



MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DE BAGRES SUBTERRÂNEOS, GÊNERO *RHAMDIOPSIS* (SILURIFORMES: HEPTAPTERIDAE) DA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA CENTRAL

B. Rantin¹

M.E. Bichuette¹

1 - Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Rodovia Washington Luís, km 235, Caixa Postal 676, São Carlos, São Paulo, Brasil. Contato: bianca_rantin@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Os troglóbios são animais isolados no ambiente subterrâneo que podem apresentar regressões de olhos e pigmentação. Como vivem em ambiente tendendo à estabilidade (temperatura e umidade constantes) e estão isolados há muito tempo de seus parentes epígeos, estes animais representam estudos de caso interessantes do ponto de vista ecológico - evolutivo.

Atualmente há cerca de 24 espécies de peixes troglóbios no Brasil, na sua maioria os bagres e cascudos da ordem Siluriformes (Trajano & Bichuette, 2004; Trajano & Bichuette, dados não publicados), dentre eles bagres do gênero *Rhamdiopsis* (família Heptapteridae) da Chapada Diamantina, objeto de estudo do presente trabalho.

Na Bahia, os primeiros heptapterídeos subterrâneos com troglomorismos clássicos (totalmente anoftálmicos e despigmentados) foram encontrados em 1991 no município de Itaetê, na região da Chapada da Diamantina, em um afloramento do lençol freático na caverna Poço Encantado. Desde então, vários exemplares têm sido descobertos em várias localidades da Chapada. A região de estudo do presente trabalho apresenta várias cavernas distribuídas em duas lentes calcárias separadas por uma lente quartzítica, que supostamente separa tanto as populações de heptapterídeos quanto os afloramentos do lençol freático de ambas as lentes, de modo a não permitir dispersão entre elas. As diferentes pressões decorrentes deste possível isolamento teoricamente levariam ao “surgimento” de variações sutis nas formas dos indivíduos de cada população. Tal fato levantou algumas perguntas sobre o grau de conectividade destas populações, algumas delas contempladas no presente trabalho: (1) Há mudanças na forma do corpo relacionadas com o possível isolamento das populações de bagres heptapterídeos da Chapada Diamantina? 1a. Se sim, estas mudanças são observadas em populações de cavernas de uma lente calcária; 1b. Ou entre as duas lentes?

Para verificar se tais variações estão de fato ocorrendo, foi escolhida a técnica de morfometria geométrica, que uti-

liza pontos de referência, ou “landmarks” para representar a forma do corpo do animal e permite quantificar a variação morfológica encontrada. Os “landmarks” são pontos homólogos ao longo do corpo do animal que apresentam alguma importância funcional, estrutural, evolutiva ou de desenvolvimento (Richtsmeier *et al.*, 2002). As localizações destes “landmarks” são gravadas como coordenadas de duas ou três dimensões que resultam em um mapa espacial da localização relativa dos pontos escolhidos (Richtsmeier *et al.*, 2002). Dessa forma, a técnica mostra a quantidade de similaridade entre gêneros diferentes e se mostra importante para análises filogenéticas evolutivas. Os resultados da morfometria geométrica podem ser estatisticamente avaliados, ao contrário dos resultados da morfometria clássica, que somente compara dois gêneros qualitativamente (Monteiro & Reis, 1999).p >

Esta técnica pode ser complementar a técnicas moleculares pré - exploratórias que têm sido amplamente utilizadas em estudos evolutivos de peixes subterrâneos (e.g. COBOLLI - SBORDONI *et al.*, 1996; Borowsky & Mertz, 2001; Espinasa & Borowsky, 2001; Strecker *et al.*, 2003). Consiste, portanto, em um método robusto de identificação de espécies e por isso escolhido como método deste trabalho. O presente trabalho teve o apoio da Fapesp (Processo número 07/56337 - 2) e esteve vinculado ao Projeto Temático Fapesp: “Fauna subterrânea aquática brasileira: biodiversidade, biologia, evolução, ecologia e conservação” (Processo número 03/00794 - 5), sob coordenação da Profa. Dra. Eleonora Trajano e colaboração da Profa. Dra. Maria Elina Bichuette.

OBJETIVOS

Com o presente trabalho pretende - se responder às seguintes questões: (1) Há mudanças na forma do corpo relacionadas com o possível isolamento destas populações? 1a. Se sim, estas mudanças são observadas em populações

de cavernas de uma lente calcária; 1b. Ou entre as duas lentes?

MATERIAL E MÉTODOS

3.1-Coleta de material

No presente projeto foram coletados exemplares provenientes de lagos, poças e poções de afloramento do lençol freático de grutas presentes em duas lentes calcárias (Gruta do Moreno, Poço Encantado, Lapa do Bode, Gruta Natal, Canoa Quebrada e Lagoa Seca), interpostas por lentes de arenito/quartzito, metarenito e metassiltitos. Estas lentes estariam, supostamente, isolando afloramentos e fauna de ambas lentes calcárias uma vez que não se tem conhecimento de um lençol freático ou corredor que conecte as duas lentes. Todos exemplares foram coletados por Maria Elina Bichuette e colaboradores durante seu projeto de pós - doutorado, o qual foi desenvolvido junto ao Departamento de Zoologia do IBUSP, com financiamento FAPESP (03/00794 - 5 e 03/00795 - 1). Para as coletas foram utilizadas redes de mão e os animais coletados foram mortos por anestesia em benzocaína e fixados em formalina.

