



VII Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe

CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DO MUÇUÃ (*KINOSTERNON SCORPIOIDES*) POR MARCADORES MOLECULARES

Maria Rosa COSTA¹, José Ribamar Felipe MARQUES², Caio Santos SILVA³, Fabiane Késia Silva da SILVA⁴, Andrea Alves do EGITO⁵ e Maria do Socorro Maués ALBUQUERQUE⁶.

1-Embrapa Amazônia Oriental ; 2-Embrapa Amazônia Oriental ; 3-Bolsista PIBIC/CNPq ; 4-Bolsista Embrapa Amazônia Oriental ; 5-CENARGEN ; 6-CENARGEN
¹mrco@cpatu.embrapa.br, ²marquez@cpatu.embrapa.br, ³scaio@hotmail.com, ⁴fkspa@yahoo.com.br, ⁵egito@cenargen.embrapa.br, ⁶maues@cenargen.embrapa.br.

ABSTRACT

The aim of this work was to analyse the genetic diversity among forty muçuã (*Kinosternon scorpioides*) from BAGAM - Embrapa Eastern Amazon Germoplasm Collection. All four RAPD primers utilized to amplify DNA showed polymorphism. It was selected fifty six polymorphic bands. Genetic divergence analysis was carried out by NTSYS-pc, 2.02 and Jaccard coefficient. From a total of sixty five it was selected fifth three polymorphic bands. The M14 and M11 were shown to be the most divergent. In conclusion, the results showed genetic diversity that can be used in breeding programs and in strategies to manage germoplasm collection of muçuã.

INTRODUÇÃO

Os recursos genéticos animais são de fundamental importância para a manutenção da biodiversidade Amazônica, entretanto, tem sofrido graves ameaças não somente pelo mau uso como pelo desconhecimento da biologia e técnicas de manejo da maioria das espécies. Inúmeras espécies da fauna e da flora tem sido alvo de devastação e caça predatória. Neste contexto enquadra-se o muçuã (*Kinosternon scorpioides*) que é uma pequena tartaruga semi-aquática que habita o lodo do fundo de lagos e rios. Pertence a família dos quinosternídeos e tem ampla distribuição geográfica indo do Panamá, na América Central, ao norte da América do Sul, sendo que no Brasil é encontrada nas caatingas do nordeste, nos lençóis maranhenses e na região Amazônica. Muito conhecida em Belém, sua carne é apreciada onde é comum servirem no próprio casco sendo conhecida como "casquinha de muçuã", ou seja, um mexido da carne desse animal servido na própria carapaça. Sua carapaça possui três carenas longitudinais e o focinho termina em forma de bico. Seu casco, oval, é pardo-escuro e marcado em cima por três linhas longitudinais em relevo, com a parte correspondente ao ventre amarelada. O muçuã tem pernas altas e um bico que lembra o dos papagaios. O rabo das fêmeas é mais longo que o dos machos. É um animal onívoro de pequeno porte, cerca de 20 a 30 cm, é apanhado aos milhares na ilha de Marajó e muito vendido no mercado de Belém e por isso tem sofrido ameaças pela colheita desenfreada que tem ocorrido ao longo dos anos. Neste sentido a Embrapa Amazônia Oriental, iniciou as pesquisas com esta espécie e visando a conservação da mesma implantou uma coleção *in situ* no Banco de Germoplasma Animal da Amazônia Oriental-BAGAM, na ilha de Marajó, em Salvaterra, no estado do Pará-Brasil, cujo objetivo é acompanhar o desenvolvimento produtivo e reprodutivo, desenvolver técnicas de manejo, avaliar

a diversidade genética e estimular o uso racional da mesma. Neste contexto, está sendo realizada a caracterização genética já que a escassez de conhecimentos sobre a diversidade genética das espécies faz com que este tipo de estudo seja prioritário para assegurar informações e utilização das potencialidades das mesmas. Atualmente a coleção é composta de animais em sistema de criação controlada onde são avaliados os dados referentes à produção de carne, manejo das posturas e dos ovos além da criação em cativeiro. São animais adultos, machos e fêmeas e animais jovens.

