

THYSANOPTERA DA BAHIA - UMA ABORDAGEM SOBRE A PERSPECTIVA DA TAXONOMIA INTEGRATIVA. SUBPROJETO: USO DO DNA BARCODE NA IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE TRIPES DA SERRAPILHEIRA (INSECTA: THYSANOPTERA)ⁱ

Gabriel L. T. Viana²; Vanderly Andrade-Souza³; Jamille de A. Bittencourt⁴; Juvenal C. Silva Jr⁴

RESUMO:

Estudos sobre a fauna de artrópodes em serrapilheira revelam alta diversidade de morfoespécies, incluindo os tripes. A associação desses animais a micro-habitats complexos sugere que espécies morfologicamente semelhantes podem ser geneticamente distintas. Essa diversidade oculta de insetos tem sido revelada com sucesso utilizando o gene mitocondrial citocromo oxidase subunidade I (COI). Assim este trabalho teve como objetivo investigar a partir do uso do DNA Barcode, a existência de diversidade críptica em tripes da família Phlaeothripidae uma vez que ela reúne grande parte dos tripes da serrapilheira. O estudo foi realizado a partir da análise de sequências de espécies de tripes, coletadas nas Américas, Ásia, Europa, África e Oceania, depositadas na plataforma BOLD (Barcode of Life Data Systems). O banco de dados foi composto por 211 sequências, representando 33 morfoespécies. As Unidades Taxonômicas Moleculares (MOTUs) foram definidas a partir do consenso das árvores de *Neighbor-Joining* (NJ), Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB) e dos algoritmos de delimitação de espécies: Barcode Index Number (BIN), Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD), Assemble Species by Automatic Partitioning (ASAP), Poisson Tree Processes (PTP, bPTP e mPTP) e Generalized Mixed Yule Coalescent (mGMYC, sGMYC). A topologia das árvores foi congruente e revelou a existência de 28 MOTUs apoiadas pela maioria dos algoritmos e concordantes com a identificação morfológica. Contudo, as morfoespécies *Hoplandrothrips ochraceus* (Okajima & Urushihara, 1992), *H. chapmani* (Hood, 1927), *Acanthothrips nodicornis* (Reuter, 1880) e *Karnyothrips americanus* (Hood, 1912), incluíram dois grupos distintos cada. Adicionalmente, as MOTUs de *H. ochraceus* e *K. americanus* apresentaram barcode gap, evidenciando a existência de espécies crípticas ou complexo de espécies. Esses resultados demonstram eficácia do DNA barcode na discriminação da diversidade de espécies de tripes associados à serrapilheira.

Palavras-chave: Algoritmos de delimitação de espécies; COI; Espécies crípticas; Identificação molecular.

THYSANOPTERA OF BAHIA - AN APPROACH FROM THE PERSPECTIVE OF INTEGRATIVE TAXONOMY. SUB-PROJECT: USE OF DNA BARCODING IN THE IDENTIFICATION OF TRIPE SPECIES (INSECTA: THYSANOPTERA)

ABSTRACT:

Studies on arthropod fauna in leaf litter reveal a high diversity of morphospecies, including thrips. The association of these animals with complex microhabitats suggests that morphologically similar species may be genetically distinct. This hidden diversity of insects has been successfully revealed using the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) gene. Thus, this study aimed to investigate, using the COI gene, the existence of cryptic diversity in thrips of the family Phlaeothripidae, since it includes most of the thrips found in leaf litter. The study was based on the analysis of sequences of

thrips species collected in the Americas, Asia, Europe, Africa, and Oceania, deposited in the BOLD (Barcode of Life Data Systems) platform. The database consisted of 211 sequences, representing 33 morphospecies. Molecular Taxonomic Units (MOTUs) were defined based on the consensus of Neighbor-Joining (NJ), Maximum Likelihood (ML), and Bayesian Inference (BI) trees and species delimitation algorithms, Barcode Index Number (BIN), Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD), Assemble Species by Automatic Partitioning (ASAP), Poisson Tree Processes (PTP, bPTP, and mPTP), and Generalized Mixed Yule Coalescent (mGMYC, sGMYC). The tree topology was congruent and revealed the existence of 28 MOTUs supported by the majority of algorithms, which were consistent with morphological identification. However, the morphospecies *Hoplandrothrips ochraceus* (Okajima & Urushihara, 1992), *H. chapmani* (Hood, 1927), *Acanthothrips nodicornis* (Reuter, 1880), and *Karnyothrips americanus* (Hood, 1912) included two distinct groups each. Additionally, the MOTUs of *H. ochraceus* and *K. americanus* presented barcode gaps, indicating the existence of cryptic species or species complexes. These results demonstrate the effectiveness of DNA barcode in accurately discriminating the diversity of thrips species associated with leaf litter.

