

**Carolina Elena Viña Bertolotto**

***Enyalius* (Leiosauridae, Squamata):  
o que os dados moleculares e cromossômicos  
revelam sobre esse gênero de lagartos endêmico  
do Brasil**

**Tese apresentada ao Instituto de  
Biociências da Universidade de São Paulo,  
para a obtenção de Título de Doutor em  
Ciências, na Área de Biologia / Genética.**

**Orientadora: Yatiyo Yonenaga-Yassuda**

**Versão revisada**

**São Paulo**

**2006**

# Ficha Catalográfica

---

**Viña Bertolotto, Carolina Elena**

***Enyalius* (Leiosauridae, Squamata): o que os dados moleculares e cromossômicos revelam sobre esse gênero de lagartos endêmico do Brasil**

**129 páginas**

**Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva.**

**1. *Enyalius* 2. Citogenética. 3. Sequências mitocondriais e nucleares. 4. Filogenia**

**I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva.**

## Comissão Julgadora

---

**Prof. Dr (a)**

---

**Prof. Dr (a)**

---

**Prof. Dr (a)**

---

**Prof. Dr (a)**

---

**Profa. Dra Orientadora**

# **DEDICATÓRIA**

**Aos meus pais e meu irmão**

# EPÍGRAFE

*Caminante, son tus huellas  
el camino nada más;  
caminante no hay camino  
se hace camino al andar.  
Al andar se hace camino,  
y al volver la vista atrás  
se ve la senda que nunca  
se ha de volver a pisar  
Caminante, no hay camino,  
si no estelas en la mar*

**(Proverbios y Cantares. XXIX  
Antonio Machado)**

## AGRADECIMENTOS

Esta Tese de Doutorado foi feita com muitas mãos e idéias de pessoas que me acompanham há muito tempo, e há não tanto tempo assim. Parte delas não só na vida acadêmica.

Impossível citar todas essas pessoas, mas não posso deixar de agradecer,

À minha orientadora Dra Yatiyo Yonenaga-Yassuda, por me acolher no laboratório por 14 anos (caramba, passa rápido mesmo), pelo conhecimento transmitido e liberdade para trabalhar durante todo esse período.

A meu orientador informal Dr. Miguel T. Rodrigues, sempre entusiasmado com os lagartos, por ter sempre me ajudado, trazendo e pedindo os “bichinhos” e oferecendo suporte intelectual em todos esses anos de pesquisa.

Aos meus amigos e colegas de Laboratório Karen Ventura, Yukie Sato, Tais Machado, Marcinha, Glaciene, Beto e Marcos Souza pelas inúmeras ajudas, companheirismo e alegria. Em especial a Glaciene, Tais e Yukie, pela amizade. A Vava, Valeria Fagundes, que também um dia fez parte deste laboratório, pelas ajudas.

Ao amigo Rodrigo Santos, fiel escudeiro em todas as horas, meu companheiro de molecular, sempre prestativo e bem humorado, pelas inúmeras ajudas e discussões, principalmente nos dias que precederam à tese.

À Silvia, que insiste em dizer que é má, pelas várias orientações, discussões e ajudas na molecular (estrutura secundária do 16S, cálculo dos tempos de divergência, e assim vai). Em todo caso, obrigada por não ser má comigo.

À Renata Cicília Amaro, minha funcionária nota 10, cuja ajuda no final da tese foi crucial (refazer toda a tabela, o Mapa e outras “coisinhas”), pelos anos de amizade, coleguismo, ajudas e muitas risadas.

À Mariiiiiiiia, Maria José de Jesus Silva, minha querida amiga de sempre, um pouco orientadora, um pouco mãe, de tudo um pouco, sempre presente.

À Pepe, Kátia Pellegrino, que também como Maria José, me orientou desde o começo até hoje. Orientadora “não cadastrada” foi quem efetivamente orientou meu doutorado, me ensinando todos os “passos da molecular”. Amiga sempre presente mesmo tendo passado muito tempo longe de mim.

