

Priorizando áreas para a conservação com base em Unidades Evolutivas Significativas (ESU)*

Para auxiliar no ensino de Genética da Conservação e Ecologia Molecular é proposta uma atividade que demonstra como uma metodologia baseada em estudos genéticos pode ser utilizada para avaliar quais populações de uma determinada espécie (ou mais de uma espécie) devem ser priorizadas em planos de conservação. A atividade pode ser utilizada como simulação de aula prática ou como uma atividade complementar à aula expositiva para alunos de ensino superior.

Núbia Esther de Oliveira Miranda^{1,2}; Eivaldo Barbosa de Almeida Júnior^{1,3}; Rosane Garcia Collevatti^{1,2}

¹ Laboratório de Genética & Biodiversidade, ICB, Universidade Federal de Goiás (UFG) Goiânia.

² Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, ICB, Universidade Federal de Goiás (UFG), Cx.P. 131, 74001-970, Goiânia

³ Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia

Autor para correspondência: rosanegc68@hotmail.com

*Material didático desenvolvido na disciplina de Genética da Conservação, coordenado pela Profa. Rosane Garcia Collevatti, do curso de graduação em Ecologia e Análise Ambiental do Departamento de Ecologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, como uma atividade do Estágio Docência (bolsistas CAPES/UFG) dos discentes dos Programas de Pós-graduação em Ecologia e Evolução e Genética e Melhoramento de Plantas.

Atividade proposta tem como função demonstrar como estudos genéticos fornecem informações importantes sobre a distribuição da diversidade genética do grupo foco de estudo. Aqui nós enfocamos como esse conhecimento, especialmente o que envolve a delimitação das **Unidades Evolutivas Significativas (ESU)**, pode ser utilizado na tomada de decisão sobre quais populações de uma espécie e sobre quais áreas, por conseguinte, devem ser priorizadas em planos de conservação. Nessa atividade, os alunos devem identificar as ESUs para cada um dos grupos estudados, relacioná-las com as áreas de onde as amostras são provenientes e propor, com base nos resultados encontrados, quais áreas devem ser priorizadas em um plano de conservação. Dessa forma, são trabalhados conceitos e métodos básicos de Genética da Conservação, Ecologia Molecular e Sistemática Filogenética.

PROBLEMA PROPOSTO

O objetivo geral da biologia da conservação é proteger a diversidade biológica e garantir a sua manutenção em face das ameaças causadas pelas atividades antrópicas. Porém, os recursos financeiros para conservação são escassos e raramente é possível preservar todas as populações de uma determinada espécie. O desafio é desenvolver critérios para a priorização, a escolha de áreas para conservação e as estratégias que assegurem a proteção de populações que são viáveis para permitir que as espécies sobrevivam e possam diversificar no futuro.

Assim, o conceito de Unidades Evolutivas Significativas (ESUs) (RYDER, 1986; WAPLES, 1991) propõe que populações isoladas reprodutivamente e, portanto, distintas geneticamente, e também com adaptações únicas devem ser priorizadas para a conservação. Devido à facilidade e à rapidez em obter dados genéticos moleculares e a dificuldade em obter dados de características adaptativas, e uma vez que as árvores filogenéticas representam a história evolutiva das linhagens das espécies, Moritz (1994) propôs definir ESUs como linhagens com divergência molecular significativa e, monofilia recíproca, para linhagens de DNA

mitocondrial. Cada ESU forma um **grupo monofilético**, ou seja, um grupo no qual estão inclusos todos os descendentes de um determinado ancestral. Esta definição implica que há restrição histórica ao fluxo gênico entre as populações e portanto, populações contendo linhagens monofiléticas devem ser priorizadas para a conservação. Desta forma, o critério para conservação deve levar em conta que regiões com alto ou maior número de ESUs de diferentes grupos são prioritárias para conservação.

No problema proposto nesta atividade, será considerada uma determinada região com oito fragmentos florestais remanescentes. A região será desmatada para implementação de um parque industrial. Como medida mitigadora, a empresa proprietária da indústria deverá investir na preservação de áreas florestais remanescentes. Em uma situação ideal todas deveriam ser conservadas. Entretanto, isso não é possível pela limitação de recursos financeiros e pelo uso alternativo da terra. Desta forma, é necessário efetuar um estudo sobre a diversidade biológica nos fragmentos de forma a estabelecer quais deverão permanecer como áreas de preservação permanente. Para isto, um grupo de pesquisadores foi contratado para fazer um estudo rápido de priorização baseado em cinco espécies de vertebrados de grupos taxonômicos distintos (uma espécie de morcego, uma de roedor, uma de ave, uma de lagarto e uma de anfíbio) e com requerimentos biológicos diferentes. Os pesquisadores também deveriam apresentar soluções de priorização alternativas para três diferentes possíveis cenários de conservação: 1º Cenário: conservação das 5 áreas; 2º Cenário: conservação de 3 áreas; 3º Cenário: conservação de apenas 2 áreas.

De acordo com essas metas, os pesquisadores decidiram utilizar o critério de ESUs de Moritz (1994) para conservação, efetuando um estudo genético molecular para cada grupo de vertebrado, utilizando sequências de regiões do genoma mitocondrial. Em cada área eles amostraram cinco indivíduos por espécie, perfazendo um total de 40 amostras por espécie. Cada área foi identificada por um número (1-8) e cada indivíduo por uma letra (A-E). A partir do DNA ob-

Grupo Monofilético é um **clado** que contém o ancestral comum e seus descendentes e não inclui linhagens de outros clados.

Clado é um agrupamento que inclui um ancestral comum e todos os seus descendentes (vivos e extintos). Os clados são representados de forma hierárquica, ou seja, clados menores estão aninhados em clados maiores.

Unidades Evolutivas Significativas (ESU) são populações que foram isoladas historicamente e, portanto, possuem história evolutiva distinta. Essas populações são geneticamente diferenciadas e possuem prioridade para manejo e conservação.

tido dos tecidos provenientes de cada indivíduo de cada espécie, regiões do DNA mitocondrial foram sequenciadas. As sequências obtidas foram analisadas obtendo-se como produto final árvores filogenéticas que traduzem graficamente as relações evolutivas entre os indivíduos amostrados para cada espécie (Painel 1). As árvores filogenéticas serviram de base para que os pesquisadores elaborassem um relatório no qual indicaram quais áreas seriam mais importantes de serem conservadas para cada um dos três cenários propostos.

