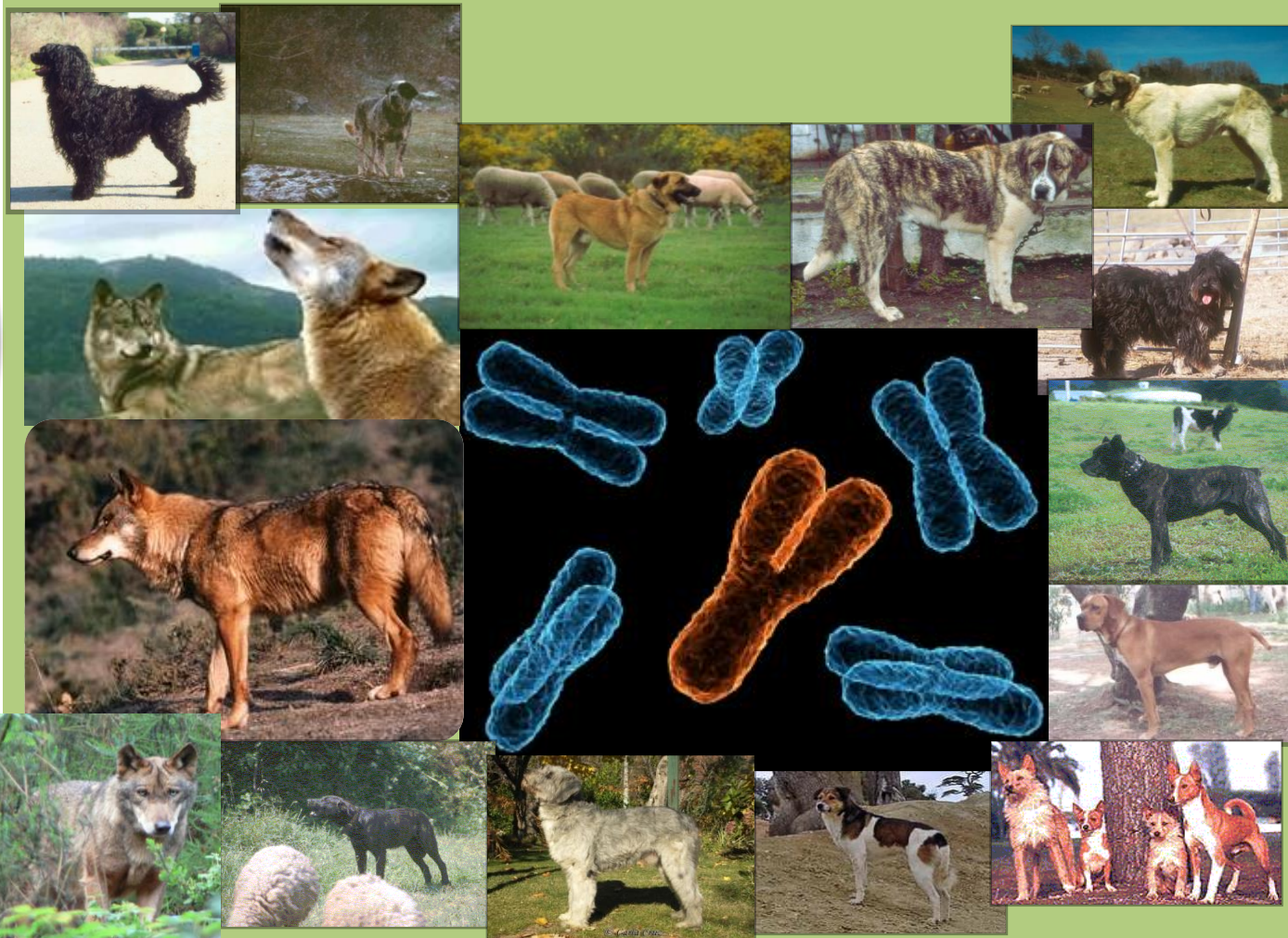
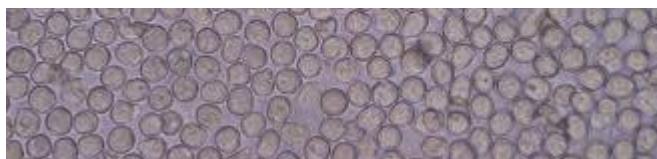
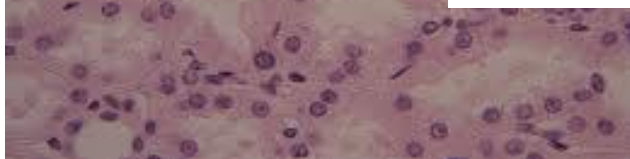
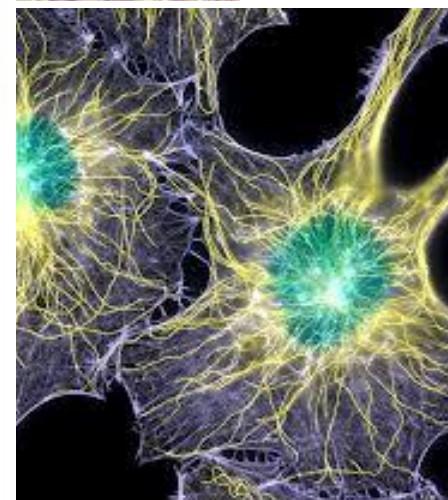