Aos amigos de fora da Bio, Roberto Castro, Maria Margarida, Vretinhos (Christina Vretos) e Ana Carina Ometto. Amigos de todas as horas, da vida inteira.

Às amigas e colegas de ensino, Kátia Faria e Luciana Alvarez, sempre dispostas a me liberarem dos compromissos com o ensino para que eu me dedicasse à Tese.

A Patrícia Faria, pela amizade e companheirismo.

Aos amigos do Laboratório de Aves do IBUSP, em especial ao Fábio e ao Zé Patane, pela ajuda com a “molecular”. Aos amigos do laboratório dos peixes, Cíntia, Fátima, Riviane, Sabrina, Carlos e do laboratório da Maria Lúcia, Ana Carolina e Zé Carlos, ao Lincão e ao Severino pelos momentos agradáveis e ajudas.

Aos meninos do Miguel (aqui incluídas as meninas também) Felipe, Dante, José Cassimiro, Vanessa, Gabriel Skuk, Renata Moretti, Vinícius, pelos animais coletados e pelas muitas ajudas extras. Sem o trabalho dessa equipe esta Tese não existiria, não com essa

quantidade de exemplares de tão diversos locais. Ao gringo, Ricardo Fuentes, pelas conversas e amizade.

Aos muitos docentes de várias Universidades que me mandaram tecidos de *Enyalis* de diversas localidades. E aos não docentes também.

A todos os professores do Instituto de Biociências pelo conhecimento passado. Em especial a Maria Lucia Benozatti, Ângela Morgante e José Mariano Amabis.

Aos funcionários deste Instituto, todos.

À minha família distante e sempre presente, começo de tudo. E a nova integrante dela, Alexandra, minha cunhada.

Aos meus pais e meu irmão,..... meu profundo amor.

# INDICE

<b>RESUMO.....</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>ii</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>I.1.SISTEMÁTICA.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. CITOGENÉTICA.....</b>	<b>14</b>
❖ Considerações gerais sobre os estudos citogenéticos em lagartos.....	16
❖ Cariótipos dos iguania pleurodontes.....	21
<b>1.3. ESTUDOS MOLECULARES.....</b>	<b>25</b>
❖ Análise das seqüências gênicas.....	26
❖ Escolha dos genes.....	28
❖ Genes mitocondriais.....	30
❖ Genes nucleares .....	33
❖ Métodos de reconstrução filogenética.....	34
❖ Índices de suporte dos clados.....	38
❖ Hipóteses filogenéticas.....	39
❖ Estudos moleculares combinados com outros dados .....	41
<b>II. OBJETIVOS.....</b>	<b>45</b>
<b>III. MATERIAL.....</b>	<b>46</b>
<b>IV. MÉTODOS.....</b>	<b>55</b>
<b>IV. ESTUDOS CITOGENÉTICOS.....</b>	<b>55</b>
IV.1.1.A. Preparações diretas.....	55
IV.1.1.B. Técnicas de coloração.....	57
IV.1.1.C. Análises cromossômicas.....	58
<b>IV. 2. ESTUDOS MOLECULARES.....</b>	<b>58</b>
IV. 2.1.a. Extração de DNA.....	59

IV.2.1.b. Amplificação das regiões gênicas.....	61
IV. 2.1.e. Obtenção e análise das sequências.....	63
IV. 2.1.d. Análises filogenéticas.....	64
IV. 2.1.c. Produtos, condições de armazenamento e preparo de soluções.....	65
<b>V. RESULTADOS.....</b>	<b>71</b>
<b>VI. DISCUSSÃO.....</b>	<b>102</b>
<b>VII. CONCLUSÕES.....</b>	<b>109</b>
<b>VIII. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>111</b>



## RESUMO

Estudos citogenéticos e moleculares realizados em 116 exemplares de lagartos do gênero *Enyalius*, provenientes de 58 localidades do Brasil, revelam grande variação cariotípica ( $2n=36$  a  $2n=46$ ) e significativa diversidade de espécies. Segundo a última grande revisão, o gênero *Enyalius* estaria composto por seis espécies, duas delas politípicas: *E. bilineatus*, *E. brasiliensis* (*E. b. boulengeri* e *E. b. brasiliensis*), *E. catenatus* (*E. c. catenatus*, *E. c. bibroni* e *E. c. pictus*), *E. iheringii*, *E. leechii* e *E. perditus*.

