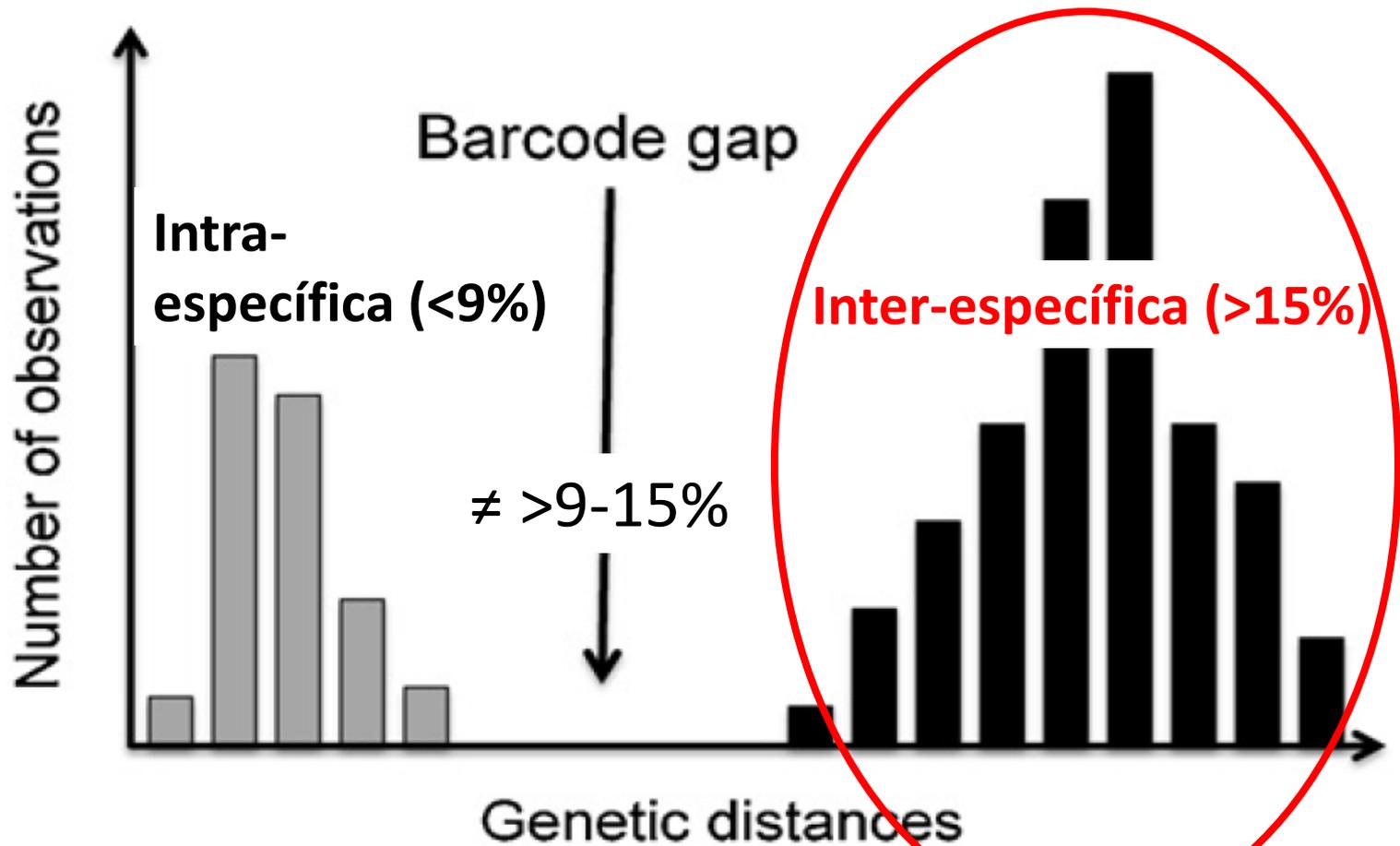
só ~30% são conhecidas



Invertebrados e o BR-Bol

GRUPOS TAXONÔMICOS	DNA BARCODES	No. espécies
LEPIDOPTERA	331	130
LEPIDOPTERA	800	203
DIPTERA	41	14
HYMENOPTERA	250	60
HYMENOPTERA	188	97
HYMENOPTERA	93	33
OLIGOCHAETA (minhocas)	600	175
TOTAL	2.203	711

“BARCODE GAP”



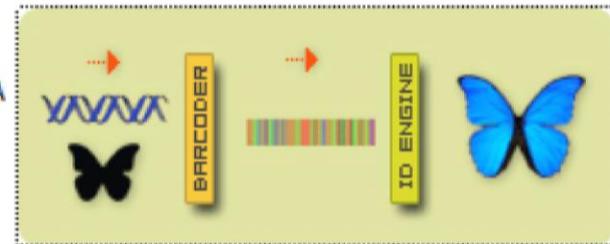
Identificação de espécies no BOLD

Comparação de exemplares com a base de dados



IDENTIFICATION ENGINE

BOLD-IDS provides a species identification tool that accepts DNA sequences from the barcode region and returns a taxonomic assignment to the species level when possible.



Identificação de espécies no BOLD

BOLDSYSTEMS | Management & Analysis

BOLD - ID

Cytochrome Oxidase Subunit 1 [COX1] | Intergenic Spacer Region [ITS]

The BOLD Identification System (IDS) accepts sequences from the 5' region of the mitochondrial gene COI and returns a species-level identification when one is possible. Further validation with independent genetic markers will be desirable in some forensic applications.

The reference database of validated records is used by default and is recommended for all identification purposes.

Search Databases:

- All Barcode Records on BOLD (434,398 sequences)**
Every COI barcode record on BOLD with a minimum sequence length of 500bp (warning: unvalidated database and includes records without species level identification). This includes many species represented by only one or two specimens as well as all species with interim taxonomy. This search only returns a list of the nearest matches and does not provide a probability of placement to a taxon.
- Species Level Barcode Records (386,161 sequences/37,849 Species)**
Every COI barcode record with a species level identification and a minimum sequence length of 500bp (warning: unvalidated dataset). This includes many species represented by only one or two specimens as well as all species with interim taxonomy.
- Reference Barcode Database (165,589 Sequences/13,774 Species)**
Validated subset of the full database with a minimum sequence length of 500bp and containing only those species represented by three or more individuals showing less than 2% sequence divergence

Enter sequences in fasta format:

```
AACTTTATACCTAATTTTGGGGTTTGAGCTGCTATAGTAGGAACAGCATTAGAGTTTTAATTCGTTTAGAATT  
AGGACAACCAGGTAGATTTATTGGAGATGACCAAATTTATAACGTAATAGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAAT  
TTTTTTTATAGTGATACTATTATAAATCGGGGATTTGGAAACTGATTAGTACCCTTAATAATCGGTGCCCTGA  
TATAGCCTTCCCCCGAATAAATAATAGAGATTCTGGCTCCTCCCCCTTCTCTAACCTTCTTCTACAGGGGG  
GTTAGTAGAAAGAGGAGCCGGAACCTGGTTGAACAGTTTTATCCCCCACTTGCCGCAGGAATTGCCCATGCTGGTGC  
GTCAGTAGACCTTCTATTTTAGCCTTCACTTGGCGGGTGGCTTCTTCTATTTTAGGAGCTGTAAATTTTATTAC  
CACTATCATTAAACATACGAACACCTGGTATATCCTGAGACCAGACCCTCTTTTTGTTTGGTGGTGTTTTTAAC  
AGCAATTCTTCTTCTATCTCTTCTGTGTTAGCAGGAGCTATTACCATCTTCTAACCGATCGTAATTTAAA  
TACATCGTTCTTCGACCCGGCTGGAGGGGGAGACCAATTTTATACCAACATTTATT
```



Identificação de espécies no BOLD

BOLDSYSTEMS | Management & Analysis

Specimen Identification Request

Search Request:
Type : COI FULL DATABASE

Search Result:
A species level match has been made. This identification is solid unless there is a very closely allied congeneric species that has not yet been analyzed. Such cases are rare.

[Tree Based Identification](#) [Species Page](#)

Distance Summary :