Para determinar quais fragmentos conservar, para cada um dos três cenários, é preciso:

1. Analisar as árvores filogenéticas e identificar as Unidades Evolutivas Significativas (ESUs) para cada grupo taxonômico estudado;
2. Indicar no mapa dos fragmentos onde cada ESU ocorre para cada grupo taxonômico;
3. Comparar a ocorrência nos mapas das ESUs para cada grupo taxonômico e propor as áreas de conservação para cada um dos três cenários possíveis, com base nesta informação.

INSTRUÇÕES PARA O PROFESSOR

1. Esta atividade poderá ser realizada individualmente, ou em grupos de alunos de, no máximo, quatro pessoas.
2. Cada grupo deverá receber o problema proposto, uma cópia do procedimento para realizar a atividade, uma cópia de cada painel e das questões para serem discutidas.

É recomendável que o professor aplique esta atividade em turmas que já tiveram contato com os conceitos de sistemática filogenética e **marcadores moleculares**.

DISTRIBUIÇÃO DO MATERIAL AOS GRUPOS

Os recursos didáticos que deverão ser utilizados consistem em dois painéis, conforme

descrito a seguir e todos os grupos deverão receber uma cópia de cada painel (material do Apêndice):

- 1) Painel 1 – cladogramas contendo as relações evolutivas de cada espécie dos grupos animais estudados (morcego, roedor, ave, lagarto e anfíbio), mapas contendo as áreas de onde as amostras analisadas são provenientes;
- 2) Painel 2 – três mapas contendo as áreas de onde as amostras analisadas são provenientes e que devem ser utilizados na segunda parte da atividade.

PROCEDIMENTO PARA OS ESTUDANTES

1. Ler com atenção o problema proposto.
2. Analisar o Painel 1 – Árvores filogenéticas e mapas contendo as áreas de onde as amostras analisadas são provenientes. As áreas estão numeradas de 1 a 8 e os cinco indivíduos de cada espécie amostrada, em cada área, com letras de A a E.
 - a) Observar as árvores filogenéticas e identificar as Unidades Evolutivas Significativas (ESUs) para cada espécie. Lembrar-se de que cada ESU forma um grupo monofilético;
 - b) Identificar no mapa quais áreas (locais de onde as populações analisadas são provenientes) correspondem às ESUs encontradas em cada cladograma;
 - c) Atribuir cores diferentes a cada ESU e pintar as áreas no mapa correspondente a cada ESU com a mesma cor;
 - d) Atribuir números para as ESUs, por exemplo, ESU1, ESU2 etc;
 - e) Anotar na Tabela 1, para cada espécie, quais as áreas ocupadas pelas diferentes ESUs.
3. Utilizando os mapas do Painel 2 e com base nos resultados obtidos no passo anterior e transcritos para a Tabela 1, propor quais áreas deveriam ser preservadas de forma a maximizar o número de ESUs protegidos em três cenários distintos e justificar suas escolhas:

1º Cenário – poderá ser sugerida a conservação de 5 áreas;

2º Cenário – poderá ser sugerida a conservação de 3 áreas;

3º Cenário – poderá ser sugerida a conservação de apenas 2 áreas.

Nos mapas de cada cenário, indicar as áreas que devem ser protegidas, pintando-as.

ENTENDENDO A ATIVIDADE

Questão 1: As espécies foram igualmente contempladas em cada um dos cenários? Se não, indique quais foram mais con-

templadas em cada cenário e quais foram menos contempladas.

Questão 2: Como a biologia e os requerimentos específicos de cada espécie podem ter influenciado na quantidade de ESUs encontradas?

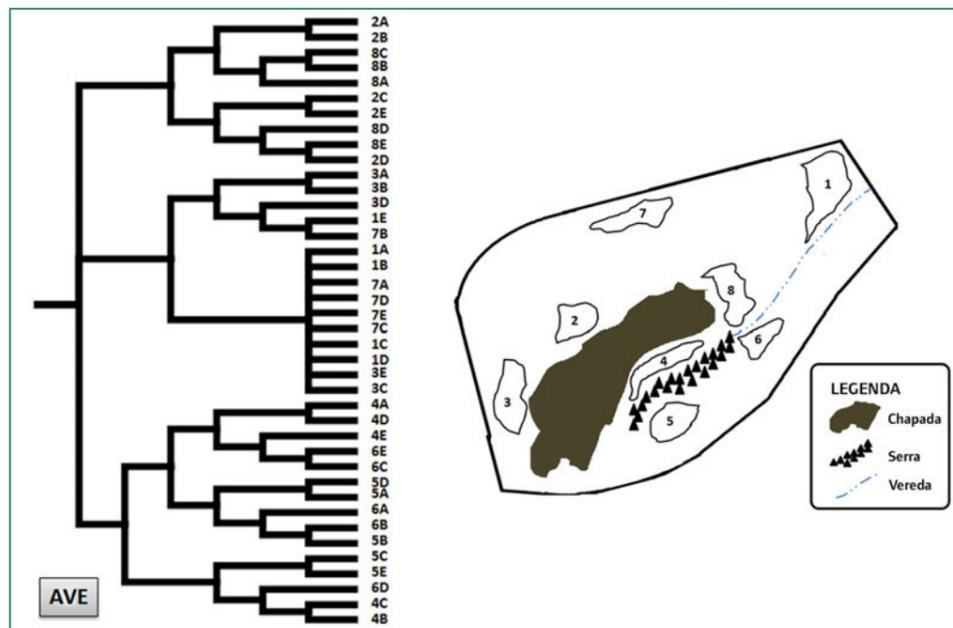
Questão 3: Como a paisagem na qual as áreas amostradas estão inseridas pode ter influenciado os resultados obtidos?

Questão 4: Qual a importância de considerar grupos tão diferentes na hora de propor áreas destinadas à conservação? Se fosse considerada apenas uma das espécies (por exemplo, o morcego) as propostas seriam muito diferentes?

