



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Construção de marcadores genéticos do tipo microssatélites para análises moleculares do lagarto <i>Salvator merianae</i>
Autor	GUSTAVO HENRIQUE SILVA SANTOS
Orientador	LAURA VERRASTRO VINAS

O lagarto *Salvator merianae* (lagarto-de-papo-amarelo) possui uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo em diversos países da América do Sul, como Brasil, Argentina, Uruguai e Bolívia, sendo a espécie com maior distribuição do seu gênero. Apesar de ser relativamente comum, a carência de estudos moleculares para a espécie ainda é uma realidade. Atualmente, sabe-se que 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. São necessários mais estudos sobre a sua fisiologia, comportamento, atividade entre outros. 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 é 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). 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. Dessa forma, o objetivo do estudo é utilizar os dezenove conjuntos de primers específicos previamente construídos para a amplificação e genotipagem dos indivíduos coletados na Estação Experimental da UFRGS (EEA-UFRGS), e a partir disso a seleção dos marcadores mais informativos a fim de investigar futuramente as relações de parentesco entre os adultos e os jovens de cada ninho da EEA-UFRGS, buscando identificar quais machos colaboraram para cada ninho. O DNA dos indivíduos de *S. merianae* coletados em Eldorado do Sul foi extraído a partir de músculo usando o protocolo CTAB. Uma biblioteca enriquecida com repetições de microssatélite foi feita em parceria com o Laboratório de Evolução Molecular da UFRGS. Os primers foram sintetizados por demanda comercial e os protocolos para a amplificação das regiões ricas nestes SSR foram otimizados, estabelecendo-se a temperatura de anelamento, o número de ciclos e as concentrações ideais para cada componente da reação. As sequências foram amplificadas através da técnica de PCR ("Polimerase Chain Reaction"), em termocicladores automáticos. As reações de PCR foram verificadas através de eletroforese horizontal em gel de agarose 2%, corado com GelRed. Os protocolos foram otimizados com duas fluorescências (FAM e NED) para genotipagem em equipamento MegaBace (GE Healthcare). Até o momento, foram obtidos 135 clones positivos para repetições de dinucleotídeos e 228 clones positivos para repetições de trinucleotídeos. Para esses clones, o inserto foi amplificado por PCR usando primers do vetor, purificado enzimaticamente e sequenciado na empresa tercerizada. As sequências foram analisadas com o Programa Chromas e 28 clones apresentaram sequências contendo repetições do tipo microssatélites, sendo 18 para repetições de dinucleotídeos e 10 para repetições de trinucleotídeos. Esses clones contêm marcadores potencialmente úteis para a confecção da biblioteca final de microssatélites a ser estabelecida para essa espécie. As próximas etapas do projeto constituirão na utilização dos primers específicos para esses marcadores, na amplificação e genotipagem dos mesmos em uma amostra de indivíduos provenientes da Estação Experimental Agrônômica 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.