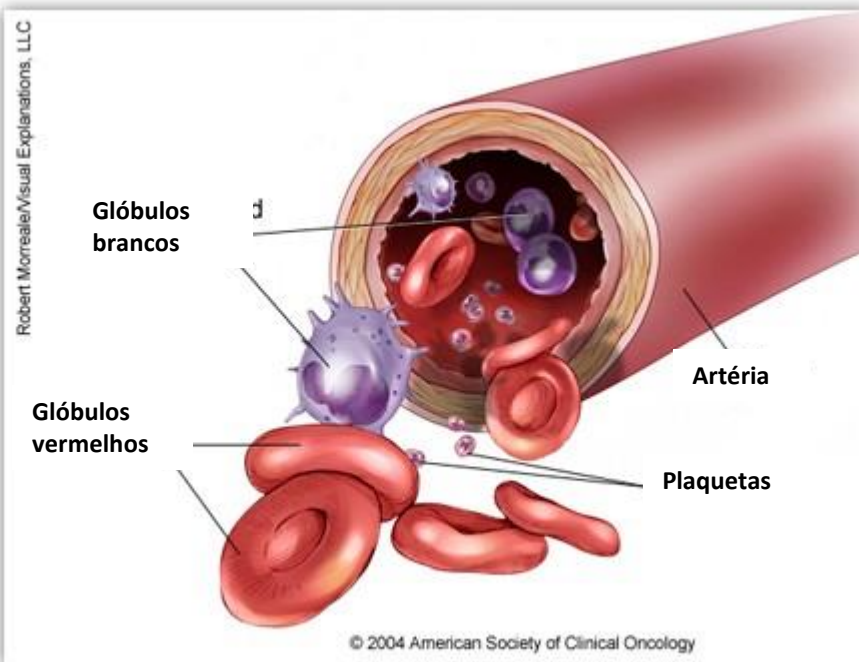
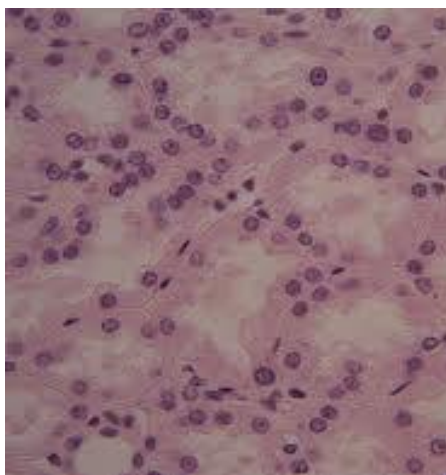
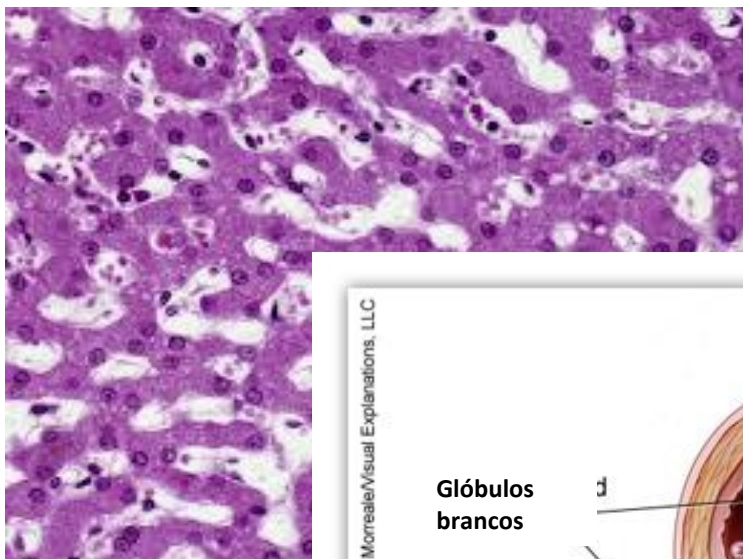


