

DIVERSIDADE HAPLOTÍPICA DE *Tadarida brasiliensis* (CHIROPTERA: MOLOSSIDAE) POR MEIO DE SEQUÊNCIAS DO GENE RAG2 DO nDNA IN SILICO

Kelly Brondani¹; Angel Larroza de Souza²; Ana Maria Rui³; Fábio Ricardo Pablos de Souza⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – kellybrondani@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – angellarroza@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – ana.rui@ufpel.edu.br

⁴Universidade Federal de Pelotas – fabiopablos@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A genética de populações é uma área responsável por analisar a quantidade e a distribuição da variação genética dentro das diferentes populações e as forças que controlam essa variação (HARTL; CLARK, 2010). Os fatores que alteram a diversidade genética dentro de um conjunto de genes são a seleção natural, a deriva genética e fluxo gênico, os quais influenciam na diferenciação de populações em ambientes diversificados, relacionando-os com a distribuição dos indivíduos no tempo e espaço (HARTL; CLARK, 2010).

Em estudos de genética de populações são utilizados marcadores moleculares nucleares entre eles, o gene RAG2 (*recombination activating gene 2*) tem sido utilizado por ser conservado e tem fornecido evidências complementares aos dados moleculares escassos adquiridos em estudos evolutivos de táxons superiores (BAKER et al., 2000; LEWIS-ORITT et al., 2001). O gene RAG2 é usado para resolver relações de alto nível e padrões de diversificação de quirópteros (BAKER et al., 2000; VAN DEN BUSSCHE et al., 2002; HOOFFER et al., 2003; JONES, et al., 2005).

Tadarida brasiliensis (L. Geoffroy, 1824) é uma espécie de morcego insetívoro da família Molossidae (WILKINS, 1989), com ampla distribuição em regiões subtropicais e temperadas (KOOPMAN, 1984; FREEMAN, 1981; NOWAK, 1999). Na América do Sul é encontrada na região noroeste da Venezuela estendendo-se para o sul ao longo das encostas dos Andes na Colômbia, Peru, Equador, Bolívia, oeste do Paraguai, Uruguai, Argentina, Chile e Brasil (WILKINS, 1989). No Brasil, a espécie é mais abundante na região sul e sudeste (WILKINS, 1989). Ocorre também em toda a América Central (HALL, 1981). Já na América do Norte, é distribuída principalmente no sudeste, sudoeste e oeste dos Estados Unidos e México (RUSSELL; MCCracken, 2006). Recentemente houve um relato de expansão da espécie para o norte dos Estados Unidos (MCCracken et al, 2018).

No presente estudo, foi testado a viabilidade de uso do gene RAG2 para avaliação de estruturação de populações de morcegos usando como modelo *T. brasiliensis*. O objetivo é analisar a diversidade genética de *Tadarida brasiliensis* baseado em sequências do gene RAG2 e analisar como as populações da América do Norte estão estruturadas por meio de dados *in silico*.

2. METODOLOGIA

As sequências de *Tadarida brasiliensis* do gene nuclear RAG2 foram obtidas por meio de buscas *in silico* no banco de dados do GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). As sequências foram alinhadas no programa MEGA6 (TAMURA et al. 2013). A rede de haplótipos foi construída no programa Network (BANDELT; FORSTER, 1997). As análises de diversidade genética e o teste de neutralidade Tajima's D Test foram realizadas no programa DNAsp (ROZAS, et al, 2003).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos num total 149 sequências com 686 nucleotídeos, distribuídas em 10 populações localizadas em diferentes estados dos EUA e México na América do Norte. A tabela 1 representa os dados de diversidade genética para as diferentes populações de *Tadarida brasiliensis*. Foi observada alta diversidade haplotípica ($H_d > 0,90$). A diversidade nucleotídica (P_i) e o número de sítios polimórficos (S) são baixos, considerado que a matriz de dados é de 686 nucleotídeos.