3.2. - Captura das imagens

Para a captura das imagens foi utilizada uma câmera digital marca Sony DSCN 01, resolução de 8.1 “megapixels”, acoplada a um tripé. Cada exemplar foi montado em vistas dorsal e lateral esquerda e fixados um a um com alfinetes comuns em uma placa de petri, forrada com etileno - acetato de vinila (EVA).

3.3-Análise dos dados

Foram analisados 102 indivíduos no total, de seis populações: Setor Norte: Canoa Quebrada (22 exemplares) e Gruta da Lagoa Seca (um exemplar); Setor Sul: Lapa do Bode (23 exemplares), Gruta do Moreno (20 exemplares), Gruta Natal (21 exemplares) e Poço Encantado (15 exemplares). Através da análise prévia da morfometria clássica, foram estabelecidos 24 pontos de referência em vista dorsal e vista lateral esquerda de acordo com sua capacidade de determinar o contorno geral da forma do corpo.

Os dados morfométricos foram adquiridos como coordenadas homólogas de duas dimensões, pelo programa TPS-Dig 2, versão 2.10 (ROHLF, 2006). O programa TPSRelw, versão 1.45 (ROHLF, 2007) foi utilizado para obtenção das configurações de consenso, as matrizes de deformações parciais (com o componente uniforme incluído) e o componente principal da matriz de deformações parciais. O tamanho foi avaliado pelo tamanho do centróide, que foi comparado entre amostras pela análise de variância (ANOVA), usando o programa Statistica, versão 7.0 (StatSoft Inc.).

A seguir foi realizado o teste não - paramétrico de “Kruskal - Wallis” (ANOVA por ranques), com intervalo de confiança de 95%, para ambas amostras dorsal e lateral. Como nenhuma população mostrou valores significativos, não foram realizados os testes *post - hoc*.

RESULTADOS

O teste não - paramétrico de “Kruskal - Wallis” (ANOVA por ranques) para as amostras em vistas tanto dorsal quanto

lateral esquerda indicou que a diferença entre as formas das populações é significativa, apresentando valores de $H(5, N = 102) = 11,235$, com $p = 0,0024 (<0,05)$ e $H(5, N = 102) = 14,895$, com $p = 0,005 (<0,05)$, respectivamente. A partir dos tamanhos dos centróides dorsais e laterais foram gerados gráficos de médias (gráficos de erros - padrão), medianas e de deformações relativas, além de fenogramas, sendo que em todos foi possível notar diferenças entre as populações de ambas as lentes e entre as populações da lente Sul.

Os resultados obtidos com a análise de variância mostraram que a diferença nas formas das populações em vistas tanto dorsal quanto lateral esquerda é significativamente diferente, indicando possível especiação parapátrica. Estes resultados são confirmados por todos os gráficos.

É interessante ressaltar que assim como no primeiro trabalho de morfometria geométrica, para cascudos troglóbios do gênero *Ancistrus* (REIS *et al.*, 2006), esta técnica mostrou - se robusta na detecção de diferenças nas formas, no qual diferentes populações de cavernas situadas em uma mesma lente calcária foram examinadas em vista dorsal e, para estas, encontrou - se isolamento de fluxo genético, sugerindo um processo inicial de especiação. Isto indica que esta pode ser uma excelente ferramenta para o estudo da morfometria de peixes subterrâneos, além da possibilidade de ser aliada a estudos de biologia molecular, o que torna os resultados das análises ainda mais robustos.

Ainda, a análise da biomolecular concorda com parte destes resultados, onde foram observadas diferenças, aparentemente isolamento entre populações de uma mesma lente (setor Sul) e entre as populações Norte - Sul (BICHUETTE & BOROWSKY, dados não publicados).

É importante ressaltar o fato de que, ao contrário da maioria dos trabalhos com morfometria geométrica, que utilizam somente uma das vistas em suas análises, as análises do presente trabalho foram realizadas em duas vistas, dorsal e lateral esquerda, o que possibilitou uma melhor visualização dos dados.

Apesar do tamanho das amostras não ser grande, mostrou - se adequado aos cálculos, uma vez que se obteve sucesso com os resultados. Como as populações de animais troglóbios são geralmente são pequenas, coletar um grande número de indivíduos causaria um impacto muito grande em sua população.

