



XVII SICTI
Seminário de Iniciação Científica,
Tecnológica e Inovação
X SIMIT
Simpósio de Inovação Tecnológica

**CIÊNCIA e
COOPERAÇÃO
na AMAZÔNIA**
**16 a 19 de
Setembro**
IFPA Campus Bragança

ANÁLISE DE SEQUÊNCIAS REPETITIVAS EM ESPÉCIES DE LAGARTOS (SQUAMATA) OCORRENTES NA REGIÃO DO BAIXO TOCANTINS

SARA SANTOS DA CONCEIÇÃO¹; ANA LILIAN LUZ RODRIGUES²; JADSON PEREIRA DIAS²; EDIVALDO HERCULANO CORRÊA DE OLIVEIRA³; ANDERSON JOSÉ BAIA GOMES⁴

¹Aluna de Ciências Biológicas / bolsista de Iniciação Científica; sarasantos.c10@gmail.com

²Alunos de Ciências Biológicas, campus Abaetetuba; lrluz6007@gmail.com, jadsonpereiradias@gmail.com

³ Pesquisador do Instituto Evandro Chagas; ehco@ufpa.br.

⁴ Docente do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, campus Abaetetuba, anderson.gomes.ifpa@gmail.com.

Área de conhecimento/Subárea: Ciências Biológicas/ Genética
ODS vinculado(s): ODS15 - Vida terrestre

RESUMO: Este estudo investigou o cariótipo de duas espécies de lagartos da região do Baixo Tocantins, estado do Pará: *Copeoglossum nigropunctatum* ($2n = 30$) e *Thecadactylus rapicauda* ($2n = 44$), com foco na distribuição de sequências repetitivas. Utilizando a técnica de Hibridização *in situ* Fluorescente (FISH), foram aplicadas sondas teloméricas e de microssatélites (CAG)₁₀, (CGG)₁₀ e (GAG)₁₀. Os resultados revelaram padrões distintos de marcação entre as espécies, com acúmulos específicos em regiões distais, centroméricas e associadas às regiões organizadoras de nucléolos. As diferenças observadas sugerem que essas sequências repetitivas desempenham papéis importantes na estrutura, estabilidade e evolução cromossômica dos lagartos. Este estudo reforça o papel da citogenética molecular para compreender a diversidade e evolução genética da fauna amazônica.

PALAVRAS-CHAVE: lagarto; evolução; sequência repetitiva.

INTRODUÇÃO

A Amazônia é o maior bioma do Brasil e abriga uma grande diversidade de vertebrados (Chiarello *et al.*, 2008), e dentre eles os lagartos que pertencem ao grupo Sauria (Vitt *et al.*, 2008). Estudos para o conhecimento da riqueza genética desses animais são pouco realizados na Amazônia, implicando em lacunas no conhecimento evolutivo e filogenético dos mesmos. Os lagartos têm sido amplamente utilizados como organismos modelo em estudos ecológicos, morfológicos, sistemáticos, genéticos e citogenéticos visando conhecer os padrões de distribuição das espécies, identificação taxonômica, conhecimento da filogenia e da diversidade genética e composição cariotípica, fornecendo informações relevantes sobre a biologia destas espécies (Pianka; Vitt, 2003).

Sequências repetitivas constituem grande parte do material genômico da maioria dos organismos e são caracterizadas pela ocorrência de segmentos de tamanhos variados repetidos milhões de vezes no genoma (Griffiths *et al.*, 2006) podendo ser sequências repetidas *in tandem*, famílias multigênicas, DNA satélites, microssatélites e elementos transponíveis (TE). Essas porções do genoma oferecem informações importantes sobre a evolução cariotípica de eucariotos implicando na resolução de questões evolutivas, genômicas e sistemáticas, uma vez que o envolvimento de inúmeras sequências repetitivas em processos importantes como, controle da expressão gênica, reparo do DNA, diferenciação de cromossomos sexuais e supranumerário (cromossomos B) é observado em diversos estudos (Kidwell; Lisch, 2000).

O estudo destas sequências em lagartos são poucos realizados através da abordagem da citogenética



XVII SICTI
Seminário de Iniciação Científica,
Tecnológica e Inovação

X SIMIT
Simpósio de Inovação Tecnológica

**CIÊNCIA e
COOPERAÇÃO
na AMAZÔNIA**

**16 a 19 de
Setembro**

IFPA Campus Bragança

molecular, o que leva a um déficit no conhecimento dos tipos de sequências presentes no genoma desses animais e de suas respectivas localizações. Sendo assim, este trabalho busca analisar a distribuição de sequências repetitivas no cariótipo de três espécies de lagartos ocorrentes na região do Baixo Tocantins, afim de inferir dados adicionais de citogenética molecular para estes grupos.

