

# Padronização de um painel de marcadores microsatélites para inferência de paternidade em *Podocnemis unifilis* (Pleurodira; Podocnemididae) no Brasil

Mateus Ferreira de MOURA<sup>1</sup>, Débora Viecili Costa MASINI<sup>2</sup>, Patrícia IANELLA<sup>3</sup>, Rafael Antônio Machado BALESTRA<sup>4</sup>, Mário Douglas Fortini de OLIVEIRA<sup>5</sup>, José Roberto MOREIRA<sup>6</sup>, Fábio de Oliveira FREITAS<sup>7</sup>, Samuel Rezende PAIVA<sup>8</sup>

Centro Universitário de Brasília, DF, Brasil <sup>1</sup>[mateus\\_madeinrussia@yahoo.com.br](mailto:mateus_madeinrussia@yahoo.com.br);

Centro de Conservação e Manejo de Répteis e Anfíbios – RAN/ICMBio, GO -

<sup>4</sup>[rafael.balestra@icmbio.gov.br](mailto:rafael.balestra@icmbio.gov.br), <sup>5</sup>[douglasfortini1@gmail.com](mailto:douglasfortini1@gmail.com);

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, DF, Brasil - <sup>2</sup>[masini.deb@hotmail.com](mailto:masini.deb@hotmail.com),  
<sup>3</sup>[ianellabio@yahoo.com.br](mailto:ianellabio@yahoo.com.br), <sup>6</sup>[jmoreira@cenargen.embrapa.br](mailto:jmoreira@cenargen.embrapa.br), <sup>7</sup>[fabiof@cenargen.embrapa.br](mailto:fabiof@cenargen.embrapa.br),  
<sup>8</sup>[samuel@cenargen.embrapa.br](mailto:samuel@cenargen.embrapa.br);

**RESUMO** O Tracajá (*Podocnemis unifilis*) é um das fontes de proteína animal das comunidades que vivem ao longo Parque Indígena do Xingu, MT. Seu alto consumo acarretou numa diminuição das populações mais próximas das aldeias de maneira que as próprias comunidades locais identificassem a escassez deste recurso. Desta forma, um projeto de conservação foi iniciado em 2007, sendo que dos objetivos é aumentar o conhecimento acerca da variabilidade genética desta espécie bem como sua dinâmica populacional. Para isso painéis de marcadores moleculares microsatélites tem sido desenvolvidos para auxiliar a obtenção destas informações. Neste trabalho serão apresentados resultados que visam a aplicação destes marcadores para identificação futura da existência ou não de paternidades múltiplas dentro da espécie.

## 1. INTRODUÇÃO

O Tracajá (*Podocnemis unifilis*) é um quelônio pleurodira que constitui uma importante fonte protéica para as comunidades indígenas do Parque Indígena do Xingu, localizado na região Norte-Nordeste do estado do Mato Grosso. Contudo, o aumento do consumo e o desmatamento no entorno do parque, tem levado a uma redução dos efetivos populacionais desta espécie. O uso de marcadores moleculares para elucidar o comportamento reprodutivo de *P.unifilis* vem a ser uma importante ferramenta para a sua conservação. Atualmente, análises genéticas têm sido realizadas principalmente para *Podocnemis expansa*, que é a maior e mais conhecida espécie do gênero. Estudos genéticos relacionados ao comportamento reprodutivo no gênero *Podocnemis* estão restritos a *P.Expansa*, para o qual se constatou paternidade múltipla (Valenzuela 2000; Pearse et al. 2006). Tendo em vista o cenário acima descrito, esse trabalho teve por objetivo padronizar um painel de locos microsatélites para auxiliar na identificação do sistema de paternidade em *P.unifilis*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Onze ninhos de tracajá, oriundos de seis praias do território da aldeia Kamaiurá-Morená no Parque Indígena do Xingu, foram totalmente amostrados, totalizando 192 animais. O DNA das amostras foi extraído de tecidos coletados e preservados em álcool 70% a partir de modificações do protocolo proposto por Boyce et al.(1989). Oito locos de microsatélites, separados em 4 multiplexes, foram utilizados, até o momento, neste estudo. Os fragmentos amplificados via Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), foram submetidos a eletroforese capilar em Sequenciador Automático ABI 3700 (Applied Biosystems). Os eletroferogramas foram analisados no *software* GeneScan Analysis v. 3.7 e a declaração dos alelos foi realizada a partir do *software* Genotyper 2.5 (Applied Biosystems) . Os *softwares* MStools e Cervus foram utilizados para as análises estatísticas dos dados.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variabilidade genética observada pelos oito locos analisados até o momento permitiu um índice de identidade individual de 99,96%, índice este que poderá aumentar com a adição de mais locos nas análises. O número de alelos identificados e os baixos valores de Probabilidade de exclusão sugerem que mais locos sejam identificados para auxiliar em testes de exclusão de paternidade (Tabela 1). Entretanto, como primeira avaliação dos resultados, o painel testado até o momento já pode ser validado para inferir o número de pais por ninho, especialmente se os alelos maternos forem identificados. Esta situação é extremamente possível, em razão tanto do baixo número de alelos observados por loco bem como da estratégia da coleta de amostras de todos os indivíduos de cada ninho.

**Tabela 1:** Avaliação dos locos de microsatélites utilizados para inferência de paternidade em ninhos de tracajá. N=número de animais analisados por loco; A=número de alelos por loco, Ho= heterozigosidade observada, He= heterozigosidade esperada, PE1=probabilidade de exclusão de paternidade quando se conhece apenas o genótipo do suposto pai e do produto; PE2= probabilidade de exclusão de paternidade quando se tem o genótipo de pelo menos um dos verdadeiros pais.

Loco	N	A	Ho	He	PE1	PE2
Puni_1C3	159	4	0,497	0,391	0,923	0,815
Puni_1D9	170	4	0,788	0,562	0,836	0,692
Puni_2E7	127	3	0,150	0,203	0,980	0,897
Pe_344	135	4	0,304	0,635	0,787	0,641
Puni_1B11	121	2	0,165	0,193	0,982	0,913
Puni_2D10	157	3	0,229	0,331	0,946	0,839
PE519	98	4	0,388	0,372	0,930	0,810
Puni_1B2	97	5	0,289	0,679	0,744	0,583
Puni_1F10	159	4	0,497	0,391	0,923	0,815
Puni_2A9	170	4	0,788	0,562	0,836	0,692
<b>Média</b>	<b>133</b>	<b>3.63</b>	<b>0,35125</b>	<b>0,42075</b>	<b>0,6175</b>	<b>0,8827</b>

### REFERÊNCIAS

- Valenzuela (2000), N. Multiple paternity in side-neck turtles *Podocnemis expansa*: evidence from microsatellite DNA data. *Molecular Ecology*, v.9, p.99–105.
- Pearse, D.E., Dastrup, R.B., Hernandez, O., Sites Jr., J.W.(2006): Paternity in an Orinoco population of endangered Arrau River turtles, *Podocnemis expansa* (Pleurodira; Podocnemididae), from Venezuela. *Chelonian Conserv. Biol.* **5**: 232-238.
- Fantin, C., Carvalho, C., Hrbek, T., Sites Jr., J.W., Monjeló, L.A.S., Astolfi-Filho, S., Farias, I.P. (2007): Microsatellite DNA markers for *Podocnemis unifilis*, the endangered yellow-spotted Amazon River turtle. *Mol. Ecol. Notes*: 1235-1238.