ANÁLISE DE PRIMERS PARA A CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DO MUÇUÃ

(Kinosternon scorpioides scorpioides)

Maria Rosa Costa¹; José Ribamar Felipe Marques¹; Caio Santos Silva¹

¹Pesquisadores Embrapa Amazônia Oriental-Travessa Enéas Pinheiro s/n- mrco@cpatu.embrapa.br, marques@cpatu.embrapa.br

²Bolsista PIBIC/CNPq Embrapa Amazônia Oriental- Travessa Enéas Pinheiro s/n-scaio@hotmail.com

Palavras Chaves: RAPD, Marcadores, Variabilidade, Seleção

O muçuã é uma tartaruga semi-aquática com distribuição geográfica do Panamá, na América Central, ao norte da América do Sul, sendo que no Brasil é encontrado nas caatingas do nordeste, nos lençóis maranhenses e na região Amazônica. O seu habitat natural é o lodo do fundo de rios e lagos. Sua carne é muito apreciada e por isso tem sofrido ameaças pela caça desenfreada que tem ocorrido nos últimos anos. Neste sentido a Embrapa Amazônia Oriental, iniciou as pesquisas com esta espécie e visando a preservação da mesma implantou uma coleção ex situ no Banco de Germoplasma Animal da Amazônia Oriental-BAGAM, na ilha de Marajó, no estado do Pará. Inicialmente foram coletados dados referentes à produção e reprodução e mais recentemente foram iniciados os trabalhos de caracterização genética no laboratório de genética molecular-I.ABGEN. O objetivo é analisar a diversidade genética da espécie. Foram coletadas aleatoriamente amostras de sangue de 92 animais. O DNA foi extraído a partir de sangue total utilizando um protocolo inorgânico pré-estabelecido. Foram testados oitenta primers e selecionados os mais polimórficos com bandas mais robustas e definidas. As reações foram desenvolvidas, de acordo com o protocolo de Williams et al. (1990) modificado num volume final de 13 111, contendo água destilada autoclavada, 20 mM Tris-HCl (pH 8,0), 50 mM KCl, 2,0 mM MgCl2, 200 HM de cada dNTP, BSA purificada (2,5 mg/ml), 1,3 uM primer arbitrário, 1U.I Taq DNA polimerase e 15 ng de DNA genômico, cobertas com duas gotas de óleo mineral. As amplificações foram realizadas em termociclador de DNA Thermolyne Amplitron II, modelo DB.80225, sendo realizados 40 ciclos de 1' a 94 ⁰C, 1' a 37 ⁰C e 2' a 72 ⁰C, seguidos de mais 7' a 72 ⁰C, para a completa extensão dos produtos amplificados. O método utilizado para a separação dos produtos amplificados foi a eletroforese horizontal, em gel de agarose 1,0%. Os primers mais polimórficos foram o OPU 20 (9 polimorfismos) e OPU 19, OPJ 13, OPJ 10 E OPA 09 (8 polimorfismos). Foram selecionados 38 primers que apresentaram acima de 4 polimorfismos que serão utilizados na caracterização genética do muçuã utilizando marcadores RAPD (Polimorfismos de DNA amplificados ao acaso) que será a etapa complementar deste trabalho.