

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Estudo de genética populacional no Pato-Mergulhão,
Mergus octoetaceus

ORIENTADA: Luciana de Rezende Silva

ORIENTADOR: Prof. Dr. Fabrício Rodrigues dos Santos

CO-ORIENTADORA: Dra. Gisele Pires de Mendonça Dantas

BELO HORIZONTE

Agosto - 2012

LUCIANA DE REZENDE SILVA

Estudo de genética populacional no Pato-Mergulhão, *Mergus octosetaceus*

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Genética do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como pré-requisito para a obtenção do grau de mestre em Genética.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Rodrigues dos Santos

Co-orientadora: Dra. Gisele Pires de Mendonça Dantas

Belo Horizonte

Agosto - 2012

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao professor Fabrício que me aceitou no Laboratório de Biologia e Evolução Molecular e me proporcionou um aprendizado imensurável, além de me permitir desenvolver um projeto pelo qual sou apaixonada.

Meu sincero agradecimento à Renata Dornelas, bióloga responsável por me colocar em contato com o Terra Brasilis. Deixo aqui meu muito obrigada a toda equipe, em especial à Lívia, Flávia e Sônia Rigueira que compartilharam seus conhecimentos e não pouparam paciência e dedicação. Agradeço também Adriano Gambarini que com prontidão e desprendimento nos cedeu imagens maravilhosas, para que o Pato-Mergulhão pudesse ser apresentado. Agradeço também a todas as equipes que nos confiaram as amostras: Funatura, Cervivo, Terra Brasilis, MZUSP, MACN.

Ao pessoal do LBEM, (Babi, Augusto, Anderson, Érica, Dani, Sibelle, Marilza, José, Zé, Lúcia, Cacai, Bruno, Larissa, Samuel, Camila, Letícia, Claudiomar, Fabiano, Lílian, João e Maria Clara) agradeço por todos os ensinamentos, pela ajuda nas extrações, géis, PCR's, genotipagens, análises dentre outras atividades. Agradeço pela disponibilidade, companheirismo, conversas e risadas. Os momentos com vocês são especiais. De maneira especial, agradeço a Gisele, que com dedicação e sabedoria não mediu esforços para que essa dissertação se concretizasse. Agradeço também aos colegas e parceiros de outros laboratórios da biologia Geral (Genepop, LDGH, LGMM, NAGE) pela disponibilização de equipamentos e empréstimo de reagentes sempre que necessário.

Meus agradecimentos ao pessoal do LZOON (Laboratório de Zoonoses da Prefeitura de Belo Horizonte), em especial à Adelaide Bessa, pela amizade e compreensão.

Aos meus pais Mauro e Rosangela, e irmão Maurinho pelo incentivo, dedicação, investimento, amor e paciência. À tia Marli, tio José Maurício e Fernando por me acolherem com carinho. À Dani e tia Sandra pelo refúgio de quando a saudade de casa apertava e ao Felipe por ser fonte de alegria. A toda minha família pela torcida e incentivo.

Aos amigos Tetê, Tainah, tia Kuele, Natália, Henrique, Edgley, Pamela, Camila, Raquel e Larissa pela diversão, por estarem sempre presente na minha vida (mesmo à distância). Maurício, Raquelzinha e Cláudio por tornarem meus dias mais leves.

A todos os professores que fizeram parte da minha formação pela dedicação na tarefa de educar e formar.

A banca examinadora pela disponibilidade, correções e sugestões.

Ao Programa de Pós Graduação em Genética, ao WWT pela bolsa, Fapemig, CNPq por manterem o laboratório.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
Biologia e genética da conservação	11
Marcadores Microsatélites em estudos de genética da conservação	13
Pato-Mergulhão (<i>Mergus octosetaceus</i>)	14
OBJETIVOS.....	Erro! Indicador não definido.
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	Erro! Indicador não definido.
METODOLOGIA	Erro! Indicador não definido.
Amostragem e extração de DNA	Erro! Indicador não definido.
Análise preliminar da informação dos <i>loci</i> de microsatélites.....	Erro! Indicador não definido.
RESULTADOS	Erro! Indicador não definido.
Variabilidade genética e diferenciação populacional.....	Erro! Indicador não definido.
Relações de Parentesco.....	Erro! Indicador não definido.
DISCUSSÃO	Erro! Indicador não definido.
Diversidade genética nas populações remanescentes.....	Erro! Indicador não definido.
Relações de parentesco entre os patos-mergulhões	Erro! Indicador não definido.
CONCLUSÃO.....	Erro! Indicador não definido.
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	Erro! Indicador não definido.
Anexo I: RELAÇÃO DE ALELOS POR INDIVÍDUO.	Erro! Indicador não definido.
ANEXO II: TABELA DE INDIVÍDUOS, FAMÍLIAS, COORDENADAS, LOCALIDADES E MATERIAL UTILIZADO NO PRESENTE TRABALHO. .	Erro! Indicador não definido.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Área de amostragem. Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC), Parque Estadual do Jalapão (PEJ), Serra do Salitre (SS) e Misiones (amostras do Museu Argentino de Ciências Naturais - MACN).....20

