

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Tadarida brasiliensis* (CHIROPTERA: MOLOSSIDAE) NO EXTREMO SUL DO BRASIL: HÁ EVIDÊNCIAS DE SEGREGAÇÃO ENTRE SEXOS?

BRENDA BARBON FRAGA¹; ANGEL LARROZA DE SOUZA²; KELLY BRONDANI³; JULIANA CORDEIRO⁴; ANA MARIA RUI⁵; FABIO RICARDO PABLOS DE SOUZA⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas – brendabarbonfraga@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – angellarroza@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – kellybrondani@hotmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – jnncdr@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – ana.rui@ufpel.edu.br

⁶ Universidade Federal de Pelotas – fabiopablos@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Tadarida brasiliensis (L. Geoffroy, 1824) é uma espécie pertencente à ordem Chiroptera e família Molossidae, a qual é exclusivamente insetívora (WILKINS, 1989). A espécie possui ampla distribuição nas Américas, sendo encontrada desde os EUA até o Chile, e é muito abundante em algumas regiões (WILKINS, 1989). Espécies de morcegos com dieta insetívora e abundantes possuem um papel fundamental no ecossistema (AGOSTA, 2002); principalmente por possuírem importância na polinização e dispersão de sementes, assim como no controle de insetos pragas de agricultura (BERNARD et al., 2011). *Tadarida brasiliensis* é um importante consumidor primário de insetos, controlando desta forma o tamanho populacional dos mesmos (AGOSTA, 2002).

As populações da espécie com ocorrência na América do Norte foram estudadas acerca da diversidade genética (RUSSELL et al., 2005), diferentemente das populações com ocorrência na América do Sul. Populações de *T. brasiliensis* apresentam padrões migratórios, de deslocamento ou de uso de poleiros de forma diferenciada entre os sexos. Em uma população do sul dos Estados Unidos, foi observado que as colônias eram usadas como ponto de parada durante o período de migração, além de identificarem um padrão diferencial de comportamento de uso de abrigos entre machos e fêmeas (SCALES; WILKINS, 2007).

Na América do Sul, há estudos que relatam comportamento semelhante. No Uruguai, foi constatado que enquanto os machos permanecem nos abrigos todo o ano, as fêmeas os abandonam em períodos mais frios (NUÑEZ et al., 2018). Outro estudo realizado no extremo sul do Brasil identificou que há mudança na razão sexual nas colônias ao longo do ano, o que provavelmente indica um comportamento distinto de deslocamento ou migração de machos e fêmeas (FRANCO, 2011).

No presente estudo, testamos a hipótese de que o comportamento de deslocamento ou migração distinto entre indivíduos machos e fêmeas reflita na diversidade genética e na estruturação das populações. Portanto, objetivo do estudo é avaliar a diversidade genética e a estruturação da população de *T. brasiliensis* no extremo sul do Brasil.

2. METODOLOGIA

As amostras de tecido de *T. brasiliensis* foram coletadas durante os anos de 2014 e 2015 em uma colônia no município do Capão do Leão, RS, Brasil. Os

indivíduos foram capturados com rede de neblina e armadilha tipo puçá e mortos por inalação de éter (licença SISBio n.º 52646-1). Após a identificação e a coleta de uma série de informações dos animais, o tecido muscular peitoral foi isolado e armazenado em etanol 90% a -20°C.

A extração do DNA foi realizada utilizando o kit para extração *DNeasy® Blood&Tissue Kit* (Qiagen), seguindo as recomendações do fabricante. Os genes citocromo oxidase subunidade I (COI) e região controladora do DNA mitocondrial (D-loop) foram amplificados por PCR. Os produtos de PCR foram sequenciados pela empresa Macrogen Inc. Após o recebimento dos resultados de sequenciamento, os eletroferogramas foram analisados e as sequências consensos foram montadas utilizando o pacote Staden 4.11 (STADEN, 1996). Para o alinhamento das sequências utilizou-se a ferramenta ClustalW no software Mega7 (KUMAR et al., 2016).