Se este resultado se confirmar futuramente pode - se concluir que as diferentes populações já representam espécies distintas, reafirmando a necessidade de proteção destes organismos. Como estes animais são endêmicos da Chapada Diamantina e possuem adaptações para viver somente em seu ambiente (que tende a uma estabilidade), deve - se incentivar políticas que favoreçam a proteção de seus habitats, limitando perturbações dentro e no entorno destes locais, de modo a auxiliar a manutenção de um banco genético importante para a pesquisa científica e a manutenção da biodiversidade. Ainda, estas espécies novas contribuem para a diversidade de fauna cavernícola brasileira, reafirmando o potencial do país principalmente para peixes troglóbios (24 espécies registradas até o presente-TRAJANO & BICHUETTE, 2004; TRAJANO & BICHUETTE, dados

não publicados), além de apontar mais uma vez para a importância de se proteger a Chapada Diamantina, que claramente configura - se como um "hotspot" de fauna subterrânea (TRAJANO & BICHUETTE, 2006). É importante ressaltar que todas estas populações encontram - se em cavernas situadas fora da área do Parque Nacional da Chapada Diamantina, e logo não contam com nenhum tipo de proteção ou plano de manejo. A região da Chapada tem como principal atividade econômica a agropecuária, que é realizada de forma intensiva e sem cuidados, de modo a oferecer grandes impactos ao ambiente cavernícola, como contaminação do aquífero, por meio da infiltração de agrotóxicos no solo. Também o garimpo, que continua sendo prática comum na região, causa impactos devido ao assoreamento dos rios subterrâneos e destruição de habitats. Não foi possível determinar claramente se há ou não diferenças morfológicas entre os indivíduos das populações do setor Norte devido à falta de exemplares coletados. Estes animais vivem em locais de difícil acesso (necessidade de espeleomergulho para coletas), sendo que a captura de exemplares adicionais para as análises tornou - se dificultada. Por fim, necessita - se um levantamento mais detalhado da área, para verificar a potencial distribuição destes peixes, para que as possíveis novas populações sejam analisadas.

CONCLUSÃO

Pode - se concluir que há diferenças morfométricas entre as populações dos setores Norte - Sul e entre as populações deste último, indicando possível especiação parapátrica. No entanto, a partir destes resultados somente, não é possível vislumbrar total isolamento destas populações. Se estas populações realmente configurarem - se como espécies novas, além de contribuírem de forma significativa para a diversidade de fauna cavernícola brasileira também reafirmam a necessidade de medidas de proteção para tais animais. A análise das formas dos indivíduos das populações dentro do setor Norte não foi possível devido à falta de mais exemplares.

Agradecimentos: agradeço a todos que tornaram esse trabalho possível, em especial ao Raimundo Cruz dos Santos ("Xiquinho"), pela ajuda no trabalho de campo, à Érica Hingst Zaher, pela ajuda nos cálculos estatísticos, ao Adriano Gambarini, pelas fotos, ao Tiago Scatolini pela ajuda

no trabalho de campo à Fapesp, pelo apoio financeiro, e à minha orientadora, Profa. Dra. Maria Elina Bichuette pela oportunidade de realizar este trabalho.

REFERÊNCIAS

- Borowsky, R. & Mertz, L. 2001. Genetic differentiation among populations of the cave fish *Schistura oedipus* (Cypriniformes: Balitoridae). *Environmental Biology of Fishes*, 62: 225-231.
- Cobolli - Sbordoni, M., De Matthaes, E., Mattoccia, M., Berti R. & Sbordoni, V. 1996. Genetic variability and differentiation of hypogean Cyprinid fishes from Somalia. *Journal of Zoology, Systematics and Evolution Research* 34: 75 - 84.
- Espinasa, L. & Borowsky, R. 2001. Origins and relationships of cave populations of the blind Mexican tetra, *Astyanax fasciatus*, in the Sierra de El Abra. *Environmental Biology of Fishes*, 62: 233-237.
- Monteiro, L. R. & Dos Reis, S. F. 1999. *Princípios de Morfometria Geométrica*. Holos editora, Ribeirão Preto, 188p.
- Reis, R. E. Trajano, E. & Hingst - Zaher, E. 2006. Shape variation in surface and cave populations of the armoured catfishes *Ancistrus* (Siluriformes: Loricariidae) from the São Domingos karst area, upper Tocantins River, Brazil. *Journal of fish biology*, 68: 414 - 429.
- Richtsmeier, J. T., DeLeon, V. B. & Lele, S. R. 2002. The Promise of Geometric Morphometrics. *Yearbook of Physical Anthropology* 45:63-91.
- Rohlf, F. J. SB Morphometrics home page. [online] Disponível na internet via WWW. URL:[http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft - dataacq.html](http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft-dataacq.html). Arquivo capturado em 7 de novembro de 2007.
- Strecker, U., Bernatchez, L. & Wilkens, H. 2003. Genetic divergence between cave and surface populations of *Astyanax* in Mexico (Characidae, Teleostei). *Molecular Ecology*, 12: 699-710.
- Trajano, E. & Bichuette, M. E. 2004. Diversity of subterranean fishes in Brazil. *Proceedings of the Symposium on World Subterranean Biodiversity*, Villeurbanne, França. Pp. 65 - 65.
- Trajano, E. & Bichuette, M. E. 2006. *Biologia Subterrânea: Introdução*. Redespeleo, São Paulo. 92p.