A partir de reconstruções filogenéticas utilizando seqüências combinadas de regiões parciais dos genes mitocondriais *cyt b*, ND4 e 16S e do gene nuclear *c-mos*, com os métodos de máxima parcimônia, máxima verossimilhança e inferência bayesiana, é proposta uma hipótese filogenética para o gênero. Dois grandes clados são observados: **clado 1** composto pelas espécies *E. brasiliensis*, *E. iheringii* e *E. perditus* e o **clado 2** formado por *E. bibroni*, *E. bilineatus*, *E. catenatus*, *E. leechii*, *E. pictus* e três novas espécies. Delimitando geograficamente a ocorrência desses 2 clados está o Rio Doce: ao sul deste está o clado 1 e ao norte, o clado 2. Os rios Jequitinhonha e o Rio São Francisco também delimitam a ocorrência das espécies *E. pictus* e *E. catenatus*, respectivamente. De acordo com essa filogenia molecular, associada a dados morfológicos, o gênero *Enyalius* está composto de, pelo menos, 11 espécies, considerando as subespécies de *E. catenatus* como espécies válidas e as populações de Mucugê (BA), Serra da Jibóia (BA) e Ibateguara e São José da Laje (AL) como três espécies novas.

Resultados cariotípicos inéditos são apresentados para duas espécies deste gênero: *E. pictus* ( $2n=36$ ,  $12M+24m$ ) e a espécie nova de Mucugê (BA), com o surpreendente número diplóide  $2n=46$ ,  $22M+24m$ . Este cariótipo é muito distinto da maioria das espécies de *Enyalius*, sendo composto por 22 macrocromossomos acrocêntricos e 24 microcromossomos.

## ABSTRACT

Cytogenetic and molecular studies were performed in 116 lizard of the genus *Enyalius*, from 58 localities of Brasil. A large karyotype variability with diploid number ranging from  $2n=36$  to  $2n=46$  and a conspicuous diversity of species were detected. Based on the last major revision on the genus, six species, two of the them with subspecies, were recognized: *E. bilineatus*, *E. brasiliensis* (*E. b. boulengeri* and *E. b. brasiliensis*), *E. catenatus* (*E. c. catenatus*, *E. c. bibroni* and *E. c. pictus*), *E. iheringii*, *E. leechii* and *E. perditus*.

Here, a molecular phylogeny was reconstructed for the genus using mitochondrial (cytochrome *b*, ND4 and 16S) and nuclear (*c-mos*) DNA sequences. Maximum parsimony and maximum likelihood criteria, as well as Bayesian analyses, were carried out on separate and combined sequences. According to this hypothesis, the species of *Enyalius* are grouped into two major clades: **clade 1** assembling *E. brasiliensis*, *E. iheringii* and *E. perditus*, and **clade 2** that includes *E. bibroni*, *E. bilineatus*, *E. catenatus*, *E. leechii*, *E. pictus* and three new species. The geographical distribution of these two clades coincides with the limits of Rio Doce at south (clade 1) and north (clade 2). The Jequitinhonha and São francisco rivers also delimit the occurrence of *E. pictus* and *E. catenatus*, respectively. Based on our phylogenetic hypothesis and morphological data, we propose that the genus *Enyalius* is actually comprised of, at least, 11 species.

Chromosomal results for two species are here described for the first time: *E. pictus* ( $2n=36$ ,  $12M+24m$ ) and a new species from Mucugê (BA) that present a surprising diploid number  $2n=46$ ,  $22M+24m$ . This karyotype with  $2n=46$  formed by 22 acrocentric macrochromosomes is very distinct from those found in most species of the genus.

## Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