Figura 2: As frequências alélicas de cada *locus* de microssatélite genotipados no Pato-Mergulhão (*Mergus octosetaceus*) considerando as populações do Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, Parque Nacional da Serra da Canastra e Serra do Salitre.....36

LISTA DE TABELAS

Tabela I: Amostras de Pato-Mergulhão (<i>Mergus octosetaceus</i>) utilizadas no presente estudo provenientes do Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC); Parque Nacional Chapada dos Veadeiros (PNCV); Serra do Salitre (SS); Parque Estadual do Jalapão (PEJ); província de Misiones da Argentina (Museo Argentino de Ciencias Naturales- MACN).....	21
Tabela II: <i>Loci</i> de microssatélites padronizados com suas respectivas temperaturas de <i>annealing</i> (Ta). F: iniciador forward; R: iniciador reverse.....	25
Tabela III: Localidade dos ninhos de Pato-Mergulhão (<i>Mergus octosetaceus</i>), amostrados na Serra da Canastra para o estudo de parentesco.....	28
Tabela IV. Número de indivíduos genotipados (N), número de alelos encontrados (n), heterozigidade observada (Ho), heterozigidade esperada (He) para cada um dos <i>loci</i> utilizados no presente estudo.....	30
Tabela V: Alelos exclusivos em cada região. Parque Nacional Chapada dos Veadeiros (PNCV), Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC) e Serra do Salitre, número de indivíduos (N).....	31
Tabela VI: <i>Loci</i> analisados quanto à expectativa de Hardy-Weinberg para as populações: Parque Nacional Chapada dos Veadeiros (PNCV), Parque Nacional Serra da Canastra (PNSC) e Serra do Salitre, onde: ns= não significativo, *= p<0,05, **=p<0,01 e ***=p<0,001.....	32
Tabela VII: Número de amostras (N), Número de alelos (Na), Heterozigidade observada (Ho) e Heterozigidade esperada (He) por região. Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, Parque Nacional da Serra da Canastra e Serra do Salitre.....	33
Tabela VIII: Número de amostras (N), Número de alelos (Na), Heterozigidade observada (Ho) e Heterozigidade esperada (He) por rio. Cativeiro, Córrego Cachoeirinha, Córrego Luciano, Rio do Peixe, Rio São Francisco.....	34
Tabela IX: Na hemimatriz inferior os valores de F_{ST} par-a-par de populações e na hemimatriz superior os valores de significância (p-value). Parque Nacional da Serra da Canastra, Parque Nacional Chapada dos Veadeiros e Serra do Salitre.....	34
Tabela X: F_{ST} par-a-par de populações. Cativeiro (CAT), Córrego Cachoeirinha (CC), Córrego Luciano (CL), Rio do Peixe (RP) e Rio São Francisco (RSF).....	37

Tabela XI: Valores de F_{IS} , F_{IT} e F_{ST} para cada <i>locus</i> nas regiões Parque Nacional Chapada dos Veadeiros (PNCV), Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC), Serra do Salitre (SS).....	37
Tabela XII: Valores de FIS, FIT e FST nas populações de cativoiro (CAT), Córrego Cacheirinha (CC), Córrego Luciano (CL), Museu da Argentina (MACN), Parque Estadual do Jalapão (PEJ), Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros (PNCV), Rio do Peixe (RP), Rio São Francisco (RSF) e Serra do Salitre (SS).....	38
Tabela XIII: Valores dos testes de Wilcoxon, Sign e Standart Frequency para detecção de gargalo-de-garrafa populacional: (N) número de indivíduos, (IAM) modelo de mutação de alelos infinitos, (SSM) modelo de mutação de passo. (PNCV) Parque Nacional Chapada dos Veadeiros, (PNSC) Parque Nacional da Serra da Canastra, (SS) Serra do Salitre. * indica significância estatística de 5%.....	38
Tabela XIV: Parentesco entre os indivíduos do cativoiro. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	39
Tabela XV: relação de parentesco entre a população da Serra do Salitre. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	40
Tabela XVI: Relação de parentesco entre a população da Chapada dos Veadeiros. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	41
Tabela XVII: Relação de parentesco entre os indivíduos do Rio do Peixe. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	41
Tabela XVIII: Relação de parentesco entre os indivíduos do Córrego Cachoeirinha. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	42
Tabela XIX: Relação de parentesco entre os indivíduos do Córrego Luciano. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	42
Tabela XX: Relação de parentesco entre os indivíduos da ‘família Z’ do Rio São Francisco. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	43