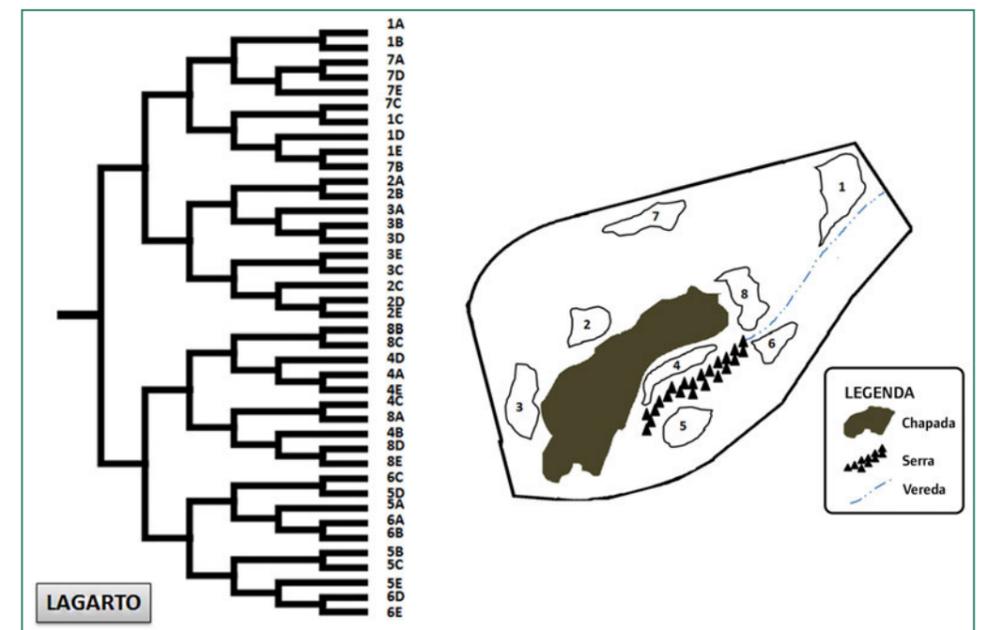
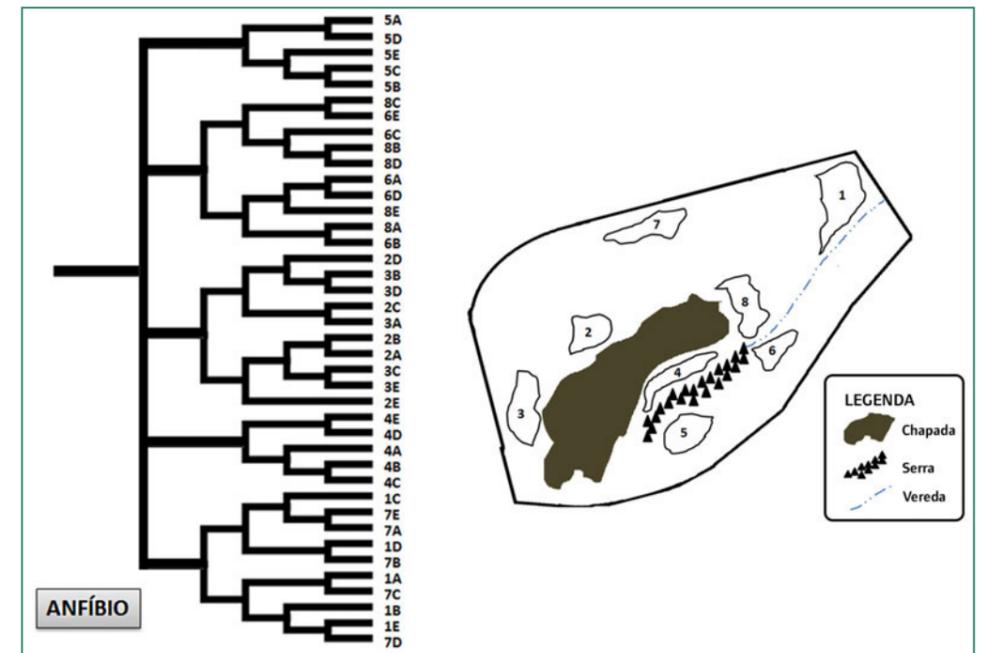
| ESU | Anfíbio | Ave | Lagarto | Morcego | Roedor |
|-----|---------|-----|---------|---------|--------|
| 1 | | | | | |
| 2 | | | | | |
| 3 | | | | | |
| 4 | | | | | |
| 5 | | | | | |

