



Universidade Federal do Rio Grande  
Instituto de Ciências Biológicas  
Pós-graduação em Biologia de  
Ambientes Aquáticos Continentais



**Diversidade genética, estrutura populacional e  
conservação de *Cavia magna* (Ximenez, 1980) no  
extremo sul do Brasil**

**Caroline de Azevedo Gibbon**

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Gava

Rio Grande  
2016



Universidade Federal do Rio Grande  
Instituto de Ciências Biológicas  
Pós-graduação em Biologia de Ambientes  
Aquáticos Continentais



**Diversidade genética, estrutura populacional e conservação de  
*Cavia magna* (Ximenez, 1980) no extremo sul do Brasil**

**Aluno:** Caroline de Azevedo Gibbon

**Orientador:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Gava

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

Rio Grande  
2016

Dedico à minha família.

“Por vocês eu faria mil vezes!”  
Khaled Hosseini

## AGRADECIMENTOS

- A Deus por me dar força e estar presente em todos os momentos.
- Aos meus queridos pais Reginaldo e Meri pelo amor incondicional e toda dedicação a mim concedidos, por sempre acreditarem no meu potencial, além da indispensável ajuda nas capturas dos preás. Muito obrigada por tudo. Amo vocês!
- Ao meu esposo Júnior pelo amor, carinho, compreensão, incentivo e pela ajuda com os programas computacionais. Te amo muito!
- À minha irmã Camila pelo carinho e pelas risadas, além da ajuda nas saídas de campo e nos últimos dias com o empréstimo do computador. Te amo!
- À minha orientadora Adriana Gava pelos ensinamentos teóricos e práticos sobre genética, pelo auxílio no campo, no laboratório, nas análises e na escrita. Muito obrigada!
- À FURG e ao PPG BAAC por tornar possível a realização desse trabalho.
- Aos professores do PPG BAAC pelos aprendizados.
- A todas as pessoas/famílias que me permitiram entrar em suas propriedades para coletar as amostras de tecido dos preás.
- À Daiana e à Thaísa companheiras de laboratório. Obrigada pela ajuda, pelos ensinamentos, pelas risadas e por me ouvir lamentar constantemente pelas intermináveis PCRs.
- Aos técnicos Bruna e Diego pelo auxílio no campo e com os procedimentos do laboratório.
- A todo pessoal do Lab. de Genética pelo auxílio nas extrações, no preparo de soluções, na checagem dos géis, na execução das PCRs, no manuseio dos equipamentos e etc. Foi um grande aprendizado!
- À banca examinadora pelas críticas construtivas.
- A todas as pessoas que de maneira direta ou indireta contribuíram para elaboração desse trabalho.

## RESUMO

A diversidade genética das populações é o resultado de processos que envolvem mutação, migração, deriva genética e seleção. Reduções na densidade populacional e ausência de migração, podem reduzir a diversidade genética e prejudicar a capacidade das populações suportar mudanças ambientais. *Cavia magna* possui características intrínsecas que a tornam vulneráveis ao declínio de suas populações. Desta forma, temos como estimar, em uma escala espacial regional, a diversidade genética, a estrutura populacional e a intensidade do fluxo gênico em populações de *C. magna*; iremos investigar sinais de gargalos populacionais e endocruzamentos nas populações; testaremos o efeito do sexo sobre a dispersão; e discutiremos a implicação que as barreiras geográficas existentes na paisagem têm sobre estas populações. A amostragem foi realizada no sul da planície costeira do Rio Grande do sul, em seis sítios amostrais, foram utilizadas armadilhas de arame tipo Tomahawk para capturar os indivíduos e coletar amostras de tecido. Foram amplificados por meio de PCR nove *loci* microssatélites, utilizando-se primers desenvolvidos para a espécie *C. magna* e *C. aperea*. Os resultados indicam que as populações analisadas exibem valores elevados de diversidade genética. Contudo, existe uma tendência geral para ocorrência de endocruzamentos; gargalo populacional recente foi detectado para uma população; análise Bayesiana e AMOVA revelaram presença de estruturação populacional; valores reduzidos à elevados de diferenciação foram exibidos nas comparações pareadas entre as localidades; não houve evidência significativa da dispersão ser desigual entre os sexos; o fluxo gênico entre as populações locais foi moderado. Esses últimos padrões somados as características peculiares da espécie, a eventos de destruição, fragmentação e alteração dos habitats e à caça intensiva podem ocasionar reduções drásticas ou isolamento das populações em pequenas manchas de habitats propícios e com isso, tornar a espécie susceptível à extinção.

**Palavras-chave:** preá; pequenos mamíferos; microssatélites; dispersão; barreiras geográficas.

## **ABSTRACT**

The genetic diversity of populations is the result of processes that involve mutation, migration, genetic drift and selection. Reductions in population density and the absence of migration, can reduce the genetic diversity and damage the ability of populations to support environmental changes. *Cavia magna* has intrinsic characteristics that make it vulnerable to the decline of their populations. Thus, we have to estimate, in a regional spatial scale, genetic diversity, population structure and the intensity of gene flow in *C. magna* populations; we will investigate signs of population bottlenecks and inbreeding in populations; we will test the occurrence of dispersal sex-biased; and discuss the implication that existing geographical barriers in the landscape have on these populations. Sampling was conducted in southern coastal plain in the state of Rio Grande do Sul, Brazil, at six sites, Tomahawk traps were used to capture individuals and collect tissue samples. They were amplified by PCR nine microsatellite *loci*, using primers designed for the species *C. magna* and *C. aperea*. The results indicate that the analyzed populations exhibit high levels of genetic diversity. However, there is a general tendency for the occurrence of inbreeding; recent population bottleneck has been detected in a population; Bayesian analysis and AMOVA revealed the presence of population structure; values reduced to high differentiation were shown in the paired comparisons between locations; there was no significant evidence of the dispersion sex-biased; gene flow among local populations was moderate. These latest standards added the peculiar characteristics of the species, the events of destruction, fragmentation and alteration of habitats and intensive hunting can cause drastic reductions or isolation of populations in small patches of favorable habitat and thus, make the species susceptible to extinction.

**Key-words:** cavy; small mammals; microsatellites; dispersal; geographical barriers.

## SUMÁRIO

1. Introdução geral.....	10
Diversidade genética e processos que moldam a estruturação das populações.....	10
Os microssatélites.....	12
Contexto geológico: a Planície Costeira.....	13
<i>Cavia magna</i> : origens e características.....	15
Referências bibliográficas.....	18
2. Artigo.....	24
Título e autores.....	25
Abstract.....	26
Introdução.....	27
Materiais e métodos.....	29
Resultados.....	35
Discussão.....	41
Referencias bibliográficas.....	47

## LISTA DE FIGURAS

### Introdução geral

Fig. 01. Distribuição geográfica do roedor *Cavia magna*, encontrado no Brasil e Uruguai.....16

### Artigo

Fig. 01. Mapa indicando a localização dos sítios de amostragem de *Cavia magna* na planície costeira no extremo sul do RS, Brasil. Sítios de amostragem indicados por números: Marinheiros (1), Leonídio (2), Torotama (3), Quitéria (4), Barra (5) e Parobé (6).....30

Fig. 02. Estrutura populacional de *Cavia magna* em seis localidades na planície costeira do RS.....38

## LISTA DE TABELAS

### Artigo

Tab. 01. Descrição dos nove <i>loci</i> microssatélites desenvolvidos para <i>Cavia magna</i> e <i>Cavia aperea</i> utilizados durante o estudo (Adaptado de Kanitz <i>et al.</i> , 2009).....	32
Tab. 02. Diversidade genética de nove <i>loci</i> microssatélites em <i>Cavia magna</i> nas seis localidades amostradas.....	36
Tab. 03. Heterozigosidade observada ( $H_O$ ) e heterozigosidade esperada ( $H_E$ ) de nove <i>loci</i> de microssatélites em <i>Cavia magna</i> nas seis localidades analisadas no estudo.....	37
Tab. 04. Coeficiente de endocruzamento ( $F_{IS}$ ) e teste para ocorrência de gargalos populacionais em <i>Cavia magna</i> nas seis localidades estudadas.....	37
Tab. 05. Comparações pareadas dos índices de fixação $F_{ST}$ (acima da diagonal) e $R_{ST}$ (abaixo da diagonal) entre as populações de <i>Cavia magna</i> amostradas.....	39
Tab. 06. Análise da variância molecular de nove <i>loci</i> microssatélites em <i>Cavia magna</i> para dois cenários distintos. Cenário 1 = todas as populações em um único grupo; e Cenário 2 = Grupo 1 – Leonídio, Torotama e Quitéria. Grupo 2 – Marinheiros, Barra e Parobé.....	39
Tab. 07. Teste para dispersão desviada pelo sexo em <i>Cavia magna</i> .....	40
Tab. 08. Estimativas pareadas de fluxo gênico de <i>Cavia magna</i> entre as seis localidades estudadas, com base nos valores de $F_{ST}$ .....	40

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

### **Diversidade genética e os processos que moldam a estruturação das populações**

A variação genética é representada por todos os genes e todos os indivíduos de uma população e compõe o patrimônio genético dessa (Ricklefs, 2003). A diversidade genética dentro e entre as populações é o resultado de processos complexos que envolvem mutação, migração, deriva genética e seleção; essa diversidade é essencial para garantir a viabilidade e a contínua evolução das populações (Berthier *et al.*, 2005). Dessa forma, eventos que reduzem a variabilidade genética podem comprometer a aptidão e a capacidade das populações de se adaptarem a um ambiente em mudança, aumentando assim o risco de extinção (Frankham, 2005).

Frequentemente as populações estão divididas em subpopulações que ocupam áreas de habitat propício à colonização e estabelecimento, separadas de outras subpopulações por áreas de habitat desfavoráveis, constituindo uma metapopulação (Ricklefs, 2003). Conforme Levins (1969), a metapopulação é descrita como uma população de subpopulações, sendo que estas últimas exibem um equilíbrio entre a extinção e a recolonização e estão interconectadas pela dispersão e o fluxo gênico. Na presença dessa subdivisão populacional é quase inevitável que as frequências alélicas entre as subpopulações se tornem diferentes. Essa diferenciação genética pode resultar de seleção natural em favor de diferentes genótipos em subpopulações dissimilares, mas também pode resultar de processos aleatórios na transmissão dos alelos de uma geração para a próxima ou de diferenças casuais na frequência alélica entre os fundadores iniciais das subpopulações (Hartl & Clark, 2010).

Variações temporais e espaciais de parâmetros demográficos, como o tamanho da população e a taxa de migração, podem afetar a estrutura genética das populações (Berthier *et al.*, 2005; Slatkin, 1993). Reduções na densidade populacional que acontecem quando as populações passam por repetidos gargalos populacionais e seu tamanho efetivo é diminuído podem levar à perda da variabilidade genética (Wright, 1978). Nas populações pequenas, a redução da diversidade genética é causada pelos efeitos combinados da deriva genética e endocruzamentos (Zschokke *et al.*, 2011). Por sua vez, a ausência de migrações entre as populações, seja pela existência de barreiras ou pela limitação da capacidade de dispersão dos indivíduos, irá limitar a taxa de fluxo gênico e a frequência de alelos em cada população estará sujeita a

mudanças aleatórias independentes (Hartl & Jones, 1998). Sem o efeito de homogeneização do fluxo gênico, tanto o tamanho efetivo quanto a diversidade genética de cada subpopulação se tornarão menores ao longo do tempo, prejudicando a capacidade das populações de suportar condições ambientais novas (Spielman *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2013).

A migração, portanto, é um processo central que afeta a dinâmica e a evolução das populações, tendo um papel significativo na formação da estrutura genética e demográfica dessas (Hanski, 1998). Uma consequência importante do movimento de animais entre as populações é o fluxo gênico resultante do acasalamento (Moussy *et al.*, 2013). Altos níveis de dispersão, com consequente fluxo gênico entre populações geograficamente distantes, resultarão em alelos compartilhados, reduzindo a diferenciação genética, de forma que elas funcionem demograficamente e geneticamente como uma única população. Em contraste, níveis baixos de dispersão entre populações resultarão em diferenciação genética e as populações se tornarão geneticamente distintas ao longo do tempo, o que pode levar ao isolamento reprodutivo e especiação (Bilton *et al.*, 2001; Young *et al.*, 2013).

Muitas espécies de vertebrados exibem diferenças nas taxas de dispersão entre machos e fêmeas (Prugnolle & de Meeus, 2002). Em aves, por exemplo, as fêmeas geralmente são o sexo que mais dispersa e os machos são filopátricos (*female-biased dispersal*). Em mamíferos, todavia, o padrão é invertido (*male-biased dispersal*). Essa dispersão sexo assimétrica pode resultar da aptidão diferenciada entre os sexos associada à competição local por recursos (incluindo parceiros para reprodução), evitação de endocruzamento e investimento parental. Existe também uma forte correlação com o sistema de acasalamento da espécie (Greenwood, 1980; Dobson, 1982; Clarke *et al.*, 1997; Perrin & Mazalov, 2000).

Contudo, o fluxo gênico e a resultante estrutura genética das populações geralmente são moldados pela heterogeneidade ambiental. A genética de paisagem investiga a interação entre as características da paisagem e os processos microevolutivos (fluxo gênico, deriva genética e seleção). Essa disciplina visa detectar discontinuidades genéticas e correlacioná-las com a paisagem e as características ambientais, tais como barreiras (Manel *et al.*, 2003). Montanhas, rios e gradientes de umidade podem representar barreiras geográficas e assim promoverem a discontinuidade genética (Funk *et al.*, 2005; Spear *et al.*, 2005; Rapson *et al.*, 2013). Essas barreiras, que podem ser de origem natural ou antropogênicas,

influenciam o movimento ou dispersão dos indivíduos. Com isso, reduzem o fluxo gênico entre as populações (Stevens *et al.*, 2006; Clark *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 2010; Talbot *et al.*, 2012), resultando no acúmulo de diferenças genéticas e, eventualmente, na divergência de populações em espécies distintas (Wu & Ting, 2004).

Assim sendo, as aplicações de estudos genéticos em populações têm sido amplamente empregadas, principalmente em espécies ameaçadas e vulneráveis, já que a compreensão dos padrões de diversidade, estrutura genética e dispersão fornecem informações sobre as necessidades reais e abordagens que contribuirão para a elaboração de planos de gestão e conservação de espécies (Frankham, 2010; Row *et al.*, 2012).