Tabela XXI: Relação de parentesco entre os indivíduos da ‘família G’ do Rio São Francisco. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	43
Tabela XXII Relação de parentesco entre os indivíduos do Rio São Francisco. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	44
Tabela XXIII Relação de parentesco entre os indivíduos do Rio São Francisco na localidade ‘buteco Ra’. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	45
Tabela XXIV Relação de parentesco entre os indivíduos do Rio São Francisco na localidade ‘prainha’. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	45
Tabela XXV Relação de parentesco entre dois casais no Rio São Francisco. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	46
Tabela XXVI Relação de parentesco entre grupo de indivíduos do Rio São Francisco. Indivíduos classificados como não relacionados ($r=0$), levemente relacionados ($0<r<0,25$) ou altamente relacionados ($r>0,25$).....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

CAT – Cativoiro

CCA – Córrego Cachoeirinha

CLU – Córrego Luciano

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

dNTP – desoxinucleotídeo

He – Heterozigosidade esperada

Ho – Heterozigosidade observada

IAM – Modelo de Mutação de Alelos Infinitos

IUCN – International Union for Conservation of Nature

LBEM – Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular

MACN – Museu Argentino de Ciências Naturais

MMA – Ministério do Meio Ambiente

N – Número de Indivíduos

n- Número de alelos

PCR – Polymerase Chain Reaction

PEJ – Parque Estadual do Jalapão

PNCV – Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros

PNSC – Parque Nacional da Serra da Canastra

RP – Rio do Peixe

RPPN – Reserva Particular do Patrimônio Natural

RSF – Rio São Francisco

SS – Serra do Salitre

SSM – Modelo de Mutação de Passo

Ta – Temperatura de annealing

TPM – Modelo de mutação de Duas Fases

RESUMO

Diversas populações de espécies ameaçadas vêm sendo devastadas pelo homem em toda a Terra. Inúmeras espécies tiveram suas populações diminuídas rapidamente no último século, algumas até o ponto de extinção. A diversidade genética é necessária para que qualquer espécie mantenha seu sucesso reprodutivo, sua resistência às doenças e sua habilidade para se adaptar às mudanças ambientais. O Pato-Mergulhão é uma das aves mais raras da Américas, sendo classificada como criticamente ameaçada, tanto na Lista das Espécies Ameaçadas de Extinção da Fauna Brasileira, quanto na Lista Vermelha Mundial. O objetivo desse trabalho foi avaliar a diversidade genética Pato-Mergulhão nas principais populações remanescentes (Parque Nacional da Serra da Canastra, Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros e Serra do Salitre) do Pato-Mergulhão, bem como analisar as relações de parentesco entre os indivíduos. Para alcançar estes objetivos foram utilizados 6 *loci* microssatélites, em 82 amostras. Os marcadores moleculares do tipo microssatélites têm sido amplamente utilizados em estudos de genética de populações por serem altamente variáveis, portanto, são ferramentas importantes nos estudos de espécies ameaçadas.

Encontramos baixa variabilidade genética no Pato-Mergulhão, quando comparada com outras espécies família Anatidae. A população da Serra da Canastra apresentou desvio de Hardy-Weinberg para todos os *loci*, além de sinal de gargalo-degarrafa recente. Apesar da baixa diversidade genética, as populações remanescentes do Pato-Mergulhão apresentam diferenciação populacional significativa entre as populações da Serra do Salitre e Chapada dos Veadeiros, e Serra da Canastra e Serra do Salitre. As análises de parentesco demonstraram que 35% dos indivíduos foram relacionados, sendo desses 22,5% altamente relacionados (pais-filhos, irmãos, tios-sobrinho e avós-neto) e 12,5% levemente relacionados (primos). O alto grau de parentesco entre os indivíduos amostrados em todas as localidades é esperado para uma espécie que apresenta um tamanho populacional tão pequeno.

Assim concluímos que a população de Pato-Mergulhão sofreu um gargalo-degarrafa recente com concomitante perda de diversidade genética. Essa população sofre com os efeitos da endogamia e deriva genética, que acentuam a perda de variabilidade genética. No entanto, as populações apresentam alguma estruturação genética, sugerindo independência de algumas unidades demográficas. É de primordial

importância a preservação dessas unidades para que a variação genética remanescente da espécie seja mantida, evitando assim sua extinção.