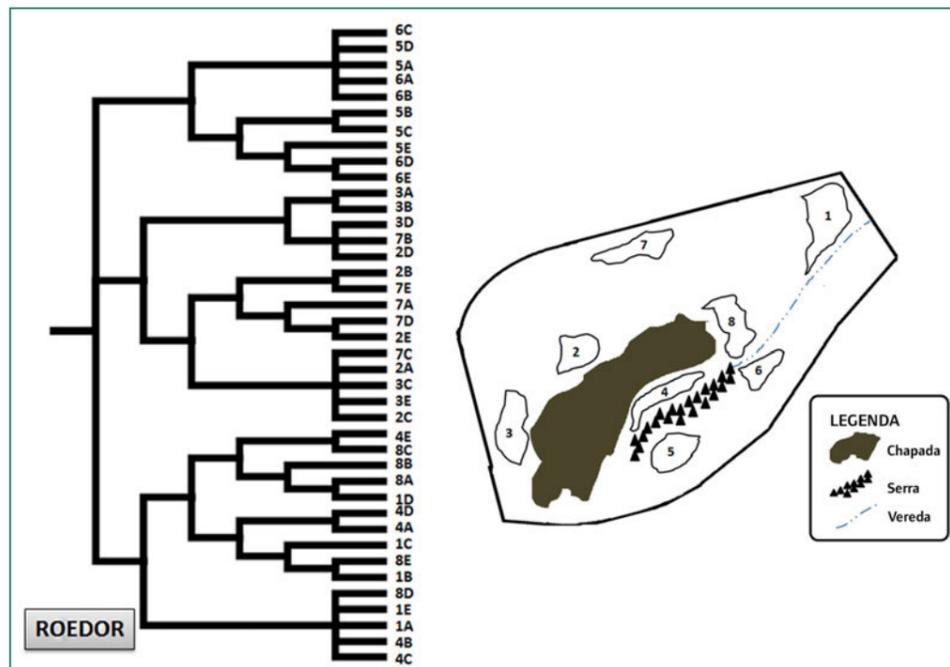
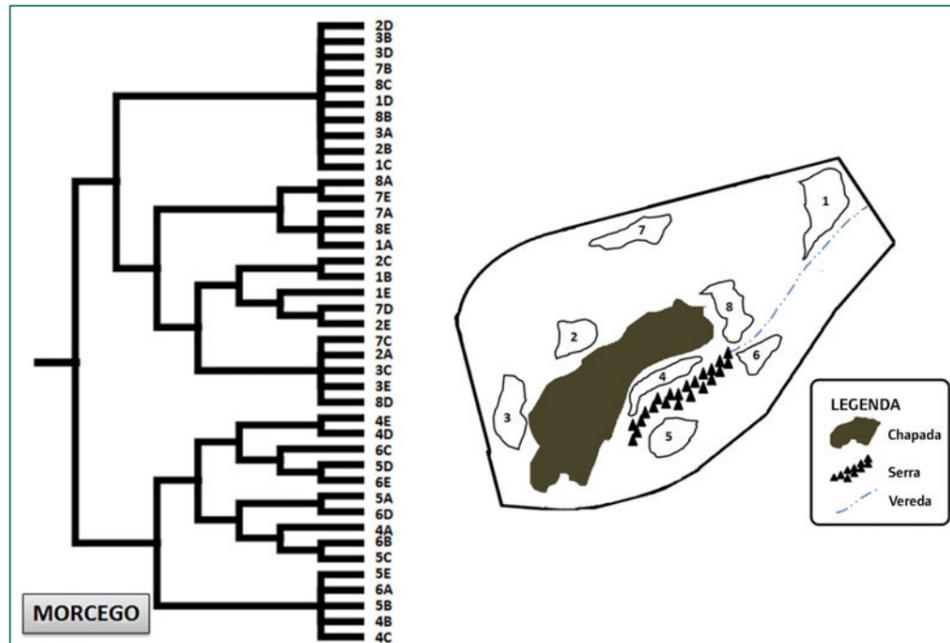
Tabela 1. Áreas contendo as Unidades Evolutivas Significativas de cada uma das espécies analisadas.

PAINÉIS



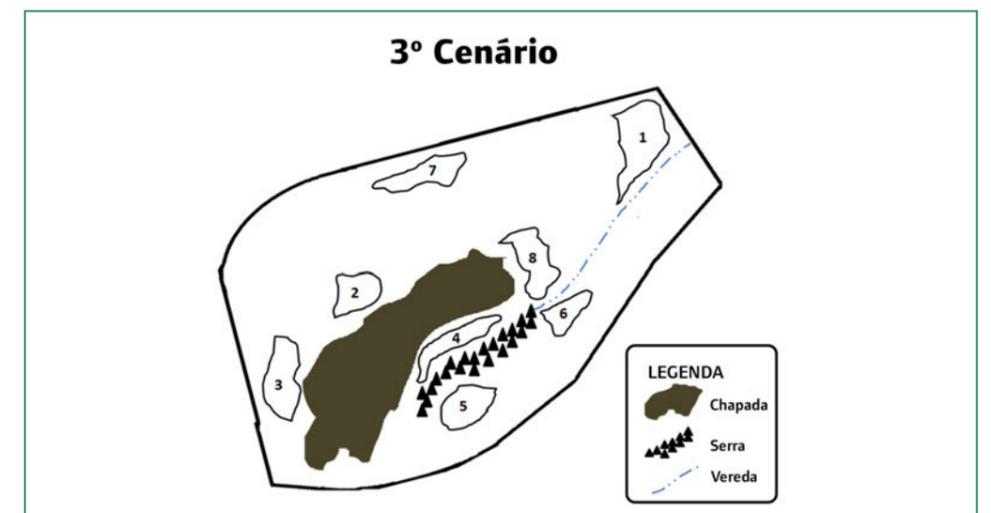
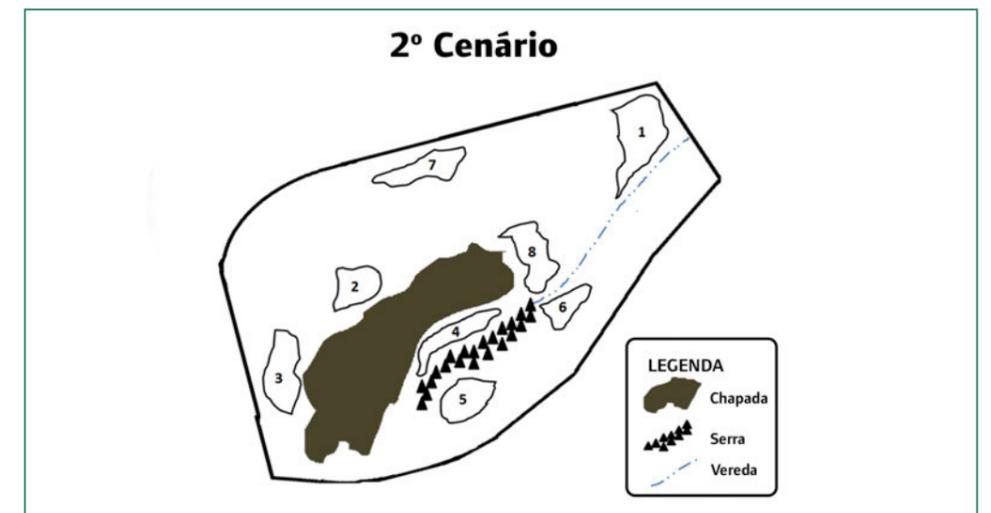
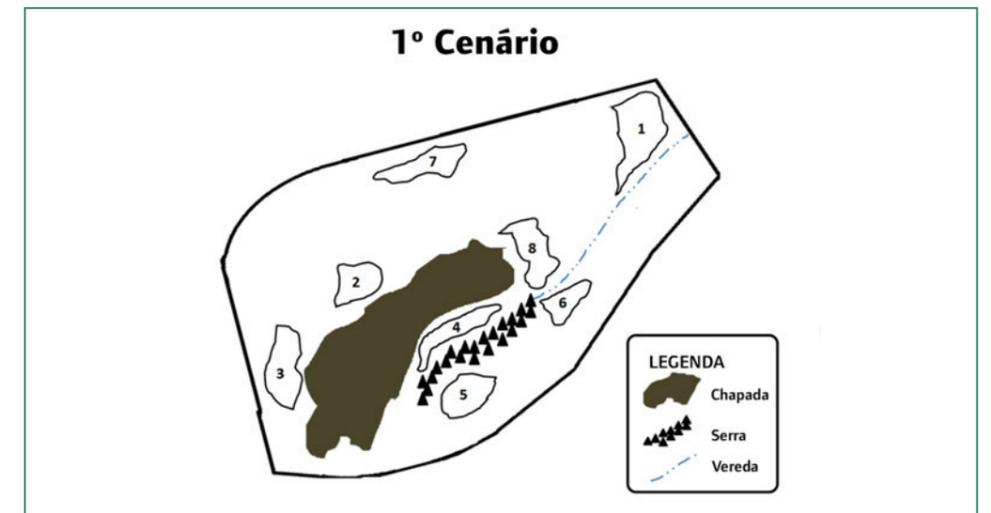
Painel 1. Árvores filogenéticas das diferentes espécies de vertebrados e mapas contendo as áreas de onde as amostras analisadas são provenientes.





