UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº17.228 de 25/11/2016
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS
SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2021

CONECTIVIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE SCARABAEINAE (COLEOPTERA, SCARABAEIDAE) DE INSELBERGS

Natanael B. R. Silva[1] & Priscila P. Lopes[2]
1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em bacharelado em ciências biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: natanuefs@gmail.com
2. Laboratório de Entomologia, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana.

PALAVRAS-CHAVE: Ecologia de Populações; caatinga; Ecologia de paisagem; fluxo gênico; metapopulação

INTRODUÇÃO

Os inselbergs são ambientes compostos por afloramentos rochosos graníticos, como relevos residuais do processo de aplainamento, ligado à erosão de rochas até a formação de superfícies planas ou quase planas, originados por ação climática ou estrutural (Santos; Salgado, 2010). Os inselbergs são isolados em uma paisagem aberta, semiárida, e nas suas bases são frequentemente circundados por vegetação de caatinga mais úmida que o entorno, em função de pontos de escoamento da água pela superfície da rocha. Essa estrutura diferenciada pode, em teoria, criar uma condição diferente da vegetação da matriz, concentrando elementos de flora e fauna distintos dessa matriz. Os inselbergs, portanto, se assemelham a uma estrutura insular, e as comunidades mantidas como previsto pela teoria de Biogeografia de Ilhas (Whittaker; Fernández-Palácios, 2007). As fisionomias distintas da vegetação também influenciam na ocupação pela fauna, pois a cobertura vegetal interfere em microclimas e recursos que podem permitir que espécies com tolerâncias distintas se instalem e mantenham suas populações, bem como se movimentem pela matriz. Os besouros rola-bosta (Scarabaeinae), alvo deste projeto, são detritívoros que dependem principalmente de recursos de origem animal (fezes e carcaças) para sua alimentação e reprodução (Phillips, 2011). Algumas espécies apresentam ampla capacidade de dispersão, suplantando distâncias em ambientes abertos, outras se mantem restritas às formações mais densas (da Silva; Hernández, 2015), o que pode estar relacionado também à especificidade de hábitat. O ambiente de vida e o tipo de matriz em que está inserido, interferem na estabilidade das populações. Como os inselbergs se assemelham a ambientes insulares, as suas populações de besouros podem ser separadas por ambientes distintos, mais secos e planos (caatingas mais abertas, pastagens, ambientes urbanos etc.). O objetivo principal deste projeto é a determinação da relevância do isolamento e da matriz da paisagem para a manutenção das populações de besouros da fauna dos inselbergs, e seu efeito para a diversidade genética das espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

A área a ser amostrada localiza-se no município de Itatim, BA (12°42'43"S 39°41'52"O), dentro da Depressão Sertaneja Meridional (Velloso et al., 2002), e foi subdividida em dois sítios separados pela BR116. No sítio A há inselbergs mais isolados, com pouca vegetação nativa no entorno dos inselbergs, e no sítio B há inselbergs maiores, mais conectados, com abundante vegetação no entorno (Figura 1).

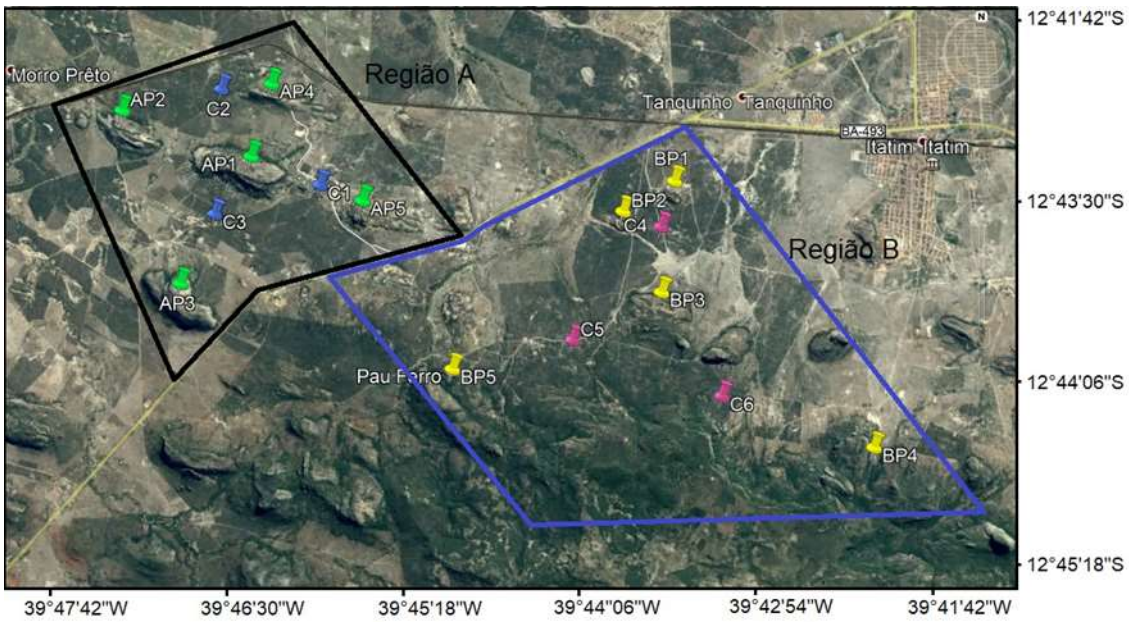

Figura 1. Mapa da área de coleta, com a delimitação das 2 regiões (A = linha preta; B = linha azul), com os pontos em inselbergs (AP# e BP#), e na matriz de caatinga (C#), em Itatim, Bahia.