ABSTRACT

Several populations of endangered species are being decimated by man worldwide. Several species had their populations rapidly decreased in the last century, some to the point of extinction. Genetic diversity is necessary for the species to keep their reproductive success, their resistance to disease and ability to adapt to environmental changes. The microsatellite markers have been widely used in studies of population genetics because they are highly variable and are also important tools for studying threatened species. The Brazilian Merganser is one of the rarest birds of the Americas, classified as critically endangered in the List of Endangered Species of Brazilian Fauna and in the World Red List. The aim of this study was to evaluate the genetic diversity of the main remaining populations (Serra da Canastra National Park, Chapada dos Veadeiros National Park and Serra do Salitre) of the Brazilian Merganser and to analyze the kinship among individuals. To achieve these goals we used six microsatellite *loci* in 82 samples.

We found low genetic variability in Brazilian Merganser, when compared with other species from the Anatidae family. The population of the Serra da Canastra showed deviation from Hardy-Weinberg equilibrium for all *loci*, and a signal of recent bottleneck. Despite the low genetic diversity, remnant populations of the Brazilian Merganser present significant differentiation between Serra do Salitre and Chapada dos Veadeiros, and between Serra da Canastra and Serra do Salitre. The kinship analysis showed that 35% of the individuals were related, 22.5% of them highly related (parents-children, siblings, uncles- nephew, grandparents-grandson) and 12.5% slightly related (cousins). The high relatedness degree between sampled individuals from all locations is expected for a species with a very small population size.

Thus we conclude that the population of Brazilian Merganser suffered a recent bottleneck and subsequent loss of genetic diversity. This population suffers from the effects of inbreeding and genetic drift, which increases the loss of the genetic variability of the species. However, the remaining populations showed some degree of genetic structuration, suggesting a relative independence of some demographic units. The

preservation of these units is extremely important o maintain the genetic variation of the species, thus preventing their extinction.

INTRODUÇÃO

Biologia e genética da conservação

Diversas populações de espécies ameaçadas vêm sendo devastadas pelo homem em toda a Terra. Inúmeras espécies tiveram suas populações diminuídas rapidamente, algumas até sua extinção devido à caça predatória, destruição de habitats e da ação de predadores e competidores introduzidos pelo homem. As ameaças à diversidade biológica estão aumentando devido às demandas de uma população humana que cresce rapidamente. O que é ruim para a biodiversidade trará com certeza consequências negativas para a espécie humana, uma vez que obtemos do ambiente natural vários itens necessários à nossa sobrevivência: oxigênio, água, matérias-primas, alimento e medicamentos, além de outras mercadorias e serviços (Primak & Rodrigues 2001).

A biologia da conservação é uma ciência multidisciplinar que apareceu como resposta à crise com a qual a diversidade biológica se confronta atualmente e tem dois objetivos principais: i) entender os efeitos da atividade humana nas espécies, comunidades e ecossistemas, e, ii) desenvolver abordagens práticas para prevenir a extinção de espécies e, se possível, reintegrar as espécies ameaçadas ou seu ecossistema funcional. A biologia da conservação tenta fornecer respostas às questões específicas aplicáveis às situações reais. Tais questões são levantadas no processo de determinar as melhores estratégias para proteger espécies raras, conceber reservas naturais, iniciar programas de reprodução para manter a variação genética de pequenas populações e harmonizar as preocupações conservacionistas com as necessidades do povo e governo locais. As disciplinas de biologia populacional, taxonomia, ecologia, biogeografia e genética constituem o centro da biologia da conservação (Primak & Rodrigues, 2001).

Tanto pelo valor econômico como pelo valor biológico dos recursos e serviços dos ecossistemas, reconhecemos a necessidade de preservar a biodiversidade. Todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao poder público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as gerações presentes e futuras (Art. 225,

Constituição Federal). A IUCN reconhece atualmente a necessidade de conservar a biodiversidade em três níveis: diversidade de ecossistemas, diversidade de espécies e diversidade genética.

A diversidade de ecossistemas é representada pela complexa relação entre as comunidades biológicas e os ecossistemas onde elas se encontram e interagem. A diversidade das espécies inclui toda a gama de organismos com uma relativa independência evolutiva na Terra. A diversidade genética é a variação genética dentro das espécies, tanto entre as populações geograficamente separadas como entre os indivíduos de uma mesma população (Primak & Rodrigues, 2001).