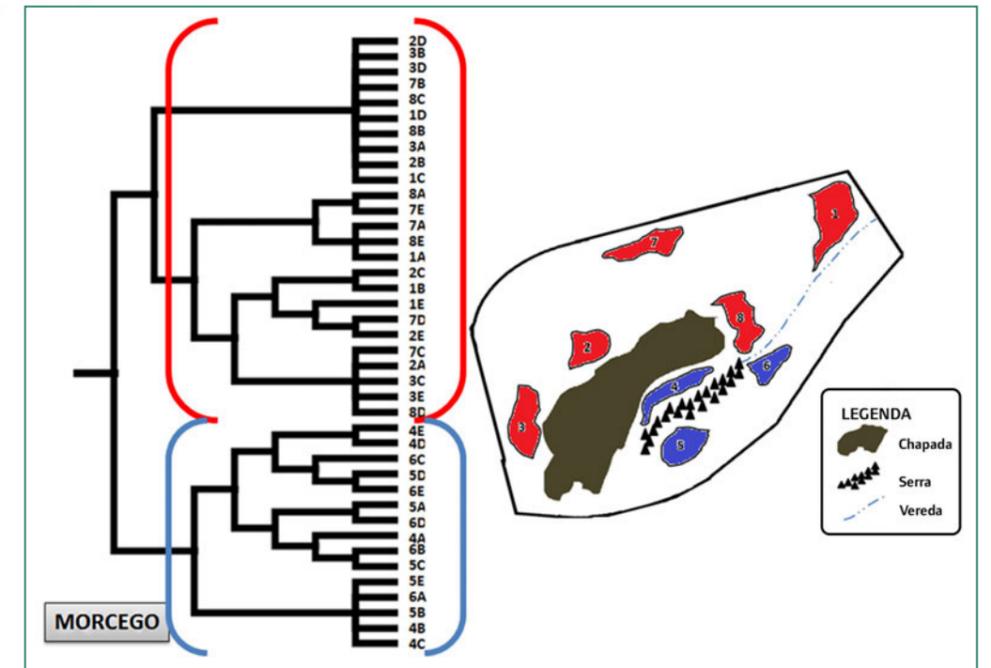
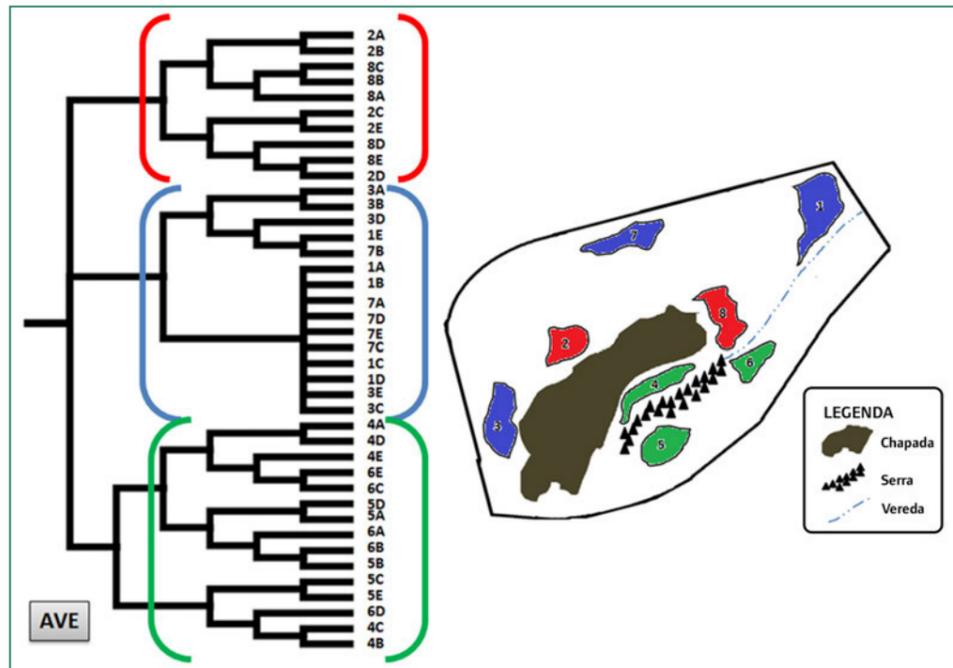
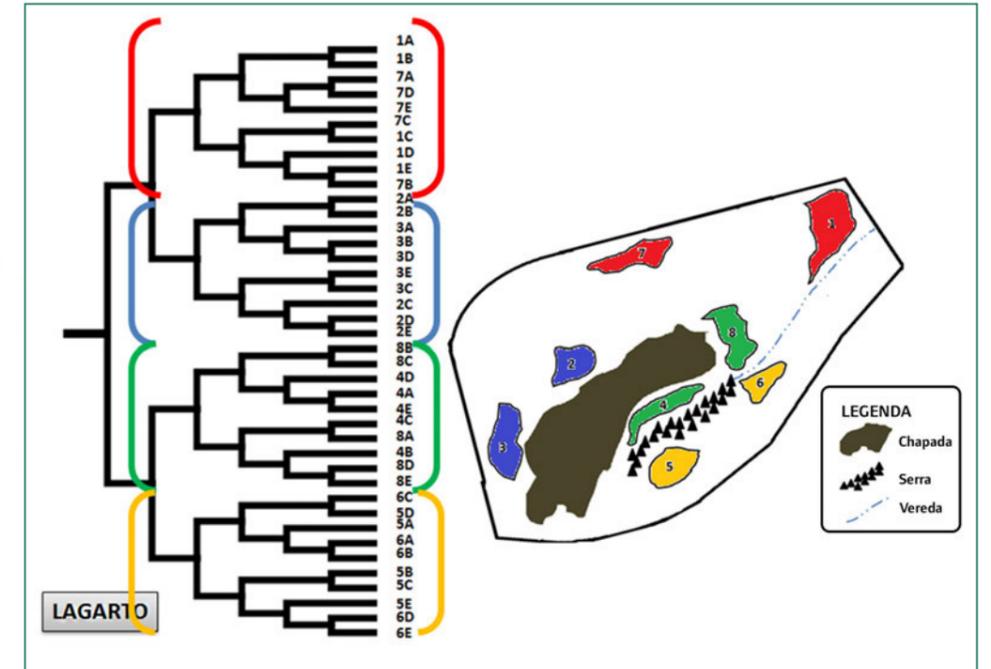
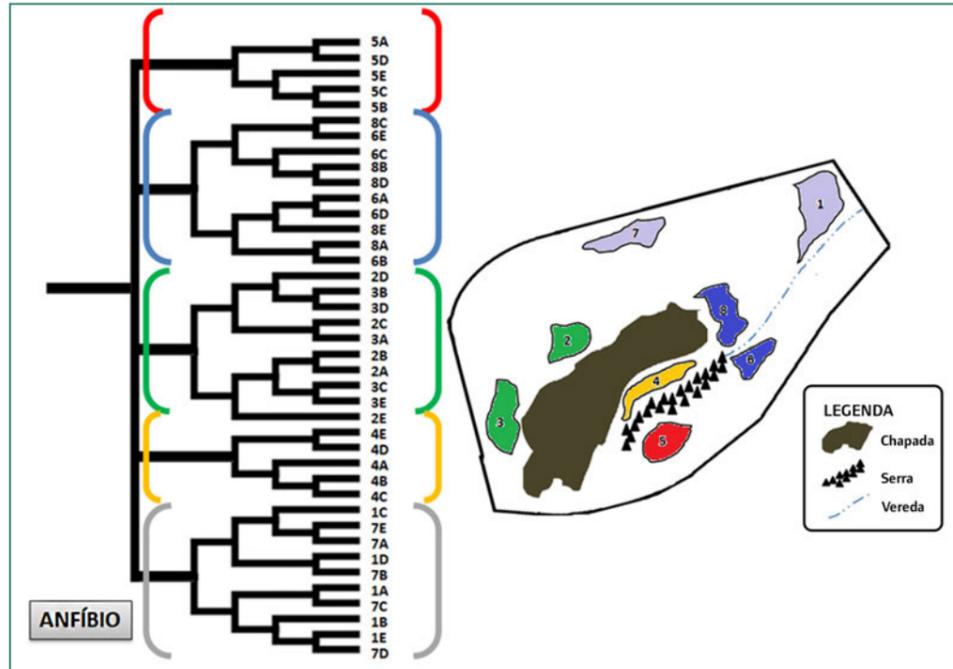
Painel 2.