### **Os microssatélites**

A diversidade genética das populações pode ser acessada por meio da investigação dos cromossomos, proteínas ou ainda sequências de DNA (Allendorf *et al.*, 2012). A partir da década de 1980, o desenvolvimento de diferentes marcadores moleculares neutros (RFLPs, RAPDs, minisatélites, microssatélites e outros) tornou possível o acesso à diversidade genética existente nas populações e a inferência dos processos e mecanismos evolutivos atuantes nessas populações. Desde o advento da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR - Polymerase Chain Reaction) em 1980, o uso de marcadores moleculares do tipo microssatélites se tornou muito difundido na Biologia. Ainda hoje, um grande número de estudos utilizam estes marcadores para investigar a estrutura genética de populações, abordando questões evolutivas e conservacionistas (Balloux & Lugon-Moulin, 2002).

Os microssatélites são extensões de DNA que consistem em repetições de sequência simples (SSRs - simple sequence repeats) dispostas em tandem, cuja unidade de repetição apresenta de 1-6 pb (Beckmann & Weber, 1992; Jarne & Lagoda, 1996; Ellegren, 2004). São encontrados com maior ou menor abundância no genoma de quase todos os organismos conhecidos. A principal característica dos microssatélites como marcadores moleculares é a sua hipermutabilidade e, conseqüentemente, a sua hipervariabilidade em espécies e populações, devido a variações no número de unidades repetidas (Chambers & MacAvoy, 2000; Chistiakov *et al.*, 2006).

O alto polimorfismo de tamanho encontrado nos *loci* microssatélites é explicado pelo deslizamento nas fitas de DNA durante a replicação, causando a perda

ou o ganho de uma unidade de repetição. Este mecanismo de mutação é específico para as sequências repetidas em tandem (Schlötterer, 2000). Como são marcadores codominantes de tamanho relativamente pequeno, que podem ser facilmente amplificados com a PCR, os microssatélites têm sido aplicados com êxito, principalmente em mapeamentos genéticos, testes de parentesco, genética de populações e conservação (Schlötterer, 2004; Chistiakov *et al.*, 2006).

### **Contexto geológico: a Planície Costeira**

A Planície Costeira do Rio Grande do Sul (PCRS) é uma área plana e alongada entre as latitudes 29 °S e 34 °S. Foi formada por grandes flutuações do clima e no nível do mar durante o Pleistoceno e o Holoceno (Villwock *et al.*, 1986). Segundo Tomazelli & Villwock (2005), os depósitos aflorantes na PCRS acumularam-se em dois grandes sistemas deposicionais específicos desenvolvidos na região durante o final do Terciário e início do Quaternário: (1) um sistema de leques aluviais ocupando uma faixa contínua ao longo da parte mais interna da planície e, (2) quatro distintos sistemas deposicionais transgressivo-regressivos do tipo laguna-barreira.

Há cerca de 400 mil anos, no período Pleistoceno, a planície costeira gaúcha se encontrava inteiramente coberta pelo Oceano Atlântico. Durante um longo tempo, as ondas e as correntes litorâneas depositaram barreiras arenosas que foram lentamente separando a Laguna dos Patos e a Lagoa Mirim do oceano, e cerca de 120 mil anos atrás, cada lagoa se comunicava com o mar através de uma única abertura. No fim do pleistoceno (há aproximadamente 17 mil anos), caracterizado pelo clima frio, grande parte da água dos oceanos estava congelada nas calotas polares. Desta forma, o nível do mar era 120 metros abaixo de seu atual nível e a planície costeira se estendia por cerca de 70 quilômetros mar adentro, fazendo com que a Laguna dos Patos e a Lagoa Mirim secassem, dando espaço para leitos de rios que conduziram a água da chuva em direção ao mar. No Holoceno (cerca de 5.500 anos atrás) o clima mais quente descongelou as calotas polares e o mar subiu até alcançar de 3 a 5 metros acima do nível atual, cobrindo novamente extensas áreas da planície. Depois disso, as águas baixaram e retrabalharam os sedimentos arenosos da costa e as desembocaduras do sistema lagunar. Na Laguna dos Patos, o fluxo contínuo de água doce movimentou grandes quantidades de sedimento, formando os corpos arenosos que caracterizam o estuário e a estreita desembocadura da lagoa. Já na Lagoa Mirim,

a formação de um pontal arenoso deslocou a desembocadura cada vez mais para o sul, até o fechamento do canal, formando assim, o Banhado do Taim e a Lagoa Mangueira (Corrêa, 1995; Corrêa *et al.*, 2004; Dillenburg *et al.*, 2004; Seeliger *et al.*, 2004).

Espacialmente, a planície costeira do Rio Grande do Sul é a mais ampla de todo país, estendendo-se por 620 km, desde o Município de Torres ao norte, até a desembocadura do Arroio Chuí ao sul (Tomazelli & Villwock, 1996). Pode ser dividida em duas restingas descontínuas, separadas geograficamente pela desembocadura da Laguna dos Patos: a do Rio Grande e a de São José do Norte. Em seu lado leste, a restinga do Rio Grande é limitada geograficamente pelo Oceano Atlântico, em seu lado nordeste, pelo estuário da laguna dos Patos, e a oeste pela lagoa Mirim. Interiormente se encontra a Lagoa Mangueira, lagoas menores e o banhado do Taim. É representada pelos municípios de Rio Grande, Santa Vitória do Palmar e Chuí. A barreira do norte ou restinga de São José do Norte é estreita, com uma área emersa separando o ambiente marinho do lagunar. Tipicamente arenosa, a restinga do norte é limitada ao sul pelo estuário da Laguna dos Patos e, ao norte, ocupa uma faixa limitada pelo Oceano Atlântico, os terrenos da bacia do Paraná e o planalto de arenito basáltico, até Torres. O extremo sul da restinga é representado pelos municípios de São José do Norte, Tavares, Mostardas e Palmares do Sul. Acima do paralelo 30 °S é constituída pelos distritos de Tramandaí, Osório, Capão da Canoa e Torres.

De um ponto de vista biogeográfico, pela localização e pela história geológica holocênica, a planície costeira se caracteriza por ser uma área de encontro de contingentes florísticos e faunísticos originados fora dela. Esta condição determina, por um lado, um baixo número de endemismos e, por outro, grandes variações internas, de acordo com as influências dominantes em cada área. A dinâmica da sua formação geológica, que levou milhares de anos para acontecer, imprimiu padrões nas populações biológicas ali presentes (Gava & Freitas, 2002; Gava & Freitas, 2003; Gava & Freitas, 2004) e além dos processos geográficos vicariantes que podem ter sido cruciais para a diversidade de espécies na planície costeira, a estrutura e os padrões de dispersão das populações influenciam marcadamente a sua própria diversidade.

### ***Cavia magna*: origem e características**

Os Caviomorphos, também conhecidos como Hystricognathi do Novo Mundo, são um grupo diverso de roedores da América do Sul. A maior parte da diversificação desse agrupamento ocorreu na ausência de outros roedores e ungulados modernos, originando 246 espécies vivas (além de inúmeras formas extintas), dispostas em 13 famílias (Hayes & Ebensperger, 2011; Upham & Patterson, 2012). Ocupam uma ampla gama de nichos ecológicos nesse continente (Asher *et al.*, 2004). Além disso, seus habitats variam de arbóreo, subterrâneo até semiaquático (Hayes & Ebensperger, 2011).

Quanto à origem desse agrupamento, existem duas hipóteses principais: se originaram de formas norteamericanas ou descendem de ancestrais africanos. De acordo com a primeira hipótese, divergiram durante o Paleoceno na América do Norte e seriam derivados de um grupo de Franimorpha que chegou à América do Sul durante o Eoceno. Fósseis de roedores desse período com padrão histricognato foram descritos no Texas como evidência, entretanto, conforme Reig (1981), esse material é muito segmentado e existe a possibilidade de convergência evolutiva. Já a hipótese de origem africana sugere que um grupo de histricognatos africanos teria atravessado o Oceano Atlântico através de balsas flutuantes durante o Paleógeno, originando os Caviomorpha. Nesse período a América do Sul e a África estariam mais próximas do que a atual configuração dos continentes, além disso, as paleocorrentes vindas da África e a existência de ilhas de grandes extensões possibilitaram a travessia (Oliveira & Kerber, 2009). Essa hipótese parece ser a mais aceitável, considerando que a similaridade entre roedores sul-americanos e africanos tem sido corroborada por características anatômicas, análise da microestrutura do esmalte dentário (Martin, 1994) e filogenias moleculares (Huchon & Douzery, 2001).

As formas selvagens de *Cavia* (família Caviidae) ocorrem ao longo de quase todo o continente sul americano, com exceção da Amazônia e porções austrais do Chile e Argentina. São herbívoros de médio porte que estão principalmente associados a pradarias, embora também ocupem bordas de florestas e áreas alagadas (Dunnun & Salazar-Bravo 2010). Esses roedores são bastante característicos da fauna neotropical (Silva, 1984). Brasil abriga cinco espécies desse gênero: *C. aperea*, *C. fulgida*, *C. intermedia*, *C. magna* e *C. porcellus* (Oliveira & Bonvicino, 2006; Bonvicino *et al.*, 2008). Já no estado do Rio Grande do Sul apenas duas espécies são descritas: *C. aperea* e *C. magna* (Silva, 1984; Gava *et al.*, 2012).

Dentre as caviás selvagens, comumente denominadas de preás, *C. magna* habita ambientes costeiros, sobre formações vegetais litorâneas. É encontrada em habitats méxicos, próximos as desembocaduras de arroios, baías, estuários e na periferia das lagunas, apresentando forte adaptação à vida semiaquática (Ximenez, 1980). Segundo estudos filogenéticos, é irmã do grupo que contém todas as outras espécies de *Cavia*, sendo que a sua divergência ocorreu muito mais cedo, durante o Mioceno tardio (há 6,2 milhões de anos), logo após a maior mudança climática e vegetativa que ocorreu na América do Sul, e evoluiu para explorar o nicho semiaquático dos pântanos costeiros (Flynn & Wyss, 1998; Dunnum & Salazar-Bravo, 2010). É um roedor que apresenta distribuição geográfica restrita, ocorrendo apenas no Uruguai e no sul do Brasil, próximo à costa do Atlântico (Ximenez, 1980; Oliveira & Bonvicino, 2006) (Fig.1).



**Figura 1.** Distribuição geográfica (em vermelho) do roedor *Cavia magna*, encontrado no sul do Brasil e Uruguai. Fonte: Wikimedia Commons.

A espécie é considerada vulnerável no Rio Grande do Sul, região central de sua ocorrência (FZB, 2013). Adicionalmente, esses animais articulam várias características como – capacidade de tornarem-se imperceptíveis aos predadores sob a vegetação densa, formação de agrupamentos parciais durante o forrageio para aumentar a vigilância e os hábitos crepusculares e noturnos – em resposta à alta

pressão de predação (Kraus *et al.*, 2003; Kraus *et al.*, 2005; Adrian & Sachser, 2011). Os principais predadores registrados para a espécie são: *Didelphis albiventris*, *Lutreolina crassicaudata*, *Cerdocyon thous*, *Galictis cuja*, *Milvago chimango*, *Circus cinereus*, *Bubo virginianus*, *Philodryas patagoniensis* e também o ser humano (Ximenez, 1980; Messias, 1995; Kraus & Rodel, 2004). Além disso, as populações de preás têm sido impactadas por perturbações antrópicas como a redução e alteração de seus habitats, principalmente no que se refere à drenagem de banhados para a criação de gado e agricultura e ao aterro de áreas úmidas para a expansão das zonas urbanas, afinal essa espécie está estreitamente relacionada a ambientes alagados (Ximenez, 1980).

A espécie apresenta, ainda, uma baixa taxa reprodutiva, pois exibe uma reprodução sazonal. Após uma gestação de aproximadamente dois meses, as fêmeas dão à luz a pequenas ninhadas de um ou dois filhotes, ocasionalmente três. Em contrapartida, os filhotes de preá são considerados um exemplo extremo de precocidade entre os pequenos mamíferos, pois podem pesar individualmente 18% da massa da mãe, nascem com olhos abertos, totalmente peludos, se tornam móveis em poucas horas e podem comer alimentos sólidos depois de alguns dias de vida. O que reduz a mortalidade juvenil e pode ser justificada pela inconstância dos ambientes habitados pela espécie, principalmente sujeitos a inundações drásticas. Essa estratégia reprodutiva pode compensar, pelo menos em partes, a reduzida taxa reprodutiva. (Kraus *et al.*, 2003; Kraus *et al.*, 2005).

Considerando que *C. magna* apresenta algumas características peculiares que a tornam susceptível ao declínio populacional, bem como o eminente aumento das atividades humanas insustentáveis nos ambientes costeiros, torna-se de grande importância o conhecimento de qualquer aspecto biológico dessa espécie. Desta forma, temos como objetivo deste trabalho estimar, em uma escala espacial regional, a diversidade genética, a estrutura populacional e a intensidade do fluxo gênico em populações de *C. magna*. Adicionalmente, iremos investigar sinais de gargalos populacionais e endocruzamentos nas populações, testaremos o efeito do sexo sobre a dispersão e discutiremos a implicação que as barreiras geográficas existentes na paisagem têm sobre estas populações que, por isso, experimentam diferentes graus de proximidade e isolamento entre si.