Similarity scores of the top 100 matches

TOP 20 Matches : Display option: default ▾

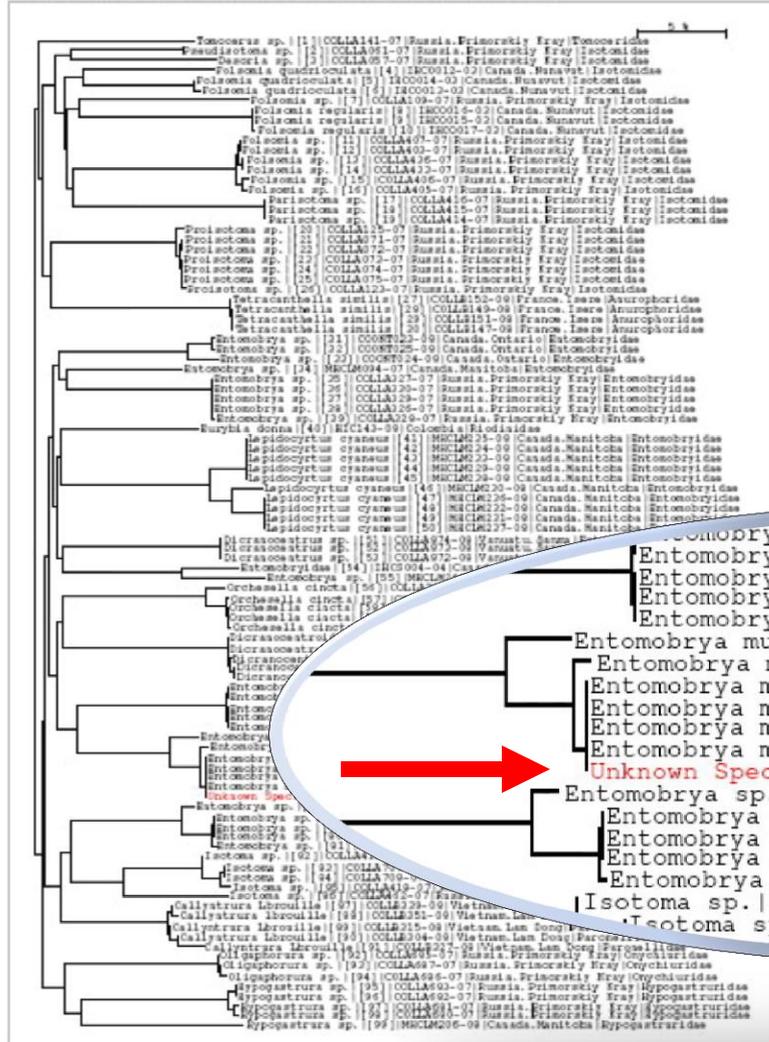
Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Specimen Similarity (%)
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>multifasciata</i>	100
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>multifasciata</i>	100
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>multifasciata</i>	100
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>multifasciata</i>	100
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>multifasciata</i>	99.22
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>multifasciata</i>	96.33
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>sp.</i>	86.09
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>sp.</i>	85.96
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>sp.</i>	85.85
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>sp.</i>	85.78
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>sp.</i>	85.78
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>sp.</i>	85.78
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Orchesella	<i>cincta</i>	84.86
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>sp.</i>	84.71
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Entomobrya	<i>sp.</i>	84.71
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Orchesella	<i>cincta</i>	84.56
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Orchesella	<i>cincta</i>	84.56
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Orchesella	<i>cincta</i>	84.4
Arthropoda	Collembola	Entomobryomorpha	Entomobryidae	Orchesella	<i>cincta</i>	84.4
Arthropoda	Insecta	Lepidoptera	Riodinidae	Eurybia	<i>donna</i>	84.25



Identificação de espécies no BOLD



COL_FULL_DATABASE_Tree Wed Aug 13 06:23:42 2008 Page 1 of 1



Entomobrya sp. [66]	COONT010-08	Canada. Ontario	Entomobryidae
Entomobrya sp. [67]	COONT026-08	Canada. Ontario	Entomobryidae
Entomobrya sp. [68]	COONT007-08	Canada. Ontario	Entomobryidae
Entomobrya sp. [69]	COONT006-08	Canada. Ontario	Entomobryidae
Entomobrya sp. [70]	COONT009-08	Canada. Ontario	Entomobryidae
Entomobrya multifasciata [71]	COLLB091-08	France. Isere	Entomobryidae
Entomobrya multifasciata [72]	COLLB089-08	France. Isere	Entomobryidae
Entomobrya multifasciata [73]	COLLB092-08	France. Isere	Entomobryidae
Entomobrya multifasciata [74]	COLLB090-08	France. Isere	Entomobryidae
Entomobrya multifasciata [75]	COLLB088-08	France. Isere	Entomobryidae
Entomobrya multifasciata [76]	COLLB087-08	France. Isere	Entomobryidae
Unknown Specimen			
Entomobrya sp. [77]	COLLA331-07	Russia. Primorskiy Kray	Entomobryidae
Entomobrya sp. [78]	COLLA345-07	Russia. Primorskiy Kray	Entomobryidae
Entomobrya sp. [79]	COLLA333-07	Russia. Primorskiy Kray	Entomobryidae
Entomobrya sp. [80]	COLLA346-07	Russia. Primorskiy Kray	Entomobryidae
Entomobrya sp. [81]	COLLA332-07	Russia. Primorskiy Kray	Entomobryidae
Isotoma sp. [82]	COLLA419-07	Russia. Primorskiy Kray	Isotomidae
Isotoma sp. [83]	COLLA707-07	Russia. Primorskiy Kray	Isotomidae
Isotoma sp. [84]	COLLA708-07	Russia. Primorskiy Kray	Isotomidae



Barcodes de minhocas brasileiras

- **Aprox. 600 indivíduos de >230 localidades**
 - Mais de 90 espécies novas!
- BOLD => 364 indiv. de 112 locais
- Principalmente do S e SE do país:
 - PR = 42%
 - SP = 30%
- Outros locais de coleta:
 - RJ, SC, RS, MG, MT, MS, MA, AM, AP

Vejam os pôsters!!!

O POTENCIAL DO DNA *BARCODE* PARA A TAXONOMIA DE MINHOCAS: IDENTIFICAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE ESPÉCIES BRASILEIRAS

Elodie da Silva⁽¹⁾, Marcio Gonçalves da Rosa⁽²⁾, Guilherme Schühli⁽¹⁾, Samuel Wooster James⁽³⁾, Marie Luise Carolina Bartz⁽⁴⁾, Herlon Nadolny⁽⁵⁾, Eliza Busch⁽⁵⁾, George Gardner Brown⁽¹⁾

(1) Embrapa Florestas, Colombo, PR. Contact: elodie_dasilva@live.fr ;
(2) Universidade do Estado de Santa Catarina, Chapecó, SC ; (3) University of Iowa, Iowa City, IA, EUA ;
(4) Universidade Positivo, Curitiba, PR ; (5) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR

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

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

(1) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR ; (2) Embrapa Florestas, Colombo, PR ;
(3) University of Iowa, Iowa City, IA, EUA ; (4) Universidade Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia.
Contact : elodie_dasilva@live.fr

Introdução

Das mais de 800 espécies estimadas no Brasil, apenas 240 a 260 estão descritas, e grandes áreas no país continuam sem coletas, existindo estados com poucos ou nenhum registro de espécies de minhocas.

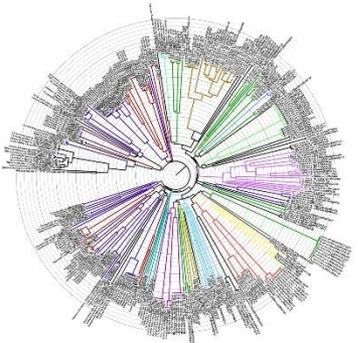
Considerando as dificuldades taxonômicas de identificar minhocas (impedimento taxonômico), ferramentas usando DNA podem facilitar e melhorar a exploração da biodiversidade e a sua descrição.

Objetivos

- Coletar espécies de minhocas de várias regiões do Brasil com o uso do DNA *barcode* para auxiliar na identificação das espécies brasileiras
- Enriquecer o banco de dados do projeto BR-BOL (*Brazilian Barcode of Life*) com novas sequências de minhocas.

Resultados & Discussão

Os 364 indivíduos avaliados foram separados em 149 MOTUs, sendo 37% deles indivíduos únicos



Gênero	Nº indivíduos
Amythas	3
Andiorthis	37
Asporoskela	6
Dendrodrilus	1
Urologogaster	19
Urodonus	7
Eukeria	5
Eudrilus	5
Eukeria	13
Fimoscolex	54
Glossoscolex	23
Glossoscolex	145
Gonostoma	5
Kerria	5
Metadrinus	17
Mecyneta	4
Murchieana	6
Nematogaster	1
Gonostoma	17
Gonostoma	3
Pteronarcys	23
Rhynchodrilus	9
Tigrae	2
Urobenus	38

Introdução

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, mas existem muitas áreas onde ainda não foram realizadas coletas de minhocas.

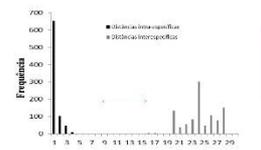
O DNA *barcode* pode servir tanto para a diferenciação de espécies já conhecidas, quanto para a identificação de novas espécies e já foi utilizado em vários estudos com minhocas (Decaens *et al.*, 2013).

Objetivos

- Identificar as espécies de minhocas presentes num gradiente altitudinal no Pico Caratutu com o uso de DNA *barcode*, na Floresta Ombrofila Mista
- Avaliar o efeito da altitude sobre a riqueza específica das minhocas.

Resultados

As sequências de DNA separadas em grupos apresentaram uma diversidade intra-específica de 1-4% e a distância inter-específica de 1 a 28%.



Barcode gap para minhocas
< 9% : intra-específica
> 15% : Inter-específica
(Chang & James, 2011)

Figura 2: Distribuição dos valores de distâncias intra- e inter-específicas de minhocas.

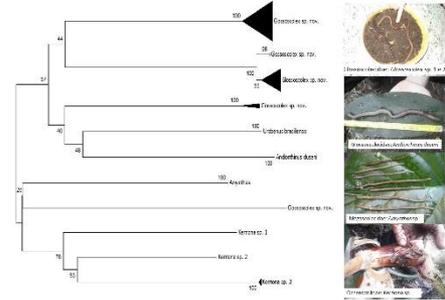


Figura 3: Árvore de Neighbor-Joining (Kimura 2 parâmetros)

Materiais & Métodos

1. Coletas de minhocas

As minhocas foram coletadas no Brasil em 231 locais de 2004-2014, principalmente no Sul do país.



Figura 1: Mapa do Brasil mostrando os números de pontos de coletas por estado.



