



Variabilidade Genética de três Populações de *Melanophryniscus montevidensis*.

BRUNA E. SZYNWELSKI¹, MAYARA MEDEIROS², JORGE BERNARDO-SILVA², THALES R. O. FREITAS²

1 Ciências Biológicas UFRGS ; 2 UFRGS

INTRODUÇÃO

Conhecido como sapinho da barriga vermelha ou sapito de Darwin, *Melanophryniscus montevidensis* ocorre no limite da costa sul do Rio Grande do Sul até Montevidéu no Uruguai (Figura 1). Seu habitat é composto de dunas, lagoas e poças temporárias.

A espécie consta como vulnerável de acordo com a IUCN (Figura 2) e em perigo segundo a Lista vermelha do estado do Rio Grande do Sul.

Suas populações estão em declínio e seu habitat é fragmentado. Alguns pesquisadores o consideram extinto em algumas localidades com registros históricos no Uruguai.

Os marcadores moleculares como microssatélites são úteis para análise de eventos históricos mais recentes, como gargalos de garrafa e barreiras ao fluxo gênico, por isso podem inferir sobre o status de conservação das espécies.

Portanto o objetivo do trabalho foi avaliar a diversidade genética em três populações de *M. montevidensis*.



Fig. 1



Fig. 2

METODOLOGIA

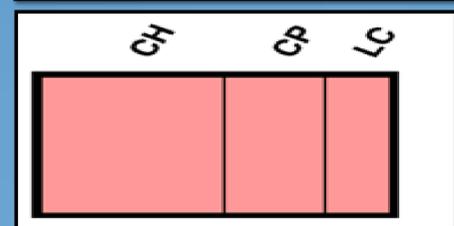
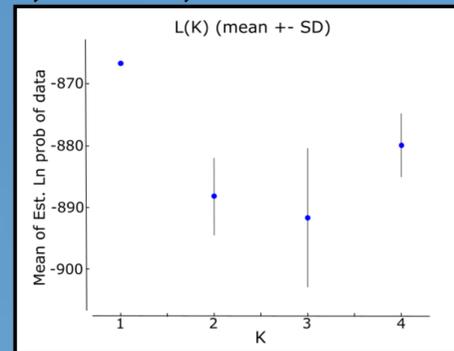
- Foram utilizadas 11 amostras de Cabo Polônio (CP) e sete de La Coronilla (LC) pertencentes ao Uruguai, e 20 de uma população do Chuí (CH), no Brasil;
- O DNA foi extraído com a técnica de CTAB (Doyle e Doyle, 1987);
- Utilizamos seis primers e respectivos protocolos de PCR descritos para *M. dorsalis* (Medeiros, 2014);
- Os alelos foram verificados no programa Peak-Scanner e erros de scoreamento, no programa Micro-checker;
- Os índices de diversidade, equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), AMOVA, F_{IS} , F_{ST} par a par e desequilíbrio de ligação (DL) através do programa Arlequin;
- A estruturação populacional foi verificada no programa Structure.

RESULTADOS

- Foram encontrados alelos nulos porém como a frequência de AN foi inferior a 0,22, os loci que apresentaram AN não foram excluídos das demais análises;
- A diversidade alélica foi a seguinte:

Locus	Número de alelos		
	CH	LC	CP
1	13	6	7
2	10	5	4
3	8	6	7
4	10	7	8
5	6	6	7
6	5	4	5
Média	8,6	5,6	6,3

- A heterozigosidade observada média foi de 0,63 no CH, 0,60 em LC e 0,72 em CP. A heterozigosidade esperada (HE) foi de 0,76 no CH 0,82 em LC e de 0,80 em CP;
- CH → locus 1 fora do EHW
- CP → locus 3 fora do EHW;
- LC → Ø locus fora do EHW;
- Não foi observada estruturação populacional através do programa Structure, sendo o melhor K inferido igual a 1 →
- Na AMOVA 97% da diferenciação observada se encontra dentro das populações e 3% entre as populações, com um valor de F_{ST} de 0,03 ($p < 0,05$);
- O F_{ST} par a par entre CH e LC foi 0,054 ($p < 0,05$);
- As demais comparações não foram significativas;
- O F_{IS} foi significativo para o CH, 0,18 e LC, 0,25 ($p < 0,01$).



CONCLUSÕES

O número de alelos de CH, LC, CP foi similar a *M. dorsalis*.

A ausência de EHW em alguns loci pode ser devido à falta de premissas postuladas pelo teste. E a falta de estruturação encontrada até o momento ao baixo número de loci utilizados. No entanto, os mesmos loci recuperaram a estruturação verificada para *M. dorsalis* em trabalho prévio. Sendo assim, a falta de estruturação pode ser pela proximidade das populações amostradas e possivelmente ausência de barreiras físicas que impeçam a dispersão e fluxo gênico entre populações.

Os dados de diferenciação populacional baixos de F_{ST} e AMOVA também corroboram para uma baixa estruturação populacional de CH, LC e CP. Dessa forma a ampliação do número de loci e de populações poderá nos dizer com clareza se há ou não uma estruturação entre as populações de *M. montevidensis*, bem como, possivelmente aumentar a diversidade de alelos amostrados e verificar se há um isolamento por distância.

Os resultados obtidos até o momento indicam que as populações LC, CP e CH tem níveis consideráveis de diversidade genética que podem estar relacionados à preservação desses locais.

Porém o F_{IS} alto pode levar, a longo prazo, à expressão de alelos deletérios e diminuição do fitness destas populações. Alguns pesquisadores consideram *M. montevidensis* extinto em locais com registro históricos no Uruguai, alertando que pressões antrópicas podem levar ao declínio e até mesmo extinções locais da espécie. Por isso os dados preliminares são de extrema importância para o conhecimento básico e conservação desta espécie globalmente ameaçada.

Apoio:



REFERÊNCIAS:

- MEDEIROS, M.D.; Desenvolvimento de marcadores microssatélites e sua aplicação em populações de *Melanophryniscus dorsalis* (Anura: Bufonidae). Porto Alegre, UFRGS, 2014. Tese de Mestrado-Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular.
- TORANZA, C.; MANEYRO, R. Potential effects of climate change on the distribution of an endangered species: *Melanophryniscus montevidensis* (Anura: Bufonidae). Phyllomedusa, São Paulo, 12(2): 97-106, 2013.
- BERNARDO-SILVA, J.S. História evolutiva e conservação de duas espécies de sapinhos-da-barriga-vermelha *Melanophryniscus dorsalis* e *Melanophryniscus montevidensis*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012. Tese de doutorado- Programa de Pós-graduação em Ecologia.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. Fundamentos de genética da conservação. Sociedade Brasileira de Genética, 2008.

