

ISOLAMENTO E USO DE MICROSSATÉLITES COM DADOS DE SEQUENCIAMENTO DE PRÓXIMA GERAÇÃO PARA ESTUDOS FAMILIAIS EM *BUBULCUS IBIS* (ARDEIDAE, AVES)

Talita A. Valdes¹, Bruno Â. Laroca¹, Elaine D. Souza², Silvia N. Del Lama³

1. Estudante de IC da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar; *talitavaldes@gmail.com
2. Mestranda em Genética Evolutiva e Biologia Molecular - DGE, UFSCar, São Carlos/SP;
3. Pesquisadora do Depto. De Genética e Evolução - DGE, UFSCar, São Carlos/SP

Palavras Chave: Reprodução; Garça-vaqueira; Herança mendeliana.

Introdução

A garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*) é uma ave de origem indo-africana, considerada espécie exótica invasora no continente americano. A espécie vem mantendo um padrão de crescimento populacional constante e foi registrada pela primeira vez no Brasil em 1964. Atualmente, é uma ameaça à reprodução e sobrevivência de outras espécies nativas, como foi observado no arquipélago de Fernando de Noronha. Estudos genéticos que ajudem a compreender o comportamento reprodutivo de *B. ibis* são importantes para colaborar no desenvolvimento de estratégias de manejo. Esses estudos dependem da descrição de marcadores genéticos como os microsatélites, os quais começaram a ser identificados, identificados, porém apresentaram grau muito baixo de polimorfismo (Campanini *et al.*, 2011). O objetivo deste trabalho foi isolar um número maior de locos microsatélites na espécie da garça vaqueira (*Bubulcus ibis*), a partir de dados gerados pelo sequenciamento de nova geração (NGS) e testar a aplicação desses novos locos em estudos genéticos mendelianos de amostras familiares.

Resultados e Discussão

Após o NGS de quatro indivíduos da espécie, foram identificados no banco de 3684 sequências, 242 potenciais microsatélites, sendo 190 dinucleotídeos, 36 trinucleotídeos, 10 tetranucleotídeos e 6 pentanucleotídeos. Os oligonucleotídeos iniciadores (primers) foram definidos pelo programa Primer 3 e foram selecionados apenas os locos de dinucleotídeos. Uma seleção manual foi feita a seguir, considerando-se os seguintes critérios e sendo escolhidos apenas: Os microsatélites puros (sem interrupção nas repetições), com número mínimo de repetições por motivos de 10 e com diferença de TM entre os primers de no mínimo 3º C. Foram sintetizados primers para 15 desses locos e a padronização das reações de amplificação potencialmente variáveis foi feita com um painel de 10 amostras, utilizando-se o protocolo de incorporação do M13, iniciador universal marcado com fluorescência. A análise dos genótipos foi realizada após separação dos fragmentos por eletroforese capilar, utilizando-se o sistema *MegaBACE™1000* (Amersham Biosciences) e a leitura dos picos foi feita nos eletroferogramas pelo software *GeneticProfiler*, com o marcador de padrão interno de peso molecular *GeneTab* (*GeneID*). Dos quinze locos analisados, catorze se revelaram polimórficos, apresentando de 2 a 8 alelos/loco. Seis dos locos considerados mais polimórficos foram selecionados para a análise de estudos genéticos em catorze famílias de *B. ibis*, totalizando 65 indivíduos. Os locos selecionados e suas respectivas frequências alélicas calculados a partir das

amostras dos parentais (28), foram: **Loco Bi 32:** 164 (0,167); 166 (0,148); 168 (0,214); 170 (0,333) e 172 (0,111). **Loco Bi 33:** 177 (0,227); 179 (0,227); 185 (0,318); 187 (0,068); 189 (0,046) e 197 (0,046). **Loco Bi34:** 103 (0,120); 107 (0,640); 109 (0,120) e 111 (0,120). **Loco Bi 36:** 83 (0,300); 91 (0,200); 93 (0,300) e 103 (0,200). **Loco Bi 38:** 182 (0,031); 186 (0,188); 188 (0,313) e 190 (0,468). Por fim o **loco Bi 43** cujos alelos e suas respectivas frequências encontradas foram: 123 (0,333); 125 (0,563) e 127 (0,104).

Os genótipos dos parentais e da prole foram determinados em seis locos microsatélites para catorze ninhoss e comparados entre si. A análise mendeliana clássica revelou que a monogamia genética não é predominante nesse grupo, ocorrendo em 8 ninhoss (57%) a FEP (Fertilização extra par) foi detectada em 12 filhotes dessas famílias.

Conclusões

A caracterização de seis novos locos polimórficos a partir dos dados gerados pelo NGS e a sua aplicação aos dados familiares foi uma abordagem bem sucedida e contribuiu para verificação de ocorrência de comportamentos alternativos à monogamia na espécie. Compreender o comportamento reprodutivo de *B. ibis* é um passo importante para o seu manejo. Estudos genéticos seguindo esse modelo devem ser expandidos, pois os estudos baseados apenas na observação comportamental demandam muito tempo e nem sempre são conclusivos nas espécies de aves que se reproduzem em colônias e não apresentam dimorfismo sexual como a garça-vaqueira.

Agradecimentos

Agradecemos os colaboradores no trabalho de campo e a administração do Parque Lago Azul localizado na cidade de Rio Claro.

CAMPANINI, E.B. *et al.* Isolation and characterization of 11 microsatellite loci from Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) and cross-amplification in other Ardeidae species. *Conservation Genetics Resources*, v.4, p. 19-22, 2012.