A diversidade genética é necessária para que qualquer espécie mantenha seu sucesso reprodutivo, sua resistência a doenças e sua habilidade para se adaptar às mudanças ambientais. Dentro de uma espécie, a diversidade é frequentemente afetada pelo comportamento reprodutivo dos indivíduos dentro das populações. Os indivíduos de uma população são geneticamente diferentes uns dos outros, sendo que as formas variáveis de um gene são conhecidas como alelos que aparecem inicialmente através de mutações. Em alguns casos, os vários alelos de um gene podem afetar diferentemente o desenvolvimento e a fisiologia de um organismo (Primak & Rodrigues, 2001), portanto, podem estar diretamente relacionados ao processo de adaptação destas populações a um determinado ambiente. Entretanto, muito das variações genéticas são efetivamente neutras, isto é, sua dinâmica evolutiva é influenciada apenas por processos estocásticos (deriva, mutação) e não pela Seleção Natural.

A diversidade genética é representada genotipicamente por diferenças nas sequências de DNA e pode ser descrita através do número de polimorfismos (existência de mais de um alelo por loco), heterozigosidade (proporção de heterozigotos) e diversidade alélica e haplotípica (diversidade relativa de alelos ou haplótipos por *locus*) (Frankham *et al.* 2005). Sabe-se que espécies raras têm, em geral, menos variação genética do que as espécies abundantes e, conseqüentemente, são mais vulneráveis à extinção quando as condições do meio ambiente se alteram. As espécies mais vulneráveis à extinção têm características particulares, tais como pequenas extensões geográficas em sua área de distribuição, apenas uma ou poucas populações remanescentes, densidade demográfica baixa ou em declínio, ou um valor antropocêntrico (alimento, vestimentas, decoração etc.) que favorece a superexploração pelo homem (Primak & Rodrigues, 2001).

As populações naturais sofrem vários impactos atualmente entre os quais a fragmentação populacional devido às mudanças antrópicas nos ambientes naturais. Geralmente, populações isoladas devido à fragmentação e aos seus pequenos tamanhos populacionais tendem a apresentar altos índices de endogamia e baixa diversidade. Os efeitos do pequeno tamanho populacional são uma grande preocupação na biologia da conservação, pois todas as espécies ameaçadas têm populações pequenas ou em declínio e sofrem com os efeitos da endogamia e deriva, que levam à perda de diversidade genética. Conseqüentemente, um dos principais objetivos do manejo genético é minimizar a endogamia e a perda da diversidade genética (Frankham *et al.* 2002).

A genética da conservação também se preocupa em preservar as espécies como entidades dinâmicas (unidades evolutivas), capazes de enfrentar as mudanças ambientais. Isso engloba o manejo genético de pequenas populações, resolução de incertezas taxonômicas, definição de unidades de manejo e populações prioritárias para conservação. Como todos os componentes da biologia da conservação, a abordagem genética tem como objetivo principal diminuir as taxas de extinção e preservar a biodiversidade existente (Frankham *et al.* 2002).

Estudos de genética da conservação se propõem a avaliar a diversidade genética de uma espécie, buscando compreender sua história evolutiva e, conseqüentemente, tentar inferir padrões demográficos, migratórios, dados de estruturação populacional, comportamento, que podem ser utilizados para elaborar estratégias de manejo. Por exemplo, a caracterização da dinâmica de oscilação do tamanho populacional de uma espécie ao longo do tempo é importante para entender o impacto das flutuações climáticas passadas na distribuição atual da mesma (Jacobsen *et al.* 2005; Hu *et al.* 2009). Nestes estudos, os marcadores moleculares (sequências polimórficas de DNA) têm sido utilizados para estimar e datar eventos demográficos, como ‘gargalos de garrafa’ ou expansões populacionais, cuja resolução e confiança das estimativas estão relacionadas à taxa de mutação do marcador (Avice 2009).

Marcadores Microssatélites em estudos de genética da conservação

Os marcadores moleculares do tipo microssatélites consistem em repetições em tandem de uma sequência motivo de um a seis nucleotídeos. Têm sido amplamente utilizados em estudos de genética de populações por serem altamente variáveis com

relação ao número de repetições (Allendorf & Luikart 2007). A origem dos polimorfismos em *loci* microssatélites parece ser devido a eventos de deslizamento da DNA polimerase durante a replicação do DNA na meiose, aumentando ou diminuindo uma ou mais unidades de repetição (Scholotterer & Tautz, 1992). A alta taxa de mutação leva ao aparecimento recorrente de variantes alélicas de mesmo tamanho que levam à homoplasia, o que requer cuidado nas análises. Por isso, microssatélites são geralmente utilizados em estudos intraespecíficos e quase nunca para comparações interespecíficas. No entanto, para estudos com uma só espécie, este tipo de marcador molecular é vantajoso, pois apresenta uma taxa de mutação alta, permitindo que indivíduos e populações diferentes apresentem assinaturas genéticas diferenciadas e sinais de estruturação.