Keywords: Species Delimitation algorithms, COI, Cryptic species, Molecular identification.

INTRODUÇÃO

A diagnose mais recente da ordem Thysanoptera, sugerida por Cavalleri, *et al.* (2024), descreve tripes como insetos de corpo alongado e achatado dorso-ventralmente, variando seu comprimento de 0,5 a 15 mm. As características que distinguem os tripes de outros insetos, são: (I) O aparelho bucal assimétrico, no qual o esquerdo é completamente desenvolvido e a mandíbula direita consiste em uma estrutura vestigial de estágios iniciais do seu desenvolvimento; (II) A presença de uma vesícula de aderência (arólio) eversível no tarso (Ananthakrishnan, 1979).

A maior parte das espécies de tripes fungívoros, e associados à serrapilheira, são da família Phlaeothripidae — a única em Tubulifera, e a maior família da ordem Thysanoptera (Mound, 2007). Phlaeothripidae contém duas subfamílias: Idolothripinae, contendo mais de 80 gêneros com cerca de 760 espécies descritas, e Phlaeothripinae, com 380 gêneros e mais de 3000 espécies (Bánki, 2025). Apesar da grande quantidade de espécies descritas no último século, a diversidade da família, permanece subestimada. A taxonomia da ordem Thysanoptera foi construída a partir de dados morfológicos externos por meio de espécimes montados, permanentemente, em lâminas de microscopia (Lindner, *et al.* 2023). A dificuldade dessa técnica limita o acesso à morfologia, já que a montagem demanda tempo e experiência, e caso feita com pouca precisão técnica, resulta na perda de características delicadas, importantes para descrição dos espécimes. Nesse contexto, a análise de sequências funcionais do genoma, que suportem mutações, mas, ao mesmo tempo, conservem a função da

proteína codificada, como o DNA Barcode, podem ajudar a aferir a diversidade críptica dentro dos tripes da serrapilheira.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a análise foram selecionados os grupos descritos no livro “The Thrips of Central and South America: an introduction (Insecta: Thysanoptera)” por Mound e Marullo (1996) como “fungus-feeder”, “dead wood thrips” e “leaf litter thrips”, conforme a tabela 1. As análises foram feitas a partir de um banco de dados composto por 209 sequências públicas obtidas (incluindo as 6 usadas como grupo externo) do site *The DNA Barcode of Life Data System* (BOLD) (representando 31 morfoespécies). O alinhamento foi feito no MEGA 11, através da ferramenta ClustalW. Nesse programa, foi construída a árvore de Neighbor-Joining (NJ), com base no modelo Kimura-2 parâmetros (K2P) (Kimura, 1980) e 1000 pseudorréplicas de bootstrap. Concomitantemente, foram geradas as árvores de: Máxima Verossimilhança (ML), no servidor IQ-Tree e; de Inferência Bayesiana (BI) no software Mr-Bayes, implementado no CIPRES Science Gateway 3.3. As árvores foram visualizadas e editadas no Figtree v.1.4.2. A análise de delimitação de espécies foi feita com 5 algoritmos: (i) Barcode Index Number (BIN) (Ratnasingham; Hebert, 2007); (ii) Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) (PUILLANDRE et al., 2012), (iii) Assemble Species by Automatic Partitioning (ASAP) (PUILLANDRE et al., 2021); (iv) Multi-rate Poisson tree process (mPTP); e (v) GMYC (simples e múltiplo) (Drummond *et al.*, 2012). O número de MOTUs foi determinado conforme o consenso entre as árvores e algoritmos de delimitação. Esses grupos operacionais moleculares foram comparados com a taxonomia clássica a fim de verificar a ocorrência de diversidade críptica. Posteriormente, o MEGA 11 também foi usado para medir as distâncias intra e interespecíficas dos grupos genéticos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A topologia das árvores de NJ, ML e BI foi congruente e a partir do consenso entre os algoritmos e as árvores foram propostas 35 MOTUs, como mostra a figura 1. Dessa forma, foi possível identificar que o número de grupos genéticos observados foi maior do que a quantidade de morfoespécies (31).

A distância intraespecífica variou de 0,0% até 3,36%, com uma média de 0,79%. A maioria dos resultados ficou dentro do limite desejável de divergência, de 2% conforme Hebert, *et al* (2003). No entanto, os grupos *Elaphrothrips curvipes* e *Hoplandrothrips pergandei* alcançaram, respectivamente, 3,36% e 3,32%. Atualmente o BOLD conta com poucas sequências atribuídas a esses táxons, o que dificulta a delimitação desses grupos devido à baixa amostragem (Meyer e Paulay, 2005).