Figura 2: Árvore de Neighbor-Joining (Kimura 2 parâmetros)

A maioria (55%) eram dos gêneros *Fimoscolex* ou *Glossoscolex*, separados em 56 MOTUs, sendo em grande parte espécies novas, que ainda precisam ser descritas. Encontrou-se também uma espécie com diversidade críptica (*U. brasiliensis*)

Materiais & Métodos

1. Coletas de minhocas

As minhocas foram coletadas em parcelas localizadas em um gradiente altitudinal do Pico Caratutu: 1000, 1150, 1300, 1450, 1600, 1750 e 1820 m (±30m) pelo método de escavação e triagem manual de monólitos. Os indivíduos foram fixados em álcool 96% para posterior identificação em laboratório.



Figura 1: Coletas de minhocas no Pico Caratutu em 2011-2012

2. Obtenção das sequências de DNA e análises de dados

Em total foram utilizados 176 indivíduos para extração de DNA a sequenciamento do gene da subunidade I da citocromo



Materiais & Métodos

1. Coletas de minhocas

As minhocas foram coletadas em parcelas localizadas em um gradiente altitudinal do Pico Caratutu: 1000, 1150, 1300, 1450, 1600, 1750 e 1820 m (±30m) pelo método de escavação e triagem manual de monólitos. Os indivíduos foram fixados em álcool 96% para posterior identificação em laboratório.



Figura 1: Coletas de minhocas no Pico Caratutu em 2011-2012

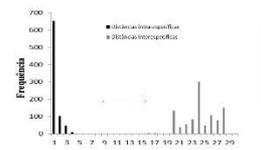
2. Obtenção das sequências de DNA e análises de dados

Em total foram utilizados 176 indivíduos para extração de DNA a sequenciamento do gene da subunidade I da citocromo



Resultados

As sequências de DNA separadas em grupos apresentaram uma diversidade intra-específica de 1-4% e a distância inter-específica de 1 a 28%.



Barcode gap para minhocas
< 9% : intra-específica
> 15% : Inter-específica
(Chang & James, 2011)

Figura 2: Distribuição dos valores de distâncias intra- e inter-específicas de minhocas.

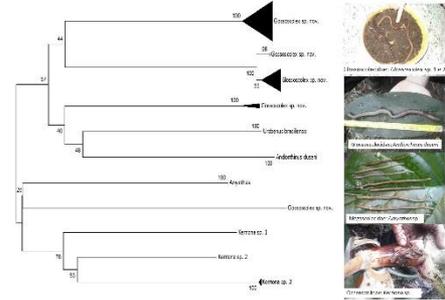


Figura 3: Árvore de Neighbor-Joining (Kimura 2 parâmetros)

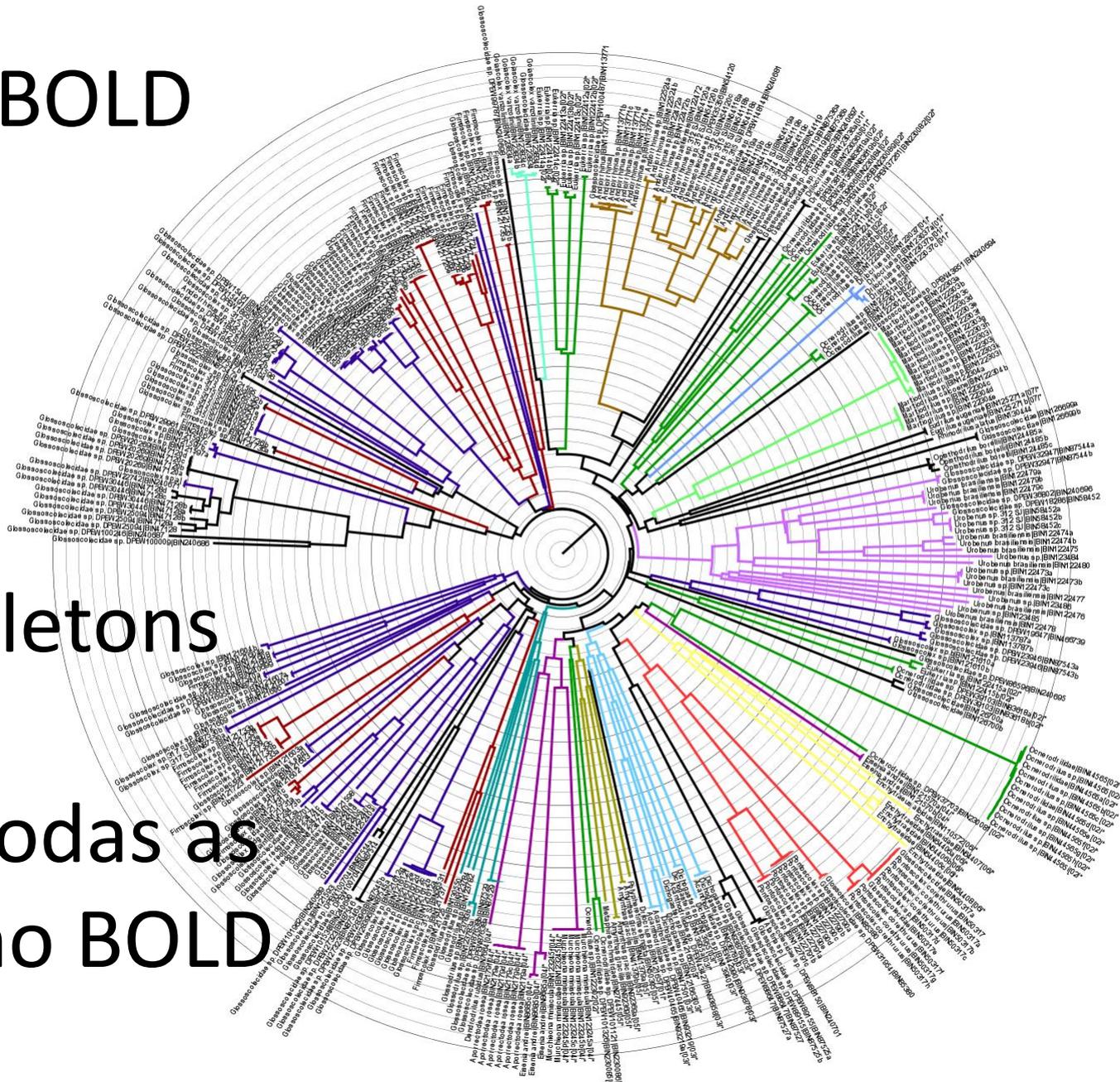
Quatorze espécies foram identificadas morfológicamente e de geneticamente, sendo uma *Fimoscolex* n.sp., três *Kerria* n.sp., se *Glossoscolex* n.sp. (total 10 novas espécies!), *Urobenus brasiliensis*, *Andiorthis dusei*, além de duas *Amythas* (*A. cortici*, *A. gracilis*) uma espécie não identificada da família Onerodrilidae. Das 15 espécies encontradas, 12 espécies eram nativas, duas exóticas e uma com origem duvidosa. Para cinco espécies não se obtiveram sequências.

Dados do BOLD

As
- 149 spp.

- 37% singletons

~20% de todas as
espécies no BOLD



Gêneros	# registros
<i>Amyntas</i>	5
<i>Andiorrhinus</i>	37
<i>Aporrectodea</i>	6
<i>Dendrodrilus</i>	1
<i>Dichogaster</i>	19
<i>Drilocrius</i>	7
<i>Eisenia</i>	5
<i>Eudrilus</i>	5
<i>Eukerria</i>	13
<i>Fimoscolex</i>	54
<i>Glossodrilus</i>	5
<i>Glossoscolex</i>	145
<i>Goiascolex</i>	5
<i>Kerriona</i>	5
<i>Martiodrilus</i>	17
<i>Metaphire</i>	4
<i>Murchieona</i>	6
<i>Nematogenia</i>	1
<i>Ocnerodrilus</i>	17
<i>Opisthodrilus</i>	3
<i>Pontoscolex</i>	23
<i>Rhinodrilus</i>	9
<i>Tupinaki</i>	2
<i>Urobenus</i>	38



Maioria (55%)
Fimoscolex &
Glossoscolex



Todas as fases de vida podem ser identificadas!