AMOSTRAGEM GENÉTICA NÃO INVASIVA E ANÁLISE FORENSE

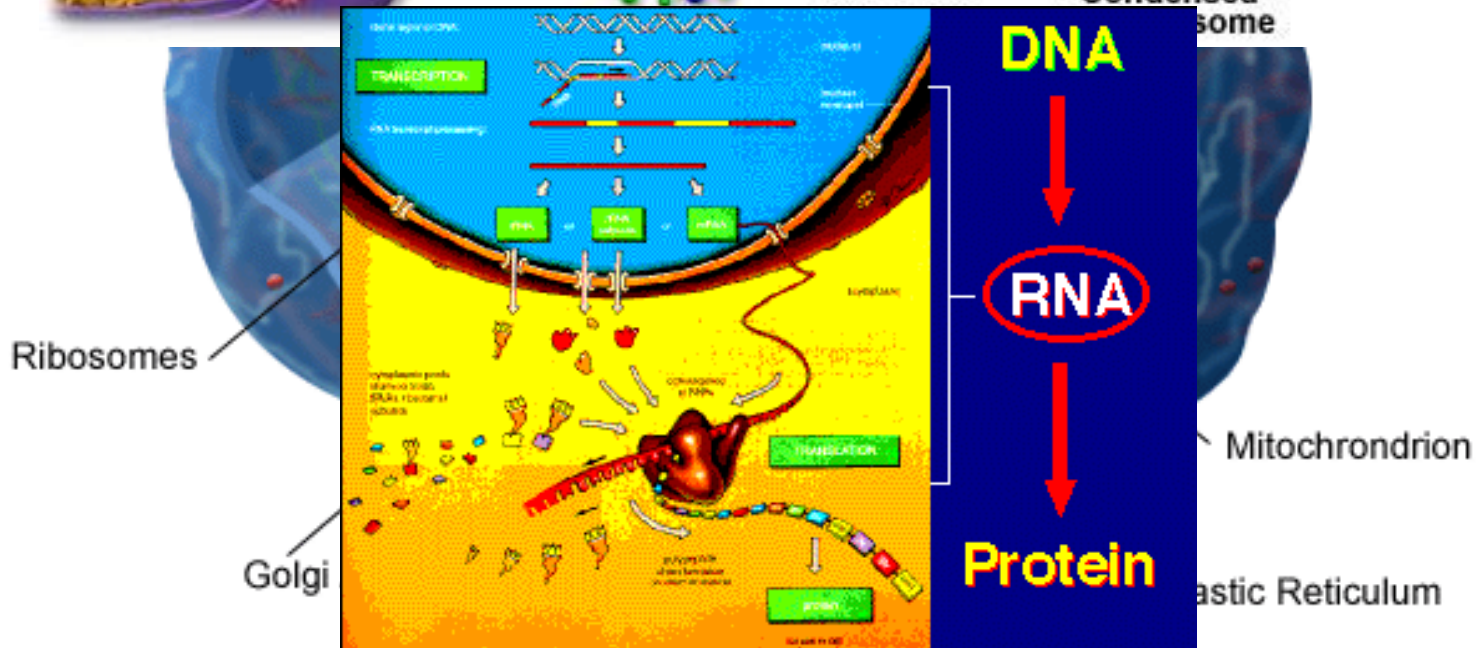
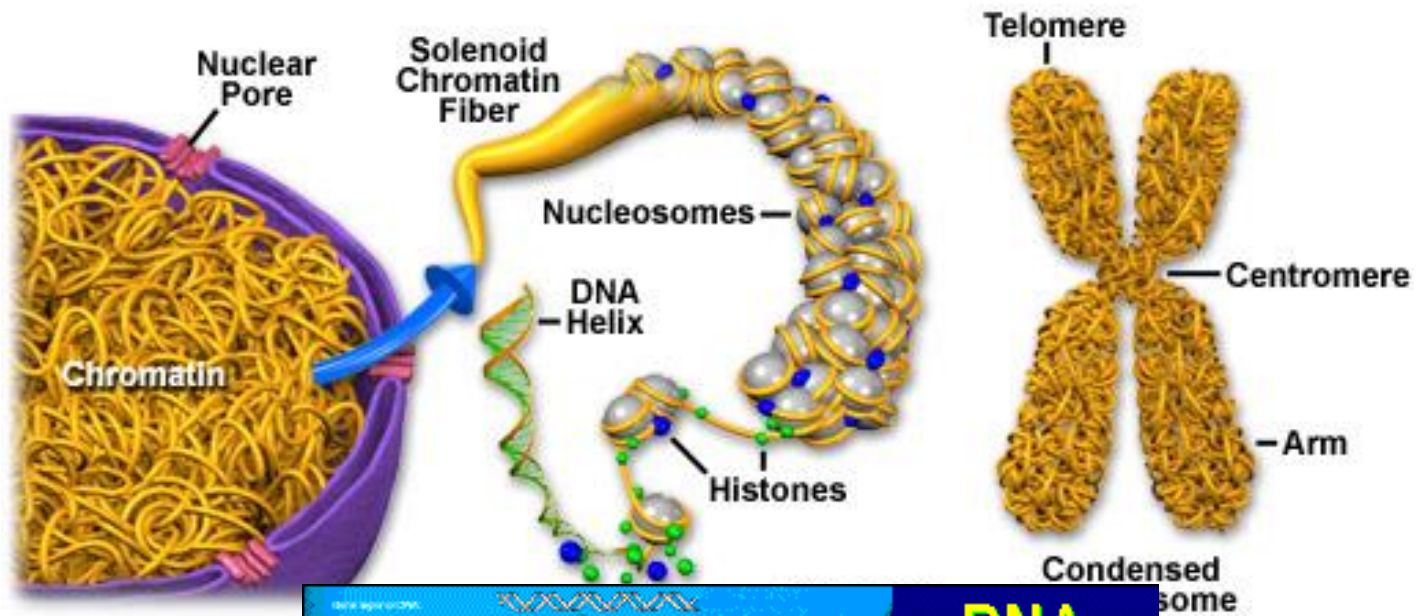


