

# Construção de um banco de marcadores genéticos do tipo microssatélites para *Salvator merianae*

Gustavo Henrique Silva Santos<sup>1</sup>, Laura Verrastro Vinas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biociências – Departamento de Zoologia, UFRGS

santosghs@gmail.com



pro.pesq  
Pró-Reitoria de Pesquisa - UFRGS

## Construção de um banco de marcadores genéticos do tipo microssatélites para *Salvator merianae*

### Introdução

A detecção de polimorfismos de marcadores microssatélites, também chamados de sequências curtas repetidas em tandem STRs (*short tandem repeats*), ou sequências simples repetidas SSR (*simple sequence repeats*), é hoje uma das técnicas mais utilizadas para a identificação individual, a investigação de vínculo familiar e o mapeamento genético em diversos organismos, incluindo humanos, animais e plantas. Adicionalmente, estudos com locos microssatélites de DNA são amplamente utilizados para determinação de paternidade, principalmente em desovas comunitárias, sendo possível definir qual o sucesso reprodutivo dos machos.

O lagarto *Salvator merianae* (lagarto-de-papo-amarelo), apesar de sua ampla distribuição e de ser relativamente comum, é uma espécie que carece de estudos na área molecular (Figura 1). É um animal forrageiro ativo, terrestre e com uma sazonalidade de atividade, hibernando entre os meses de abril a julho, e tendo o pico de atividade nos meses de novembro e dezembro. Sua ocorrência abrange Brasil, norte da Argentina, Uruguai até a Bolívia, sendo a espécie do gênero com a maior distribuição geográfica, o que evidencia a necessidade de mais estudos sobre a sua fisiologia, comportamento, atividade entre outros. Dessa forma, o objetivo do estudo é estabelecer um banco de marcadores genéticos do tipo microssatélite para *Salvator merianae* a fim de investigar futuramente as relações de parentesco entre os adultos e os jovens de cada ninho da Estação Experimental da UFRGS, buscando identificar quais machos colaboraram para cada ninho.



Foto de Arthur Schramm de Oliveira

Figura 1: Indivíduo jovem-adulto de *Salvator merianae*

### Material e Métodos

As amostras de DNA dos indivíduos de *S. Merianae* foram coletadas em Eldorado do sul, na Estação Agronômica da UFRGS e o seu DNA extraído a partir de músculo usando o método de CTAB. Uma biblioteca enriquecida com repetições de microssatélite foi feita em parceria com o Laboratório de Evolução Molecular da UFRGS. Até o momento, foram obtidos 135 clones positivos para repetições de dinucleotídeos e 228 clones positivos para repetições de trinucleotídeos, dos quais, após o PCR e sequenciamento do inserto pela empresa MacroGen (Coréia do Sul) e análise dos cromatogramas no programa Chromas resultaram em 28 clones contendo repetições do tipo microssatélites, sendo 18 para repetições de dinucleotídeos e 10 para repetições de trinucleotídeos. A variação populacional desses marcadores será avaliada em uma amostra de indivíduos atropelados na Planície Costeira do Rio Grande do Sul, e de indivíduos capturados no estado de Goiás, de modo a se estabelecer uma biblioteca de marcadores variáveis para a espécie.

Para fazer uma avaliação preliminar da variação a ser encontrada quando utilizados os marcadores de microssatélites, foi realizado um teste comparando essas populações usando o gene mitocondrial 12S. O DNA dos indivíduos foi obtido por extração com CTAB, o gene de interesse foi amplificado por PCR e, após sequenciamento na empresa MacroGen (Coréia do Sul), as sequências foram analisadas no programa Geneious e posteriormente no programa Network.

### Resultados

Para o marcador 12S foram encontradas variações nucleotídicas em 6 diferentes sítios, totalizando 5 haplótipos diferentes entre 14 indivíduos de 3 populações distintas (Tabela 1). As relações genealógicas entre os haplótipos podem ser observados na figura 2.

Tabela 1 – Tabela de dados demonstrando a frequência entre os haplótipos nas populações. Polimorfismos correspondentes aos da figura 2.

	Posição						Locais		
	206pb	229pb	230pb	237pb	337pb	378pb	Planície Costeira (RS)	Brasília (GO)	EEA – UFRGS (RS)
H1	C	A	C	G	A	C	4	1	4
H2	C	C	A	G	C	C	-	2	-
H3	C	C	A	G	C	T	-	1	-
H4	A	A	C	A	A	C	-	1	-
H5	C	A	T	A	A	C	-	-	1
Polimorfismo	1	2	3	4	5	6			

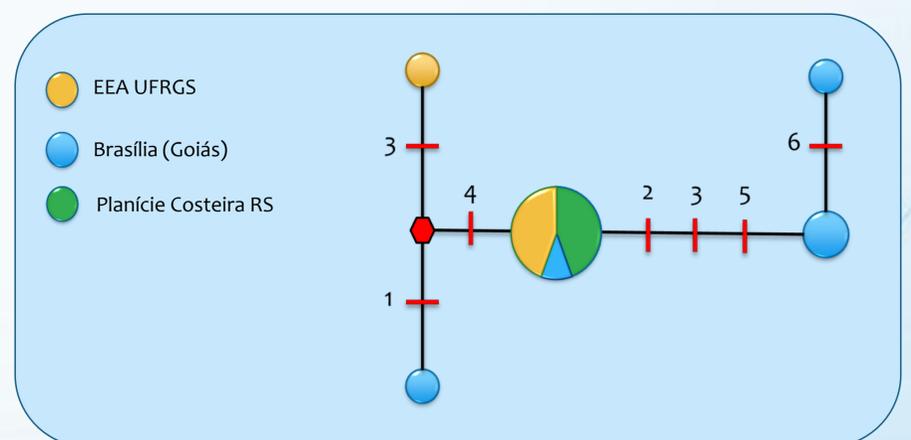


Figura 2 – Distribuição dos haplótipos de 12S no network. O tamanho dos círculos é proporcional ao tamanho amostral e as cores representam as diferentes populações de acordo com a legenda. Os traços vermelhos representam o número de passos mutacionais entre os haplótipos.

### Discussão

Os dados obtidos e sintetizados pelo programa Network dão a entender que a população do centro do país (Goiás) possui uma maior variabilidade de haplótipos enquanto que as populações presentes no Rio Grande do Sul apresentam pouca variação. Essa diferença cria expectativa para quando mais amostras forem analisadas, os resultados sejam mais informativos e numerosos.

### Perspectivas

As próximas etapas do projeto constituirão na utilização de primers específicos, previamente construídos, para esses marcadores, na amplificação e genotipagem dos mesmos em uma amostra de indivíduos provenientes da Estação Experimental Agronômica da UFRGS (EEA/UFRGS), em Eldorado do Sul para seleção dos marcadores mais informativos e, finalmente, na análise dos ninhos amostrados na EEA/UFRGS para avaliação da estrutura genética presente nessa população.

### Agradecimentos:

Renata Cardoso Vieira e Nelson Jurandi Rosa Fagundes