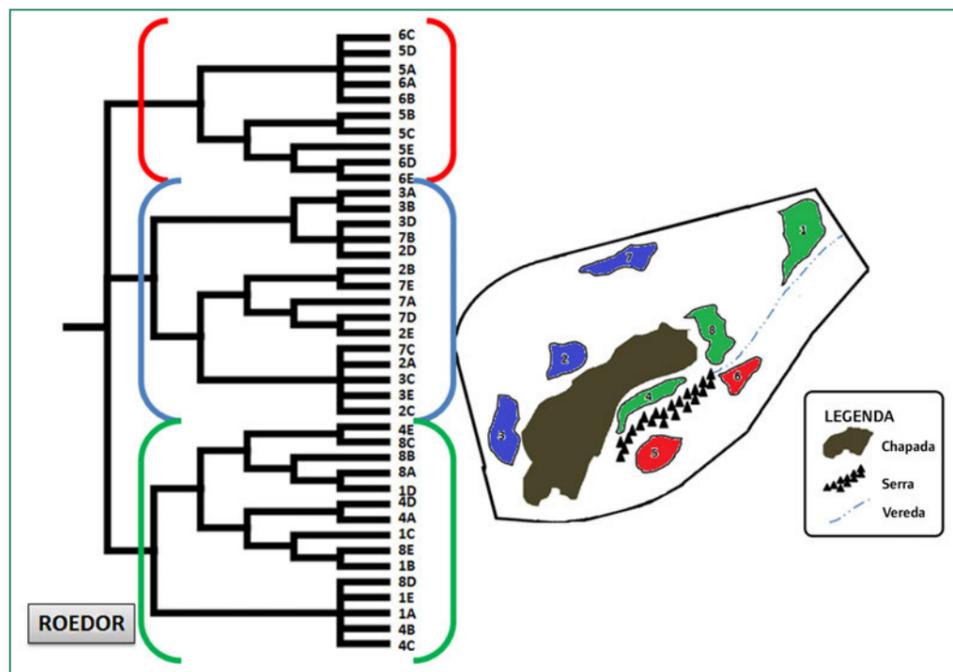
Mapas contendo as áreas de onde as amostras analisadas são provenientes para proposta dos diferentes cenários de priorização de conservação.