A distância interespecífica apresentou uma variação entre 0,91% e 36,31% com média 21,35%. As ferramentas de delimitação de espécies pelo DNA Barcode foram eficientes para apontar diversidade do grupo. Esse resultado é corroborado pelo Barcode Gap observado entre as médias intra e interespecíficas (0,79% e 21,35%, respectivamente). Os grupos *Karnyothrips americanus* I e *K. americanus* II e *Hoplandrothrips ochraceus* I e *H. ochraceus* II apresentaram Barcode Gap, indicando que esses de fato, são unidades evolutivas distintas sem sobreposição genética. Ao contrário das MOTUs *Acanthothrips nodicornis* I e *A. nodicornis* II que apresentaram sobreposição de distância genética e discrepâncias entre os algoritmos, portanto, não podem ser consideradas como linhagens genéticas independentes. Mesmo assim, alguns trabalhos demonstram sobreposição entre as distâncias intra e interespecíficas, de grupos distintos dificultando a aplicação de um limiar universal para identificar linhagens divergentes (Wiemers e Fiedler, 2007).

CONCLUSÃO

Os resultados das análises corroboram a hipótese deste trabalho. De fato, há diversidade críptica dentro dos táxons da família Phlaeothripidae descritos como tripes da serrapilheira. Além disso, foi possível observar algumas incongruências relacionadas a baixa amostragem de alguns táxons, devido à falta de sequências depositadas no BOLD. Esses resultados reforçam a necessidade de revisão da identificação das morfoespécies correspondente às sequências depositadas no BOLD.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ANANTHAKRISHNAN TN. Biosystematics of Thysanoptera, **Annual Reviews of Entomology**, 24: 159-183, 1979.
- 2- BÁNKI, O. et al. Catalogue of Life (Version 2025-02-13). Catalogue of Life, Amsterdam, Netherlands. 2025.
- 3- DRUMMOND, A. J. et al. Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. **Molecular Biology and Evolution**, v. 29, n. 8, p. 1969–1973, ago. 2012.
- 4- HEBERT, P. D. N. et al. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313–321, 7 fev. 2003.
- 5- KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, n. 2, p. 111–120, jun. 1980.
- 6- LINDNER, M. F. et al. Tiny insects, big troubles: a review of BOLD's COI database for Thysanoptera (Insecta). **Bulletin of Entomological Research**, 1, 1-13, 2023.

- 7- MEYER, C. P.; PAULAY, G. DNA Barcoding: Error Rates Based on Comprehensive Sampling. **PLoS Biology**, v. 3, n. 12, p. e422, 29 nov. 2005.
- 8- MORSE, G. M; HODDLE, M. S.; Invasion Biology of Thrips. **Rev. Entomol.** 51:67–89, 2006.
- 9- MOUND, L. A.; MARULLO L. A. **The thrips of Central and South America: an introduction (Insecta: Thysanoptera)**. 6ª ed. Florida: Associated Publishers, 1996.
- 10- MOUND, L. A.; MORRIS, D. C. The insect Order Thysanoptera: Classification versus Systematics. **Zootaxa**, v. 1668, n. 1, 21 dez. 2007.
- 11- PUIILLANDRE, N. et al. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 8, p. 1864–1877, abr. 2012.
- 12- PUIILLANDRE, N.; BROUILLET, S.; ACHAZ, G. ASAP: assemble species by automatic partitioning. **Molecular Ecology Resources**, v. 21, n. 2, p. 609–620, fev. 2021.
- 13- RATNASINGHAM, S. N.; HEBERT, P. D. N. BOLD: The Barcode of Life Data System. **Molecular Ecology Notes**, 7, 355–364, 2007.
- 14- WEIMERS, M.; FIEDLER, K. Does the DNA barcoding gap exist? – a case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae). **Frontiers in Zoology**, v. 4, n. 1, p. 8, 2007.

Tabela 1: Gêneros dentro das subfamílias Idolothriipinae e Phlaeothripinae (Tubulifera: Phlaeothripidae) descritos como “fungus-feeder”, “dead wood thrips” e “leaf litter thrips”, segundo Mound e Marullo (1996). Os gêneros marcados com um asterisco (*) possuem sequências depositadas na plataforma BOLD e suas espécies foram incluídas na análise.