Foi construída uma matriz com os dados concatenados (COI+D-loop), a qual foi utilizada nas análises. Foram obtidos fragmentos de COI e de D-loop para 53 indivíduos (27 fêmeas e 26 machos). O tamanho total da matriz de dados analisada foi de 1405pb com os dados concatenados (COI+D-loop), sendo que 692pb correspondem ao marcador COI e 713pb correspondem ao marcador D-loop. Os dados de diversidade genética (número de haplótipos, diversidade haplotípica, diversidade nucleotídica e número de sítios polimórficos) e os testes de neutralidade de evolução das sequências (Fs de Fu e D de Tajima) foram calculados utilizando o software DnaSP v5.10 (LIBRADO; ROZAS, 2009). Por fim, a rede de haplótipos foi montada utilizando o software PopArt (LEIGH; BRYANT, 2015).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 01 apresenta os dados de diversidade genética e dos testes de neutralidade para os dados concatenados, COI e D-loop, separado por machos e fêmeas e para a amostra total. De uma forma geral, foi obtido um alto número de haplótipos (machos: 24; fêmeas: 26; total 45) e de diversidade haplotípica (machos: 0,991; fêmeas: 0,997; total: 0,992), mas um baixo número de diversidade nucleotídica (machos: 0,035; fêmeas: 0,039; total: 0,036), com poucos sítios polimórficos (machos: 143; fêmeas: 123; total 135; de um total de 1405pb analisados). Estes dados indicam que apesar da alta diversidade de haplótipos, a diferença entre cada sequência é uma consequência de variações em poucos sítios nucleotídicos.

Os testes de neutralidade foram significativos apenas para Fs de Fu, com valores negativos (Tabela 01). Isso significa que a diversidade obtida é menor que a diversidade esperada, indicando uma potencial expansão demográfica de *T. brasiliensis* (NIELSEN, 2001) no extremo sul do Brasil.

Tabela 01 – Dados de diversidade genética e testes de neutralidade para os marcadores mitocondriais COI e D-loop concatenados de machos e fêmeas de *Tadarida brasiliensis* coletados no Capão do Leão, RS, Brasil.

	N	h	Hd	π	S	Tajima's	Fu's Fs
Machos	26	24	0,991	0,035	143	0,133	-6,784*
Fêmeas	27	26	0,997	0,039	123	0,393	-6,968*
Total	53	45	0,992	0,036	135	0,354	-23,78*

Nota: N: número de sequências; h: número de haplótipos; Hd: diversidade haplotípica; π : diversidade nucleotídica; S: número de sítios polimórficos do total de 1405pb analisados.

*Testes de neutralidade apresentaram significância estatística em $p < 0,05$

A figura 01 apresenta a rede de haplótipos dos dados concatenados dos fragmentos de COI e D-loop. Os dados apontam para uma estruturação da colônia em dois haplogrupos mitocondriais, porém não relacionados ao sexo. Indivíduos machos e fêmeas estão distribuídos nos dois haplogrupos mitocondriais de forma inversamente proporcional. Enquanto no haplogrupo da esquerda 43,40% dos indivíduos são machos e 56,60% são fêmeas; no haplogrupo da direita ocorre o inverso, 65,22% são machos e 34,78% são fêmeas.