## Referências bibliográficas

- Adrian, O; Sachser, N. 2011. Diversity of social and mating systems in caviés: a review. *Journal of Mammalogy*, 92:39–53.
- Allendorf, FW; Luikart, GH; Aitken, SN. 2013. Conservation and the genetics of populations. Wiley–Blackwell. 2. ed. 602 p.
- Asher, M; Oliveira, ES; Sachser, N. 2004. Social system and spatial organization of wild guinea pigs (*Cavia aperea*) in a natural population. *Journal of Mammalogy*, 85(4): 788–796.
- Balloux, F; Lugon-Moulin, N. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 11: 155–165.
- Beckmann, JS; Weber, JL. 1992. Survey of human and rat microsatellites. *Genomics*, 12: 627–631.
- Berthier, K; Galan, M; Foltete, JC; Charbonnel, N; Cosson, JF. 2005. Genetic structure of the cyclic fossorial water vole (*Arvicola terrestris*): landscape and demographic influences. *Molecular Ecology*, 14: 2861–2871.
- Bilton, DT; Freeland, JR; Okamura, B. 2001. Dispersal in freshwater invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematic*, 32: 159–181.
- Bonvicino, CR; Oliveira, JA; D’Andrea, OS. 2008. Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa. 120p.
- Chambers, GK; MacAvoy, ES. 2000. Microsatellites: consensus and controversy. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 126: 455–476.
- Chistiakov, DA; Hellemans, B; Volckaert, FAM. 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture*, 255: 1–29.
- Clark, RW; Brown, WS; Stechert, R; Zamudio, KR. 2008. Integrating individual behaviour and landscape genetics: the population structure of timber rattlesnake hibernacula. *Molecular Ecology*, 17: 719–730.
- Clarke, A; Saether, B; Roskaft, E. 1997. Sex biases in avian dispersal: a reappraisal. *Oikos* 79: 429–438.
- Corrêa, ICS. 1995. Les variations du niveau de la mer Durant les derniers 17.500 ans BP: l’exemple de la plateforme continentale du Rio Grande do Sul-Brésil. *Marine Geology*, 130: 163–178.

Corrêa, ICS; Aliotta, S; Weschenfelder, J. 2004. Estrutura e Evolução dos Cordões Arenosos Pleistocênicos no Canal de Acesso à Laguna dos Patos-RS, Brasil. *Revista Pesquisas em Geociências*, 31 (2): 69–78.

Costa, D; Timmermansb, MJTN; Sousa, JP; Ribeiro, R; Roelofs, D; Van Straalen, NM. 2013. Genetic structure of soil invertebrate populations: collembolans, earthworms and isopods. *Applied Soil Ecology*, 68: 61–66.

Dillenburg, SR; Esteves, LS and Tomazelli, LJ. 2004. A critical evaluation of coastal erosion in Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 76(3): 611–623.

Dobson, F. 1982. Competition for mates and predominant juvenile male dispersal in mammals. *Animal Behaviour*, 30: 1183–1192.

Dunn, JL; Salazar-Bravo, J. 2010. Molecular systematics, taxonomy and biogeography of the genus *Cavia* (Rodentia:Caviidae). *Journal of Zoological and Evolutionary Research*, 48: 376–388.

Ellegren, H. 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics*, 5: 435–445.

Flynn, JJ; Wyss, AR. 1998. Recent advances in South American mammalian paleontology. *Trends in Ecology and Evolution* 13(11): 449–454.

Frankham, R. 2005. Genetics and extinction. *Biological Conservation*, 126: 131–140.

Frankham, R. 2010. Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. *Biological Conservation*, 143:1919–1927.

Funk, WC; Blouin, MS; Corn, PS; Maxell, BA; Pilliod, DS; Amish, S; Allendorf, FW. 2005. Population structure of Columbia spotted frogs (*Rana luteiventris*) is strongly affected by the landscape. *Molecular Ecology*, 14: 483–496.

FZB. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul. Consulta pública: avaliação do estado de conservação de espécies - Fauna - RS - 2012/2013. 2013. Disponível em: <<http://www.liv.fzb.rs.gov.br>>.

Gava, A; Freitas, TRO. 2002. Characterization of a hybrid zone between chromosomally divergent populations of *Ctenomys minutus* (Rodentia: Ctenomyidae). *Journal of Mammalogy*, 83 (3): 843–851.

Gava, A; Freitas, TRO. 2003. Inter and intra-specific hybridization in tuco-tuco (*Ctenomys*) from Brazilian Coastal Plains (Rodentia: Ctenomyidae). *Genetica*, 119 (1): 11–17.

Gava, A; Freitas, TRO. 2004. Microsatellite analysis of a hybrid zone between chromosomally divergent populations of *Ctenomys minutus* from southern Brazil (Rodentia: Ctenomyidae). *Journal of Mammalogy*, 85: 1201–1206.

Gava, A; Santos, MB; Quintela, FM. 2012. A new karyotype for *Cavia magna* (Rodentia: Caviidae) from an estuarine island and *C. aperea* from adjacent mainland. *Acta Theriol* (2012) 57: 9–14, doi: 10.1007/s13364-011-0042-0.

Greenwood, P. 1980. Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal Behaviour*, 28: 1140–1162.

Hanski, I. 1998. Metapopulation dynamics. *Nature*, 396:41–49.

Hartl, DL; Clark, AG. 2010. Princípios de genética de populações. Porto Alegre: Artmed. 4. ed. 660p.

Hartl, DL; Jones, EW. 1998. *Genetics: Principles and Analysis*. 4<sup>a</sup> ed. Sudbury, Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers. 840p.

Hayes, LD; Ebensperger, LA. 2011. Caviomorph rodent social systems: an introduction. *Journal of Mammalogy*, 92(1): 1–2.

Huchon, D; Douzery, EJ. 2001. From the Old World to the New World: A Molecular Chronicle of the Phylogeny and Evolution, *Orlando v:20*: 238–251.

Jarne, P; Lagoda, PJJ. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology & Evolution*, 11: 424–429.

Kraus, C; Künkele, J; Trillmich, F. 2003. Spacing behaviour and its implications for the mating system of a precocial small mammal: an almost asocial cavy *Cavia magna*? *Animal Behaviour*, 66: 225–238.

Kraus, C; Rodel, HG. 2004. Where have all the cavyes gone? Causes and consequences of predation by the minor grison for a wild cavy population. *Oikos*, 105:489–500.

Kraus, C; Trillmich, F; Künkele, J. 2005. Reproduction and growth in a precocial rodent. *Journal of Mammalogy*, 86: 763–772.

Levins, R. 1969. Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 15: 237–240.

Manel, S; Schwartz, M; Luikart, G; Taberlet, P. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, 18: 189–197.

Martin, T. 1994. African origin of caviomorph rodents is indicated by incisor enamel microstructure. *Paleobiology*, New York, v20, 5–13.

Messias, MR. 1995. *Biologia comportamental de Cavia aperea* (Mammalia: Caviidae) em área aberta no estado de São Paulo. Dissertação de mestrado. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

Moussy, C; Hosken, DJ; Mathews, F; Smith, GC; Aegerter, JN; Bearhop, S. 2013. Migration and dispersal patterns of bats and their influence on genetic structure. *Mammal Review*, 43: 183–195.

Oliveira, EV; Kerber, L. 2009. Paleontologia e Aspectos Geológicos das sucessões do final do neógeno no sudoeste do Rio Grande do Sul, Brasil. *Journal of Geoscience*, 5: 21–34.

Oliveira, JA; Bonvicino, CR. 2006. Ordem Rodentia. In: Reis, NR; Perachi, AL; Pedro, WA; Lima, IP. (org.) *Mamíferos do Brasil*. Londrina: Universidade Estadual de Londrina. p. 347–406.

Perrin, N; Mazalov, V. 2000. Local competition, inbreeding, and the evolution of sex-biased dispersal. *American Naturalist*, 155, 116–127.

Prugnolle, F; de Meeus T. 2002. Inferring sex-biased dispersal from population genetic tools: a review. *Heredity*, 88, 161–165.

Rapson, SA; Goldizen, AW; Seddon, JM. 2013. Gene flow in mongooses endemic to Namibia's granite inselbergs despite past climatic fluctuations and isolating landscape features. *Journal of Mammalogy*, 94: 218–230.

Reig, O. 1981. Teoría del origen y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur. *Monografía Naturae*, Museu Municipal de Ciencias Naturales “Lorenzo Scaglia, Buenos Aires, v1 1–161.

Ricklefs, RE. 2003. *A economia da natureza*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 5. ed. 503p.

Row, JR; Gomez, C; Koen, EL; Bowman, J; Murray, DL; Wilson, PJ. 2012. Dispersal promotes high gene flow among Canada lynx populations across mainland North America. *Conservation Genetics*, 13:1259–1268.

Schlötterer, C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma*, 109: 365–371.

Schlötterer, C. 2004. The evolution of the molecular markers - just a matter of fashion? *Nature Reviews Genetics*, 5: 63–69.

Seeliger, U; Cordazzo, C; Barcellos, L. 2004. *Areias do Albardão: um guia ecológico e ilustrado do litoral no extremo sul do Brasil*. Rio Grande: Ecoscientia. 96p.

Silva, F. 1984. *Mamíferos Silvestres - Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, 246p.

Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and nonequilibrium populations. *Evolution*, 47:264–279.

- Spear, SF; Peterson, CR; Matocq, MD; Storfer, A. 2005. Landscape genetics of the blotched tiger salamander (*Ambystoma tigrinum melanostictum*). *Molecular Ecology*, 14: 2553–2564.
- Spielman, D; Brook, BW; Frankham, R. 2004. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 15261–21526.
- Stevens, VM; Verkenne, C; Vandewoestijne, S; Wesselingh, RA; Baguette, M. 2006. Gene flow and functional connectivity in the natterjack toad. *Molecular Ecology*, 15: 2333–2344.
- Talbot, B; Garant, D; Paquette, SR; Mainguy, J; Pelletier, F. 2012. Lack of genetic structure and female-specific effect of dispersal barriers in a rabies vector, the striped skunk (*Mephitis mephitis*). *PLOS ONE*, 7: e49736.
- Tomazelli, LJ; Villwock, JA. 1996. Quaternary geological evolution of Rio Grande do Sul Coastal Plain, Southern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 68(3): 373–382.
- Tomazelli, LJ; Villwock, JA. 2005. Mapeamento geológico de planícies costeiras: o exemplo da costa do Rio Grande do Sul. *Gravel*, 3:109–115.
- Upham, NS; Patterson, BD. 2012. Diversification and biogeography of the Neotropical caviomorph lineage Octodontoidea (Rodentia: Hystricognathi). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, doi: 10.1016/j.ympev.2012.01.020.
- Villwock, JA; Tomazelli, LJ; Loss, EL; Dehnhardt, EA; Horn, NO; Bachi, FA; Dehnhardt, BA. 1986. Geology of the Rio Grande do Sul coastal province. In *Quaternary of South America and Antarctic Peninsula* (ed. J. Rabassa), p. 79-97. Rotterdam: Balkema.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the genetics of populations*. Vol. 4. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- Wu, CI; Ting, CT. 2004. Genes and speciation. *Nature Reviews Genetics*, 5: 114–122.
- Ximenez, A. 1980. Notas sobre el género *Cavia* Pallas con la descripción de *Cavia magna* sp.n. (Mammalia-Caviidae). *Revista Nordestina de Biologia*, 3:145–179.
- Young, BA; Schmidt, DJ; Sheldon, F. 2013. Small-scale patterns of genetic variation in a headwater specialist mayfly: No influence of selective forest harvesting on diversity. *Austral Ecology*, 38: 504–515aec\_2440.
- Zhu, LF; Zhan, XJ; Meng, T; Zhang, SN; Wei, FW. 2010. Landscape features influence gene flow as measured by cost-distance and genetic analyses: a case study for giant pandas in the Daxiangling and Xiaoxiangling Mountains. *BMC Genetics*, 11: 72.

Zschokke, S; Armbruster, GFJ; Ursenbacher, S; Baur, B. 2011. Genetic differences between the two remaining wild populations of the endangered Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*). *Biological Conservation*, 144: 2702–2709.

## 2. ARTIGO

Diversidade genética, estrutura populacional e conservação de *Cavia magna*  
(Ximenez, 1980) no extremo sul do Brasil

Manuscrito a ser submetido à Revista Zoology (ISSN 0944-2006)

**Diversidade genética, estrutura populacional e conservação de *Cavia magna*  
(Ximenez, 1980) no extremo sul do Brasil**

<sup>1</sup>Caroline de Azevedo Gibbon, <sup>1</sup>Adriana Gava

<sup>1</sup> ICB-Pós-Graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais,  
Universidade Federal de Rio Grande, FURG, Rio Grande, Brasil.

Palavras –chave: preá; pequenos mamíferos; microsatélites; dispersão; barreiras geográficas.

Título Abreviado: Diversidade genética em *C. magna* no extremo sul do Brasil.

Biodiversidade

Endereço para correspondência: Adriana Gava

ICB- Pós-Graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais

Universidade Federal de Rio Grande, FURG

Av. Itália, Km 8- Campus Carreiros

96.203-900, Rio Grande, RS, Brasil.

Email: [adriana.gava@gmail.com](mailto:adriana.gava@gmail.com)

## ABSTRACT

The genetic diversity of populations is the result of processes that involve mutation, migration, genetic drift and selection. Temporal and spatial variations in demographic parameters affect the genetic structure of populations, damage the ability of them to support new environmental conditions. Thus, migration is a central process that affects the dynamics and evolution of populations. *Cavia magna* has vulnerable conservation *status* in the central region of its occurrence and has intrinsic characteristics that make it vulnerable to the decline of their populations. Thus, the aim of the study was to estimate, in a regional spatial scale, genetic diversity, population structure and the intensity of gene flow in *C. magna* populations; we will investigate signs of population bottlenecks and inbreeding in populations; we will test the occurrence of dispersal sex-biased; and discuss the implication that existing geographical barriers in the landscape have on these populations. Sampling was conducted in southern coastal plain in the state of Rio Grande do Sul, Brazil, at six sites, Tomahawk traps were used to capture individuals and collect tissue samples. They were amplified by PCR nine microsatellite *loci*, using primers designed for the species *C. magna* and *C. aperea*. The results indicate that the analyzed populations exhibit high levels of genetic diversity. However,  $F_{IS}$  values show a tendency for the occurrence of inbreeding; recent bottleneck was detected for a small population; bayesian analysis revealed the presence of two genetically distinct populations ( $K=2$ ), this structure was confirmed by AMOVA and the  $F_{ST}$  and  $R_{ST}$  in paired comparisons between localities; there was no evidence of dispersal sex-biased, however, females showed a greater tendency to dispersal; gene flow between local populations was moderate. These latest standards added the peculiar characteristics of the species, the events of destruction, fragmentation and alteration of habitats and intensive hunting can cause drastic reductions or isolation of populations in small patches of favorable habitat and thus, make the species susceptible to extinction.

Key-words: cavy; small mammals; microsatellites; dispersal; geographical barriers.