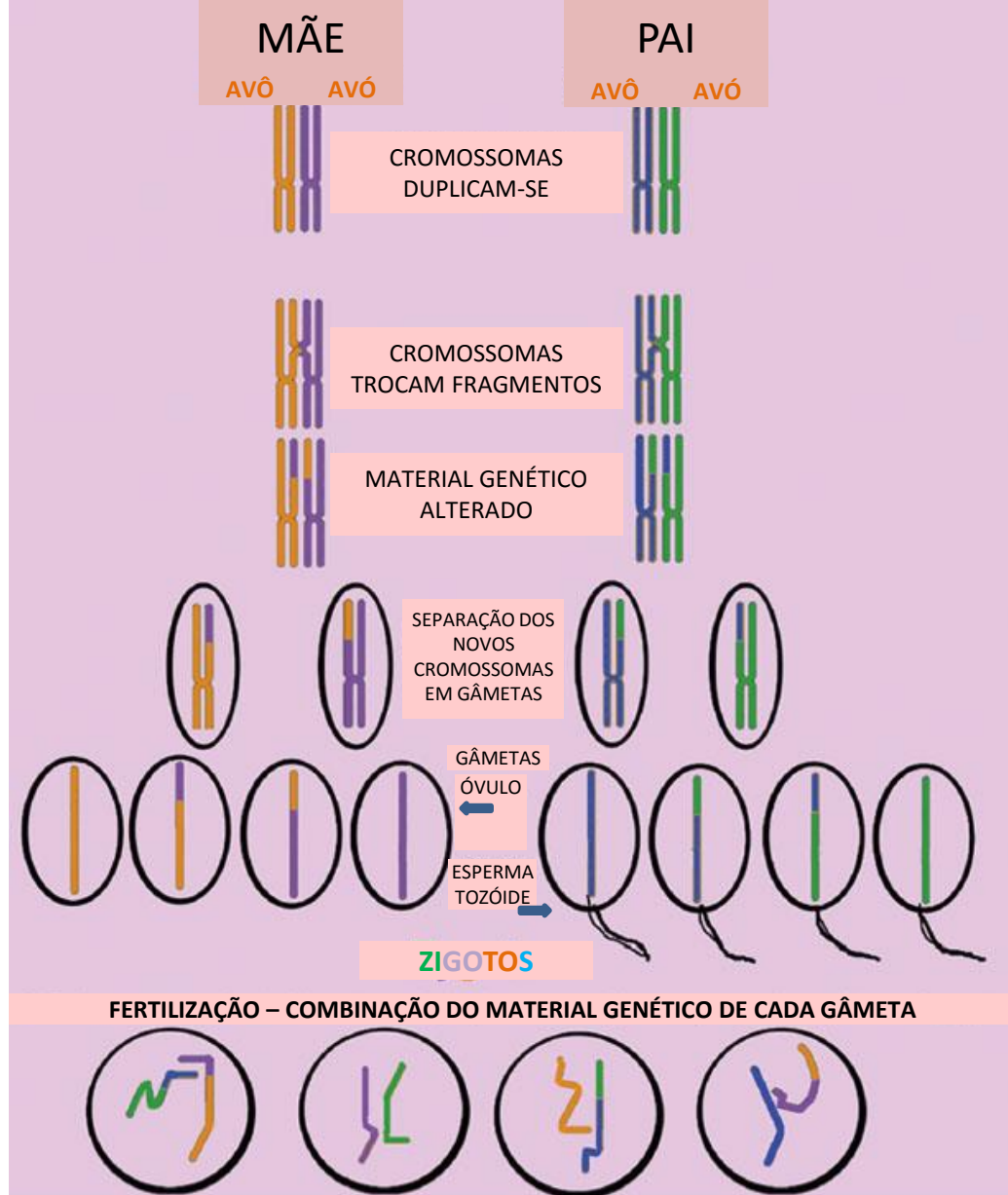






Chromatin and Condensed Chromosome Structure





© 2007 Thomson Higher Education



HERANÇA DOS MICROSSATÉLITES

Mãe:

X_B

X_b

Pai:

CTCTCTCT 5X

CTCTCTCTCT 6X

Y_o

CTCTCTCT CTCTCT
8X

$X_B Y_o$

5X 8X

$X_b Y_o$

6X 8X

X_B

CTCTCTCT 5X

$X_B X_B$

5X 5X

$X_B X_b$

5X 6X

© 2007 Thomson Higher Education



Canis lupus signatus
(Lobo ibérico)



Canis familiaris

Aplicação:

- ✓ Estudos de monitorização da população lupina.



Construção de uma base de dados para diferenciação entre espécies: Canis lupus versus Canis familiaris.

Material Biológico	Amostragem
Tecidos de Cães	192
Tecidos de Lobos	61



Metodologia:

- ✓ Utilização de 19 marcadores microsatélites

Loci utilizados para amplificação do ADN 8 misturas

CXX.109; FH2010

FH2054; FH2611

CXX.173; CXX.225; FH2159

ATH121; C22.279; FH2247

FH2001; PEZ08

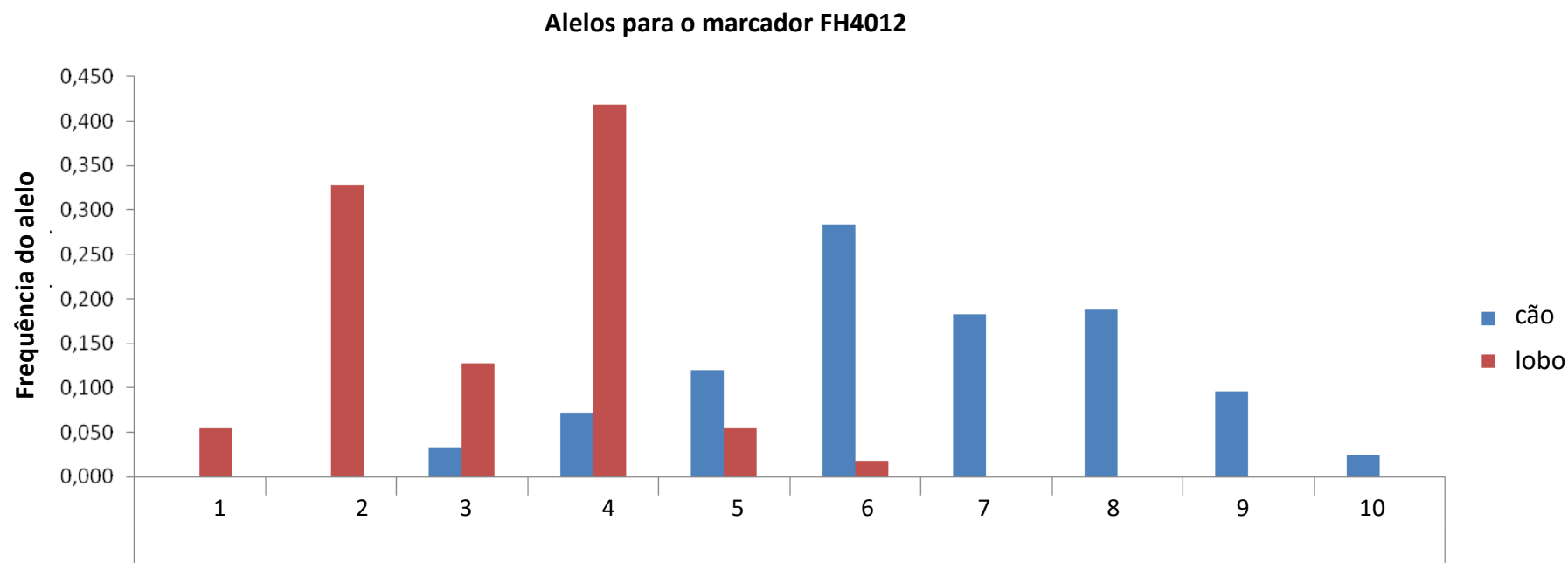
FH4012

FH2361; C38; REN247M23

FH3210; PEZ06; VWF.X

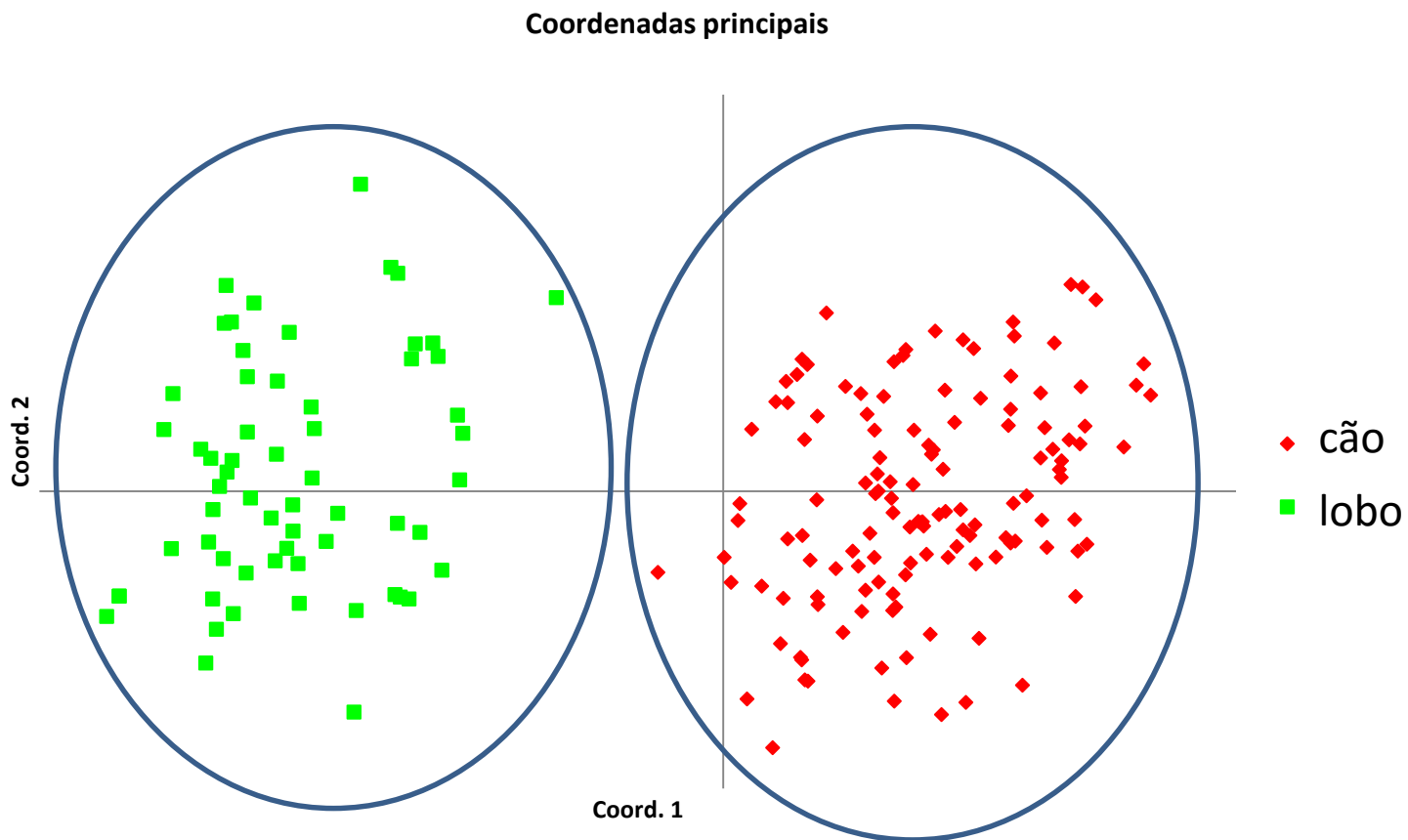


Frequência alélica para o *locus* FH4012





Resultados:



Análise de Coordenadas Principais (PCA) determinada pelo software GenAlEx 6.2 com base em genótipos de 19 loci de microssatélites utilizando a base de dados de genótipos para lobo (denominados WOLF) e dados de genótipos para cães (denominados DOG).



Probabilidade de afiliação dos indivíduos na população de Lobo ou na população de Cão



Análise bayesiana que apresenta a probabilidade de afiliação dos indivíduos nas populações de Lobo (verde) e nas populações de Cão (vermelho) determinada no *software* Structure 2.3.



