**ARÉA TEMÁTICA: GENÉTICA/EVOLUÇÃO**

**SUBÁREA TEMÁTICA: BIOGEOGRAFIA**

**ANÁLISE PRELIMINAR DA ESTRUTURA POPULACIONAL DE *Philodryas olfersii* (SERPENTE: DIPSADIDAE) EM PERNAMBUCO, BRASIL**

Osmar dos Reis Filho¹, Sofia de Oliveira Cabral², Sarah Vieira de Melo Lima¹, Rikelme Carmo da Cruz¹, Evelyn de Andrade Peixoto¹, Edgard Santos Powell¹, Caio Gabriel Tavares Ferreira¹, Cecilia Irene Perez Calabuig², Marco Jacinto Katzenberger Baptista Novo³

¹ Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Campus Recife. E-mail: osmar.reis@ufpe.br

² Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). E-mail: cecicalabuig@ufersa.edu.br

³ E-mail: marco.katzenberger@ufpe.br

**INTRODUÇÃO**

Os estudos filogeográficos evidenciam a diversidade genética atual entre e dentro de regiões geográficas, e distinguem a filogenia de populações, explicitando como os organismos daquela área foram moldados pelas alterações históricas da paisagem local (Rodríguez et al., 2015).

Dentre as Florestas Tropicais Úmidas que ocorrem no Brasil, a Mata Atlântica cobre grande parte da costa Leste, Sudeste e Sul brasileira, e devido a sua grande extensão ela apresenta uma variação de características, como alta umidade e uma grande quantidade de espécies endêmicas (Branco et al., 2022). Os ciclos glaciais-interglaciais a partir do Plioceno, que influenciaram na expansão de áreas de savanas abertas e secas, formando a diagonal seca, constituída pela Caatinga, Cerrado e Chaco, fez a Mata Atlântica evoluir isoladamente das outras Florestas Tropicais Úmidas (DaSilva et al., 2011; Alencar et al., 2022). Além disso, uma modelagem paleoclimática da estabilidade prevista do habitat na Mata Atlântica corrobora com a hipótese de que as glaciações do Pleistoceno Superior influenciaram a distribuição espaço-temporal das populações (Fitzpatrick, 2009).

A estrutura genética exibida por populações atuais, em diferentes escalas espaciais, pode diferir significativamente entre as espécies devido as pressões distintas que sofreram pelos eventos macroecológicos passados, e ainda sofrem, com a fragmentação dos seus habitats (Rodríguez et al., 2015). *Philodryas olfersii* (Lichtenstein, 1823), popularmente conhecida como cobra-verde, é uma serpente abundante na América do Sul ocorrendo em diversos países, sendo amplamente distribuída no Brasil (Nogueira et al., 2019). Por ser uma espécie com hábito semi-arborícola, que vive em florestas e áreas próximas, *P. olfersii* acaba sofrendo com a extensa fragmentação que ocorrem em seus habitats (Nogueira et al., 2019), se tornando um excelente modelo para estudos de genética de população. Atualmente existem poucos estudos com abordagem filogeográfica para essa espécie, sendo assim, o principal objetivo deste estudo foi avaliar a estruturação populacional existente em *P. olfersii*, determinando quais potenciais fatores estão influenciando sua distribuição genética.

**MATERIAL E MÉTODOS**

A área de estudo englobou o estado de Pernambuco, Brasil, abrangendo o domínio da Mata Atlântica. Também foram adicionadas duas amostras do estado do Rio Grande do Norte, como representantes de uma população geograficamente mais distante. As amostras biológicas de *Philodryas olfersii* foram obtidas por meio de repositórios científicos ou através do monitoramento de estradas, via amostragem oportunista.

O material genético (DNA) foi extraído utilizando Chelex 100 10%. As amostras foram submetidas ao processo de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) para o marcador mitocondrial ribossomal 16S (Palumbi et al., 1991). Cada produto de PCR teve sua integridade verificada a partir da técnica de Eletroforese em Gel. As amostras tiveram suas sequências nucleotídicas determinadas através da plataforma de sequenciamento ABI 3500.

# As sequências nucleotídicas foram alinhadas no MegaX. Para a análise descritiva dos dados, foram mensurados o tamanho total do fragmento de DNA em pares de base, os sítios conservados, sítios variados, sítios parcimoniosos informativos e sítios *singletons.*

Para inferir a estrutura das populações foi utilizado o método bayesiano Monte Carlo Markov Chains (MCMC) implementado no pacote Geneland versão 4.0.6 no software R. Como parâmetros iniciais da análise, foi determinado um número máximo de agrupamentos genéticos (K) de 4, utilizando 1.000.000 de interações MCMC. Para cada execução, a probabilidade posterior de um indivíduo pertencer à uma subpopulação foi calculada para cada pixel num domínio espacial de 100 x 100 pixels (Pech-May et al., 2018).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Ao todo foram sequenciadas 10 amostras de *Philodryas olfersii* em um total de oito localidades diferentes. O fragmento final do marcador 16S foi de 530 pb, o número de sítios conservados foi de 524 e cinco sítios variados, sendo dois sítios parcimônio-informativos e três *singletons.*

Os resultados encontrados na análise do Geneland mostraram que os indivíduos de *P. olfersii* se diferenciam em três clusters distintos, embora se possa argumentar também a formação de apenas dois clusters genéticos (Fig. 1). Considerando a classificação em três clusters, um deles é representado pelas amostras do Rio Grande do Norte (Fig. 2A), e os outros situam-se em Pernambuco, sendo um próximo da região metropolitana de Recife (Fig. 2B) e outro na região mais ao sul de Pernambuco (Fig. 2C). Ao juntar os três mapas de probabilidade, podemos obter estimativas dos limites de cada população genética (Fig. 2D).