## INTRODUÇÃO

A diversidade genética de uma população é o resultado da interação de processos complexos que envolvem mutação, migração, deriva genética e seleção, sendo essencial para garantir a viabilidade e a evolução populacional (Berthier *et al.*, 2005). Dessa forma, eventos que reduzem a variabilidade genética podem comprometer a aptidão e a capacidade das populações de se adaptarem a um ambiente em modificação, aumentando assim o risco de extinção (Frankham, 2005). As populações naturais frequentemente estão divididas em subpopulações interconectadas pela dispersão e fluxo gênico, constituindo uma metapopulação (Levins, 1969; Ricklefs, 2003). Na presença dessa subdivisão populacional as frequências alélicas entre as subpopulações tendem a se tornar diferentes como resultado de processos aleatórios na transmissão dos alelos de uma geração para a próxima ou de diferenças casuais na frequência alélica entre os fundadores iniciais das subpopulações (Hartl & Clark, 2010).

A contínua degradação e fragmentação dos habitats podem resultar em populações pequenas e isoladas, que apresentam diversidade genética reduzida, pois são mais propensas aos efeitos da deriva e à ocorrência de endocruzamentos (Zschokke *et al.*, 2011). Nessas circunstâncias, as variações temporais e espaciais nos parâmetros demográficos, como o tamanho da população e as taxas de migração, afetam a estrutura genética das populações (Berthier *et al.*, 2005; Slatkin, 1993), prejudicando a capacidade das mesmas de suportar condições ambientais novas (Spielman *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2013).

A migração, portanto, é um processo central que afeta a dinâmica e a evolução das populações (Hanski, 1998). Altos níveis de dispersão, com consequente fluxo gênico entre populações geograficamente distantes, resultarão em alelos compartilhados, reduzindo a diferenciação genética, de forma que elas funcionem demograficamente e geneticamente como uma única população. Em contraste, níveis baixos de dispersão entre populações resultarão em diferenciação genética e as populações se tornarão geneticamente distintas ao longo do tempo, o que pode levar ao isolamento reprodutivo e especiação (Bilton *et al.*, 2001; Young *et al.*, 2013).

Contudo, o fluxo gênico e a resultante estrutura genética das populações podem ser moldados pela heterogeneidade ambiental. A existência de barreiras geográficas na paisagem influencia a dispersão de indivíduos (Stevens *et al.*, 2006;

Clark *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 2010; Talbot *et al.*, 2012). Montanhas, desertos, fragmentação de habitats ou cursos d'água podem representar barreiras geográficas insuperáveis para os indivíduos, reduzindo ou impedindo o fluxo gênico entre as populações localizadas em lados opostos, promovendo a descontinuidade genética e com isso, acelerando o processo de divergência (Slatkin, 1987; Funk *et al.*, 2005; Spear *et al.*, 2005; Rapson *et al.*, 2013).

*Cavia magna* (Família Caviidae), conhecida popularmente como preá, possui *status* de conservação vulnerável no Rio Grande do Sul, região central de sua ocorrência (FZB, 2013). A espécie possui distribuição geográfica restrita, ocorrendo apenas no Uruguai e no sul do Brasil, próximo à costa do Atlântico (Ximenez, 1980; Oliveira & Bonvicino, 2006). Adicionalmente, esses animais articulam capacidade de tornarem-se imperceptíveis aos predadores sob a vegetação densa, formação de agrupamentos parciais durante o forrageio para aumentar a vigilância e os hábitos crepusculares e noturnos em resposta à alta pressão de predação (Kraus *et al.*, 2003; Kraus & Rodel, 2004; Adrian & Sachser, 2011). Além disso, as populações de preás têm sofrido constantes impactos antrópicos, principalmente relacionados à redução e alteração de seus habitats.

Segundo estudos filogenéticos, *C. magna* é irmã do grupo que contém todas as outras espécies de *Cavia*, sendo que a sua divergência ocorreu muito mais cedo, durante o Mioceno tardio (há 6,2 milhões de anos). É um táxon basal, com restrita distribuição e diversidade reduzida (Dunnum & Salazar-Bravo, 2010).

A espécie apresenta, ainda, uma baixa taxa reprodutiva, pois exhibe uma reprodução sazonal. Após uma gestação de aproximadamente dois meses, as fêmeas dão à luz a pequenas ninhadas de um ou dois filhotes, ocasionalmente três. Em contrapartida, os filhotes de preá são considerados um exemplo extremo de precocidade entre os pequenos mamíferos, pois podem pesar individualmente 18% da massa da mãe, nascem com olhos abertos, totalmente peludos, se tornam móveis em poucas horas e podem comer alimentos sólidos depois de alguns dias de vida. Essa estratégia reduz a mortalidade juvenil e pode ser justificada pela inconstância dos ambientes habitados pela espécie, principalmente sujeitos a inundações drásticas. Podendo compensar, pelo menos em partes, a reduzida taxa reprodutiva (Kraus *et al.*, 2003; Kraus *et al.*, 2005).

A distribuição dessa espécie abrange uma região da planície costeira gaúcha marcada pela descontinuidade na paisagem. A formação dessa planície ocorreu

durante os períodos Pleistoceno e Holoceno através de grandes flutuações do clima e no nível do mar e com sucessivas deposições de barreiras arenosas pelas ondas e correntes litorâneas (Villwock *et al.*, 1986; Tomazelli & Villwock, 1996; Asmus, 1998; Seeliger *et al.*, 2004). A desembocadura da Laguna dos Patos e as ilhas com diferentes graus de isolamento presentes no estuário dessa laguna, formadas durante a evolução geológica do local, podem representar a ocorrência de barreiras geográficas ao fluxo gênico das populações de *C. magna* e assim, promover a diferenciação genética entre as mesmas.

Considerando que *C. magna* apresenta algumas características que a tornam susceptível ao declínio populacional, bem como o eminente aumento das atividades humanas insustentáveis nos ambientes costeiros, torna-se de grande importância o conhecimento de qualquer aspecto biológico dessa espécie. Desta forma, temos como objetivo deste trabalho estimar, em uma escala espacial regional, a diversidade genética, a estrutura populacional e a intensidade do fluxo gênico em populações de *C. magna*. Adicionalmente, iremos investigar sinais de gargalos populacionais e endocruzamentos nas populações, testaremos o efeito do sexo sobre a dispersão e discutiremos a implicação que as barreiras geográficas existentes na paisagem têm sobre estas populações que, por isso, experimentam diferentes graus de proximidade e isolamento entre si.

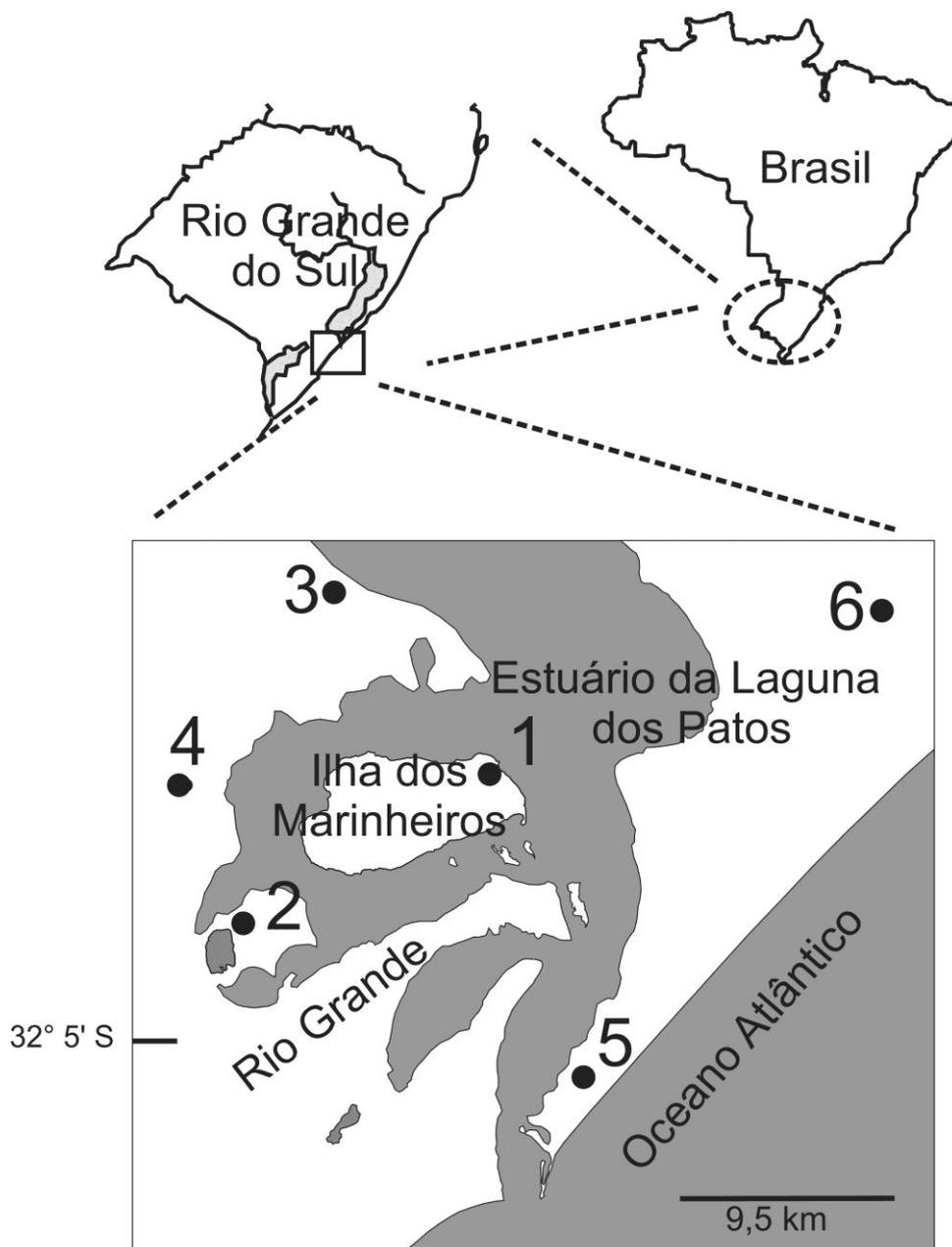
## MATERIAIS E MÉTODOS

### Área de estudo

O estudo foi conduzido na região do estuário da Laguna dos Patos, na Planície Costeira do Rio Grande do Sul - Brasil, mais especificamente nos municípios de Rio Grande e São José do Norte, separados geograficamente pela desembocadura da Laguna dos Patos.

*Cavia magna* foi amostrada em seis localidades (Fig.1): Ilha dos Marinheiros (31°59'15.87"S, 52°6'46.98"O; n=20 indivíduos), Ilha do Leonídio (32°2'54.16"S, 52°13'13.64"O; n=17 indivíduos), Ilha da Torotama (31°55'10.91"S, 52°11'8.64"O; n=14 indivíduos), Quitéria (31°59'45.89"S, 52°14'50.62"O; n=9 indivíduos), Pontal da Barra (32° 6'4.94"S, 52° 4'0.57"O; n=15 indivíduos) e Parobé (31°55'3.57"S, 51°56'29.72"O; n=14 indivíduos). A escolha desses pontos foi baseada na possível

ocorrência de diferentes graus de isolamento entre eles. O sítio Marinheiros refere-se à uma ilha afastada do continente, sendo bastante isolado dos demais sítios. Os sítios Leonídio e Torotama também se referem a ilhas estuarinas, entretanto, essas se encontram pouco isoladas, sendo separadas do continente apenas por estreitos cursos d'água. O sítio Quitéria refere-se a uma localidade continental localizada na orla da Laguna dos Patos, ao sul da sua desembocadura; e os sítios Barra e Parobé são continentais, contíguos entre si e encontram-se ao norte da descontinuidade acima mencionada.



**Figura 1.** Mapa indicando a localização dos sítios de amostragem de *Cavia magna* na planície costeira no extremo sul do RS, Brasil. Sítios de amostragem indicados por números: Marinheiros (1), Leonídio (2), Torotama (3), Quitéria (4), Barra (5) e Parobé (6).

Conforme Nimer (1989), a região da planície apresenta um clima mesotérmico brando, superúmido, sem estação seca. A temperatura média anual oscila entre 16 e 20°C e a precipitação pluviométrica anual varia entre 1.000 e 1.500mm. A região é extremamente plana, com relevo muito baixo, próximo ao nível do mar. A vegetação é predominantemente rasteira ou arbustiva e, mesmo nos ecossistemas florestais, as árvores nativas são de baixa estatura. Os ecossistemas predominantes são as lagoas, banhados e áreas úmidas, praias arenosas, dunas frontais e lacustres, campos litorâneos, matas de restinga, butiazais e marismas (Burger & Ramos, 2006).

### **Coleta de tecido dos indivíduos de *C. magna***

As coletas foram efetuadas durante o ano de 2014. O programa de captura foi realizado de duas a três vezes por semana, e a permanência em cada unidade amostral foi em média de dois meses. Foram utilizadas 25 armadilhas de arame do tipo Tomahawk (22x22x45 cm) para as capturas, que foram distribuídas nas regiões de alimentação (com marcas de herbivoria e presença de fezes) e ao longo de pequenas trilhas deixadas no estrato herbáceo pela movimentação dos preás (Ximenez 1980; Kraus *et al.*, 2005; Salvador & Fernandez, 2008a, 2008b). Como *C. magna* apresenta hábitos noturnos e crepusculares (Kraus *et al.*, 2005), e visando evitar o stress do animal em decorrência de longos períodos de confinamento (Kraus *et al.*, 2003), as armadilhas foram iscadas (batata doce) e abertas ao entardecer, revisadas no início da manhã seguinte, e mantidas fechadas durante o dia.

Durante a captura, os indivíduos foram marcados (brinco de metal), as medidas corporais e o peso foram tomados, o sexo foi determinado e aproximadamente dois milímetros de tecido da orelha foram coletados e preservados em tubo identificado contendo álcool 90%. Todos os procedimentos realizados com os animais seguiram as instruções da Sociedade Americana de Mastozoologia (Gannon & Sikes, 2007) e as autorizações necessárias foram providenciadas (Autorização ICMBio 42163-1; Parecer nº P003/2014, Processo nº 23116.008010/2013-14, CEUA nº Pq026/2013).