Tabela 1: Dados de diversidade genética de sequências do gene RAG2 obtidos *in silico* de populações de *Tadarida brasiliensis* da América do Norte

População	N	H	Hd	Pi	S	Tajima's D teste
Arizona/EUA	12	11	0,9848	0,00506	9	0,56343
C. California/ EUA	16	10	0,9333	0,0046	9	0,50243
C. Texas/ EUA	21	13	0,9221	0,00492	12	0,01189
Colorado/EUA	8	7	0,9643	0,00416	10	-1,28306
Hidalgo/MEX	10	10	1	0,00545	10	0,22101
Michoacan/ MEX	18	11	0,9346	0,00457	10	0,19571
N. California/ EUA	6	6	1	0,00486	8	-0,28658
New Mexico/ EUA	20	14	0,9526	0,00517	15	-0,5941
Nuevo Leon/ MEX	18	13	0,9608	0,00476	25	-0,84443
Sinaloa/ MEX	20	13	0,9421	0,0048	13	-0,3919
Total	149	108	0,953	0,00476	25	-0,8171

N: número de sequências da população; H: número de haplótipos; Hd: diversidade haplotípica; Pi: diversidade nucleotídica; S: número de sítios variáveis; MEX: México; EUA: Estados Unidos

O teste de neutralidade D de Tajima foi considerado não significativo, demonstrando que a pouca diversidade observada ocorre por acaso.

Na análise de rede da haplótipos do gene RAG2 (Figura 1), nas populações na América do Norte não foi obtida estruturação populacional. Outros estudos de genética relacionados com a região controladora do DNA mitocondrial (d-loop) que é uma região que sofre altas taxas de mutações, também corroboram com os resultados desses estudos, pois se observou uma baixa estruturação genética das populações de *T. brasiliensis* na América do Norte (RUSSEL et al, 2005).

Os valores do índice de fixação de haplótipos (F_{ST}) são inferiores a 0,5 nas comparações entre as populações da América do Norte. O valor de F_{ST} varia de 0 a 1, sendo que valores próximos a zero indicam baixa estruturação populacional. Esses dados, analisados em conjunto, indicam que as populações da América do Norte estão pouco estruturadas.