METODOLOGIA

Para este trabalho, foram utilizadas duas espécies de lagartos, sendo eles: *Copeoglossum nigropunctatum* e *Thecadactylus rapicauda*, coletadas através de expedições em áreas rurais e ribeirinhas do município de Abaetetuba-PA, onde foram instaladas armadilhas de interceptação e queda (*Pitt falls*), sendo posteriormente encaminhadas ao Laboratório de Biologia Molecular e Evolução (LABEM) do Instituto Federal do Pará, campus Abaetetuba. As preparações cromossômicas foram obtidas através dos procedimentos descritos por Ford e Hamerton (1956), com modificações para obtenção de metafases mitóticas a partir de intestino, medula óssea e baço. Para Bandeamento C, foi seguido o protocolo desenvolvido por Sumner (1972), com modificações. Os experimentos de Hibridização *in situ* fluorescente (FISH), seguiram os procedimentos previamente descritos por Yang *et al.* (1995) e Kubat *et al.* (2008), utilizando sondas de sequências Teloméricas (TTAGGG)_n e sequências de microssatélites - (CAG)₁₀, (CGG)₁₀ e (GAG)₁₀, respectivamente. As sondas teloméricas foram obtidas a partir de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), usando *primers* específicos, enquanto que as sondas de microssatélites foram obtidas comercialmente e marcadas diretamente com Cy3 na região terminal durante sua síntese (Sigma, St. Louis, MO, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

C. nigropunctatum apresentou $2n=30$, sendo seu cariótipo constituído predominantemente por cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, com as regiões de Heterocromatina Constitutiva sendo evidenciadas nas regiões distais e centroméricas, enquanto *T. rapicauda* apresentou $2n=44$ e predominância de cromossomos telocêntricos e acrocêntricos. As marcações de FISH evidenciaram padrões específicos para cada espécie. As sequências teloméricas hibridizaram nas regiões distais dos cromossomos para ambas as espécies, destacando padrão de conservação para os grupos em questão.

Para *C. nigropunctatum*, as sequências de microssatélites (CAG)₁₀ não apresentaram acúmulo específico, estando dispersos por todos os cromossomos. Esse padrão disperso pode ser decorrente da ausência de cromossomos sexuais bem definidos nesta espécie, uma vez que as sequências do tipo (CAG)₁₀ geralmente estão associadas a cromossomos sexuais em outras espécies. As sequências (CGG)₁₀ apresentaram marcações em *cluster*, coincidindo com marcações da Região Organizadora de Nucléolos (NOR), demonstrando uma correlação direta deste elemento repetitivo com a NOR, padrão de marcação também pode ser observado em outros grupos de répteis. Por sua vez, (GAG)₁₀ apresentou acúmulo nas regiões distais de alguns macrocromossomos e microcromossomos podendo ser decorrentes de diversos fatores, como alto conteúdo gênico dos microcromossomos, que em sauropsídeos geralmente são mais ricos em pares de bases GC, levando essas sequências a se concentrarem mais fortemente nesses cromossomos, ao passo que GAG é uma sequência que pode desenvolver papel regulatório no genoma (Srikulnath *et al.*, 2021).

Para *T. rapicauda* as sequências de microssatélites (CAG)₁₀, (CGG)₁₀ e (GAG)₁₀ mostraram marcações nas regiões distais de todos os cromossomos. Esses padrões de marcações é característico para a espécie que pertence à um grupo basal, além de ser encontrado em outras espécies de Squamata, sugerindo que o acúmulo de sequências repetitivas especificamente na região terminal e subterminal estão relacionadas a um papel fundamental na estabilização e funcionamento cromossômico, um fenômeno comum nos cariótipos desses animais (Pokorná *et al.*, 2012).



XVII SICTI
Seminário de Iniciação Científica,
Tecnológica e Inovação
X SIMIT
Simpósio de Inovação Tecnológica

**CIÊNCIA e
COOPERAÇÃO
na AMAZÔNIA**
**16 a 19 de
Setembro**
IFPA Campus Bragança

CONCLUSÕES

Nossos resultados reforçam que o uso de sequências repetitivas representa uma alternativa viável para estudos de diversidade de lagartos. Os dados obtidos neste estudo são de grande importância para o conhecimento do processo carioevolutivo das espécies de lagartos ocorrentes na região do Baixo Tocantins, sendo necessário a utilização de outras ferramentas, moleculares que poderão revelar uma maior diversidade genômica e gerar novos conhecimentos sobre a evolução cariotípica desses animais.

AGRADECIMENTOS

Agradecer ao Instituto Federal do Pará campus Abaetetuba, ao Laboratório de Biologia Molecular, Evolução e Microbiologia (LABEM), ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), ao Instituto Evandro Chagas e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

- CHIARELLO, A.G. *et al.* Mamíferos ameaçados de extinção no Brasil. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**, v. 2, p. 680-880, 2008.
- FORD, C. E.; HAMERTON, J. L. A colchicine, hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes. **Stain technology**, v. 31, n. 6, p. 247-251, 1956.
- GRIFFITHS, A.J *et al.* **Introdução à Genética**. 8ª ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2006.
- KIDWELL, M. G.; LISCH, D. R. Transposable elements and host genome evolution. **Trends in Ecology e Evolution**. v. 15, n. 3, p.95-99, 2000.
- KUBAT, Z. *et al.* Microsatellite accumulation on the Y chromosome of *Silene latifolia*. **Genome**, v. 51, n. 5, p. 350–356, 2008.
- PIANKA, E.; VITT, L.J. **Lizards: Windows to the Evolution of Diversity**, first edn. University of California Press, Berkeley, 2003.
- POKORNÁ, M. *et al.* Microsatellite distribution on sex chromosomes at different stages of heteromorphism and heterochromatinization in two lizard species (Squamata: Eublepharidae: *Coleonyx elegans* and Lacertidae: *Eremias velox*). **BMC Genetics**. v.12, p.90, 2011.
- SRIKULNATH, K. *et al* Why do some vertebrates have microchromosomes? **Cells**, 2021.
- VITT, L. *et al.* **Guia de Lagartos da Reserva Adolpho Ducke, Amazônia Central**. Manaus: INPA, 2008.
- YANG, F. *et al.* A comparative study of karyotypes of muntjacs by chromosome painting. *Chromosoma*, 103, p. 642–652, 1995.