## Métodos moleculares

Para a extração do DNA, foi usado o método que utiliza cloreto de sódio, usando de 10 a 20 mg de tecido (modificado de Medrano *et al.*, 1990). Do DNA extraído, foram amplificados por meio de PCR nove *loci* microssatélites (Cavy 1, Cavy 3, Cavy 5, Cavy 6, Cavy 8, Cavy 9, Cavy 11, Cavy 13 e Cavy 16) utilizando primers e condições desenvolvidas e testadas por Kanitz *et al.* (2009) para as espécies *C. magna* e *C. aperea* (Tab.1). Foi adicionada uma sequência M13 (5'-CACGACGTTGTAAAACGAC-3') na extremidade 5' do primer *forward*, o qual foi usado em combinação com um primer M13 com a mesma sequência, porém marcado com o corante fluorescente na sua extremidade 5'. Esse é um método econômico que gera alelos amplificados marcados com fluorescência, facilitando e aumentando a especificidade da análise de microssatélites, independente se o alelo será examinado em géis manuais ou em sequenciadores automáticos (Schuelke, 2000; Boutin-Ganache *et al.*, 2001).

**Tabela 1.** Descrição dos nove *loci* microssatélites desenvolvidos para *Cavia magna* e *Cavia aperea* utilizados durante o estudo (Adaptado de Kanitz *et al.*, 2009).

Locus	Primers: 5' - 3'	Repetições	Tamanho (pb)
<b>Cavy 1</b>	F CGGTTCTTGATTGGCTTCAT R GCCTGCTCCTGTTCTCTCTC	[AG] <sub>27</sub>	255
<b>Cavy 3</b>	F ACAGCGATCACAATCTGCAC R GCAGTGGTAACCCAGAATGG	[CT] <sub>26</sub>	225
<b>Cavy 5</b>	F CTCCATTCACAGAGTGGTCT R AAAGTGCTGTTTAATTGGGA	[AAGG] <sub>46</sub>	423
<b>Cavy 6</b>	F GTACCAGGGATCAAATCAG R GAGCTTTCGAGAGTACGAGA	[TCTT] <sub>37</sub>	388
<b>Cavy 8</b>	F CCCTTTCCCACTCTTCTATT R CTGCCAGCTTAGCAATTTAT	[TTC] <sub>31</sub>	290
<b>Cavy 9</b>	F CAGCGATCTTCTATGGAGAC R TCTTTAATGGTGGGTTTCAG	[TCT] <sub>30</sub>	192
<b>Cavy 11</b>	F TCAGAAAGCTGGAAATTCAT R AATGTGATGTGCTGAACAGA	[CT] <sub>45</sub>	379
<b>Cavy 13</b>	F AGGGAGGCCAGAGTGAGAG R TCCTACACTGCATTGCTTGC	[AGG] <sub>34</sub>	385
<b>Cavy 16</b>	F CCAGTGGATTGGGAGACATT R CTCACCAAGAATGCAAAGCA	[CT] <sub>32</sub>	381

As reações de amplificação foram realizadas separadamente para cada *locus* em um volume de 20 µl contendo: 1 x Tampão de PCR (10mM Tris- HCl pH 8,3, 50mM KCl), 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de todos dNTPs, 0,2 µM de primer *reverse*, 0,2 µM de primer M13 com fluorescência (FAM ou HEX), 0,013 µM de primer

*foward*, 0,25-0,5 unidades de Taq DNA polimerase (Invitrogen/Ludwig) e 10 ng de DNA genômico. As condições da PCR foram: desnaturação inicial a 94°C por três minutos; 35 ciclos de desnaturação, anelamento e extensão, por 90 segundos a 94°C, 90 segundos a 60°C e 45 segundos a 72°C, respectivamente; e extensão final a 72°C por 30 minutos, seguida de resfriamento a 4°C.

As amostras foram checadas para confirmação das ampliações por meio de eletroforese em gel de agarose 1%. Posteriormente, a análise do tamanho dos fragmentos foi realizada em um sequenciador automático ABI 3730 XL pela empresa Macrogen (Seul, Coreia do Sul) e os genótipos foram determinados com o programa Peak Scanner 2.0 (Applied Biosystems).

### **Análise dos dados**

A existência de alelos nulos e outros erros de genotipagem foram verificados no programa Micro-Checker 2.2 (Van Oosterhout *et al.*, 2004). Desvios do equilíbrio de ligação entre os *loci* e desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg foram testados no software Genepop 4.4 (Rousset, 2008). Nas análises com testes múltiplos simultâneos foi aplicada a correção de Bonferroni (Rice, 1989).

A diversidade genética dos *loci* analisados foi estimada por meio do número de *loci* polimórficos, número de alelos observados por *locus* ( $N_A$ ), número de alelos privados ( $\hat{A}_P$ ), heterozigosidade observada ( $H_O$ ), heterozigosidade esperada ( $H_E$ ) e riqueza alélica ( $\hat{A}$ ) através dos programas  $F_{STAT}$  2.9 (Goudet, 2002) e Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). A última medida de diversidade considera o número de alelos observados por população e normaliza os valores levando em conta as diferenças no tamanho das populações amostradas.

A ocorrência de endocruzamento foi avaliada por meio do coeficiente de endocruzamento ( $F_{IS}$ ), calculado com o programa  $F_{STAT}$  2.9 (Goudet, 2002). Bottleneck 1.2 (Piry *et al.*, 1999) foi usado para investigar a ocorrência de gargalos populacionais em cada localidade amostrada. Os modelos de mutação utilizados foram SMM (Stepwise Mutation Model) e TPM (Two-phased model), por serem mais apropriados para os dados de microssatélites. Como os declínios populacionais recentes causam o desaparecimento mais rápido de alelos raros do que dos alelos mais frequentes, os valores do Teste de Wilcoxon foram utilizados para avaliar a

probabilidade de haver excesso de heterozigiosidade em um número significativo de *loci* em cada localidade, o que sugere a ocorrência de gargalos recentes.

Para investigar a existência de estrutura populacional foi utilizado o software Structure 2.2 (Pritchard *et al.*, 2000) que, através dos dados genéticos, infere a presença de populações geneticamente distintas. O programa utiliza o método de agrupamento Bayesiano e assume que existem K populações (onde K pode ser desconhecido), sendo que cada uma dessas populações é caracterizada por um conjunto de frequências alélicas para cada *locus*. Para determinar o número de populações existentes na amostra, foram fixados os valores de K=1-10 e realizadas 15 análises independentes para cada valor de K, sem incorporar informações prévias sobre a origem geográfica dos indivíduos. Foi utilizado o modelo *admixture*, que é apropriado para populações que apresentaram ou ainda apresentam fluxo gênico em taxas suficientes para que os indivíduos possam ter ancestrais de mais de uma população. Também foi utilizado o modelo de frequências alélicas correlacionadas, pois este é mais eficiente em detectar populações distintas que são estreitamente relacionadas (Porrás-Hurtado *et al.*, 2013; Falush *et al.*, 2003). Os resultados foram baseados em 500.000 interações no período "burn in" e 2.000.000 para MCMC (Markov chain Monte Carlo). Para escolher o número real de populações, utilizamos o valor  $\Delta K$  (Evanno *et al.*, 2005) estimado por meio do programa Structure Harvester (Earl & vonHoldt, 2012).

Para determinar a diferenciação populacional foi executada uma AMOVA – Análise da Variância Molecular baseada em  $R_{ST}$  através do programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). O índice de fixação  $F_{ST}$  quantifica o efeito da subdivisão populacional (Wright, 1921), já o índice  $R_{ST}$  (Slatkin, 1995) é semelhante ao  $F_{ST}$ , porém, assume um modelo de mutação progressiva (SMM), refletindo com mais precisão o padrão de mutação de microssatélites, sendo mais apropriado para análises que utilizam esses marcadores moleculares (Balloux & Lugon-Moulin, 2002). O software foi utilizado ainda para calcular a diferenciação entre as localidades por meio de comparações pareadas, utilizando tanto  $F_{ST}$  quanto  $R_{ST}$ . Para essas comparações foi aplicada a correção de Bonferroni (Rice, 1989). A significância dos valores encontrados para AMOVA e para os índices foi testada utilizando 10.000 permutações.

A dispersão desviada pelo sexo foi testada no software F<sub>STAT</sub> 2.9 (Goudet, 2002) através de cinco medidas diferentes:  $F_{IS}$ ,  $F_{ST}$ , parentesco, média e variância do

*Assignment Index*. Para esse teste foram considerados 86 indivíduos (46 fêmeas e 40 machos), pois três indivíduos amostrados não tiveram o sexo determinado. A significância dos testes foi calculada usando-se 10.000 permutações. O sexo que mais dispersa tende a apresentar valor positivo de  $F_{IS}$ , entretanto, menores do que o valor do sexo filopátrico, assim como os valores de parentesco e  $F_{ST}$  tendem a serem mais baixos nos indivíduos migrantes (Lampert *et al.*, 2003). O *Assignment Index* calcula a probabilidade de cada genótipo ser representado na população amostrada. Indivíduos residentes devem ter valores positivos enquanto indivíduos imigrantes possuem valores negativos. Sendo assim, a média desse índice deve ser maior no sexo filopátrico, enquanto que a variância deve ser maior no sexo que mais dispersa (Goudet *et al.*, 2002).

Estimativas dos níveis globais de fluxo gênico foram calculadas através do método dos alelos privados (Barton & Slatkin, 1986) no software Genepop 4.4 (Rousset, 2008) e estimativas pareadas das localidades foram calculadas através dos valores de  $F_{ST}$  no programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010).

## **RESULTADOS**

### **Diversidade Genética**

O *locus* mais variável foi Cavy 6 com 35 alelos, seguido por Cavy 9 com 28 alelos. Os *loci* com menor variação foram Cavy 5 com 11 alelos e Cavy 8 com 12 alelos (Tab. 2). Nas populações, o número médio de alelos por *locus* variou de 10.44 no Leonídio a 6.33 na Quitéria, e o número total de alelos observados variou de 94 a 57 nessas mesmas localidades (Tab. 2). O número total de alelos para todos os *locus* e populações foi de 192.

Alelos nulos foram encontrados no *locus* Cavy 8 na localidade Leonídio e no *locus* Cavy 13 na localidade Torotama. Desequilíbrio de ligação foi encontrado apenas entre os *loci* Cavy 5 e Cavy 8 na localidade Leonídio (incluindo correção de Bonferroni). Desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg foram encontrados em 2 *loci* nas populações Leonídio, Torotama e Barra e em 1 *locus* na população Marinheiros, após correção de Bonferroni (Tab. 3).

**Tabela 2.** Diversidade genética de nove *loci* microssatélites em *Cavia magna* nas seis localidades amostradas.

Locus	Marinheiros (n=20)			Leonídio (n=17)			Torotama (n=14)			Quitéria (n=9)			Barra (n=15)			Parobé (n=14)			N <sub>TA</sub>
	N <sub>A</sub>	Â <sub>P</sub>	Â	N <sub>A</sub>	Â <sub>P</sub>	Â	N <sub>A</sub>	Â <sub>P</sub>	Â	N <sub>A</sub>	Â <sub>P</sub>	Â	N <sub>A</sub>	Â <sub>P</sub>	Â	N <sub>A</sub>	Â <sub>P</sub>	Â	
Cavy1	7	1	5.93	10	2	7.86	9	0	7.77	5	0	5.00	9	0	7.09	7	0	6.12	22
Cavy3	6	2	4.80	11	2	9.13	5	1	4.63	5	0	5.00	13	2	10.44	9	1	7.89	24
Cavy5	5	0	4.74	7	0	5.96	4	0	3.98	4	0	4.00	5	0	4.44	8	0	6.55	11
Cavy6	12	1	8.39	15	4	10.53	8	0	6.33	8	2	8.00	9	1	7.71	12	3	9.72	35
Cavy8	1	0	1.00	11	2	9.19	5	0	4.64	6	1	6.00	1	0	1.00	1	0	1.00	12
Cavy9	10	0	7.79	8	1	6.33	9	0	7.85	7	0	7.00	11	1	9.17	11	2	8.69	28
Cavy11	6	0	5.33	11	1	8.81	9	1	8.04	5	1	5.00	11	3	9.29	6	0	5.29	20
Cavy13	3	0	2.95	12	2	10.04	9	4	8.59	8	2	8.00	3	0	2.58	4	0	3.64	18
Cavy16	11	4	7.09	9	0	7.63	8	0	6.68	9	0	9.00	7	0	6.53	8	1	6.77	22
<b>Total</b>	61	8		94	14		66	6		57	6		69	7		66	7		
<b>Média</b>	6.78	0.89	5.34	10.44	1.56	8.39	7.33	0.67	6.50	6.33	0.67	6.33	7.67	0.78	6.47	7.33	0.78	6.19	
<b>DP</b>	3.67	1.36	2.34	2.35	1.24	1.57	2.06	1.32	1.72	1.73	0.87	1.73	4.00	1.09	3.20	3.39	1.09	2.65	

Tamanho amostral (n), número de alelos observados (N<sub>A</sub>), número de alelos privados (Â<sub>P</sub>), riqueza alélica (Â), número total de alelos por *locus* (N<sub>TA</sub>) e desvio padrão (DP).

Dos nove *loci* de microssatélites analisados, oito revelaram-se polimórficos para todas as populações (Cavy 1, Cavy 3, Cavy 5, Cavy 6, Cavy 9, Cavy 11, Cavy 13 e Cavy 16), enquanto Cavy 8 mostrou-se monomórfico para três das seis populações estudadas (Tab. 3).

Em geral, os níveis de variabilidade genética encontrados foram relativamente altos. A heterozigidade média observada nas populações foi elevada variando de 0.79 (Torotama) a 0.62 (Marinheiros), e semelhantes aos valores de heterozigidade esperada (diversidade genética), que variaram de 0.87 (Leonídio) a 0.67 (Marinheiros) (Tab. 3). A riqueza alélica variou de 8.39 na população Leonídio a 5.34 na Marinheiros (Tab. 2). Alelos privados foram exibidos por todas as populações analisadas, das quais, Leonídio apresentou o maior número (14 alelos privados), enquanto Torotama e Quitéria apresentaram o menor número (6 alelos privados) (Tab. 2).