MOLECULAR ECOLOGY RESOURCES

Molecular Ecology Resources (2010) 10, 606–614

doi: 10.1111/j.1755-0998.2009.02822.x

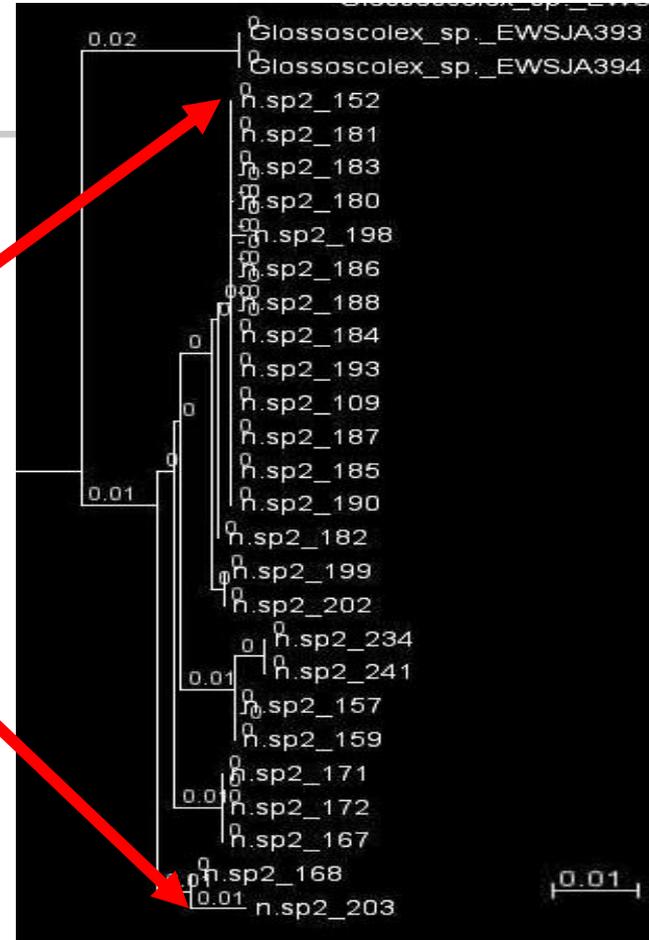
DNA BARCODING

Re-integrating earthworm juveniles into soil biodiversity studies: species identification through DNA barcoding

B. RICHARD,* T. DECAËNS,* R. ROUGERIE,† S. W. JAMES,‡ D. PORCO† and P. D. N. HEBERT†

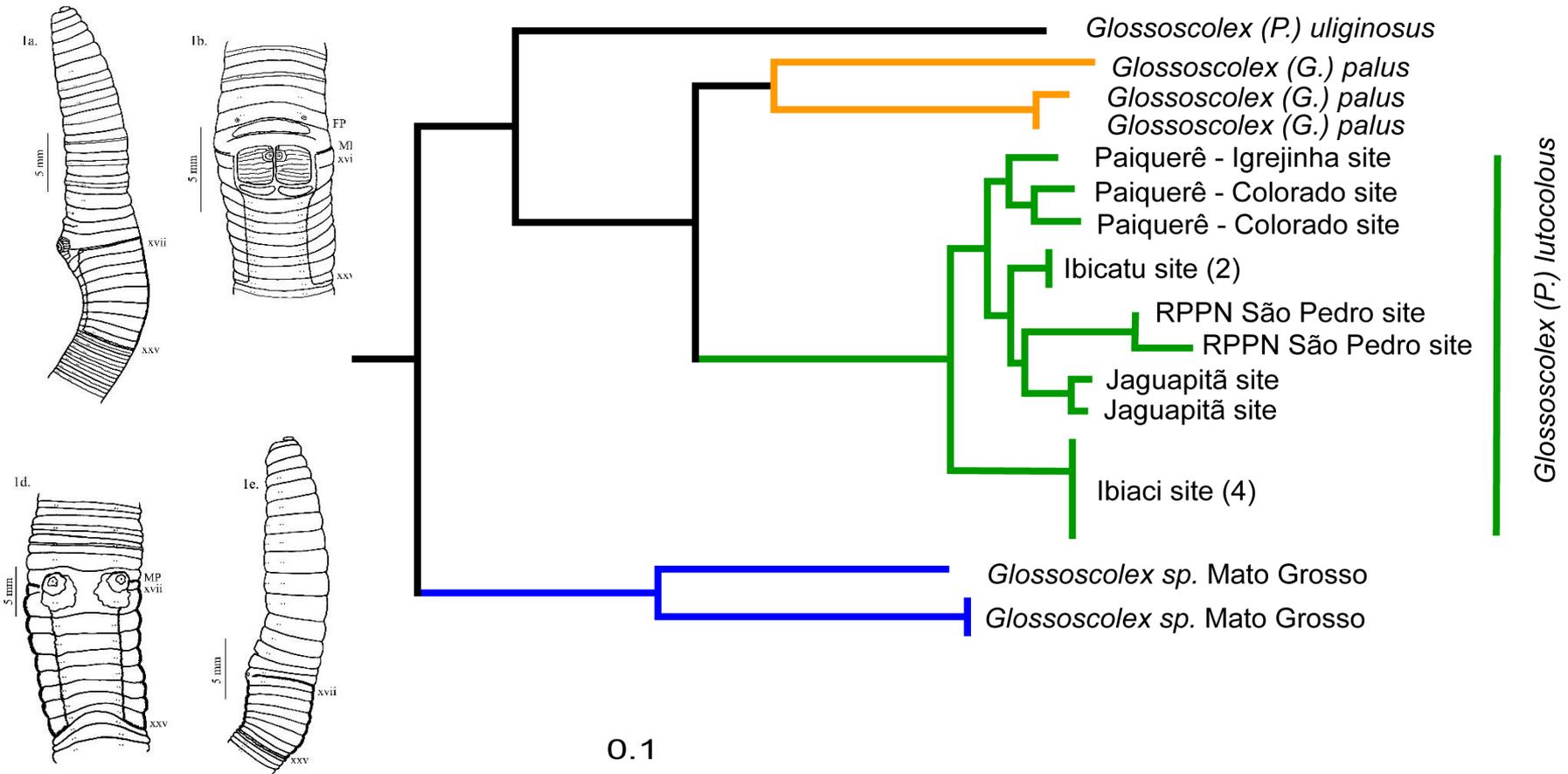


Juvenis

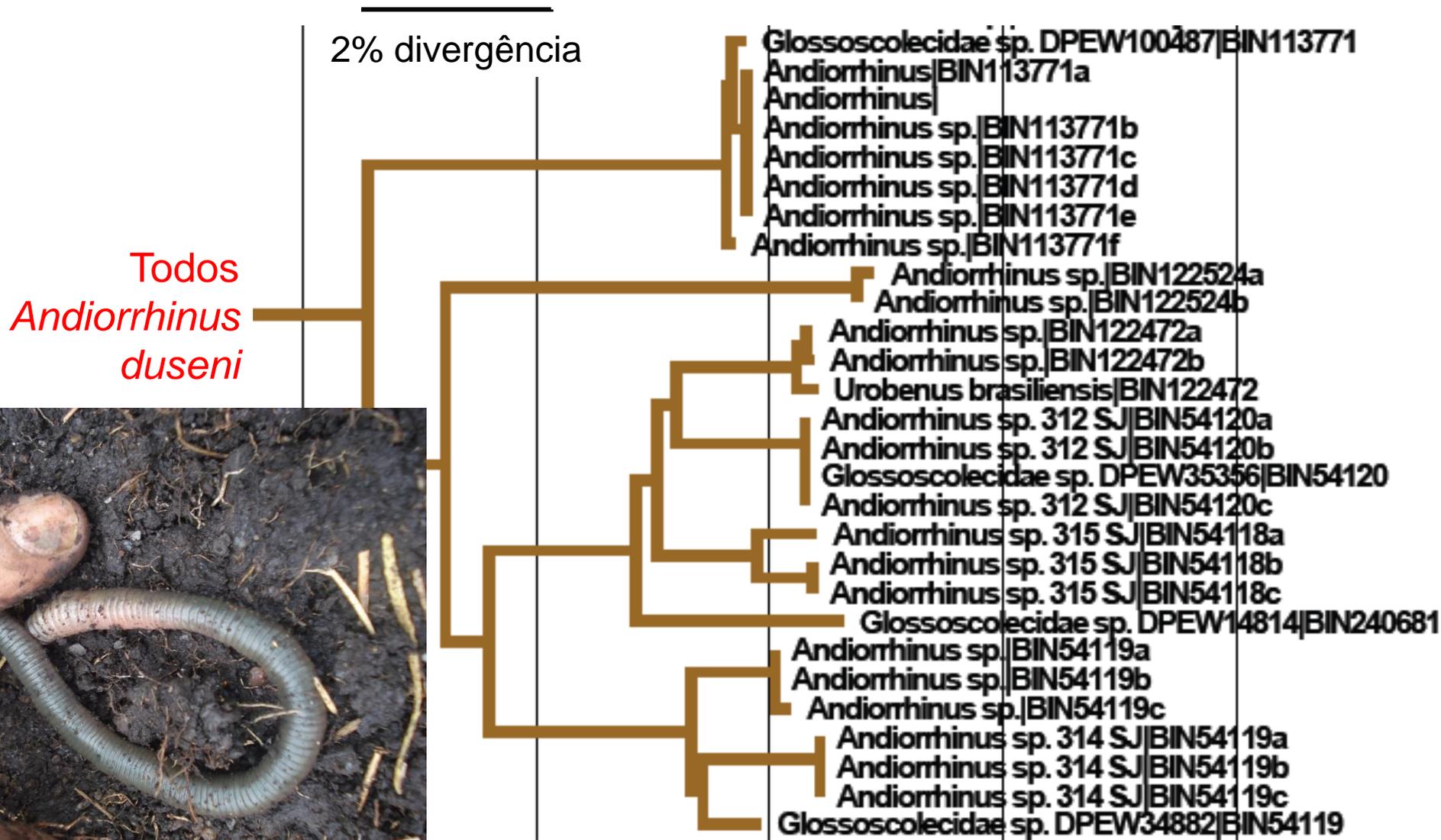


Auxiliar a taxonomia “clássica”