Tubulifera	
Phlaeothripidae	
Idolothriipinae	Phlaeothripinae
<i>Acallurothrips</i>	<i>Acanthothrips</i> *
<i>Actinothrips</i>	<i>Adraneothrips</i> *
<i>Allothrips</i>	<i>Baenothrips</i> *
<i>Anactinothrips</i>	<i>Cartomothrips</i> *
<i>Atractothrips</i>	<i>Chirothripoides</i>
<i>Azeugmatothrips</i>	<i>Glyptothrips</i> *
<i>Bactrothrips</i> *	<i>Holothrips</i> *
<i>Bolothrips</i> *	<i>Hoplandothrips</i> *
<i>Carientothrips</i> *	<i>Hyidiothrips</i>
<i>Ceuthothrips</i>	<i>Karnyothrips</i> *
<i>Compsothrips</i>	<i>Macropgalmothrips</i>
<i>Cryptothrips</i> *	<i>Neurothrips</i> *
<i>Cyphothrips</i>	<i>Orthothrips</i>
<i>Diceratothrips</i>	<i>Plectrothrips</i>
<i>Dichaethothrips</i>	<i>Priesnerothrips</i>
<i>Diplacothrips</i>	<i>Psalidothrips</i>
<i>Elaphrothrips</i> *	<i>Rhinoceps</i>
<i>Ethirothrips</i>	<i>Sedulothrips</i>
<i>Gastrothrips</i> *	<i>Stegothrips</i>
<i>Hybridothrips</i>	<i>Stictothrips</i> *
<i>Illinothrips</i>	<i>Steptothrips</i>
<i>Megalothrips</i> *	<i>Trachythrips</i>
<i>Megathrips</i> *	<i>Trypanothrips</i>
<i>Neosmerinthothrips</i>	<i>Zaliothrips</i>
<i>Nesothrips</i> *	
<i>Phacothrips</i>	
<i>Priesnerilla</i>	
<i>Pseudocryptothrips</i>	
<i>Pygothrips</i>	
<i>Saurothrips</i>	
<i>Sporothrips</i>	
<i>Zactinothrips</i>	
<i>Zeuglothrips</i>	
<i>Zeugmatothrips</i>	

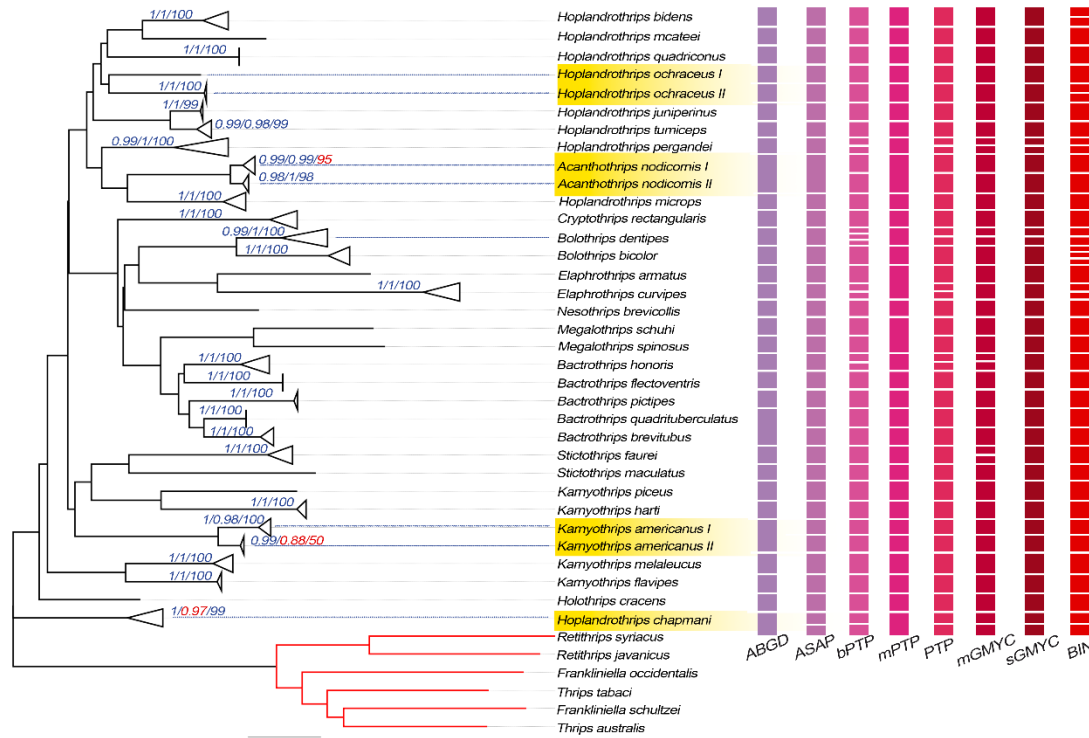


Figura 1: Árvore baseada em *Neighbor-Joining*, Inferência Bayesiana e Máxima Verossimilhança com seus respectivos valores de suporte dos agrupamentos sugeridos. As barras ao lado direito indicam os grupos propostos pelos algoritmos de delimitação. Os valores de suporte em vermelho indicam resultados abaixo do limiar desejado para as análises (98%). Linhas vermelhas correspondem ao grupo externo. Os grupos destacados em amarelo, apresentam diversidade críptica.