**Tabela 3.** Heterozigidade observada ( $H_O$ ) e heterozigidade esperada ( $H_E$ ) para nove *loci* de microssatélites em *Cavia magna* nas seis localidades analisadas no estudo.

Locus	Marinheiros		Leonídio		Torotama		Quitéria		Barra		Parobé	
	$H_O$	$H_E$	$H_O$	$H_E$	$H_O$	$H_E$	$H_O$	$H_E$	$H_O$	$H_E$	$H_O$	$H_E$
Cavy 1	0.666*	0.790	0.705*	0.869	1.000	0.867	0.555	0.738	0.800*	0.832	0.857	0.820
Cavy 3	0.631	0.731	0.882	0.907	0.642	0.777	0.555	0.745	1.000*	0.925	0.846	0.873
Cavy 5	0.550	0.715	0.625	0.780	0.714	0.743	0.666	0.738	0.533	0.733	0.857	0.809
Cavy 6	0.750	0.883	0.882	0.909	0.785	0.753	1.000	0.875	0.733	0.873	0.928	0.917
Cavy 8	Monomórfico		0.705	0.894	0.571	0.788	0.666	0.810	Monomórfico		Monomórfico	
Cavy 9	0.900	0.865	0.882	0.823	0.857	0.854	1.000	0.862	1.000	0.901	0.928	0.878
Cavy 11	0.842	0.783	0.823	0.894	0.928*	0.894	0.555	0.803	0.800	0.912	0.615	0.707
Cavy 13	0.550	0.544	0.800*	0.926	0.692*	0.913	0.888	0.895	0.333	0.296	0.642	0.706
Cavy 16	0.750	0.800	0.764	0.873	0.928	0.820	0.888	0.901	0.800	0.848	0.714	0.828
Média	0.627	0.679	0.785	0.875	0.791	0.823	0.753	0.819	0.667	0.702	0.710	0.726
SD	0.264	0.273	0.093	0.046	0.147	0.062	0.191	0.067	0.327	0.328	0.290	0.282

\*Valores significativos de  $P$  para desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg, após correção de Bonferroni ( $p < 0,0009$ ).

Os valores de  $F_{IS}$  considerando todos *loci* foram positivos em todas as localidades (Tab. 4). O teste que indica a ocorrência de gargalos populacionais mostrou valores significativos nos dois modelos de mutação utilizados apenas na localidade Quitéria (SMM  $p=0.018$ ; TPM  $p=0.004$ ) (Tab. 4).

**Tabela 4.** Coeficiente de endocruzamento ( $F_{IS}$ ) e teste para ocorrência de gargalos populacionais em *Cavia magna* nas seis localidades estudadas.

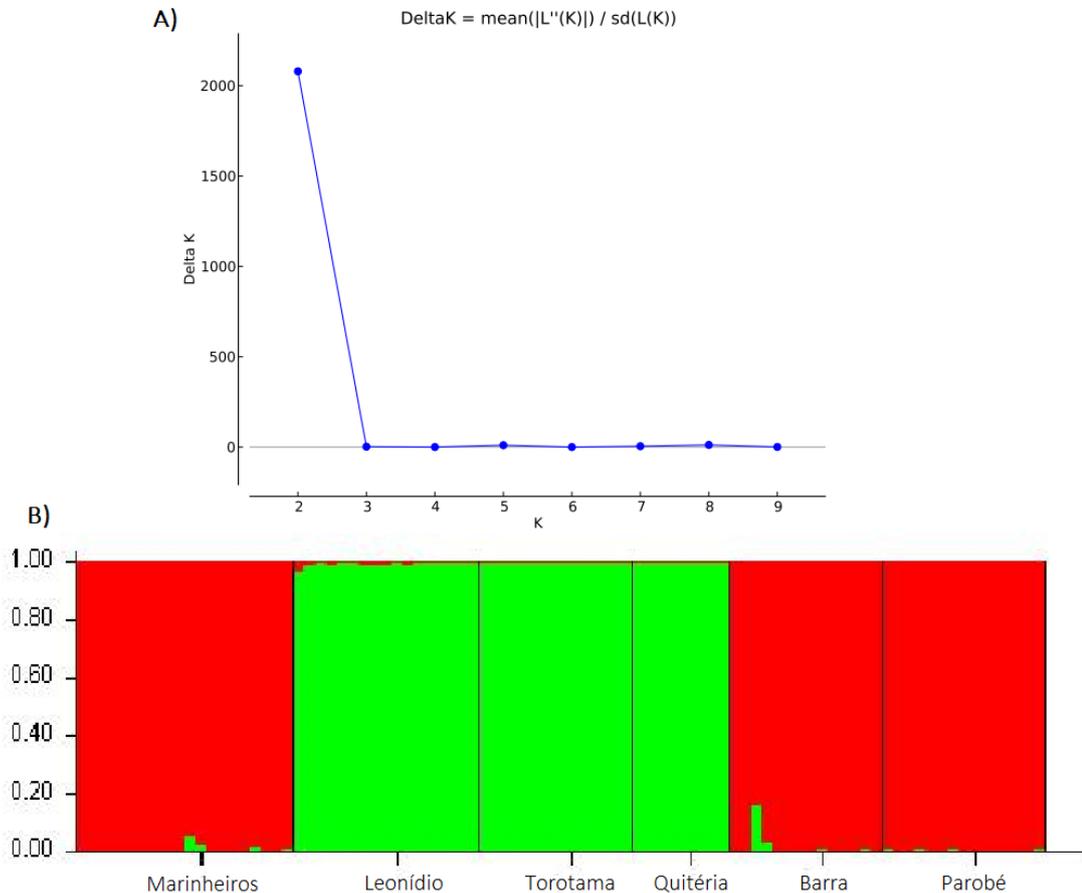
Localidade	$F_{IS}$	Gargalos populacionais*	
		SMM	TPM
Marinheiros	0.079	0.843	0.472
Leonídio	0.105	0.500	0.285
Torotama	0.041	0.179	0.179
Quitéria	0.085	0.018	0.004
Barra	0.053	0.371	0.320
Parobé	0.024	0.843	0.769

\*Valores de  $P$  para o Teste de Wilcoxon, no qual foram utilizados os modelos de mutação SMM e TPM.

### Estrutura e diferenciação populacional

As análises realizadas no programa Structure demonstraram maior valor de  $\Delta K$  para a existência de duas populações geneticamente distintas ( $K=2$ ), que foi considerado como o número real de agrupamentos (Fig. 2). Os indivíduos insulares da localidade Marinheiros, bem como os indivíduos continentais dos sítios amostrais

Barra e Parobé constituem uma única população (Fig. 2B, em vermelho). A outra população é formada por indivíduos das ilhas Leonídio e Torotama e indivíduos continentais da localidade Quitéria (Fig. 2B, em verde).



**Figura 2.** Estrutura populacional de *Cavia magna* em seis localidades na planície costeira do RS. A) Gráfico com valores de  $\Delta K$  realizado no software Harvester. B) Gráfico da análise Bayesiana realizada no software Structure baseada em nove *loci* microssatélites. Cada indivíduo é representado por uma linha vertical e cada unidade genética é representada por uma cor.

Os valores de  $F_{ST}$  e  $R_{ST}$  revelaram níveis reduzidos, moderados e elevados de diferenciação nas comparações pareadas entre as localidades. Dentre os valores de  $R_{ST}$ , não houve diferença significativa após correção de Bonferroni ( $p > 0,003$ ) entre as localidades Marinheiros e Barra, Marinheiros e Parobé, Leonídio e Quitéria, Torotama e Quitéria, Parobé e Barra. Todos os valores de  $F_{ST}$  foram significativos ( $p < 0,003$ ) (Tab. 5). Tais resultados revelam o mesmo padrão apresentado pelo agrupamento Bayesiano realizado no Structure.

**Tabela 5.** Comparações pareadas dos índices de fixação  $F_{ST}$  (acima da diagonal) e  $R_{ST}$  (abaixo da diagonal) entre as populações de *Cavia magna* amostradas.

	Marinheiros	Leonídio	Torotama	Quitéria	Barra	Parobé
Marinheiros	0	0.173*	0.195*	0.203*	0.177*	0.133*
Leonídio	0.424*	0	0.059*	0.063*	0.147*	0.134*
Torotama	0.462*	0.154*	0	0.064*	0.186*	0.166*
Quitéria	0.398*	0.107 <sup>ns</sup>	0.052 <sup>ns</sup>	0	0.192*	0.171*
Barra	0.129 <sup>ns</sup>	0.462*	0.484*	0.430*	0	0.079*
Parobé	0.049 <sup>ns</sup>	0.442*	0.490*	0.410*	0.020 <sup>ns</sup>	0

ns = valor de  $P$  não significativo após correção de Bonferroni ( $p > 0,003$ ).

\*Valor de  $P$  significativo após correção de Bonferroni ( $p < 0,003$ )

Tendo em vista os valores de  $F_{ST}$  e  $R_{ST}$  nas comparações pareadas, bem como, os resultados obtidos no teste de estrutura populacional no software Structure, AMOVA foi realizada considerando 2 cenários: Cenário 1 - todas as populações constituindo um único grupo; e Cenário 2 - subpopulações agrupadas em 2 grupos/metapopulações (Grupo 1: Leonídio, Torotama e Quitéria; Grupo 2: Marinheiros, Barra e Parobé). Os resultados da AMOVA utilizando os dados do índice  $R_{ST}$  mostram que no primeiro cenário a variação interpopulacional foi de 34.32%. Já no segundo cenário, no qual as populações locais foram agrupadas, a variação intergrupar foi de 38.57%. Todos os valores de  $R_{ST}$  foram significativos ( $p < 0,001$ ), revelando que houve diferenciação genética e a mesma foi mais elevada no cenário 2 ( $R_{ST}=0.444$ ) do que no cenário 1 ( $R_{ST}=0.343$ ) (Tab. 6).

**Tabela 6.** Análise da variância molecular de nove *loci* microssatélites em *Cavia magna* para dois cenários distintos. Cenário 1 = todas as populações em um único grupo; e Cenário 2 = Grupo 1 – Leonídio, Torotama e Quitéria. Grupo 2 – Marinheiros, Barra e Parobé.

Porcentagem de Variação			
	Cenário 1		Cenário 2
Interpopulacional	34.32**	Intergrupar	38.57**
		Interpopulacional (dentro dos grupos)	5.89*
Intrapopulacional	65.67**	Intrapopulacional	55.53**
Índice de fixação	$R_{ST}=0.343$	Índice de fixação	$R_{ST}=0.444$

\* $p < 0.001$ ; \*\* $p < 0.00001$ ; Os valores são baseados em 10000 permutações.

## Dispersão e fluxo gênico

Ao testar se a dispersão era tendenciosa em relação ao sexo (*Sex-biased dispersal*), as cinco medidas utilizadas indicaram que as fêmeas tendem a dispersar mais (fêmeas exibem valores de  $F_{IS}$ ,  $F_{ST}$  e parentesco mais baixos do que os machos, além de apresentarem valores negativos na média e maior variância do *Assignment Index*). Porém, nenhum dos testes utilizados apresentou diferenças significativas entre fêmeas e machos ( $F_{IS} p= 0.19$ ,  $F_{ST} p= 0.89$ , Parentesco  $p=0.82$ , Média  $p=0.70$  e Variância do *Assignment Index*  $p=0,73$ ) (Tab. 7).

**Tabela 7.** Teste para dispersão desviada pelo sexo em *Cavia magna*.

	<i>n</i>	$F_{IS}$	$F_{ST}$	Parentesco	<i>Assignment Index</i>	
					Média	Variância
Fêmeas	46	0.049	0.132	0.225	-0.162	963.002
Machos	40	0.081	0.162	0.264	0.186	742.801
<i>p</i>		0.19 <sup>ns</sup>	0.89 <sup>ns</sup>	0.82 <sup>ns</sup>	0.70 <sup>ns</sup>	0.73 <sup>ns</sup>

ns = valores de *P* não significativos para os testes realizados.

A estimativa do número de migrantes calculada, a partir do método que considera os alelos privados, resultou em um valor de 1,12 migrantes por geração, após correção para o tamanho da amostra. Em relação as estimativas de fluxo gênico pareadas entre as localidades, as taxas de migração variaram localmente, sendo que o valor mais elevado foi de 3.97 migrantes por geração entre Torotama e Leonídio, enquanto que o valor mais reduzido foi de 0.97 migrantes por geração entre Marinheiros e Quitéria (Tab. 8).

**Tabela 8.** Estimativas pareadas de fluxo gênico de *Cavia magna* entre as seis localidades estudadas, com base nos valores de  $F_{ST}$ .

	Leonídio	Torotama	Quitéria	Barra	Parobé
Marinheiros	1.19	1.03	0.97	1.15	1.62
Leonídio	0	3.97	3.71	1.44	1.61
Torotama		0	3.60	1.09	1.25
Quitéria			0	1.05	1.20
Barra				0	2.89

## DISCUSSÃO

### Diversidade genética

*Cavia magna* exibiu altos níveis de variabilidade genética nos *loci* microssatélites analisados. O número de alelos e a heterozigosidade observada foram elevados, semelhantes aos obtidos para a mesma espécie por Kanitz (2009). Os valores de diversidade genética não variaram consideravelmente entre os sítios amostrais (Tab. 2 e 3). Os *loci* analisados foram polimórficos em todos os sítios amostrais, exceto o *locus* Cavy 8, que se mostrou monomórfico em Marinheiros, Barra e Parobé, revelando a fixação de um alelo nessas populações.

Estudos com marcadores microssatélites realizados no mesmo gênero detectaram valores elevados de variação genética em *C. magna* e *C. aperea*, coletadas no norte do Uruguai e no sul do Brasil (Kanitz *et al.*, 2009), assim como, variação moderada em três linhagens comerciais de *C. porcellus* na Colômbia (Burgos-Paz *et al.*, 2011). Contudo, foram registrados baixíssimos índices de diversidade genética em *C. intermedia*, espécie endêmica das Ilhas Moleques do Sul, cuja população provavelmente esteja isolada nesta ilha há pelo menos 8.000 anos (Kanitz, 2009).

