

Variabilidade genética comparada em três espécies de *Melanophryniscus* ameaçadas de extinção e endêmicas do RS.

Juliane Heyde dos Santos e Márcio Borges Martins
Laboratório de Herpetologia- Departamento de Zoologia- UFRGS

INTRODUÇÃO:

O gênero *Melanophryniscus* Gallardo, 1961, pertence à família Bufonidae e inclui 26 espécies endêmicas do sudeste da América do Sul. *Melanophryniscus macrogranulosus* (Fig. 1.A), *M. cambaraensis* (Fig. 1.B) e *M. admirabilis* (Fig. 1.C) são espécies ameaçadas e endêmicas da Mata Atlântica do Rio Grande do Sul e apresentam distribuições muito restritas.

O estudo da variabilidade genética é uma importante ferramenta para esclarecer a história evolutiva dos organismos e pode contribuir para avaliar o status de conservação das espécies bem como para o planejamento de ações, permitindo focar esforços em áreas prioritárias para a sua conservação.

O objetivo do presente trabalho é a análise comparada da variabilidade genética de *Melanophryniscus macrogranulosus* e das demais espécies microendêmicas com distribuição no RS.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados indivíduos correspondentes a cinco populações conhecidas de *Melanophryniscus macrogranulosus* e *M. cambaraensis*, duas em São Francisco de Paula, duas em Maquiné e uma em Dom Pedro de Alcântara, e indivíduos da única população conhecida de *M. admirabilis* em Arvorezinha, RS, Brasil (Fig. 2.A). A extração de DNA foi feita com CTAB segundo protocolo de Doyle & Doyle (1987). O material extraído foi analisado através da técnica de PCR, amplificando fragmentos gênicos de DNA nuclear mitocondrial. Em um primeiro momento, tecidos das três espécies foram utilizados para extração e amplificação de um fragmento do Citocromo b, marcador comumente utilizado para análises a nível de espécie. As sequências foram alinhadas através do programa Geneious. Análises populacionais de índice de diversidade nucleotídica e haplotípica e teste de neutralidade de D de Tajima e Fs de Fu foram realizadas no programa DNAsp 5.10. Para a análise da estruturação das populações foi realizada uma Análise da Variância Molecular no programa Arlequin 3.11 e a rede de distância com o algoritmo Median Joining no programa Network 4.5.1.6.



Figura 1. A. *Melanophryniscus macrogranulosus*; B. *Melanophryniscus cambaraensis*; C. *Melanophryniscus admirabilis*; D. Vista ventral de *Melanophryniscus cambaraensis*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Até o presente momento não foi possível obter sequências de *Melanophryniscus admirabilis*.

A análise do marcador mitocondrial Citocromo b das espécies *M. cambaraensis* e *M. macrogranulosus*, revelou uma distância genética muito baixa entre as populações (0,01 a 0,05%), se comparado com a de outra espécie conhecida do gênero (3,5%). Estes dados corroboram com dados morfológicos e bioacústicos e sugerem que estas populações pertencem a uma única espécie; Portanto, as análises foram feitas juntando as cinco populações conhecidas para a espécie e utilizando o marcador molecular citocromo oxidase I, que possui uma taxa de evolução mais alta que o anteriormente utilizado. A análise deste marcador resultou em 13 haplótipos (Fig. 2.B). Através da análise dos haplótipos, foi encontrada uma diversidade haplotípica alta ($Hd=0,929$) e um índice de diversidade nucleotídica baixa ($Pi=0,006$), o que pode estar explicando um rápido crescimento populacional. O teste de neutralidade apresentou um valor negativo, indicando um excesso de polimorfismos de baixa frequência, o que poderia estar indicando expansão no tamanho da população.

Tendo em vista a importância de trabalhos na área de genética da conservação para o entendimento da estrutura populacional de espécies ameaçadas de extinção, daremos continuidade às análises, em um primeiro momento, visando obter as sequências de *M. admirabilis*.

AGRADECIMENTOS:

À Valentina Zaffaroni Caorsi e Thayná Mendes de Freitas Lima, pela orientação e colaboração deste trabalho.

Ao CNPq, à Fundação Grupo Boticário de Proteção à Natureza, ao The Mohamed bin Zayed Species Conservation e ao Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios (RAN), pelo apoio financeiro.

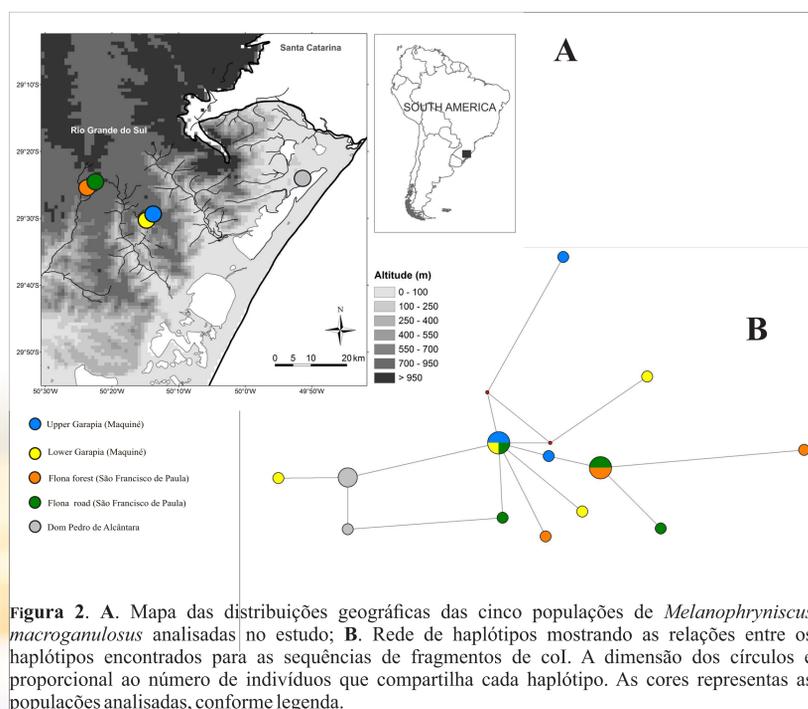


Figura 2. A. Mapa das distribuições geográficas das cinco populações de *Melanophryniscus macrogranulosus* analisadas no estudo; B. Rede de haplótipos mostrando as relações entre os haplótipos encontrados para as sequências de fragmentos de col. A dimensão dos círculos é proporcional ao número de indivíduos que compartilha cada haplótipo. As cores representam as populações analisadas, conforme legenda.

