



## IDENTIFICAÇÃO SEXUAL DE *CHRYSOCYON BRACHYURUS* A PARTIR DA UTILIZAÇÃO DOS PRIMERS SRY E ZINC FINGER.

Leonardo Paes Niero ;  
Pedro Manoel Galetti Junior

### INTRODUÇÃO

O cenário ambiental vem sendo fortemente alterado devido à fragmentação e perda de habitats, a introdução de espécies exóticas e ao isolamento das populações. Atualmente, esses são os principais fatores responsáveis pelos impactos sobre a maioria das espécies e a consequente diminuição da diversidade biológica mundial (Pimm e Gilpin 1989; Frankham *et al.* 2008). O cerrado brasileiro já teve mais que 55% de seu domínio destruído para uso humano (Machado *et al.* 2004). O lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) é o maior canídeo sul-americano, podendo pesar de 20kg a 30kg e medindo em comprimento entre 95 e 115 centímetros (Rodden *et al.*, 2004). Em sua distribuição original, estava presente nos pampas, chaco e cerrado. Infelizmente nos dias atuais, grande parte desta distribuição foi alterada devido às pressões humanas sobre o ambiente natural (Rodden *et al.* 2004). A mais significativa ameaça ao lobo-guará é a perda de seu habitat, principalmente associada à expansão da fronteira agrícola, pelo fato de possuir baixas densidades e apresentar uma grande e contínua área de vida (Dietz, 1984; Rodrigues, 2002). A determinação do sexo em populações naturais é essencial para o entendimento da dinâmica populacional e sua estrutura, e também para fazer um plano de manejo e decisões conservacionistas (Eggert *et al.* 2003). O conhecimento sobre o sexo de indivíduos remanescentes de determinada população é necessário, permitindo avaliar deslocamentos, áreas de vida e sobreposição de áreas de vida de indivíduos do mesmo sexo, ou sexos opostos (Zalewski *et al.* 2004). Muitas espécies não possuem dimorfismo sexual e por isso análises genéticas a partir de amostragens não-invasivas podem auxiliar esse processo (Statham *et al.* 2007). Este processo de identificação sexual pode ser concretizado a partir da utilização dos primers Zinc Finger (Aasen e Medrano 1990) e SRY (Statham *et al.* 2007).

### OBJETIVOS

Testar o conjunto de primers Zinc Finger (ZF) e SRY para a identificação sexual de amostras de *Chrysocyon brachyurus* e, assim, produzir subsídios conservacionistas para a espécie.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram obtidas amostras de sangue e fezes de *Chrysocyon brachyurus*. As amostras fecais foram obtidas em coletas na Estação Ecológica de Jataí, Luiz Antônio – SP e no Parque Ecológico de São Carlos. As amostras de sangue foram oriundas do Centro Nacional de Pesquisas de Mamíferos Carnívoros (CENAP). A partir deste material biológico, extraiu-se o DNA referente a cada amostra seguindo protocolos já descritos na literatura. Tais sequências de DNA foram amplificadas através de Reações em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando-se o conjunto de primers ZF e SRY. O produto das PCR, e suas respectivas bandas, foram visualizados em gel de agarose 2%.

## RESULTADOS

As amostras de sangue obtiveram sucesso de 100% de amplificação, sendo que os machos apresentam em gel 2 bandas, uma sobreposta do ZF e outra referente ao fragmento amplificado pelo SRY (específico para o cromossomo sexual Y). Já as amostras de fêmeas, uma única banda se forma, referente à amplificação dos cromossomos X pelo primer ZF. Neste caso a identificação sexual se dá pela análise visual do gel, onde as amostras com apenas 1 banda são consideradas como oriundas de fêmeas e as amostras com 2 bandas como machos. As amostras de fezes (não-invasivas), não obtiveram sucesso em sua amplificação.

## DISCUSSÃO

O primer ZF amplifica os cromossomos sexuais X e Y, e seu sucesso de amplificação é verificado a partir da formação de duas bandas sobrepostas, representadas pelos fragmentos X e Y. Já o primer SRY é específico para o cromossomo sexual Y, formando uma única banda, caso o indivíduo seja do sexo masculino. A utilização dos dois pares de primers é interessante pelo fato de se ter um controle negativo a partir do ZF. Este primer amplifica todas as amostras e sua não amplificação pode indicar um insucesso em alguma das etapas de extração ou amplificação dos fragmentos. As fezes encontradas em campo, estão expostas diretamente a agentes de degradação. Desta forma, se tornam um material biológico com qualidade inferior do que amostras de sangue. Por isso, a amostragem não-invasiva deve priorizar a coleta de amostras com menos tempo de exposição a fatores degradantes (amostras frescas) e um armazenamento adequado das amostras que preserve o DNA.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que, os primers ZF e SRY e suas aplicações genéticas, podem servir como subsídios para estudos conservacionistas, uma vez que amplificam fragmentos dos cromossomos sexuais e que as amostras podem ser identificadas quanto ao sexo. É necessário que seja feita uma padronização do uso destes primers para amostras não-invasivas, uma vez que em populações naturais esta abordagem garante inúmeras informações ecológicas e genéticas sem a necessidade de captura dos animais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AASEN, E.; MEDRANO, J.F. 1990. Amplification of the Zfy and Zfx Genes for sex identification in humans, cattle, sheep and goats. *Bio-Technology*, 8: 1279-1281.

DIETZ, J.M. 1984. Ecology and Social Organization of the Maned Wolf. *Contributions to Zoology*, 392:1-51.

EGGERT, L.S.; EGGERT, J.A.; WOODRUFF, D.F. 2003. Estimating population sizes for elusive animals: the forest elephants of Kakum National Park, Ghana. *Molecular Ecology*, 12: 1389-1402.

FRANKHAM, R.; BALLOU, JONATHAN D.; BRISCOE, DAVID A. 2008. Fundamentos de Genética da Conservação. Tradução de Mercival R. Francisco e Izeni P. Farias. Ed. Ribeirão Preto-SP. Sociedade Brasileira de Genética.

MACHADO, R. B.; RAMOS NETO, M. B.; PEREIRA, P. G. P.; CALDAS, E. F.; GONÇALVES, D. A.; SANTOS, N. S.; TABOR, K.; STEININGER, M. 2004. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. *Conservação Internacional*, Brasília,

DF. PIMM, S.L.; GILPIN, M.E. 1989. Theoretical issues in conservation biology. Em: *Perspectives in ecological Theory*. Pp. 287-305. Edição de Roughgarden, R.M.; Levin, S.A. Princeton University, Princeton.

RODDEN, M.; RODRIGUES, F.; BESTELMEYER, S. 2004. Maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*). Edição de C.

Hoffmann e D.W. Macdonald. Canids: Foxes, Wolves, Jackals and Dogs. Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN, Cambridge, UK.

RODRIGUES, F.H.G. 2002. Biologia e Conservação do lobo-guará na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF. Campinas, SP. Originalmente apresentada como tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas,

STATHAM, M. J.; TURNER, P. D.; O'REILLY, C. 2007. Molecular sex identification of five Mustelid Species. *Zoological Studies*, 46(5): 600-608.

ZALEWSKI, A.; JEDRZEJEWSKI, W.; JEDRZEJEWSKA, B. 2004. Mobility and home range use by pine martens (*Martes martes*) in Polish primeval forest. *Ecoscience*, 11: 113-122.