Figura 1: Número de clusters genéticos de *Philodryas olfersii* inferidos pelo Geneland.



D)

Figura 2: Distribuição espacial dos clusters genéticos de *Philodryas olfersii* inferidos pelo Geneland. Cores mais quentes representam os clusters. A) Cluster do Rio Grande do Norte; B) Cluster da região metropolitana de Recife; C) Cluster do sul de Pernambuco. D) Agrupamento dos três clusters genéticos.

Era esperado encontrar diferenciação genética entre as populações *Philodryas olfersii* da Mata Atlântica, sobretudo considerando que esse domínio fitogeográfico é muito afetado pela fragmentação (Branco et al., 2022). Os dois clusters de Pernambuco estão associados a duas regiões próximas: um na região mais metropolitana de Recife e outro mais no Sul do estado. Além do ambiente fragmentado e urbanizado, uma das barreiras geográficas que separa os dois clusters de Pernambuco é a presença do Rio Pirapama, que possui cerca de 72 km de extensão. Os rios podem atuar como um dos diversos fatores espaciais que afetam a conectividade e fluxo gênico entre populações (Grazziotin et al., 2006). Além disso, com a extensa urbanização e perda de habitat natural, muitas espécies de Squamata têm expandido sua área de vida para regiões mais urbanas, o que pode também estar influenciando nessa separação encontrada até o momento (França e França, 2019, Dubeux et al., 2022). Quando se realiza a análise com a formação de apenas dois clusters, a população do RN se une à população do Sul de PE, com cerca de 400 km de distância entre as Açu e Recife, indicando uma maior semelhança genética entre ambas. Por outro lado, a população da região metropolitana de Recife se mantém separada das demais, indicando que existem fatores potenciais que estejam causando a diferenciação genética desta população.

**CONCLUSÕES**

Até o presente momento é possível constatar que fatores geográficos (como barreiras físicas) e a fragmentação podem estar afetando a distribuição genética nas populações analisadas de *Philodryas olfersii*. É necessário expandir a amostragem dentro do estado de Pernambuco, além de também incluir outros marcadores moleculares para refletir melhor a diferenciação e/ou conectividade entre as populações de *P. olfersii*. Entretanto, por ser um dos primeiros estudos locais para a espécie, os resultados encontrados aqui se mostraram bastante promissores para compreender a diversidade genética da espécie.

**REFERÊNCIAS**

Alencar, C. E. R. D. et al. 2022. New records, extended and updated geographic distribution of the South American native antlion Dimares elegans (Perty, 1833) (Neuroptera, Myrmeleontidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 66.

Branco, A. F. V. C. et al. 2022. Assessment of biodiversity loss in the Atlantic Forest. *Ciência Floresta*l, *31*, 1885-1909.

DaSilva, M. B; Pinto-Da-Rocha, R.; Desouza, A. M. 2011. História biogeográfica da Mata Atlântica: opiliões (Arachnida) como modelo para sua inferência. **Biogeografia da América do Sul-Padrões e Processos (CJB Carvalho, EAB Almeida, org.). Roca, São Paulo**, p. 221-238.

Dubeux, M.J.M.; Gonçalves, U.; Torquato, S.; Mott, T. 2023. A refuge between houses and buildings: reptiles in a peri-urban Atlantic Forest fragment in northeastern Brazil. **Caldasia**, 45(1), p. 21–35.

Fitzpatrick, S. W. et al. 2009. Geographical variation in genetic structure of an Atlantic Coastal Forest frog reveals regional differences in habitat stability. **Molecular Ecology**, v. 18, n. 13, p. 2877–2896.

França, R. C.; França, F. G. R. 2019. Spatial patterns of snake diversity in an urban area of north-east Brazil. **Herpetological Journal**, v. 29, n. 4.

Grazziotin, F. G. et al. 2012. Molecular phylogeny of the New World Dipsadidae (Serpentes: Colubroidea): a reappraisal. **Cladistics**, v. 28, n. 5, p. 437–459.

Nogueira, C. C. et al. 2019. Atlas of Brazilian Snakes: Verified Point-Locality Maps to Mitigate the Wallacean Shortfall in a Megadiverse Snake Fauna. **South American Journal of Herpetology**, v. 14, n. sp1, p. 1.

Rodríguez, A. et al. 2015. Genetic divergence in tropical anurans: deeper phylogeographic structure in forest specialists and in topographically complex regions. **Evolutionary Ecology**, v. 29, n. 5, p. 765–785.

Palumbi, S.R., Martin A.P., Romano S.L., McMillan W.O., Stice L, Grabowski G. 1991. The Simple Fool's Guide to PCR. Dept. of Zoology, **University of Hawaii,** Honolulu, v. 45, p. 25-28.