- Discriminação de espécies morfológicamente parecidas



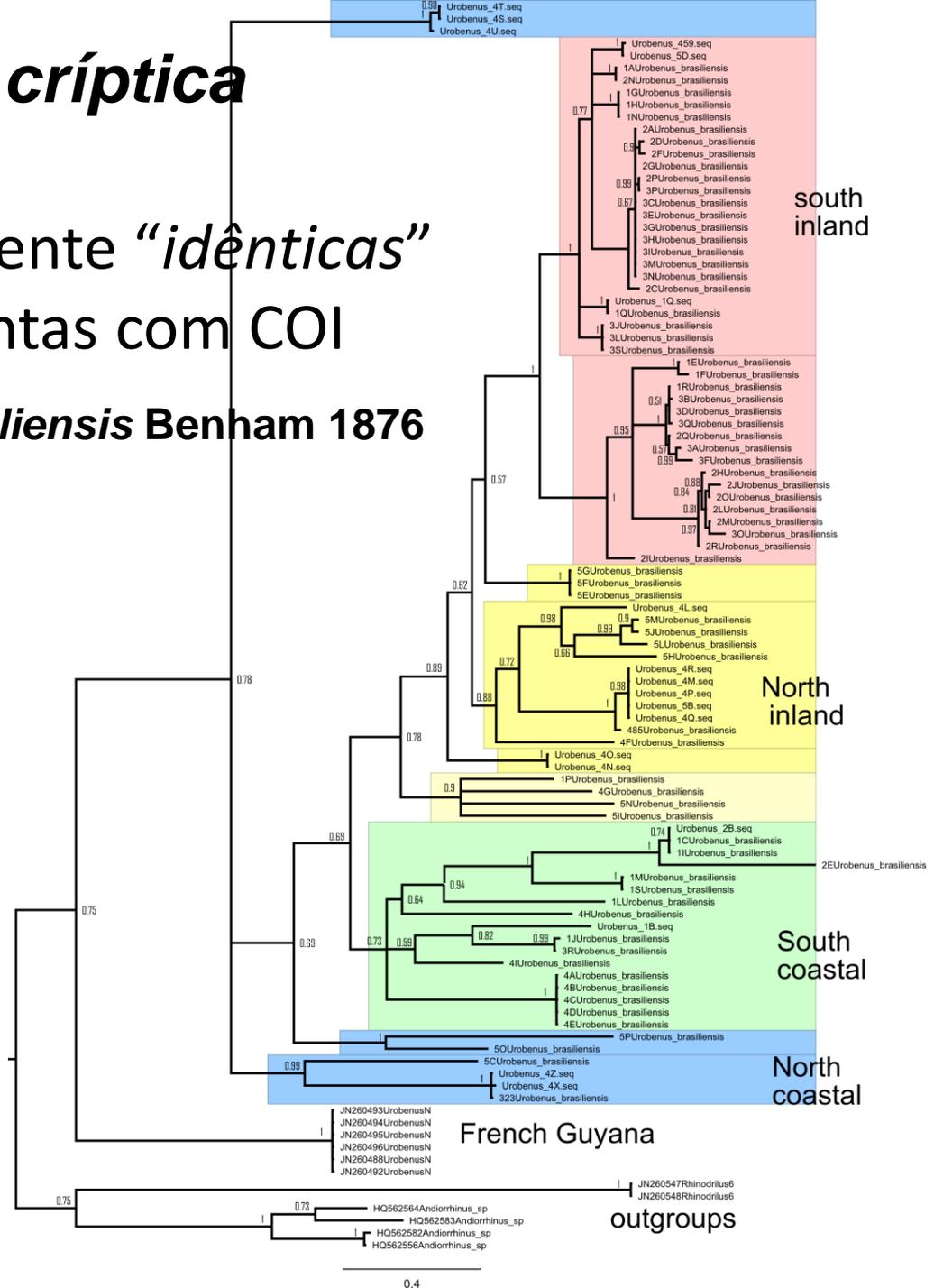
Unir exemplares com variação específica fenotípica



Revelar diversidade críptica

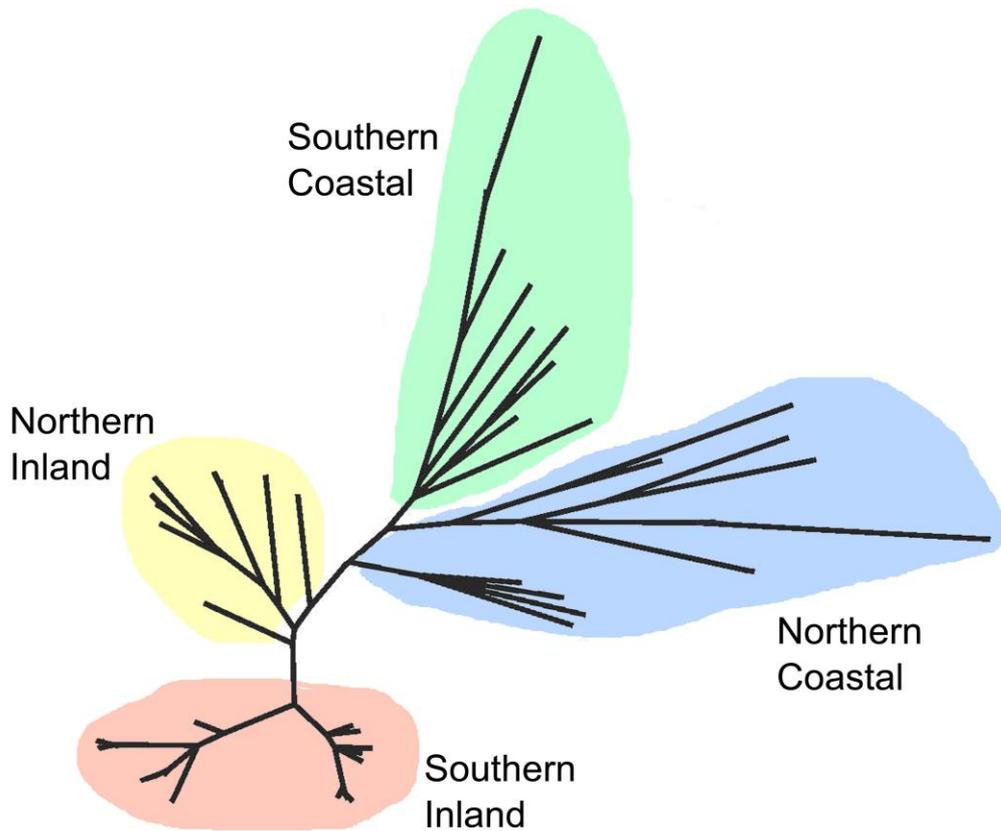
- Espécies morfológicamente “idênticas” mas geneticamente distintas com COI