Conclusões:

- ✓ Caraterização de alelos exclusivos para *Canis lupus signatus*.
- ✓ Caraterização de alelos exclusivos para *Canis familiaris*.
- ✓ Variação na frequência alélica entre espécies para determinados loci.
- ✓ Utilização da base de dados para identificação das espécies: cão/lobo



Monitorização da população lupina



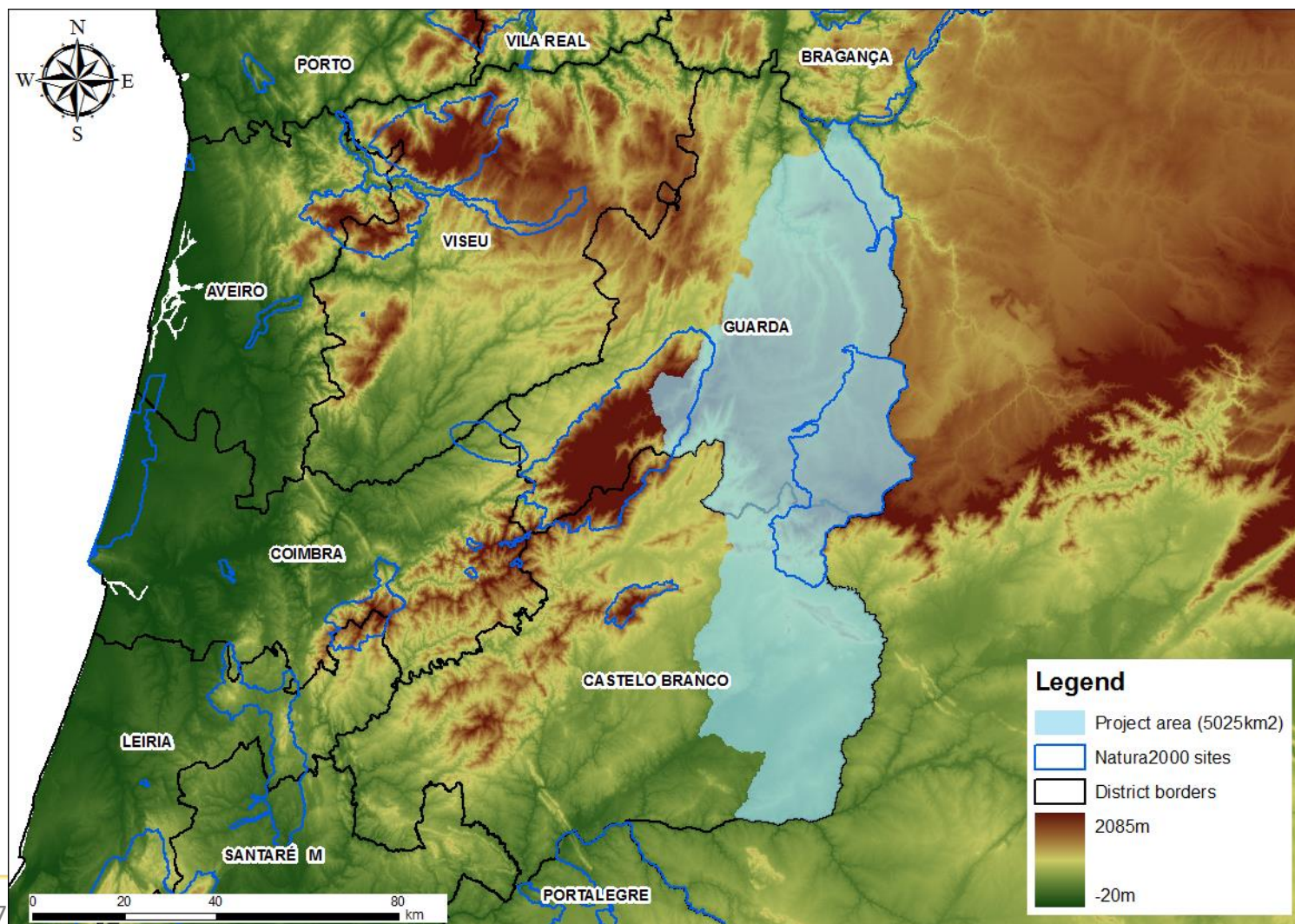


Aplicação:

- ✓ Contribuição para uma melhor compreensão das actividades e estratégias de sobrevivência das populações de lobo ibérico, para a monitorização das suas áreas de presença e consequente minimização de conflitos da espécie selvagem com a espécie humana.
- ✓ Determinação do responsável pelo prejuízo através da afiliação de amostras ambientais não invasivas (zaragatoas ou dejetos), na espécie *Canis familiaris* ou *Canis lupus signatus*.



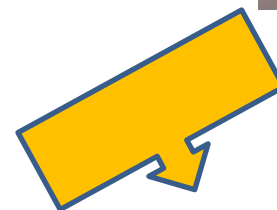
Mapa da área estudada



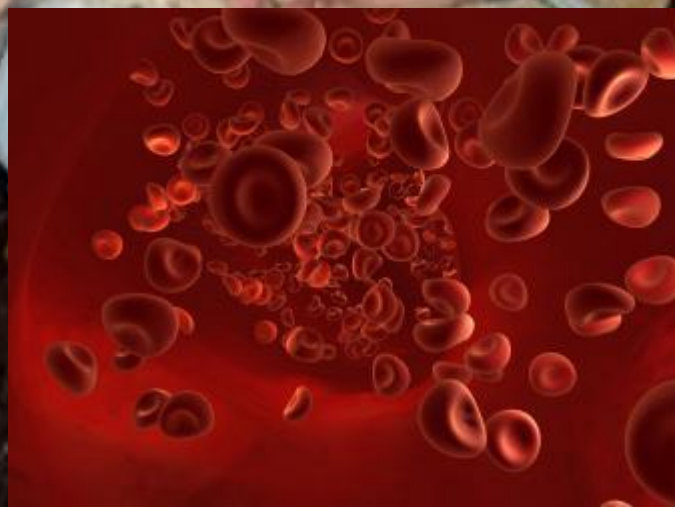




COLHEITA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS: SALIVA, DEJECTOS, PELOS, URINA