Microssatélites também são utilizados em testes de maternidade, paternidade e parentesco que contribuem para a compreensão do sistema social e de acasalamento de uma espécie, para estimar a variância no sucesso reprodutivo e detectar paternidades múltiplas (Allendorf & Luikart, 2007).

A detecção de um evento demográfico passado, tal como uma redução drástica da população pode também ser feita a partir da análise de microssatélites, baseando-se no fato de que alelos raros, que contribuem pouco para a heterozigosidade, são perdidos mais facilmente após um ‘gargalo de garrafa populacional’. Assim, o excesso transitório de heterozigotos pode ser usado para detectar um ‘gargalo de garrafa’ recente (Cornuet & Luikart, 1996). No entanto, esses métodos têm poder estatístico muito limitado, pois não fazem uso completo dos dados. Além disso, eles não fornecem uma estimativa da magnitude e da duração do evento (Girod *et al.* 2011).

Pato-Mergulhão (Mergus octosetaceus)

O Pato-Mergulhão (*Mergus octosetaceus* Vieillot, 1817) é uma das aves mais raras da Américas (Bartmann, 1994), sendo classificada como criticamente ameaçada, tanto na Lista das Espécies Ameaçadas de Extinção da Fauna Brasileira (Portaria MMA n° 003/2003), quanto na Lista Vermelha Mundial (IUCN, 2000). Não há estimativas razoáveis para o tamanho populacional, mas acredita-se que menos de 250 aves ainda existam em vida livre exclusivamente no território brasileiro (BirdLife International, 2000) e dois indivíduos encontram-se em cativeiro (www.terrabrasilis.org.br).

M. octosetaceus ocorria historicamente em baixas densidades, em várias áreas disjuntas dentro de sua área de distribuição. Há registros históricos confirmados para quatro bacias hidrográficas (rio São Francisco, rio Tocantins, rio Paraná e rio Doce) e três países (Paraguai, Argentina e Brasil). A maioria dos registros históricos é do centro-sul do Brasil e áreas circundantes da Argentina e Paraguai, mas nestes últimos dois países, não há registro de sua ocorrência desde o ano de 2002 (Hughes *et al.* 2006).

No Brasil a espécie foi previamente registrada em oito estados do centro-sul do país (Bahia, Goiás, Minas Gerais, Tocantins, São Paulo, Rio de Janeiro – ocorrência duvidosa, Paraná e Santa Catarina) (Collar *et al.*, 1992; BirdLife International, 2000). Hoje se acredita que tenha sido extinta em pelo menos três desses estados (São Paulo, Rio de Janeiro e Santa Catarina), persistindo em pequenos números em locais disjuntos em Goiás, Minas Gerais, Tocantins, Bahia e Paraná (Hughes *et al.* 2006).

Atualmente, indivíduos da espécie são monitorados em áreas de Goiás no Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros e em algumas áreas adjacentes como a Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Campo Alegre e o Parque Nacional das Emas (Yamashita & Valle, 1990; Bianchi *et al.*, 2005); em Minas Gerais no Parque Nacional da Serra da Canastra e áreas adjacentes (Bartmann, 1988; Silveira & Bartmann, 2001; Lamas, 2003; Bruno, 2004), Parque Estadual do Itacolomi, em Minas Gerais e na bacia do Rio Doce (Cerqueira Júnior *et al.*, 2005); no Paraná com pouquíssimos indivíduos nos Rios Tibagi e Congonhas (Anjos, 2003); em Tocantins, com uma população potencialmente numerosa no Parque Estadual do Jalapão (Pacheco & Silva e Silva, 2002).

Seis dessas áreas são protegidas: Parque Nacional da Serra da Canastra, Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, Parque Nacional das Emas, Parque Estadual do Jalapão, Parque Estadual do Itacolomi, Reserva Estadual do Itacolomi e Reserva Particular de Patrimônio Natural Campo Alegre, mas as populações no Paraná, Bahia (se ainda existentes) e imediações da RPPN Campo Alegre encontram-se atualmente em áreas desprotegidas.