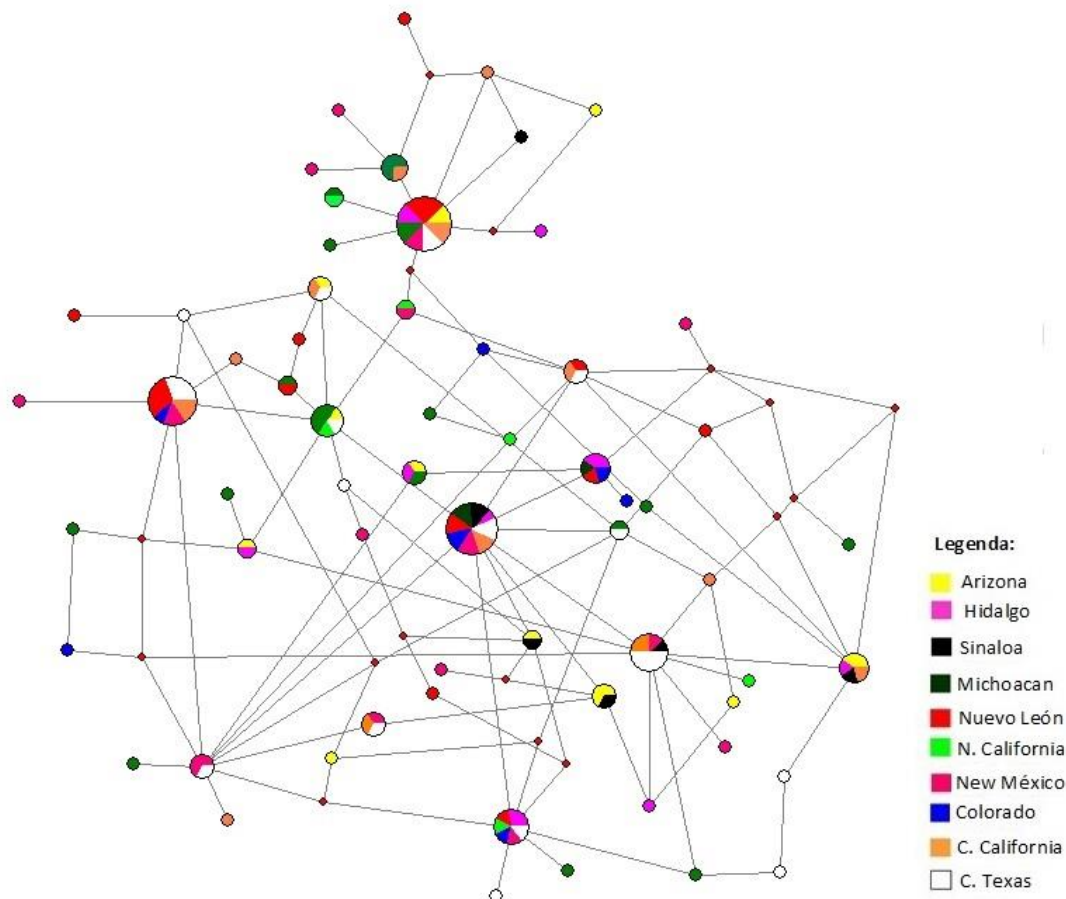


Figura 1: Rede de haplótipos das sequências do gene RAG2 de *Tadarida brasiliensis*. Cada círculo representa um haplótipo (ou sequência nucleotídica) diferente. Círculos com diâmetros maiores representam mais de um indivíduo compartilhando o mesmo haplótipo. Cores diferentes representam diferentes populações.

4. CONCLUSÕES

Através da utilização do gene RAG2 foi possível perceber que não há estrutura populacional de *Tadarida brasiliensis* na América do Norte o que é esperado para esse gene, pois possui taxa de mutação baixa.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKER, R. J.; PORTER, C. A.; PATTON, J. C.; VAN DEN BUSSCHE, R. A. Systematics of bats of the family Phyllostomidae based on RAG2 DNA sequences. Occas. Pap. Mus. Tex. Tech Univ., v. 202, p. 1-16, 2000

BAKER, Robert J. **Systematics of bats of the family Phyllostomidae based on RAG2 DNA sequences**. Museum of Texas Tech University, 2000.

FREEMAN, Patricia W. A multivariate study of the family Molossidae (Mammalia, Chiroptera): morphology, ecology, evolution. **Mammalogy papers: University of Nebraska State Museum**, p. 26, 1981.

HALL, E.R. The Mammals of North America, 2nd edn. John Wiley & Sons, New York, 1981.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de Genética de Populações-4**. São Paulo: Artmed, 2010.

HOOFER, Steven R. et al. Molecular phylogenetics and taxonomic review of noctilionoid and vespertilionoid bats (Chiroptera: Yangochiroptera). **Journal of Mammalogy**, v. 84, n. 3, p. 809-821, 2003.

JONES, Kate E.; BININDA-EMONDS, Olaf RP; GITTLEMAN, John L. Bats, clocks, and rocks: diversification patterns in Chiroptera. **Evolution**, v. 59, n. 10, p. 2243-2255, 2005.

KOOPMAN, Karl F. A synopsis of the families of bats, part VII. **Bat Research News**, v. 25, p. 25-27, 1984.

MCCRACKEN, Gary F. et al. Rapid range expansion of the Brazilian free-tailed bat in the southeastern United States, 2008–2016. **Journal of Mammalogy**, v. 99, n. 2, p. 312-320, 2018.

NOWAK, Ronald M. **Walker's Mammals of the World**: III. Johns Hopkins Press, 1991.

ROZAS, Julio et al. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, v. 19, n. 18, p. 2496-2497, 2003.

RUSSELL, Amy L.; MCCRACKEN, Gary F. Population genetic structuring of very large populations: The Brazilian free-tailed bat *Tadarida brasiliensis*. **Functional and evolutionary ecology of bats**, p. 227-247, 2006.

RUSSELL, Amy L.; MEDELLÍN, Rodrigo 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.

VAN DEN BUSSCHE, Ronald A.; HOOFER, Steven R.; SIMMONS, Nancy B. Phylogenetic relationships of mormoopid bats using mitochondrial gene sequences and morphology. **Journal of Mammalogy**, v. 83, n. 1, p. 40-48, 2002.

WILKINS, Kenneth T. *Tadarida brasiliensis*. **Mammalian species**, n. 331, p. 1-10, 1989.