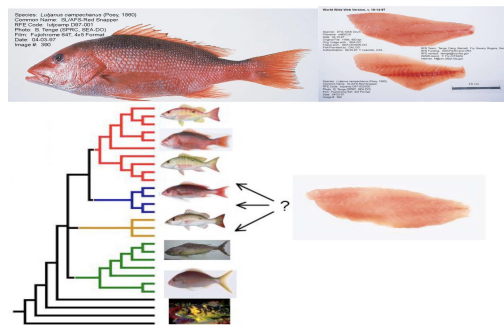


Etiquetagem fraudulenta?

Marko PB, Lee SC, Rice AM, et al. (2004) Mislabeling in a depleted reef fish.



Nature 430, 309.

A espécie *Lutjanus campechanus*, designada vulgarmente por “red-snapper”, é amplamente comercializada nos EUA. Pensa-se, no entanto, que existirão casos de vendas em que o nome “red-snapper” é fraudulentamente utilizado, isto é, em que os vendedores quererão fazer passar espécies de baixo valor comercial, pelo “red-snapper” de preço superior.

Para testar saber se realmente existe uma etiquetagem fraudulenta, foram recolhidas amostras no mercado de pescado rotulado como “red-snapper”, o DNA foi extraído e sequenciado um fragmento do citocromo b do DNA mitocondrial.

LEIA CADA PONTO ATÉ AO FINAL ANTES DE INICIAR AS TAREFAS.

Tarefa 0: Instalar Mega X

Tarefa 1: Obtenção das sequências directamente do GenBank

Como exercício, tente obter sequências directamente do GenBank sem sair do Mega.

No tab Align escolha “Query Databanks”.

Procure as sequências pretendidas na janela do GenBank que entretanto se abriu.

HQ162430	AY374294
----------	----------

Depois de encontrar a sequência pretendida deve carregar no sinal + que se encontra no topo da página. Grave o ficheiro com esses dados.

Pode escolher entre vários formatos, neste caso escolha o formato *.mas (mega alignment session).

Feche a janela para passar ao passo seguinte. Não irá precisar destas sequências.

Tarefa 2: Importar sequências padrão

É necessária a utilização de sequências padrão de *Lutjanus campechanus* de outras espécies possíveis de snappers para se aferir a identidade taxonômica das amostras recolhidas no mercado. Use o ficheiro FASTA deste [link](#), que tem as sequências que vai usar e encontre uma forma de importar as sequências para o MEGA.

Tarefa 3: Importar Sequências de amostras de mercado

As sequências obtidas a partir de amostras do mercado foram submetidas ao GenBank com os seguintes números de acesso: AY294187 a AY294205 (19 sequências) e AY651957 a AY651959 (3 sequências). Estas sequências estão disponíveis no seguinte [link](#).

Procure a forma de, tendo uma sessão “mega alignment” aberta, conseguir importar as sequências de mercado para que fique com todas as sequências (mercado e padrão) na mesma sessão.

Grave o ficheiro.

Tarefa 4: Creating Multiple Sequence Alignments

1. Seleccione todas as sequências
2. Escolha um qualquer algoritmo de alinhamento
3. Use os parâmetros default e prima OK
4. Grave o resultado
5. Feche a janela de alinhamento

(Agora em inglês)

Tarefa 5: Constructing Trees and bootstrap

1. In the main MEGA window select *Data/ Open a File session*, and choose the file you just saved, and because it is already aligned, choose *Analyze*
2. Then choose the *Phylogeny |Construct / Test UPGMA Tree*
3. An analysis preferences dialog box appears.
4. In Phylogeny Test, choose bootstrap method and 1000 bootstraps. [What is bottstrapping??]
5. Use the Substitution Models pull-down to choose the *Nucleotide|p-distance model*.
6. Click “OK” to accept the default values for the rest of the options. A progress indicator provides the progress of the test as well as the details of your analysis preferences.
7. Once the computation is complete, the Tree Explorer appears and displays two tree tabs. The first tab is the original *UPGMA* tree, and the second is the Bootstrap consensus tree.
8. To produce a condensed tree, use the *Compute|Condensed Tree* menu command from the Tree Explorer menu. This tree shows all the branches that are supported at the default cutoff bootstrap value of ≥ 50 .

9. If you want to revert to the original values, select the *View|Options* menu command and click the cutoff values tab. Select the *Compute|Condensed Tree* menu command, and the UPGMA tree will reappear.
10. Now it is time to analyze and interpret the results.
11. When you are done, select the *File|Exit Tree Explorer* (Ctrl-Q) command to exit the Tree Explorer.

Responda às seguintes questões

1. Qual a percentagem de amostras recolhidas no mercado que estão mal identificadas?
2. Quais as implicações práticas deste fenómeno?