Urobenus brasiliensis Benham 1876

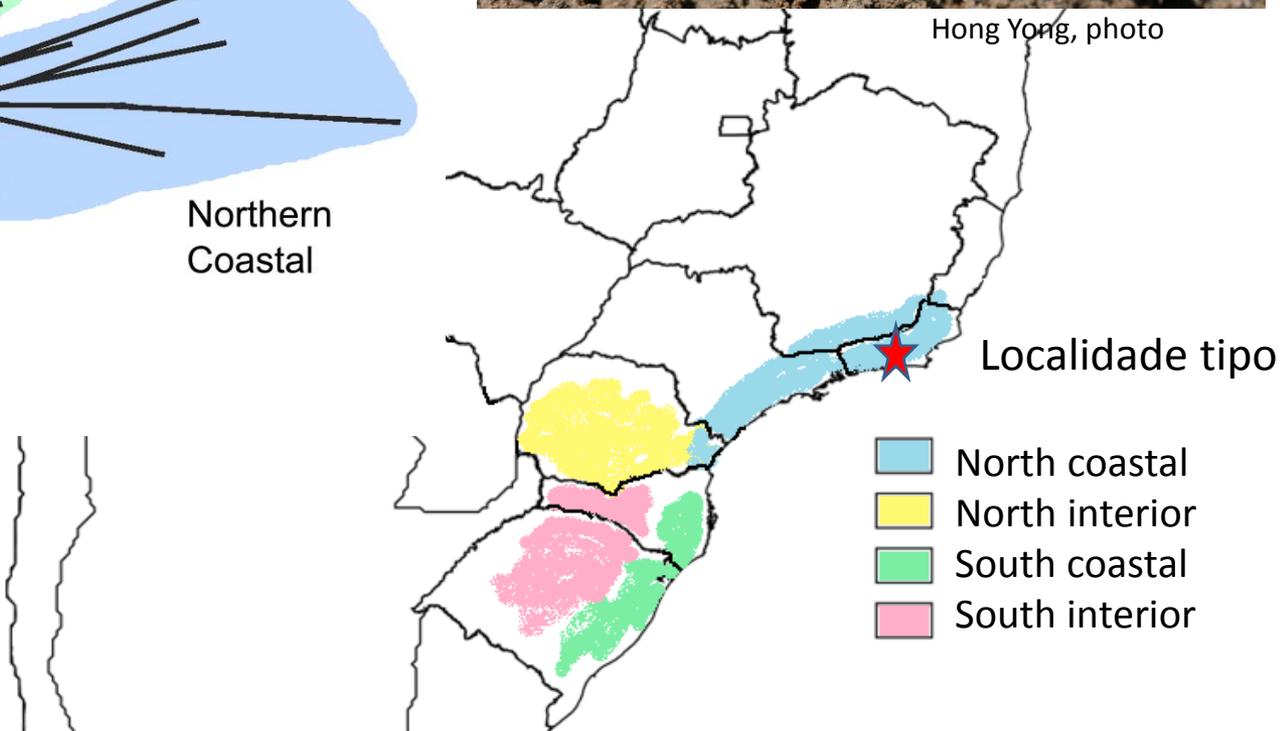


Filogenética e geografia

Urobenus brasiliensis



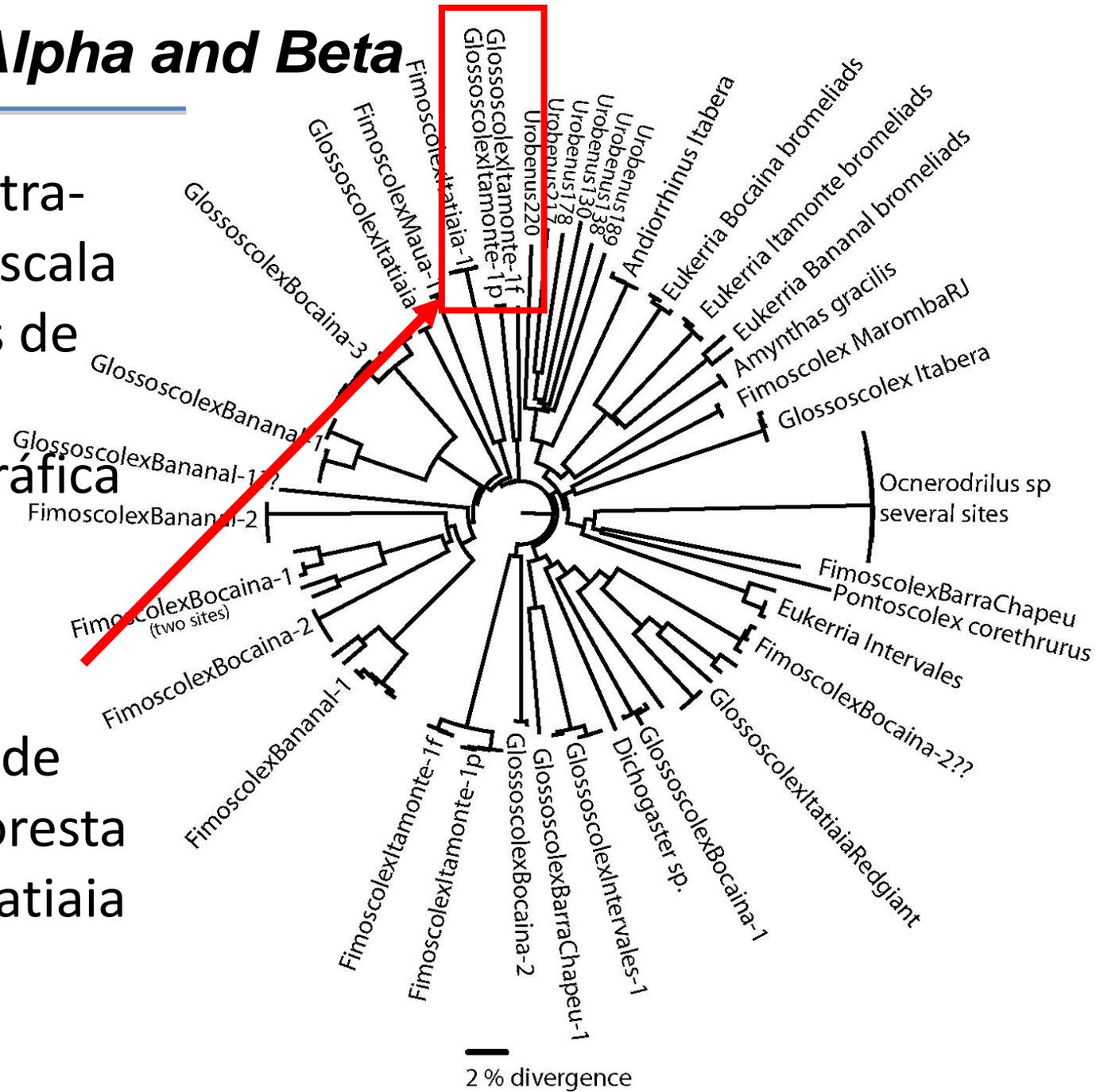
Hong Yong, photo



Diversidade Alpha and Beta

Divergência intra-específica em escala local (dezenas de metros)
= barreira geográfica

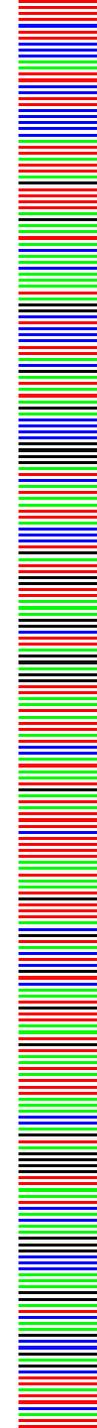
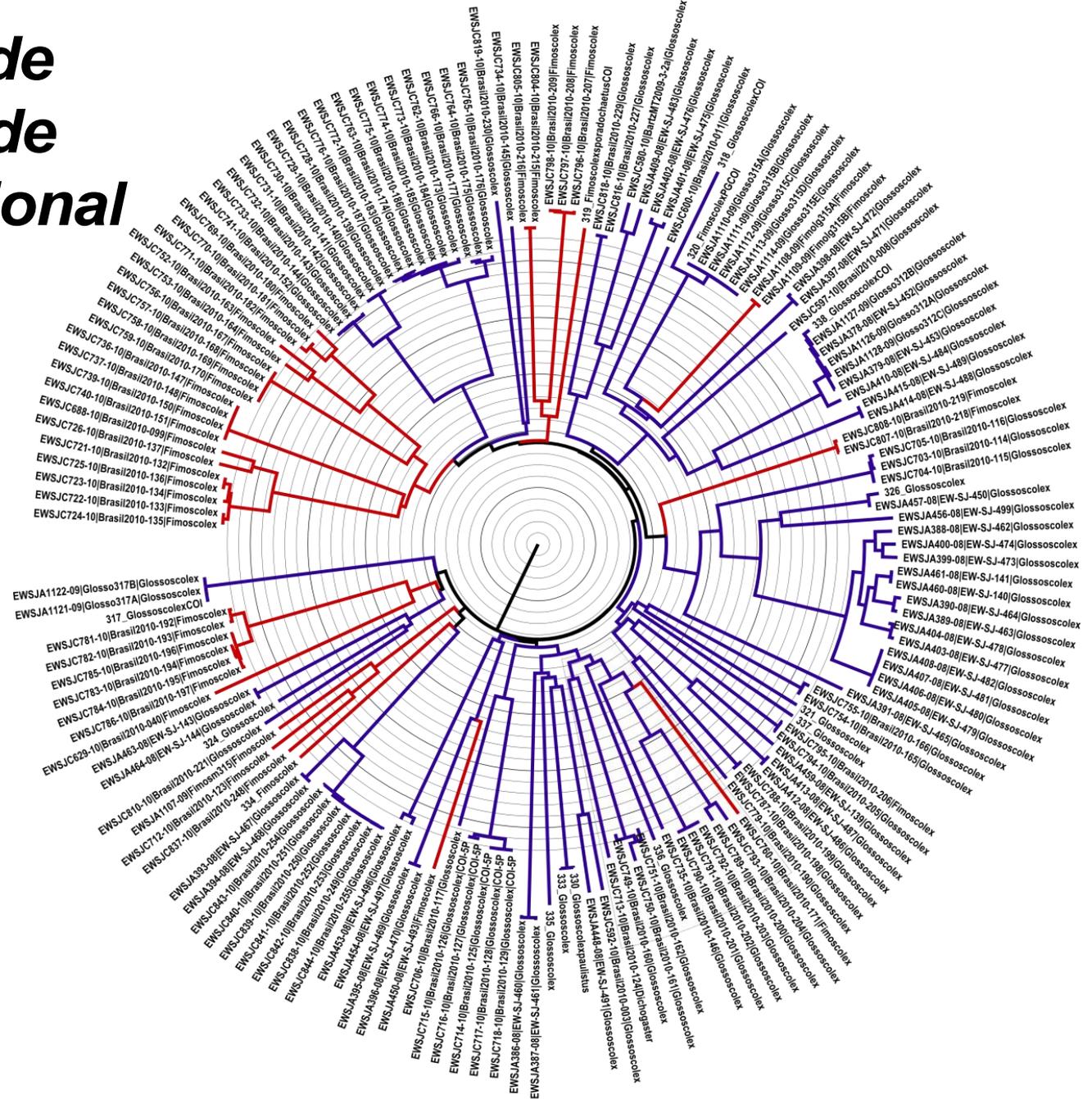
Glossoscolex de pastagem vs. floresta vizinha no PN Itatiaia



Estimativas de biodiversidade em nível regional

~ 56 linhagens de *Fimoscolex* e *Glossoscolex* a >14% divergência

Maioria espécies novas!