Testes do Equilíbrio de Hardy-Weinberg revelaram a ocorrência de desvios significativos entre a proporção de heterozigotos observada e esperada para quatro *loci* (Cavy 1, Cavy 3, Cavy 11 e Cavy 13) em quatro das populações estudadas (Marinheiros, Leonídio, Torotama e Barra). Exceto em dois casos, todos os desvios foram causados por déficit de heterozigotos nas populações. A deficiência de heterozigotos pode ser explicada por quatro fatores: seleção agindo sob o *locus*; presença de alelos nulos, que levam a uma falsa observação de excesso de homozigotos; ocorrência de endocruzamentos; e a presença de subestrutura populacional, causando o efeito Wahlund (Murray, 1996). Desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg no *locus* Cavy 13 na população Torotama podem ter sido causados pela presença de alelos nulos, contudo, para os demais casos essa hipótese deve ser rejeitada, logo, os desvios podem ser explicados pelos demais fatores acima mencionados. Desequilíbrio de ligação foi detectado entre um par de *loci* na população Leonídio. Tais desequilíbrios diminuem com a segregação e recombinação, assim, são mais comumente observados quando esses eventos são

raros, ou seja, entre *loci* intimamente ligados (Baird, 2015). Porém, outros estudos com esses *loci* de *Cavia* (*C. magna* e *C. aperea*) não mostraram desequilíbrio de ligação (Kanitz *et al.*, 2009), sendo pouco provável que a ligação seja causada pela proximidade nos cromossomos. Tais desequilíbrios podem estar sendo gerados pela introdução de genes de outras populações, estocasticamente e por seleção epistática (Barton, 2011; Baird, 2015).

Os valores encontrados para o coeficiente de endocruzamento demonstram que as populações estudadas de *C. magna* exibem propensão à ocorrência de cruzamentos entre indivíduos geneticamente relacionados. Kraus *et al.* (2003) observou uma população de *C. magna* que apresentou sistema de acasalamento promíscuo (ou poliginiândrico). Enquanto Santos (2013), descreve uma população de *C. magna* que sistema de acasalamento poligínico sem defesa de fêmeas. Ambos os sistemas descritos para a espécie podem favorecer a ocorrência de cruzamento entre indivíduos aparentados. Esses cruzamentos podem levar ao aumento da proporção de homozigotos em todos os *loci* e podem diminuir a diversidade genética de uma população em consequência da redução da heterozigosidade. Endocruzamentos são uma preocupação potencial porque o aumento da homozigosidade acarreta a expressão de um maior número de alelos recessivos deletérios, causando declínio na aptidão dos descendentes (Freeland *et al.*, 2011; Nielsen *et al.*, 2012; Allendorf *et al.*, 2013).

O teste que indica a ocorrência de gargalos populacionais não detectou evidência de mudanças recentes no tamanho efetivo das populações, exceto para a população da Quitéria. Essa é uma das localidades mais perturbadas pelas intervenções humanas, apresentando residências em todo seu entorno, com frequente trânsito de veículos e pessoas. Além disso, essa população exibiu escassas marcas de herbivoria, trilhas e fezes (observação pessoal) deixadas pelas cavias e foi o sítio amostral com menor sucesso de captura, embora o número de armadilhas utilizadas e o tempo médio de permanência tenha sido semelhante ao dos outros sítios. Todos esses aspectos corroboram com o resultado do teste, indicando que a população pode ter passado por eventos de redução.

Em todo caso, algumas questões relacionadas aos gargalos populacionais, à espécie e ao ambiente devem ser debatidas. Primeiramente, um gargalo genético pode ocorrer na ausência de um gargalo demográfico, quando existem poucos indivíduos de um sexo, devido à razão entre os sexos ser desviada ou por exibir um

sistema de acasalamento poligínico (ou poliândrico) (Luikart *et al.*, 1998). O sistema de acasalamento poligínico foi evidenciado para *C. magna* em um estudo anterior (Santos, 2013) e poderia produzir ou agir com o gargalo populacional, contribuindo para o padrão observado apenas na população menor. Em segundo lugar, *C. magna* está exposta à alta pressão de predação, que em algumas circunstâncias pode levar as populações desse roedor ao declínio (Kraus *et al.*, 2003; Kraus & Rodel, 2004; Kraus *et al.*, 2005; Adrian & Sachser, 2011). Além disso, a espécie ocorre na orla costeira, vivendo na borda de lagoas e em áreas alagadas, e considerando a instabilidade e a crescente atividade antrópica nesses ambientes, está susceptível a variações demográficas repentinas.

Em contrapartida, cabe ressaltar que a espécie exibe um uso não-estacionário ou nômade do espaço, caracterizado pela mudança gradual na área de vida. Esse comportamento evita a deterioração do habitat, como o aumento no nível da água, e busca recursos, provavelmente grama fresca em áreas secas (Kraus *et al.*, 2003; Adrian & Sachser, 2011). Adicionalmente, os recém-nascidos de *C. magna* são os mais precoces entre os filhotes de mamíferos. Essa estratégia reduz a mortalidade dos indivíduos jovens e pode ser justificada pela instabilidade dos ambientes habitados pela espécie. (Kraus *et al.*, 2003; Kraus *et al.*, 2005). As características das populações de *Cavia* mencionadas podem ter contribuído com a aparente estabilidade demográfica observada nas populações que não demonstraram evidências da ocorrência de gargalos populacionais.

### **Estrutura e diferenciação populacional**

Os resultados obtidos na análise Bayesiana indicam a presença de estruturação genética em *C. magna*. As localidades amostradas constituem duas populações geneticamente distintas.

A primeira população é formada pelos indivíduos dos sítios continentais e contíguos Barra e Parobé e pelos indivíduos da Ilha dos Marinheiros. Tendo em vista o contexto geológico atual, esse resultado foi inesperado, já que a Ilha dos Marinheiros é bastante isolada do continente e se considerarmos a distância geográfica, ela encontrada mais próxima de Rio Grande do que de São José do Norte (ver Fig.1). Entretanto, durante o período Pleistoceno, o acesso de comunicação da Laguna dos Patos com o Oceano Atlântico se localizava na parte mais ao sul, contornando a Ilha dos Marinheiros, que fazia parte da barreira III e era ligada a São

José do Norte, em um cordão litorâneo que foi rompido pelo meandramento do canal da Laguna dos Patos (Corrêa *et al.*, 2004; Hallal *et al.*, 2014). A barreira geográfica é recente. No passado houve fluxo gênico entre as demes, o que faz com que elas compartilhem polimorfismos ancestrais e sejam indistintas geneticamente.

Já a segunda população é composta por indivíduos das ilhas Leonídio e Torotama e indivíduos do sítio continental adjacente Quitéria. Essas ilhas se formaram pelo depósito de sedimentos lagunares. São pouco isoladas, sendo separadas do continente apenas por pequenos canais que formam meandros na marisma de entorno. A localidade Quitéria encontra-se na orla costeira da Laguna dos Patos e em uma localização intermediária entre as duas ilhas acima mencionadas. Sendo assim, a disruptura na paisagem que separa o sítio continental dos dois sítios insulares não representa uma barreira ao fluxo gênico das populações de *C. magna*.

Contudo, há uma clara evidência de que a Laguna dos Patos representa uma barreira ao fluxo gênico entre as populações de *C. magna* que se encontram ao norte da sua desembocadura (considerando que a Ilha dos Marinheiros no passado fez parte dessa porção) daquelas que se encontram ao sul. Esses resultados revelam congruência entre a estruturação genética das populações de *C. magna* e a evolução geológica da planície costeira.

Em concordância, o mesmo padrão foi exibido ao utilizar os índices  $F_{ST}$  e  $R_{ST}$  para testar a diferenciação entre as localidades. Em geral, os valores mostraram diferenciação genética reduzida ou não significativa entre os sítios Marinheiros, Barra e Parobé, e entre os sítios Torotama, Leonídio e Quitéria.

Com relação aos índices utilizados, cabe ressaltar que embora o  $R_{ST}$  assuma um modelo de mutação progressiva (SMM), e esse parece ser o modelo de mutação aceito para os *loci* microssatélites, existem várias controvérsias quanto ao modelo a ser utilizado, pois nenhum deles parece se ajustar perfeitamente a todos os microssatélites (Balloux & Lugon-Moulin, 2002). Slatkin (1995) sugere a comparação destes valores, se o modelo mutacional SMM se aplicar melhor aos *loci* microssatélites utilizados, os valores de  $R_{ST}$  serão maiores do que os de  $F_{ST}$ . Contudo, a melhor alternativa seria comparar criticamente os valores de cada índice e a situação analisada, visando obter informações mais adequadas a respeito da estruturação genética da população estudada (Balloux & Lugon-Moulin, 2002).

Como nesse estudo os valores de diferenciação genética exibidos pelo índice  $R_{ST}$  foram consideravelmente maiores do que os do  $F_{ST}$  e mostraram-se mais

apropriados e informativos, de acordo com o contexto analisado, optamos por utilizar apenas os valores do índice  $R_{ST}$  na análise da variância molecular.

A AMOVA dos microsatélites, considerando as seis populações amostradas e sem formação de agrupamentos (Cenário 1), revelou uma variação relativamente elevada distribuída entre as populações. Entretanto, quando as localidades estudadas foram agrupadas em duas metapopulações (Cenário 2), a variação entre as metapopulações foi bastante elevada, enquanto que a variação entre as populações locais foi reduzida, revelando que as mesmas compartilham alelos, corroborando com os resultados obtidos na análise Bayesiana.

### **Dispersão e fluxo gênico**

A dispersão exerce um importante papel na manutenção da diversidade genética. Contudo, muitas espécies de vertebrados exibem diferenças nas taxas de dispersão entre machos e fêmeas (Prugnolle & de Meeus, 2002). Em nosso estudo, não foram encontradas evidências significativas de que a dispersão é desviada pelo sexo entre as localidades amostradas, porém, os valores dos testes utilizados indicam uma tendência da dispersão ser mais frequente em fêmeas de *C. magna* do que em machos. Um resultado semelhante foi encontrado no roedor *Octodon degus* (Quirici *et al.*, 2010). A não significância das diferenças entre machos e fêmeas pode ter sido causada pelo pequeno tamanho amostral ( $\text{♀} = 46$  e  $\text{♂} = 40$ ), sendo necessárias amostragens mais abrangentes de *C. magna* para esclarecer a questão.

Em geral, a melhor previsão de dispersão sexo assimétrica deriva do sistema de acasalamento da espécie. Os mamíferos, em sua grande maioria, apresentam sistemas poligínicos ou promíscuos, logo, as fêmeas frequentemente representam o sexo filopátrico, enquanto os machos tendem a ser o sexo que mais dispersa (Greenwood, 1980; Dobson, 1982; Lawson Handley & Perrin, 2007). Porém, em espécies de mamíferos que vivem em grupos onde há várias fêmeas reprodutoras, a dispersão das fêmeas ocorre e está fortemente associada ao risco do genitor de uma fêmea estar reprodutivamente ativo em seu grupo quando ela atingir a maturidade reprodutiva e acontecer cruzamento entre eles, sugerindo que a dispersão fêmea desviada evoluiu para minimizar os prejuízos oriundos do endocruzamento (Lukas & Clutton-Brock, 2011). Os filhotes de *C. magna* nascem precoces e começam a reproduzir cedo, sendo que as fêmeas têm um potencial para amadurecer e conseguir conceber com aproximadamente um mês de idade (Kraus *et al.*, 2005; Trillmich *et*

al., 2006). Assim, o cruzamento entre uma fêmea e seu genitor pode acontecer, o que justificaria a possível ocorrência de dispersão entre as fêmeas.

A taxa de migração obtida ( $N_e m = 1.12$ ) e o número elevado de alelos privados nas populações locais (variação de seis a 14 alelos exclusivos) sugerem a ocorrência de níveis moderados de fluxo gênico entre as demes. As taxas de migração variaram localmente como consequência da estrutura populacional e da descontinuidade na paisagem, assim, entre algumas populações houve fluxo gênico mais intenso, como entre Torotama e Quitéria, Quitéria e Leonídio, Quitéria e Torotama, Parobé e Barra, enquanto que entre outras populações o fluxo gênico foi reduzido, como entre Marinheiros e Quitéria, Marinheiros e Torotama, Barra e Quitéria.

Conforme Mills & Allendorf (1996) no mínimo um e no máximo dez migrantes por geração são necessários para minimizar a perda da heterozigosidade nas subpopulações e reduzir a diferenciação genética entre as populações locais. Assim, os valores encontrados entre as populações estudadas pode, em algumas circunstâncias, ser insuficiente para manter a diversidade genética.

### **Contribuição dos dados para a conservação da espécie**

*Cavia magna* é considerada vulnerável no Rio Grande do Sul (FZB, 2013) e apresenta características intrínsecas que a tornam susceptível ao declínio de suas populações, como distribuição geográfica restrita (Ximenez, 1980; Oliveira & Bonvicino, 2006), altas pressões de predação (Kraus *et al* 2003; Kraus & Rodel, 2004; Adrian & Sachser 2011), além disso, tem sido impactada por perturbações antrópicas. No presente, as zonas costeiras têm experienciado um enorme avanço das atividades humanas insustentáveis. Por viver em ambientes costeiros e estar estritamente associada a áreas alagadas, a espécie é prejudicada principalmente por intervenções que se referem à drenagem de banhados para a criação de gado e agricultura, aterro de áreas úmidas para a expansão imobiliária e portuária, introdução da silvicultura de espécies exóticas em detrimento da manutenção de seus habitats, supressão de formações vegetais nativas e corredores verdes de habitats favoráveis que conectam as populações (Marangoni & Costa, 2009).

Além disto, por causa da percepção geral negativa das pessoas em relação aos roedores, dificilmente estas espécies são vistas como importantes alvos de conservação; ao contrário, são frequentemente lembradas como vetores de doenças e causadoras de impactos diretos ou indiretos sobre as culturas e terras agriculturáveis.

Embora algumas espécies de roedores estejam entre os principais alvos de conservação de mamíferos (como *C. intermedia*, por exemplo), de modo geral não existem planos de ação formais ou pesquisas de longa duração dedicadas a estes roedores (Alves & Brito, 2013).

As populações analisadas neste estudo apresentaram altos níveis de diversidade genética, contudo, observamos uma tendência para ocorrência de endocruzamentos, estruturação populacional e níveis moderados de fluxo gênico entre as populações locais. Esses últimos padrões somados as características peculiares da espécie, a eventos de destruição, fragmentação e alteração dos habitats e à caça intensiva podem ocasionar reduções drásticas ou isolamento das populações em pequenas manchas de habitats propícios e com isso, causar a perda de variabilidade genética, o que torna a espécie susceptível à extinção.