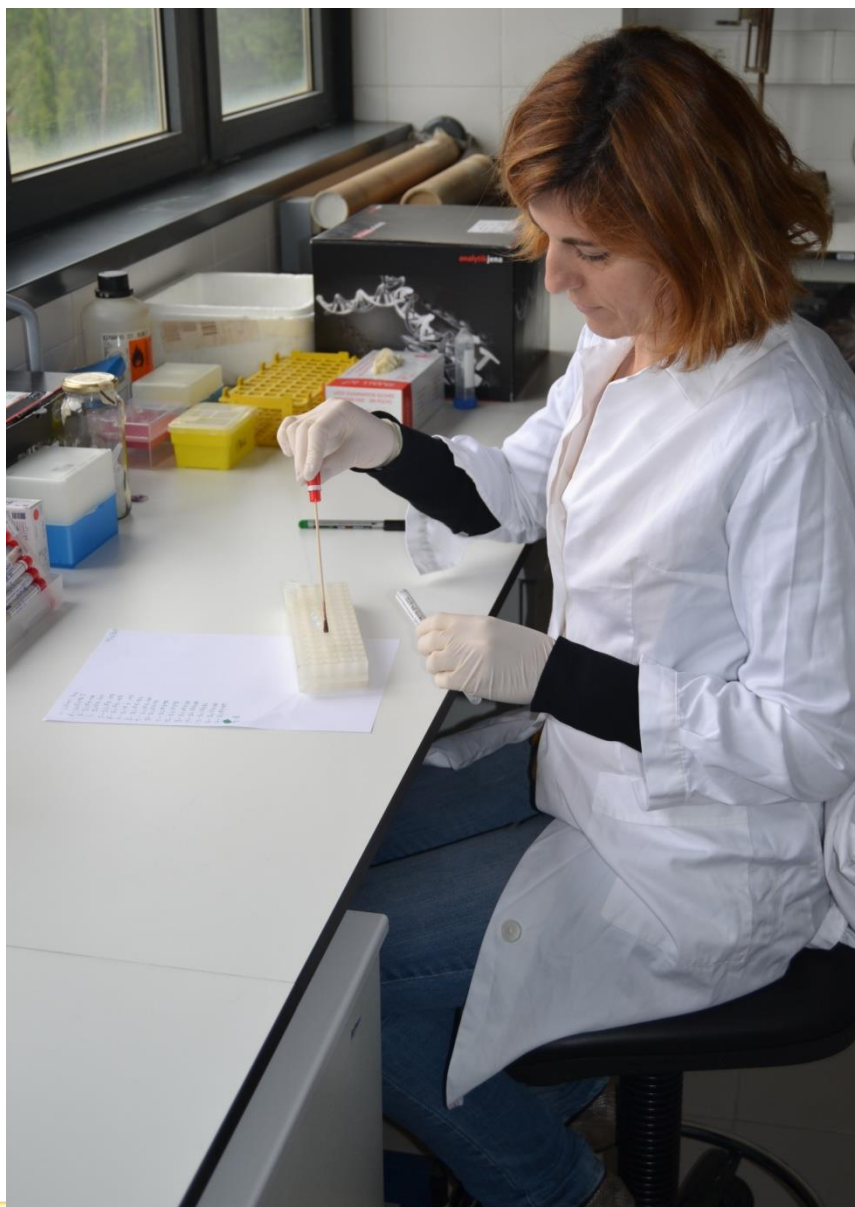


Análise de ADN



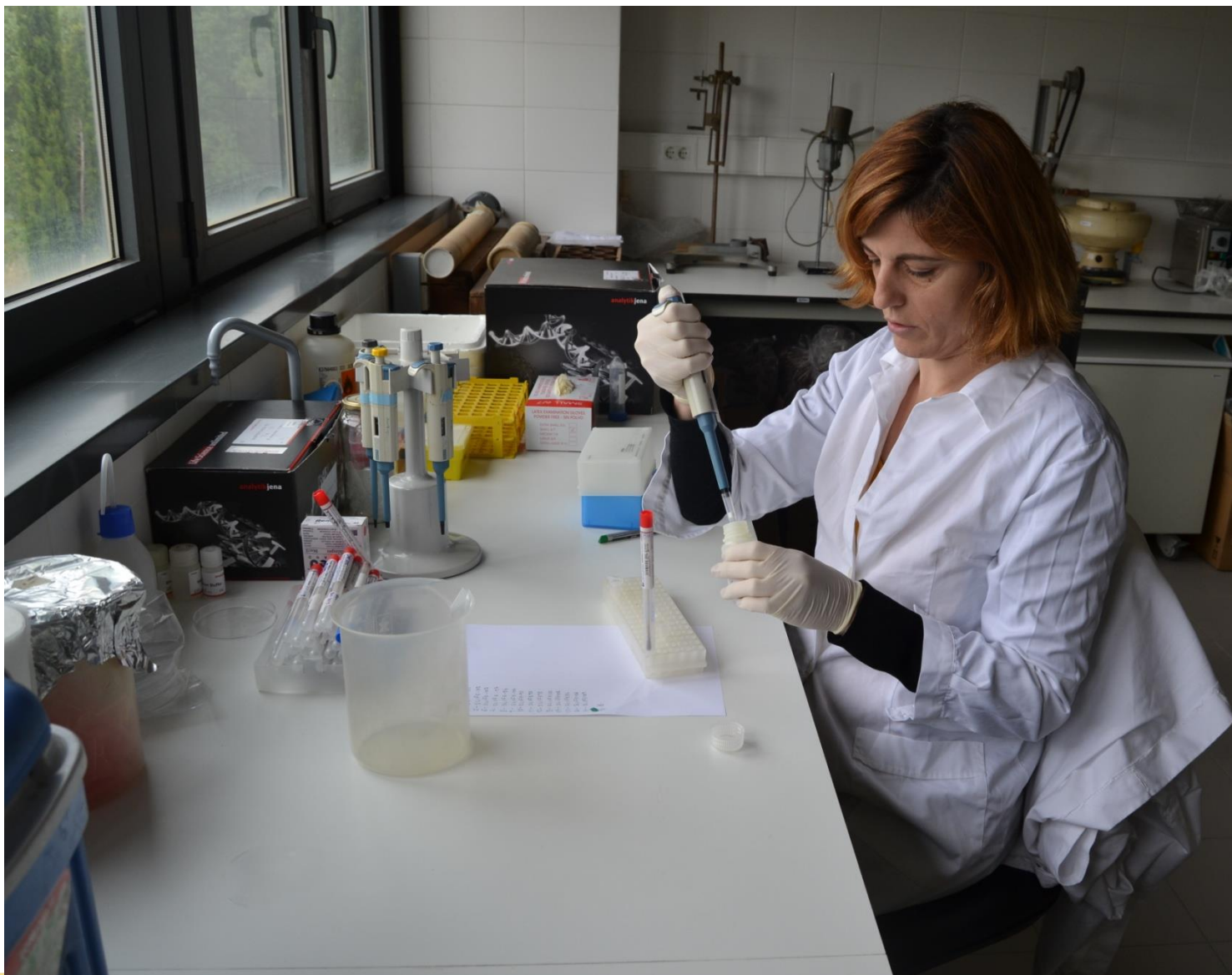


Extração de ADN





Extração de ADN





Extração de ADN





Metodologia:

- ✓ Utilização de 19 marcadores autossômicos: microssatélite
- ✓ Base de dados de raças de cães portuguesas.