MATERIAL E MÉTODO

Foram coletadas aleatoriamente amostras de sangue de 40 animais pertencentes ao Banco de Germoplasma Animal da Amazônia Oriental-BAGAM localizado na Ilha de Marajó, em Salvaterra-PA. O DNA foi extraído a partir de sangue total utilizando um protocolo inorgânico pré-estabelecido. Após a extração os DNAs foram quantificados em gel de a 1%. Foi utilizado 5 µl de cada amostra, acrescido de 2 µl de tampão de carregamento e 4 µl de água ultra pura. A interpretação do gel foi baseada na intensidade das bandas dos DNAs de eqüinos comparadas com as intensidades das bandas do DNA íntegro de bacteriófago Lambda (50, 100 e 200 ng/µl). Após a quantificação, os DNAs foram diluídos a partir da amostra total com água destilada autoclavada para a concentração de 3 ng/µl. As alíquotas foram armazenadas a -20 °C. Foram utilizados quatro primers previamente selecionados OPU, OPA, OPJ e OPM. As reações foram desenvolvidas, de acordo com o protocolo de Williams et al. (1990) modificado num volume final de 13 l, contendo água destilada autoclavada, 20 mM Tris-HCl (pH 8,0), 50 mM KCl, 2,0 mM_{1,69}

Zoogenéticos

VII Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe

MgCl₂, 200 M 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. As ampliações foram realizadas em um termociclador Thermolyne Ampliiron II, modelo DB 80225, sendo realizados 40 ciclos de 1' a 94 °C, 1' a 37 °C e 2' a 72 °C, seguidos de mais 7' a 72 °C. A separação dos produtos amplificados foi pela eletroforese horizontal em gel de agarose a 1,0%. Após a visualização os géis foram fotografados em equipamento de fotodocumentação. Para a análise dos dados utilizou-se o NTSYS 2.02 (Numerical Taxonomy and Multivariate System). Inicialmente, construiu-se uma matriz para os fragmentos polimórficos amplificados com presença (1) e ausência de banda (0). Somente foram consideradas as bandas que não davam margens a dúvidas. Bandas muito fracas, de difícil resolução, não foram incluídas. Para análise dos dados, utilizou-se o NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System), versão 2.02. A similaridade entre as amostras foi estimada pelo coeficiente de Jaccard, que gerou a matriz de similaridade. A partir dessa matriz, foi gerado o cluster, pelo método UPGMA ("Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average").

RESULTADO E DISCUSSÃO

Um total de 65 marcadores RAPD foram amplificados pelos primers utilizados, com tamanho variando de 200 a 2200 pb dos quais 53 foram polimórficos gerando 81,5% de polimorfismo. O número de fragmentos polimórficos variou de oito (OPM 08) a três (OPJ 18). Observou-se dentre os fragmentos amplificados a ocorrência de bandas específicas aos indivíduos. Observou-se uma amplitude significativa nos valores de similaridade genética variando de 7% a 97%. A maior distância foi obtida comparando-se o M14 com o M11 (6%). O segundo maior distanciamento genético foi entre o M13 e o M10 (7%). Por outro lado, a maior similaridade genética foi entre o M3 e o M2 (98%), a segunda maior similaridade foi entre o M4 e o M3 (97%).

Os marcadores RAPD mostraram-se eficientes para detectar polimorfismo nesta espécie e podem ser utilizados como uma poderosa ferramenta, na obtenção de informações úteis para o manejo da Coleção de Germoplasma e a manutenção da diversidade. Na continuação deste trabalho serão utilizados outros primers pré-selecionados e se enriquecerá a matriz digital para novas análises.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S.V (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, v.18, p.6531-6535.