Assim, a gestão do ambiente costeiro precisa ser amplamente planejada e debatida, considerando as características e necessidades das espécies o habitam e priorizando a conservação da biodiversidade frente ao desenvolvido desenfreado e insustentável.

### **Referências bibliográficas**

Adrian, O; Sachser, N. 2011. Diversity of social and mating systems in caviés: a review. *Journal of Mammalogy*, 92:39–53.

Allendorf, FW; Luikart, GH; Aitken, SN. 2013. Conservation and the genetics of populations. Wiley–Blackwell. 2. ed. 602 p.

Alves, DMCC; Brito, D. 2013. Priority mammals for biodiversity conservation in Brazil. *Tropical Conservation Science*, 6(4): 558–583.

Asmus, ML. 1998. A planície costeira e a lagoa dos Patos. In: Seeliger, U; Odebrecht, C; Castello, J.P. Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil. Rio Grande: Ecoscientia. p. 9 – 12.

Baird, SJE. 2015. Exploring linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Resources*, 15: 1017–1019.

Balloux, F; Lugon-Moulin, N. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 11: 155–165.

Barton, NH. 2011. Estimating linkage disequilibria. *Heredity*, 106: 205– 206.

- Barton, NH; Slatkin, M. 1986. A quasi-equilibrium theory of the distribution of rare alleles in a subdivided population. *Heredity*, 56:409–415.
- Berthier, K; Galan, M; Foltete, JC; Charbonnel, N; Cosson, JF. 2005. Genetic structure of the cyclic fossorial water vole (*Arvicola terrestris*): landscape and demographic influences. *Molecular Ecology*, 14:2861–2871.
- Bilton, DT; Freeland, JR; Okamura, B. 2001. Dispersal in freshwater invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematic*, 32: 159–181.
- Boutin-Ganache, I; Raposo, M; Raymond, M; Deschepper, CF. 2001. M13-tailed primers improve the readability and usability of microsatellite analyses performed with two different allele sizing methods. *Biotechniques*, 31:24-28.
- Burger, MI; Ramos, RA. 2006. Áreas importantes para conservação na Planície Costeira do Rio Grande do Sul. In: Becker, FG; Ramos, RA; Moura, LA (org.). Biodiversidade. Regiões da Lagoa do Casamento e dos Butiazais de Tapes, planície costeira do Rio Grande do Sul. Ministério do Meio Ambiente. Brasília: MMA / SBF. p. 46 – 56.
- Burgos-Paz, W; Cerón-Muñoz, M; Solarte-Portilla, C. 2011. Genetic diversity and population structure of the Guinea pig (*Cavia porcellus*, Rodentia, Caviidae) in Colombia. *Genetics and Molecular Biology*, 34 (4): 711–718.
- Clark, RW; Brown, WS; Stechert, R; Zamudio, KR. 2008. Integrating individual behaviour and landscape genetics: the population structure of timber rattlesnake hibernacula. *Molecular Ecology*, 17: 719–730.
- Corrêa, ICS; Aliotta, S; Weschenfelder, J. 2004. Estrutura e Evolução dos Cordões Arenosos Pleistocênicos no Canal de Acesso à Laguna dos Patos-RS, Brasil. *Revista Pesquisas em Geociências*, 31 (2): 69–78.
- Costa, D; Timmermansb, MJTN; Sousa, JP; Ribeiro, R; Roelofs, D; Van Straalend, NM. 2013. Genetic structure of soil invertebrate populations: collembolans, earthworms and isopods. *Applied Soil Ecology*, 68:61– 66.
- Dobson, FS. 1982. Competition for mates and predominant juvenile male dispersal in mammals. *Animal Behaviour*, 30: 1183–1192.
- Dunnum, JL; Salazar-Bravo, J. 2010. Molecular systematics, taxonomy and biogeography of the genus *Cavia* (Rodentia:Caviidae). *Journal of Zoological and Evolutionary Research*, 48: 376–388.
- Earl, DA; vonHoldt, BM. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4: 359–361.
- Evanno, G; Regnaut, S; Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611–2620.

Excoffier, L; Lischer HEL. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564–567.

Falush, D; Stephens, M; Pritchard, JK. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164(4):1567–87.

Frankham, R. 2005. Genetics and extinction. *Biological Conservation*, 126: 131–140.

Frankham, R. 2010. Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. *Biological Conservation*, 143:1919–1927.

Freeland, JR; Kirk, H; Petersen, S. 2011. *Molecular ecology*. 2nd ed. Wiley-Blackwell. 244 p.

FZB. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul. Consulta pública: avaliação do estado de conservação de espécies da Fauna do RS - 2012/2013. 2013. Disponível em: <<http://www.liv.fzb.rs.gov.br>>.

Gannon, WL; Sikes, RS. 2007. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy*, 88:809–823.

Goudet, J. 2002. FSTAT(version 2.9.3.2): a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Lausanne: University of Lausanne, Department of Ecology & Evolution. Disponível em: <<http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.html>>.

Greenwood, PJ. 1980. Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal Behaviour*, 28: 1140–1162.

Hallal, GP; Tagliani, CRA; Calliari, L; Figueiredo, SA. 2014. Sedimentologia das areias de São José do Norte, Ilha dos Marinheiros e Cassino como suporte para a evolução geomorfológica recente da região inferior do estuário da Lagoa dos Patos. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Oceanologia). Instituto de Oceanologia. Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.

Hanski, I. 1998. Metapopulation dynamics. *Nature*, 396:41–49.

Hartl, DL; Clark, AG. 2010. *Princípios de genética de populações*. Porto Alegre: Artmed. 4. ed. 660p.

Kanitz, R. 2009. Diversidade genética em espécies do gênero *Cavia* (Rodentia, Mammalia) e a história evolutiva do raro preá de Moleques do Sul. Dissertação de mestrado. Faculdade de Biociências. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

Kanitz, R; Trillmich, F; Bonatto, SL. 2009. Characterization of new microsatellite loci for the South-American rodents *Cavia aperea* and *C. magna*. *Conservation*

Genetics Resources, 1:47–50.

Kraus, C; Künkele, J; Trillmich, F. 2003. Spacing behaviour and its implications for the mating system of a precocial small mammal: an almost asocial cavy *Cavia magna*? *Animal Behaviour*, 66:225–238.

Kraus, C; Rodel, HG. 2004. Where have all the covies gone? Causes and consequences of predation by the minor grison for a wild cavy population. *Oikos*, 105:489–500.

Kraus, C; Trillmich, F; Künkele, J. 2005. Reproduction and growth in a precocial rodent. *Journal of Mammalogy*, 86: 763–772.

Lampert, KP; Rand, AS; Mueller, UG; Ryan, MJ. 2003. Fine-scale genetic pattern and evidence for sex-biased dispersal in the túngara frog, *Physalaemus pustulosus*. *Molecular Ecology*, 12: 3325 – 3334.

Lawson Handley, LJ; Perrin, N. 2007. Advances in our understanding of mammalian sex-biased dispersal. *Molecular Ecology*, 16: 1559–1578.

Levins, R. 1969. Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 15:237–240.

Luikart, G; Sherwin, WB; Steele, BM; Allendorf, FW. 1998. Usefulness of molecular markers for detecting population bottlenecks via monitoring genetic change. *Molecular Ecology*, 7:963–974.

Lukas, D; Clutton-Brock, TH. 2011. Group structure, kinship, inbreeding risk and habitual female dispersal in plural-breeding mammals. *Journal of Evolutionary Biology*, 24: 2624–2630.

Marangoni, JC; Costa CSB. 2009. Natural and anthropogenic effects on salt marsh over five decades in the Patos Lagoon (Southern Brazil). *Brazilian Journal of Oceanography*, 57:345–350.

Medrano, JF; Aasen, E; Sharrow, L. 1990. DNA extraction from nucleated red-blood cells. *Biotechniques*, 8: 43.

Mills, LS; Allendorf, FW. 1996. The-one-migrant-per-generation rule in conservation genetics and management. *Conservation Biology*, 10:1509–1518.

Murray, B. 1996. The Estimation of Genetic Distance and Population Substructure from Microsatellite allele frequency data. Disponível em: <http://helix.biology.mcmaster.ca/brent/brent.html>.

Nielsen, J; English, S; Goodall-Copestake, W; Wang, J; Walling, C; Bateman, AW; Flower, TP; Sutcliffe, RL; Samson, J; Thavarajah, NK; Kruuk, LEB; Clutton-Brock, TH; Pemberton, JM. 2012. Inbreeding and inbreeding depression of early life traits in a cooperative mammal. *Molecular Ecology*, 21: 2788–2804.

- Nimer, E. 1989. *Climatologia do Brasil*. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, 421 p.
- Oliveira, JA; Bonvicino, CR. 2006. Ordem Rodentia. In: Reis, NR; Perachi, AL; Pedro, WA; Lima, IP. (org.) *Mamíferos do Brasil*. Londrina: Universidade Estadual de Londrina. p. 347–406.
- Piry, S; Luikart, G; Cornuet, JM. 1999. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity*, 90: 502–503.
- Porras-Hurtado, L; Ruiz, Y; Santos, C; Phillips, C; Carracedo, A; Lareu, MV. 2013. An overview of STRUCTURE: applications, parameter settings, and supporting software. *Frontiers in genetics*, 4:98. doi: 10.3389/fgene.2013.00098.
- Pritchard, JK; Stephens, M; Donnelly, PJ. 2000. Inference of population Structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959.
- Prugnolle, F; de Meeus T. 2002. Inferring sex-biased dispersal from population genetic tools: a review. *Heredity*, 88, 161–165.
- Quirici, V; Faugeron, S; Hayes, LD; Ebensperger, LA. 2010. Absence of kin structure in a population of the group-living rodent *Octodon degus*. *Behavior ecology*, 22 (2): 248–254.
- Rapson, SA; Goldizen, AW; Seddon, JM. 2013. Gene flow in mongooses endemic to Namibia's granite inselbergs despite past climatic fluctuations and isolating landscape features. *Journal of Mammalogy*, 94: 218–230.
- Rice, WR. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43: 223–225.
- Ricklefs, RE. 2003. *A economia da natureza*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 5. ed. 503p.
- Rousset, P. 2008. Genepop'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour.* 8:103–106.
- Row, JR; Gomez, C; Koen, EL; Bowman, J; Murray, DL; Wilson, PJ. 2012. Dispersal promotes high gene flow among Canada lynx populations across mainland North America. *Conservation Genetics*, 13:1259–1268.
- Salvador, CH; Fernandez, FAS. 2008a. Population dynamics and conservation status of the insular cavy *Cavia intermedia* (Rodentia: Caviidae). *Journal of Mammalogy*, 89:721–729.
- Salvador, CH; Fernandez, FAS. 2008b. Reproduction and growth of a rare island-endemic Cavy (*Cavia intermedia*) from southern Brazil. *Journal of Mammalogy*, 89:909–915.

- Santos, E. 2013. Comportamento e organização social do preá *Cavia magna* (Rodentia: Caviidae). Tese de Mestrado. Instituto de Psicologia. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Schuelke, M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragment. *Nature Biotechnology*, 18: 233-234.
- Selliger, U; Cordazzo, C; Barcellos, L. 2004. Areias do Albardão: um guia ecológico e ilustrado do litoral no extremo sul do Brasil. Rio Grande: Ecocientia. 96p.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236: 787–792.
- Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and nonequilibrium populations. *Evolution*, 47:264–279.
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457–462.
- Spear, SF; Peterson, CR; Matocq, MD; Storfer, A. 2005. Landscape genetics of the blotched tiger salamander (*Ambystoma tigrinum melanostictum*). *Molecular Ecology*, 14: 2553–2564.
- Spielman, D; Brook, BW; Frankham, R. 2004. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 15261–21526.
- Stevens, VM; Verkenne, C; Vandewoestijne, S; Wesselingh, RA; Baguette, M. 2006. Gene flow and functional connectivity in the natterjack toad. *Molecular Ecology*, 15: 2333–2344.
- Talbot, B; Garant, D; Paquette, SR; Mainguy, J; Pelletier, F. 2012. Lack of Genetic Structure and Female-Specific Effect of Dispersal Barriers in a Rabies Vector, the Striped Skunk (*Mephitis mephitis*). *PLOS ONE*, 7: e49736.
- Tomazelli, LJ; Villwock, JA. 1996. Quaternary geological evolution of Rio Grande do Sul Coastal Plain, Southern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 68(3):373–382.
- Trillmich, F; Laurien-Kehnen, C; Adrian, A; Linke, S. 2006. Age at maturity in cavies and guinea-pigs (*Cavia aperea* and *Cavia aperea* f. *porcellus*): influence of social factors. *Journal of Zoology*, 268: 285–294.
- Van Oosterhout, C; Hutchinson, WF; Wills, DPM; Shipley, P. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4: 535–538.
- Villwock, JA; Tomazelli, LJ; Loss, EL; Dehnhardt, EA; Horn, NO; Bachi, FA; Dehnhardt, BA. 1986. Geology of the Rio Grande do Sul coastal province. In *Quaternary of South America and Antarctic Peninsula* (ed. J. Rabassa). p. 79–97.

Wright, S. 1921. Systems of mating. *Genetics*, 6: 111–178.

Ximenez, A. 1980. Notas sobre el género *Cavia* Pallas con la descripción de *Cavia magna* sp.n. (Mammalia-Caviidae). *Revista Nordestina de Biologia*, 3:145–179.

Young, BA; Schmidt, DJ; Sheldon, F. 2013. Small-scale patterns of genetic variation in a headwater specialist mayfly: No influence of selective forest harvesting on diversity. *Austral Ecology*, 38: 504–515.

Zhu, LF; Zhan, XJ; Meng, T; Zhang, SN; Wei, FW. 2010. Landscape features influence gene flow as measured by cost-distance and genetic analyses: a case study for giant pandas in the Daxiangling and Xiaoxiangling Mountains. *BMC Genetics*, 11: 72.

Zschokke, S; Armbruster, GFJ; Ursenbacher, S; Baur, B. 2011. Genetic differences between the two remaining wild populations of the endangered Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*). *Biological Conservation*, 144:2702–2709.