Inventários de biodiversidade

✓ Complementar estudos em base na morfologia

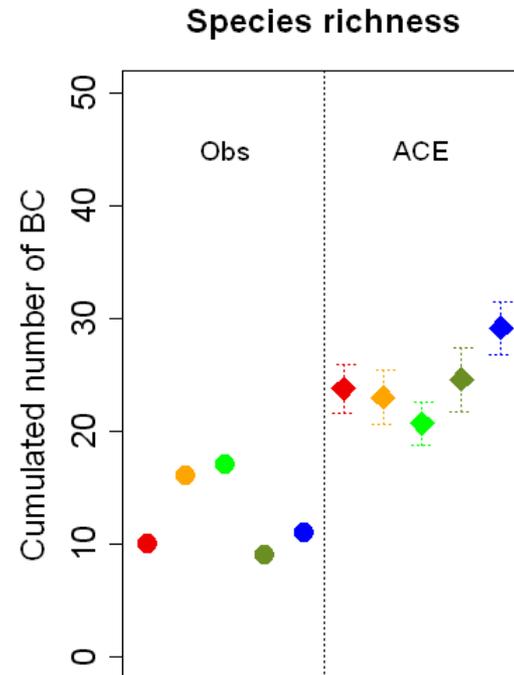
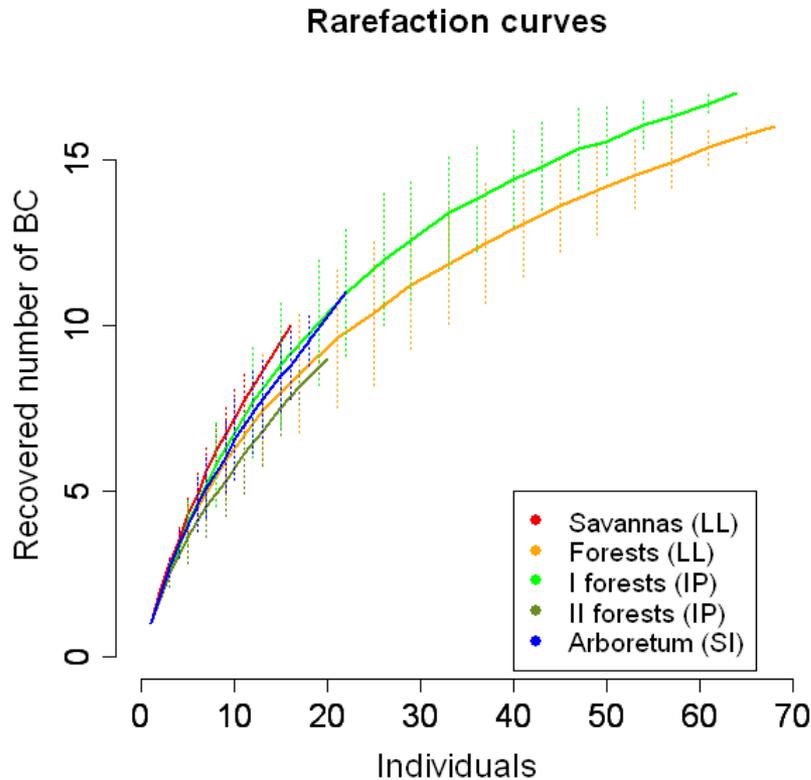
Gradiente Altitudinal no PE Pico Paraná (1000 a 1850 m)



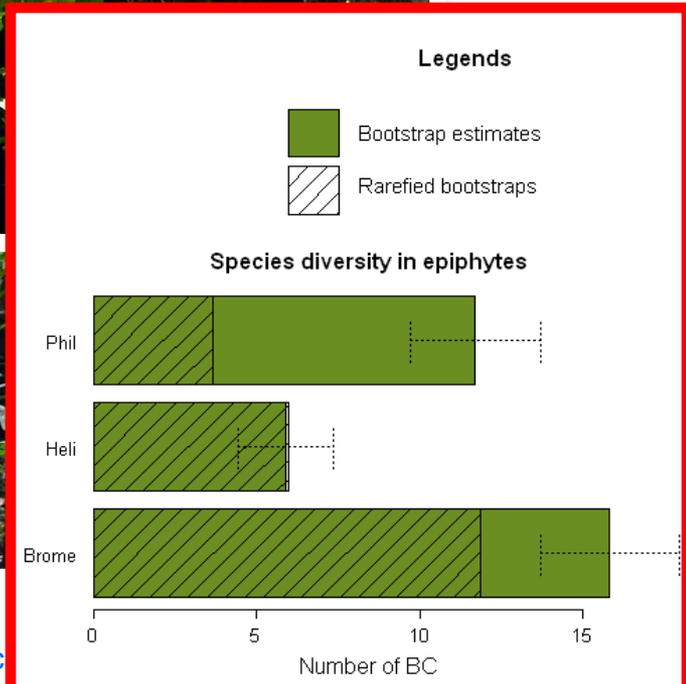
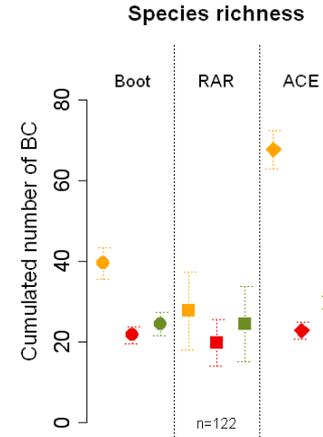
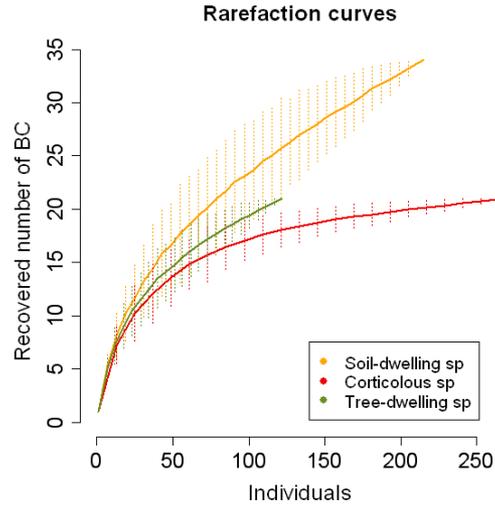
Veja Pôster!!!

Ecologia

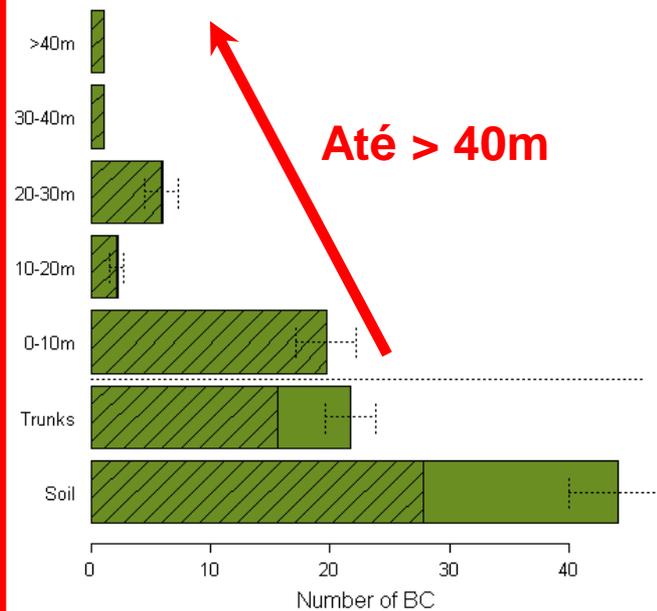
- Melhorar estimativas de diversidade e riqueza
- Dinâmica de populações
- Diferenciação de nichos



Ecologia



Species richness vertical stratification



O DNA barcoding pode ajudar...



- Identificação de espécies
- Estimativas de biodiversidade
- Revelar diversidade críptica
- Filogenias
- Ecologia
- Monitoramento de espécies invasoras
- Barcoding ambiental



Monitoramento de espécies invasoras

Biological invasions in soil: DNA barcoding as a monitoring tool in a multiple taxa survey targeting European earthworms and springtails in North America

David Porco · Thibaud Decaëns · Louis Deharveng · Samuel W. James · Dariusz Skarżyński · Christer Erséus · Kevin R. Butt · Benoit Richard · Paul D. N. Hebert

Processo de invasão (origem, expansão) de *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857)!

- Variação no COI em populações autóctonas vs. invasoras
- Estrutura genética das populações invasoras para revelar história de invasões
- Identificar áreas de colonização ou migração indígena

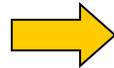


O próximo passo: *Barcoding ambiental*

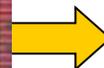
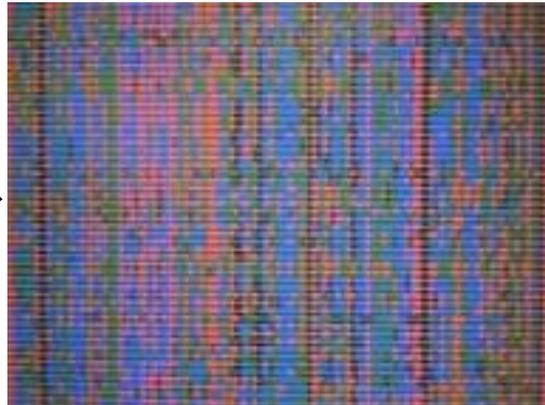
Amostra ambiental (solo)



454 FLX Piro-sequenciador



Dados das piro-sequências



Identidades das espécies e enumeração

Biblioteca de Barcode

Home | About Us | Contact Us | 15/4/2010 | Text sizes | Search

iBOL Terrestrial Biodiversity Earthworm barcode of life

progress

- specimens barcoded: 713
- species barcoded: 314
- unnamed barcode clusters found: 374

Progress Reports

OTHER TERRESTRIAL CARNIVORA

FORMICIDAE
Bees and Bumblebees

LEPIDOPTERA
Moths and Butterflies

Welcome to Earthworm Barcode of Life, the campaign that aims to obtain DNA barcodes for the earthworms of the world.

DNA barcoding promises great advances in species discovery and broad dissemination of taxonomic knowledge by providing a framework for a first-pass taxonomic screening of earthworm diversity using a single standardized gene marker - a 658 base pair fragment of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene. This is especially true considering the actual context of discovery of large portion of cryptic diversity in the group. It will be impossible to achieve our ambitious goal without the active involvement of many institutions and experts worldwide. Therefore the campaign seeks to assemble a broad global coalition of leading researchers, museums, and other institutions with interest in earthworm taxonomy and biodiversity.