RESPOSTAS

Painel 1.
Identificação das ESUs e das áreas nos mapas.





Painel 2.

Propostas de áreas prioritárias para conservação para três cenários distintos e justificativa das escolhas:

Como no primeiro cenário foi possível selecionar cinco áreas, decidiu-se levar em consideração inicialmente a espécie de anfíbio que é o grupo que apresenta o maior número de ESUs (conforme pode ser observado na tabela acima). Neste caso o que precisamos então é garantir que pelo menos uma área correspondente a cada uma dessas ESUs esteja representada na proposta. Inicialmente, foram escolhidas as **Áreas 4 e 5** que representam ESUs únicas para o grupo, ou seja, contêm ESUs que não estão em nenhuma outra área. Selecionando estas duas áreas nós já conseguimos representar, além das duas ESUs para os anfíbios, uma ESU para ave, duas para o lagarto, uma para o morcego e duas para o roedor. Para selecionar as três áreas restantes basta analisar as demais ESUs encontradas para todos os grupos. Por exemplo, a Área 7 acrescenta ESUs diferentes para todos os grupos e tem muita redundância com a Área 1. Entretanto, a **Área 1** é maior e a ESU2 que falta para roedores poderá ser acrescentada com a escolha de outra Área, como a 3, por exemplo. Como para a maioria dos grupos a Área 6 possui ESUs em comum com as Áreas 4 e 5, e estas já foram selecionadas, pode-se descartar a Área 6 e selecionar a **Área 8**, que acrescenta ESUs diferentes pelo menos para anfíbios e aves. As Áreas 2 e 3 têm várias ESUs em comum. Qualquer escolha acrescenta a ESU que está faltando para anfíbios. Pode-se optar pela **Área 3** por ser maior que a Área 2. Qualquer escolha entre as Áreas 1 e 7 seria válida, e foi escolhida a 1 por ser maior. Assim, a escolha feita para o 1º Cenário foi **Áreas 1, 3, 4, 5 e 8**.

No segundo e no terceiro cenários a escolha de quais áreas preservar é mais difícil, uma vez que é preciso abrir mão de áreas (que deveriam ser protegidas) porque há limites impostos aos planos de conservação. A questão agora é procurar maximizar o número de ESUs conservadas para os diferentes grupos. Para o 2º Cenário, uma opção é conservar as Áreas 1, 2 e 3. Nesta opção, foram conservadas todas as ESUs de ave, morcego e roedor, e pelo menos 3 ESUs de anfíbio e lagarto e ainda conservamos o maior fragmento, Área 1. Assim, a escolha feita para o 2º Cenário foi **Áreas 1, 2 e 5**.

Para o 3º Cenário há muitas possibilidades. O importante é que não haja nenhuma redundância entre as Áreas escolhidas, para maximizar o número de ESUs conservadas. Uma boa opção é conservar as **Áreas 1 e 5**. A Área 1 é a maior e não há nenhuma redundância entre elas.

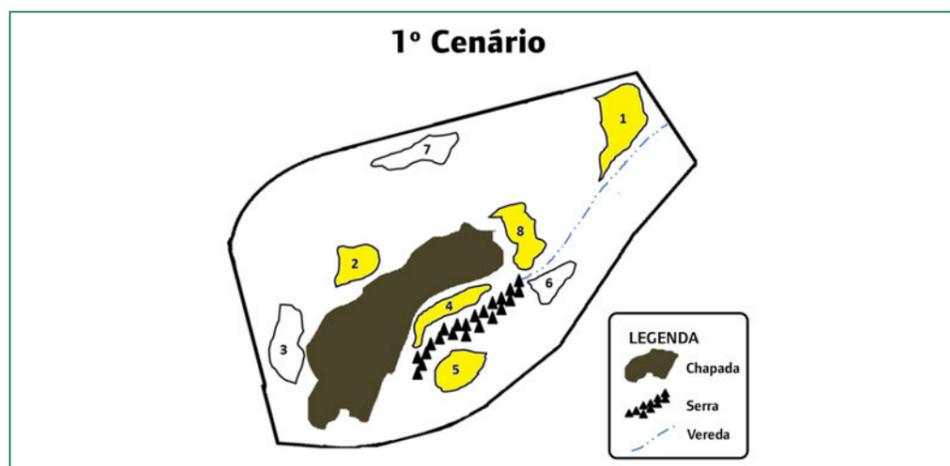
As respostas apresentadas representam alternativas. É importante ressaltar que outras respostas são igualmente aceitáveis, desde que as escolhas sejam justificadas apropriadamente. O objetivo é que o professor fomente discussões a esse respeito, ressaltando as dificuldades que devem ser superadas nas tomadas de decisões.

| Área | Anfíbio | Ave | Lagarto | Morcego | Roedor |
|------|---------|------|---------|---------|--------|
| 1 | ESU5 | ESU2 | ESU1 | ESU1 | ESU3 |
| 2 | ESU3 | ESU1 | ESU2 | ESU1 | ESU2 |
| 3 | ESU3 | ESU2 | ESU2 | ESU1 | ESU2 |
| 4 | ESU4 | ESU3 | ESU3 | ESU2 | ESU3 |
| 5 | ESU1 | ESU3 | ESU4 | ESU2 | ESU1 |
| 6 | ESU2 | ESU3 | ESU4 | ESU2 | ESU1 |
| 7 | ESU5 | ESU2 | ESU1 | ESU1 | ESU2 |
| 8 | ESU2 | ESU1 | ESU3 | ESU1 | ESU3 |

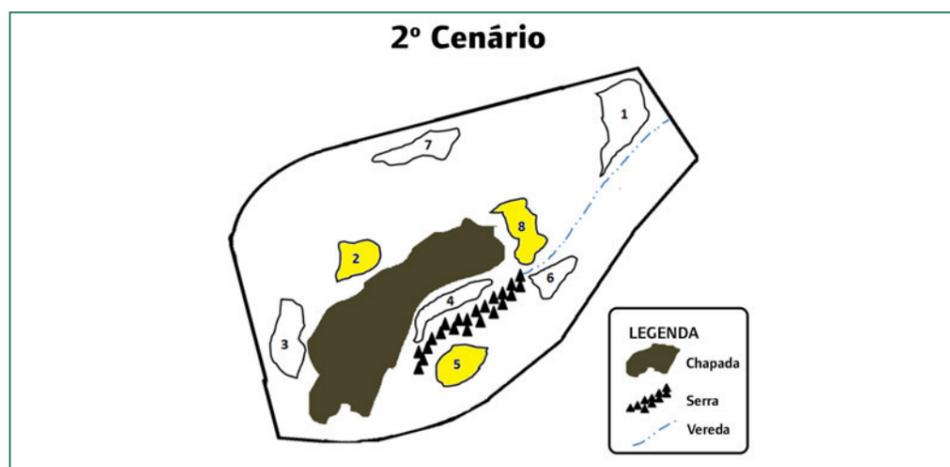
Tabela 1. Áreas contendo as Unidades Evolutivas Significativas de cada uma das espécies analisadas.