O Pato-Mergulhão requer rios e córregos de água cristalina que atravessem florestas subtropicais e savanas (Partridge, 1956; Jhonson & Chebez, 1985; Bartmann, 1988). Aparentemente, a espécie prefere lugares próximos às nascentes, com profundidade de pelo menos 1 m, intercalados por corredeiras e cachoeiras, em altitude de até 1.300 m. Na Serra da Canastra, o território de um casal requer um trecho mínimo de 5 km de rio (amplitude de 5 a 12 km (Silveira & Bartmann, 2001). Pouco ainda se

conhece sobre a biologia da espécie, mas sabe-se que se alimentam mergulhando em busca de peixes (6-19 cm de comprimento) e macroinvertebrados aquáticos. O forrageamento pode ocorrer tanto em corredeiras, quanto em remansos (Partridge, 1956; Bartmann, 1988; Silveira & Bartmann, 2001). Os mergulhos duram aproximadamente 15-20 segundos, em profundidades de até 0,5 m.

É conhecido que as fêmeas nidificam em ocos de árvores e cavidades em rochas, principalmente de junho a outubro. Nos meses de junho e julho se dá a incubação dos ovos, com o nascimento e crescimento de filhotes entre julho e agosto (Partridge, 1956; Silveira & Bartmann, 2001; Bruno & Bartmann, 2003). Há poucas informações sobre o tamanho de ninhada, entretanto, a média de filhotes na Serra da Canastra entre 1996 e 2000 foi de 2,7 (variando de 2 a 4, n=10 ninhadas) (Silveira & Bartmann, 2001). Lamas (2004) observou entre 1 e 6 jovens com seus pais na Serra da Canastra, entre 2001 e 2002, enquanto Pacheco & Silva e Silva (2002) verificaram um casal de adultos com quatro jovens em Tocantins. Adultos foram observados com no máximo oito filhotes, muitos dos quais eram carregados nas costas dos pais (Bartmann, 1988; Bruno & Bartmann, 2003).

Um estudo recente (Ribeiro *et al.* 2011) na Serra da Canastra demonstrou a formação de um casal, uma fêmea adulta e um macho de apenas 12 meses, que difere do padrão apresentado pelas espécies da Tribo Mergini, como relatado por Livezey (1995), que afirma que a idade de maturação sexual é de dois ou mais anos para todas as espécies da Tribo. Assim, Ribeiro *et al.* (2011) afirmaram que formação de um casal com um macho de apenas 12 meses parece incomum e pode sugerir menor disponibilidade de machos adultos na região da Serra da Canastra. Reproduzir precocemente é um fenômeno comum em populações com baixo tamanho populacional ou em declínio (Ferrer *et al.* 2004, Cooper *et al.* 2009), o que poderia explicar a precoce maturidade sexual de *M. octosetaceus*.

Os jovens podem posteriormente residir nos mesmos rios que seus pais ou podem se dispersar à procura de um novo território. São aves altamente sedentárias e, apesar de disputas territoriais terem sido documentadas, supõe-se que brigas entre casais estabelecidos em territórios adjacentes sejam raras (Silveira & Bartmann, 2001). Em um trabalho pioneiro, Ribeiro *et al.* (2011) registraram o deslocamento de um macho do Rio São Francisco para o Rio Santo Antônio na Serra da Canastra. Embora a distância entre esses dois rios em linha reta seja de menos de 20 Km, a menor rota de deslocamento considerada foi a de 25,27 Km, por levar em consideração a altimetria, declividade do

terreno e hidrografia (Ribeiro *et al.*,2011). Apesar de frequentemente voar baixo ao longo dos cursos d'água, os indivíduos de *M. Octosetaceus* já foram por algumas vezes registrados voando alto o suficiente para atravessar montanhas, como o íngreme paredão da Serra da Canastra (Ribeiro *et al.* 2011).

Acredita-se que os casais de *Mergus octosetaceus* mantenham-se pareados por toda vida e permaneçam em um mesmo trecho do rio. Este comportamento torna a espécie extremamente sensível à perda e degradação de seu habitat. Desmatamentos para a expansão agrícola e pecuária, construção de represas e queimadas representam as ameaças mais críticas (Johnson & Chebez, 1985). Atualmente, o turismo ecológico, especialmente esportes aquáticos como *rafting*, o “boia-cross” e a canoagem podem também representar uma ameaça significativa nos trechos de corredeiras onde esta espécie ocorre.