A amostragem foi realizada em cinco inselbergs e em três pontos de caatinga na matriz em cada sítio. Os insetos foram coletados utilizando armadilhas do tipo pitfall iscado com carcaça e fezes. Os espécimes coletados foram conservados em álcool 80%, e posteriormente identificados a partir de uso de chaves de identificação e comparação com material depositado no MZFS. As espécies escolhidas foram as que apresentaram a maior frequência de ocorrência, em ambos os sítios, e tanto em inselbergs quanto em caatinga.

Extração de DNA:

As extrações de DNA genômico foram realizadas a partir da maceração de partes do corpo de um (1) indivíduo de cada espécie selecionada para o estudo, escolhido ao acaso, de todos os pontos em que a espécies foram registradas. Foram seguidos os protocolos de extração segundo Ivanova et al. (2006) com algumas modificações.

PCR:

O processo de PCR foi feito utilizando o TopTaq Master Mix kit (Qiagen) em eppendorf de 0,2 mL; foram colocados 10 µL do mix, 13 µL de Água milliQ, 1 µL de primer e 1 µL de DNA.

A amplificação do DNA foi feita usando um termociclador Biocycler MJ96C configurado da seguinte maneira: desnaturação inicial a 94 ºC por 4 minutos, seguida de 30 ciclos de

30 segundos a 94 ºC, 30 segundos a 56 ºC e 45 segundos a 64 ºC terminando com uma extensão final de 10 minutos a 72 ºC.

Corrida no gel de Poliacrilamida:
Após a PCR as amostras foram corridas em gel de poliacrilamida (8%) e posteriormente foi corado com nitrato de prata para visualização das bandas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletadas nas regiões amostrais besouros das famílias Scarabaeidae, Histeridae, Carabidae, Staphylinidae, Tenebrionidae e Geotrupidae, sendo que apenas três morfoespécies foram encontrados em frequência considerada aceitável para as análises pretendidas. As espécies *Xerosaprinus dyptichus* e *Euspilotus* sp1 (Histeridae) e *Ateuchus semicribratus* (Scarabaeidae) foram encontrados em 7 pontos, 6 pontos e 5 pontos respectivamente, de forma distribuídas entre as 2 regiões, e em inselbergs e caatingas, sendo escolhidas para o estudo.
A reduzida amplitude de distribuição das espécies pode ser indicativa de efetividade de isolamento entre os inselbergs pela matriz mais hostil da caatinga seca ou pastagem, precisando a análise genética esclarecer a questão.

ANÁLISE GENÉTICA

De cada espécie foi utilizado um exemplar proveniente do ponto em que alcançou a maior abundância, para quantificação de biomassa suficiente para a extração de DNA. Dessa forma, todos os pontos continuaram tendo espécimes suficientes para responder à pergunta central do trabalho.
Observamos que as quantidades de DNA extraída não eram significativamente diferentes para cada parte do corpo (Tabela 1), apesar das espécies de Histeridae serem pequenas (<5mm). A quantidade de DNA extraído de cada fração do corpo dos insetos analisada foi suficiente para a análise (Tabela 1).

Amostra	*Xerosaprinus dyptichus*	*Ateuchus semicribratus*	*Euspilotus* sp1
Cabeça	344,4	351,9	293,5
Corpo	364,4	429,4	412,8
Patas E	382,8	342,9	683
Patas D	322	353,8	273,7

Tabela 1. Quantificação do DNA obtido nas amostras por parte do corpo de cada espécie analisada (medida de concentração em µg/µL).

Apesar das dificuldades de retirada de partes específicas, inteiras e sem retirada de tecidos dos locais de inserção das partes no corpo do animal de espécies muito pequenas, a retirada adequada foi realizada, mas o resultado de quantidade de DNA indicou que a parte a ser utilizada poderia ser escolhida apenas tendo o parâmetro facilidade de manipulação como critério para extração. Como os Histeridae deste estudo são muito pequenos para adequada manipulação, foram utilizados os animais inteiros.

Dessa forma, determinamos que em casos de coleta de um único exemplar, ainda é possível realizar estudos genéticos, mesmo se tratando de espécies pequenas.