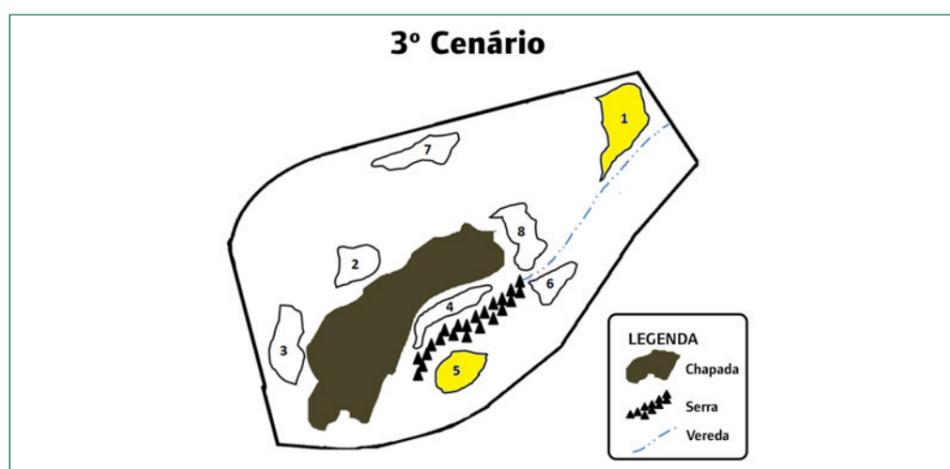
1º Cenário – sugerir a conservação de 5 áreas:



2º Cenário – sugerir a conservação de 3 áreas:



3º Cenário – sugerir a conservação de apenas 2 áreas.



Questão 1: A espécie de morcego foi a única contemplada em cada um dos cenários propostos, isso só foi possível pela homogeneidade entre suas populações que, por estarem em contato maior, são pouco diferenciadas e constituem apenas duas ESUs. Todas as demais, em menor ou maior grau, tiveram algumas de suas ESUs não preservadas a partir do segundo cenário. Apenas o primeiro cenário permitiu conservar todas as ESUs de todos os grupos estudados.

Questão 2: Um dos processos que contribuem para a formação das Unidades Evolutivas Significativas é o isolamento histórico entre as populações, comumente pelo estabelecimento de barreiras entre elas. A baixa ou praticamente inexistente troca de indivíduos entre populações separadas de uma mesma espécie, acaba tornando-as, ao longo do tempo, geneticamente diferenciadas, cada uma com uma história evolutiva bastante distinta. Assim, é fácil supor que as características biológicas de uma espécie irão ajudar a determinar como tal isolamento poderá acontecer. Os anfíbios, por serem animais menores e com capacidade de deslocamento reduzida, têm uma maior chance de apresentarem populações isoladas e bastante diferenciadas entre si e por isso foi o grupo para o qual encontrou-se o maior número de ESUs. Lagartos apresentam uma maior capacidade de deslocamento conseguindo manter uma troca de indivíduos, pelo menos entre as populações mais próximas, daí a quantidade de ESUs apresentadas por eles ser menor do que dos anfíbios, porém ainda maior do que o dos outros grupos. Roedores, aves e morcegos deslocam distâncias maiores e conseguem manter com mais sucesso um fluxo constante entre as populações, daí a menor quantidade de ESUs encontradas nestes grupos. É importante ressaltar que essa é uma perspectiva geral e que exceções podem ser encontradas em todos os grupos.

Questão 3: A paisagem influencia por estabelecer barreiras entre as populações, impedindo ou dificultando a troca de in-

divíduos entre elas. A paisagem na qual as populações amostradas neste exercício foram escolhidas inclui chapadas, serras e veredas, além, é claro, da própria distância entre os fragmentos. Os anfíbios não conseguem transpor serras e chapadas e por isso as populações presentes em lados opostos de cada uma dessas formações são bastante diferentes entre si. Roedores e lagartos podem ter sua locomoção limitada por corpos d'água, já as aves e morcegos, por voarem, conseguem ultrapassar algumas dessas barreiras e manter contato entre populações presentes em áreas tanto de lados opostos de algumas dessas formações, como também bastante distantes entre si.

Questão 4: A principal razão é que, ao serem considerados grupos tão diferentes, são propostos planos de conservação que englobam uma maior parcela da diversidade biológica. Espécies com requerimentos biológicos diferentes necessitam de ambientes diferentes e, levando todas em consideração, conseguiu-se estabelecer um plano mais abrangente. Isto fica muito claro ao se responder à segunda pergunta, afinal, se apenas a espécie de morcego fosse considerada neste exercício, os fragmentos escolhidos poderiam ser bastante diferentes. Para os morcegos isto não faria tanta diferença, já que sua diversidade estaria sendo preservada, mas para qualquer uma das outras espécies (especificamente as analisadas), a escolha das áreas seria arbitrária e poderia ser muito prejudicial por, provavelmente, não contemplar todas as unidades evolutivas significativas de cada uma delas.

REFERÊNCIAS

- MORITZ, C. Defining 'evolutionary significant units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 9, p. 373-375, 1994.
- RYDER, O. A. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 1, p. 9-10, 1986.
- WAPLES, R. S. Pacific Salmon, *Oncorhynchus* spp. & the definition of 'species' under the endangered species act. *Marine Fisheries Reviews*, v. 53, p. 11-22, 1991.