Recentemente, Vilaça *et al.* (2012) publicaram o primeiro artigo com dados genéticos do Pato-Mergulhão. Nas análises filogenéticas foi demonstrada a relação evolutiva da espécie brasileira com outras espécies do gênero *Mergus* encontradas no hemisfério norte. Nesta análise preliminar com uma amostra significativa do estado de Minas Gerais, onde se localiza a maior população conhecida da espécie com uma estimativa de 80 indivíduos na Serra da Canastra, além de uma população de Goiás (Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros), foi feito um estudo com DNA mitocondrial que demonstrou uma pequena diversidade remanescente. Além disso, duas linhagens divergentes foram encontradas no Parque Nacional da Serra da Canastra, o que sugere que o parque esteja funcionando como um refúgio de patos que anteriormente se distribuíram por outras localidades, cujos habitats foram destruídos. No entanto, isto também pode indicar que havia populações muito diferenciadas no passado que agora se encontram em contato secundário.

Poucos estudos genéticos utilizando microssatélites foram desenvolvidos para o gênero *Mergus*. Gautschi & Koller (2005) isolaram nove locos microssatélites da espécie *Mergus merganser* na Europa e testaram para duas subespécies: *Mergus merganser merganser* e *Mergus merganser americanus*. O tamanho amostral de *Mergus merganser merganser* foi de 21 indivíduos e de *Mergus merganser americanus*, 25 indivíduos. Todos os marcadores foram polimórficos, com dois a quinze alelos por locos e uma média de 6,77 alelos por loco. A média de heterozigosidade observada e esperada foram de 0,422 e 0,624 respectivamente para o *Mergus merganser merganser* e 0,497 e 0,667 para o *Mergus merganser americanus*. Somente um marcador não

estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg nas duas espécies, que apesar de altamente variável, era “homozigoto” nas fêmeas, sugerindo herança ligada ao sexo.

Maak *et al.* (2003) isolaram dezoito *loci* de microssatélites para *Anas platyrhynchos* e os testaram para outras espécies da família Anatidae. Os locos foram testados para 40 indivíduos domésticos não relacionados de *Anas platyrhynchos*, 14 indivíduos não relacionados de *Cairina moschata* e 5 indivíduos selvagens não relacionados de *A. platyrhynchos*. Nos *Anas platyrhynchos* domésticos, dezessete de dezoito marcadores foram polimórficos com uma média de alelos de 3,5 por loco. Já em *Cairina moschata*, onze microssatélites apresentaram polimorfismo e uma média de 4,4 alelos por loco. Em *A. platyrhynchos* selvagem, apresentou um alto grau de polimorfismo, com uma média de 3,7 alelos por loco em apenas cinco indivíduos. A média de heterozigosidade observada em *Anas platyrhynchos* é menor que em *Cairina moschata*. A heterozigosidade esperada é significativamente maior que a observada em 13 locos de *Anas platyrhynchos*, mas somente em 2 locos em *Cairina*, o que pode ser devido à diferença amostral entre as espécies. Desvios significativos do equilíbrio de Hardy-Weinberg foram observados em 10 marcadores de *Anas platyrhynchos* e somente um marcador não estava em equilíbrio em *Cairina*. Sete *loci* aleatoriamente selecionados foram amplificados em indivíduos de seis diferentes tribos da família Anatinae, o que indica que o marcador pode ser aplicado para outras espécies desta subfamília.

Em um trabalho realizado por Buchholz *et al.* (1998) em *Branta canadensis* (ganso canadense) e *Histiocus histriocus* (pato arlequim), foram isolados 14 *loci* microssatélites. Dos 14 *loci* isolados, quatro foram monomórficos em *Branta canadensis* e sete para *Histiocus histriocus*. O número de alelos encontrado em cada loco polimórfico variou de 2 a 9 em *Branta canadensis*, e de 3 a 6 em *Histiocus histriocus*. A média de heterozigosidade observada para *Branta canadensis* foi de 0,65, com valor máximo de 0,9 e mínimo de 0,4. Em *Histiocus histriocus*, a média de heterozigosidade foi de 0,57, com valor máximo de 0,6 e mínimo de 0,5.

Assim, estudos usando microssatélites para espécies de pato de diversos gêneros vêm demonstrando êxito na descrição da diversidade genética destas espécies. Considerando que o Pato-Mergulhão (*Mergus octosetaceus*) é uma espécie atualmente restrita ao Cerrado Brasileiro, com população total estimada em torno de 250 indivíduos (IUCN), torna-se extremamente importante a aplicação de técnicas moleculares para estimar a diversidade genética remanescente dessa espécie, recuperando sua história

evolutiva e auxiliando no delineamento dos programas de manejo hoje desenvolvidos. Estudos genéticos também foram considerados prioritários pelo Plano de Ação para a Conservação do Pato-Mergulhão (Hughes *et al.* 2006).