A análise genética das espécies foi repetido utilizando primers diferentes a cada vez, mas apesar de as quantidades de DNA extraído de cada exemplar das três espécies ter sido suficiente (Tabela 2), não foi possível determinar o efeito de isolamento dos inselbergs, pois não foram detectadas diferenças entre os organismos. Apenas o primer omar (sequência GAG GAG GAG GAG GC) gerou bandas visíveis no gel de poliacrilamida (Figura 2). Todos os primers utilizados já foram considerados efetivos para análises de variação gênica populacional em besouros, mas no presente trabalho não houve resposta. Isso pode indicar contaminação genética (manipulação ou flora intestinal) ou a necessidade de ampliar os primers a serem usados.

Espécie	Concentração ug/Ml	Ambiente	Área	Amostra	Local
Xd	57,9	I	A	17	AP3
Xd	61,9	I	A	11	AP5
Xd	30,4	C	A	6	AC1
Xd	34,5	C	A	12	AC2
Xd	28,5	C	A	15	AC3
Xd	32,1	I	B	9	BP2
Xd	103,3	I	B	10	BP4
Eu	19	I	A	16	AP3
Eu	35	I	A	3	AP5
Eu	91,2	C	A	13	AC2
Eu	15,9	C	A	18	AC3
Eu	48,5	I	B	5	BP2
Eu	40,9	I	B	4	BP4
As	60,3	I	A	19	AP5
As	80,9	C	A	7	AC2
As	96,8	C	A	14	AC3
As	36,2	I	B	8	BP2
As	64,1	I	B	2	BP3
As	21,8	I	B	1	BP4

Tabela 2. Concentração de DNA extraída de cada exemplar analisado, por espécie (Xd=*Xerosaprinus dyptichus*; Eu=*Euspilotus* sp; As=*Ateuchus semicribratus*) e por ponto de ocorrência em área de inselbergs da região de Itatim, BA.

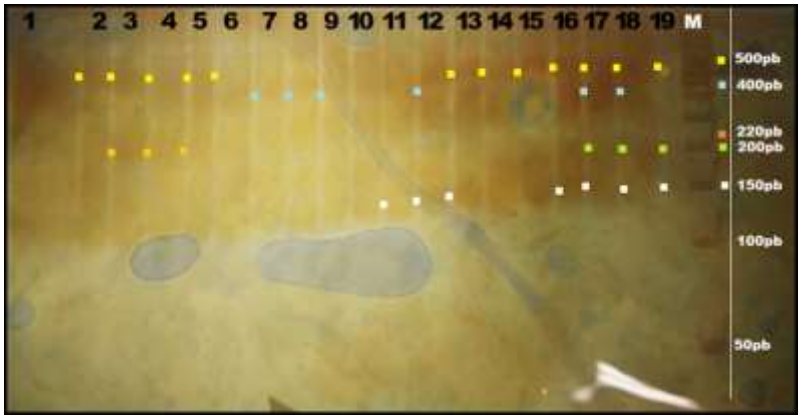

Figura 2. Gel de poliacrilamida, corrida feita com primer Omar. Código de identificação de origem das amostras na Tabela 2.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não conseguimos dados suficientes para analisar se há ou não fluxo gênico entre as populações de Coleoptera, mas conseguimos indicar que há DNA suficiente para as análises mesmo em situações de baixa abundância, requerendo apenas otimizar o exercício de remoção das partes do corpo de exemplares pequenos para reduzir potencial contaminação pela utilização do exemplar inteiro. Novos estudos deverão ser desenvolvidos, com ampliação das amostras, a fim de responder à pergunta central deste trabalho.

REFERÊNCIAS

Da Silva, P.G.; Hernández, M.I.M. 2015. Spatial Patterns of Movement of Dung Beetle Species in a Tropical Forest Suggest a New Trap Spacing for Dung Beetle Biodiversity Studies. PLoS ONE 10(5):e0126112. doi: 10.1371/journal.pone.0126112

Ivanova, N.V.; Dewaard, J.R.; Hebert, P.D.N. 2006. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. Molecular Ecology Notes (2006) 6: 998–1002.

Philips, T. K. 2011. The evolutionary history and diversification of dung beetles. Ecology and evolution of dung beetles, In: Simmons, L.W.; Ridsdill-Smith, T.J. (eds.) Ecology and Evolution of Dung Beetles. Blackwell Publishing Ltd, Chichester, UK., pp. 21-46.

Santos, J.M.; Salgado, A.A.R. 2010. Gênese da superfície erosiva em ambiente semiárido - Milagres/Ba: Considerações Preliminares. Revista de Geografia. Recife: UFPE – DCG/NAPA, v. especial VIII SINAGEO, (1): 236-247.

Velloso, A.L.; Sampaio, E.V.S.B.; Pareyn, F.G.C. 2002. Ecorregiões propostas para o bioma Caatinga. Recife, Associações Plantas do Nordeste, Instituto de Conservação Ambiental The Nature Conservancy do Brasil. 76 p.

Whittaker, R.J.; Fernández-Palácios, J.M. 2007. Island Biogeography; ecology, evolution, and conservation. Oxford University Press, 416 p.