This campaign website is intended to facilitate online collaboration of individuals interested in using DNA barcoding in their research and to help them to coordinate their efforts in building the global reference library of DNA barcodes for Haplotaxida. It is intended to provide the following services to the EarthwormBOL barcoding community:

- Outline the main directions of research and provide information on experts involved in these projects
- Provide real-time reports on the status of taxonomic coverage attained
- Provide updates on the latest publications related to earthworms' DNA barcoding, with particular focus on taxonomic revisions and descriptions of new taxa
- Maintain a source of concurrent information on the methodological aspects of DNA barcoding

community

- Leadership Team
- Partners & Sponsors

iBOL Overview

iBOL - The International Barcode of Life project. The International Consortium Initiative will increase the assembly of DNA barcodes for 50k sequences and 500k species by 2014. The pollinator working group (WIG 1.6) will aim to assemble a comprehensive library of DNA barcodes for 55k important pollinator species, including 20k bees, 20k dipteras, and 15k coleoptera. The pollination of plants by animal vectors is essential to agriculture, and plays an ineluctable role in the terrestrial food chain. Despite the high human interest, species identifications remain problematic for many groups. By gathering barcode records for all bees and many other important pollinators, iBOL will provide solutions to such uncertainty.

O futuro... Alguns desafios...

- Ainda estamos longe de uma ferramenta para uso a campo
- Base de dados (BOLD) ainda muito incompleta!
- Ainda precisa-se do taxonomista (q está em falta!)
- Capacitação em biologia e análise filogenética molecular!
- O problema da diversidade críptica
- Custo e “facilidade” ainda pode melhorar bastante...
 - ✓ Precisa \$\$\$, equipamento e computer “power”!

Barcoding nunca substituirá completamente a taxonomia

“traditional” ...

Mais bem, é uma ferramenta útil para acompanhar, facilitar e expandir o potencial de estudos taxonômicos



- Ascarididae
- Anisakidae
- Eucelestidae
- Cheloniidae
- Cylindrocephalidae
- Anisakidae
- Anisakidae
- Anisakidae
- Anisakidae



The logo for Embrapa, featuring the word "Embrapa" in a blue sans-serif font with a green leaf-like shape integrated into the letter 'a'.

Embrapa

Florestas

**Obrigado pela atenção
e aos organizadores pelo convite!**

george.brown@embrapa.br

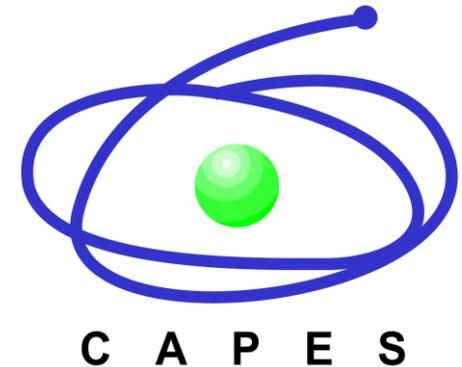
Agradecemos também o apoio do CNPq, UFPR, Udesc,
Fapesc, NSF, iBOL, BRBOL, Embrapa e Capes

AGRADECIMENTOS

A minha família

Aos meus orientadores

Aos amigos e colegas das turmas 2011, 2012 , 2013

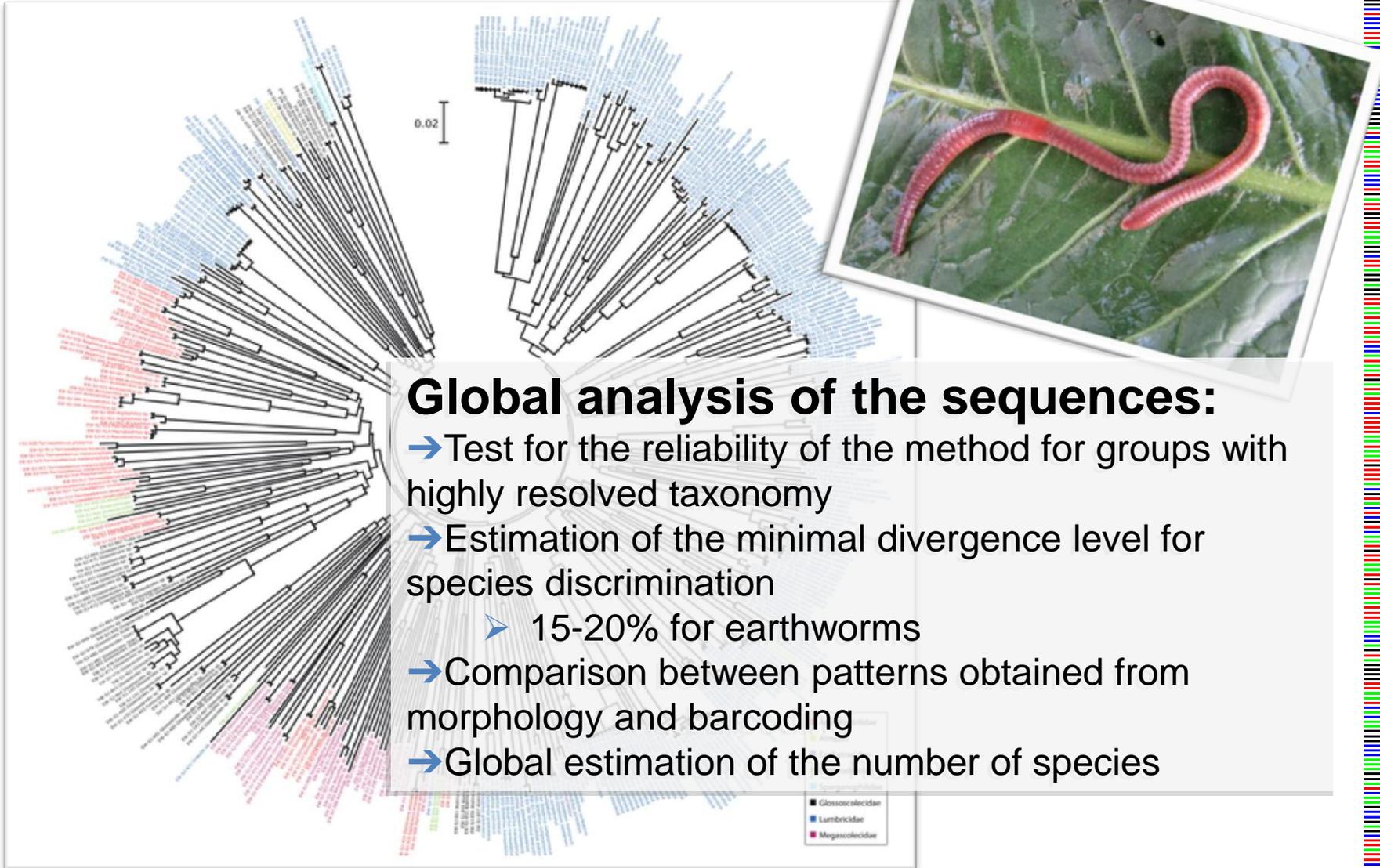


Florestas



Soil invertebrate barcoding campaigns

- The Earthworm barcode of life



O código de barras do DNA (DNA barcoding)

Biological identifications through DNA barcodes

Paul D. N. Hebert*, Alina Cywinska, Shelley L. Ball
and Jeremy R. deWaard

DNA Barcoding = uso de um fragmento de um gene padrão para identificar espécies e explorar a biodiversidade

Citocromo c oxidase I (COI) é o 'barcode' padrão para animais (650 pb)

→ ***Um método padrão para identificar animais***



DNA barcoding

Há controvérsia sobre o método

- **Falsos negativos:** barcodes semelhantes em duas espécies diferentes (pequena divergência, introgressão);
- **Falsos positivos:** barcodes diferentes para a mesma espécie (polimorfismo ancestral)

Hoje reconhecida como uma ferramenta confiável e de fácil uso para a discriminação de espécies

Hebert propos uma biblioteca global de barcodes para o reino animal

Rubinoff & Holland (2005), Trewick (2007), Wiemers & Fiedler (2007), Will et al (2005), Hebert et al (2003, 2004, 2010)

biology
letters

Biol. Lett. (2010) 6, 359–362

doi:10.1098/rsbl.2009.0848

Published online 16 December 2009

Evolutionary biology

DNA barcodes for 1/1000 of the animal kingdom

Paul D. N. Hebert^{1,*}, Jeremy R. deWaard^{2,3}
and Jean-François Landry⁴

¹*Biodiversity Institute of Ontario, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada N1G 2W1*

²*Department of Forestry Science, University of British Columbia, Vancouver, British Columbia, Canada V6T 1Z4*

³*Entomology, Royal British Columbia Museum, Victoria, British Columbia, Canada V8W 9W2*

⁴*Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Ottawa, Ontario, Canada K1A 0C6*

**Author for correspondence (phebert@uoguelph.ca).*

This study reports DNA barcodes for more than 1300 Lepidoptera species from the eastern half of North America, establishing that 99.3 per cent of these species possess diagnostic barcode sequences. Intraspecific divergences averaged just 0.43 per cent among this assemblage, but most values were lower. The mean was elevated by deep barcode divergences (greater than 2%) in 5.1 per cent of the species, often involving the sympatric occurrence of two barcode clusters. A few of these cases have been analysed in detail, revealing species overlooked by the current taxonomic system. This study also provided a

Urobenus brasiliensis