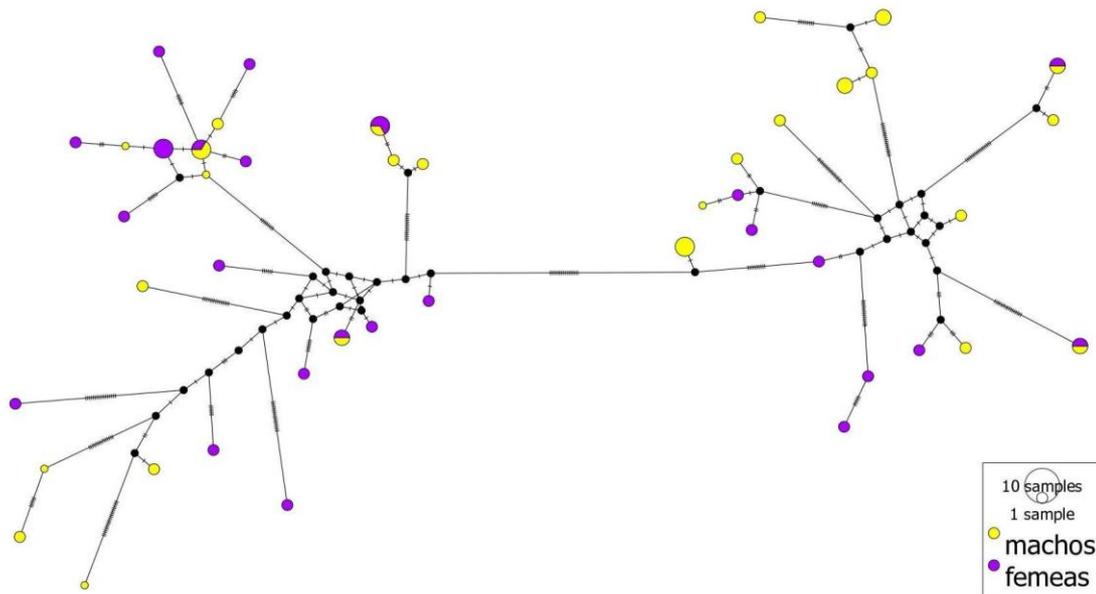


Figura 01 – Rede de haplótipos das sequências concatenadas de COI e D-loop de *Tadarida brasiliensis* coletados no Capão do Leão, RS, Brasil.

4. CONCLUSÕES

Os dados obtidos de diversidade genética por meio dos marcadores moleculares COI e D-loop mostram que a população de *Tadarida brasiliensis* do extremo sul do Brasil possui altos índices de diversidade genética e potencialmente se encontra em processo de expansão demográfica. A hipótese testada foi refutada, já que esta população não apresenta uma estruturação genética relacionada ao sexo para os marcadores testados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTA, S.J. Habitat use, diet and roost selection by the big brown bat (*Eptesicus fuscus*) in North America: a case for conserving an abundant species. **Mammal Review**, London, v. 32, n. 3, p. 179-198, 2002.

BERNARD, E.; AGUIAR, L.M.S.; MACHADO, R.B. Discovering the Brazilian bat fauna: a task for two centuries?. **Mammal Review**, London, v. 41, n. 1, p. 23-39, 2011.

FRANCO, A.D. **Uso de abrigo e composição de colônia de *Tadarida brasiliensis* (I. Geoffroy, 1824) (Chiroptera: Molossidae) no sul do Rio Grande do Sul, Brasil.** 2011. 33f. Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências Biológicas (Bacharelado). Universidade Federal de Pelotas.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution**, London, v. 33, n. 7, p. 1870-1874, 2016.

LEIGH, J.W.; BRYANT, D. Popart: full-feature software for haplotype network construction. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 6, n. 9, p. 1110-1116, 2015.

LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, n. 11, p. 1451-1452, 2009.

NIELSEN, R. Statistical tests of selective neutrality in the age of genomics. **Heredity**, v. 86, n. 6, p. 641-647, 2001.

NUÑEZ, G.B. et al. Circannual sex distribution of the Brazilian free-tailed bat, *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera: Molossidae), suggests migration in colonies from Uruguay. **Mastozoología Neotropical**, Mendoza, v. 25, n. 1, p. 213-219, 2018.

RUSSELL, A.L.; MEDELLÍN, R.A.; MCCRACKEN, G.F. Genetic variation and migration in the Mexican free-tailed bat (*Tadarida brasiliensis mexicana*). **Molecular Ecology**, v. 14, n. 7, p. 2207-2222, 2005.

SCALES, J.A.; WILKINS, K.T. Seasonality and fidelity in roost use of the Mexican free-tailed bat, *Tadarida brasiliensis*, in an urban setting. **Western North American Naturalist**, v. 67, n. 3, p. 402-409, 2007.

STADEN, R. The Staden sequence analysis package. **Molecular Biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 233-241, 1996.

WILKINS, K. *Tadarida brasiliensis*. **Mammalian Species**, v. 331, p. 1-10, 1989.