- ✓ Base de dados de tecidos de lobos.

Loci utilizados para amplificação do ADN 8 misturas

CXX.109; FH2010

FH2054; FH2611

CXX.173; CXX.225; FH2159

ATH121; C22.279; FH2247

FH2001; PEZ08

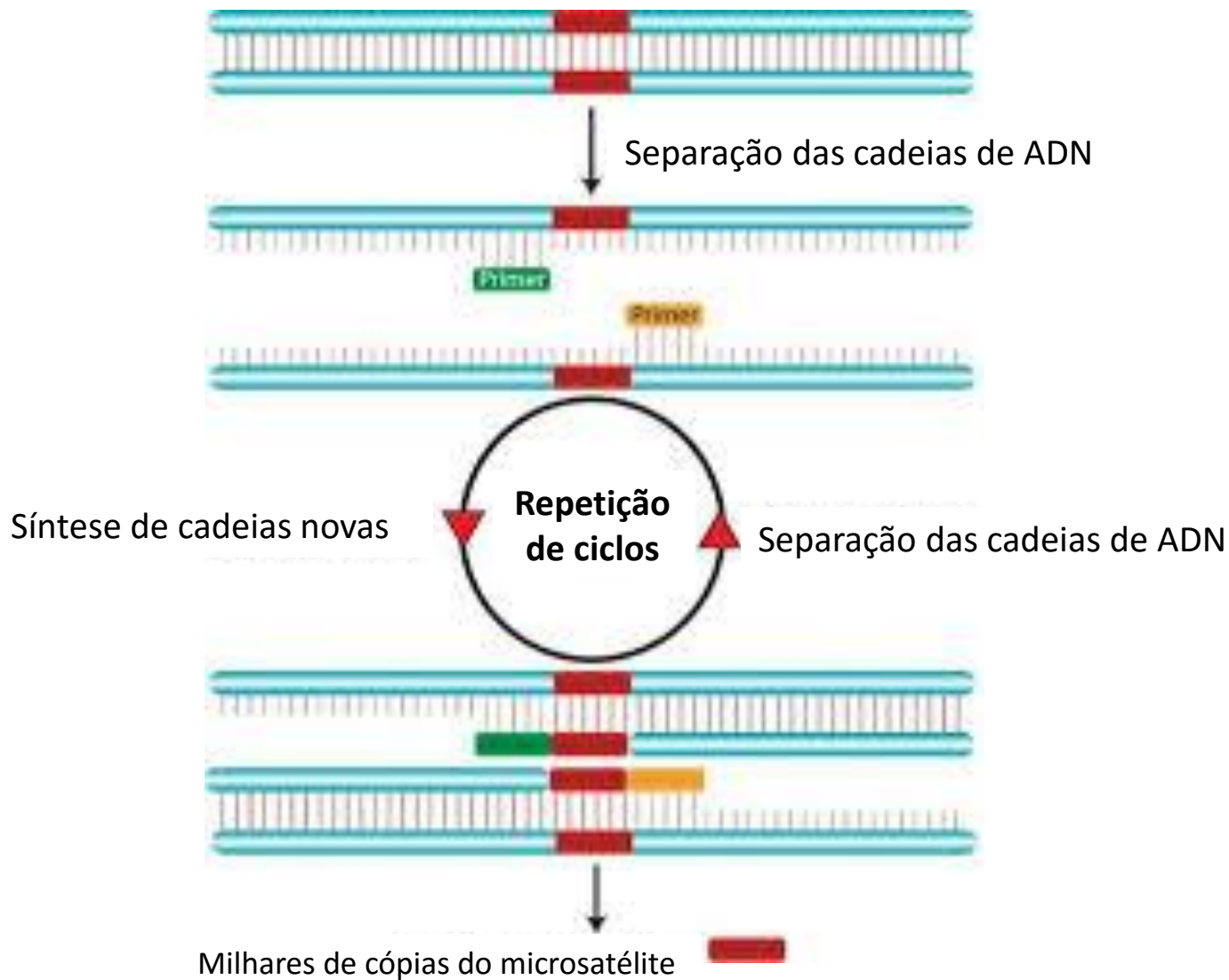
FH4012

FH2361; C38; REN247M23

FH3210; PEZ06; VWF.X

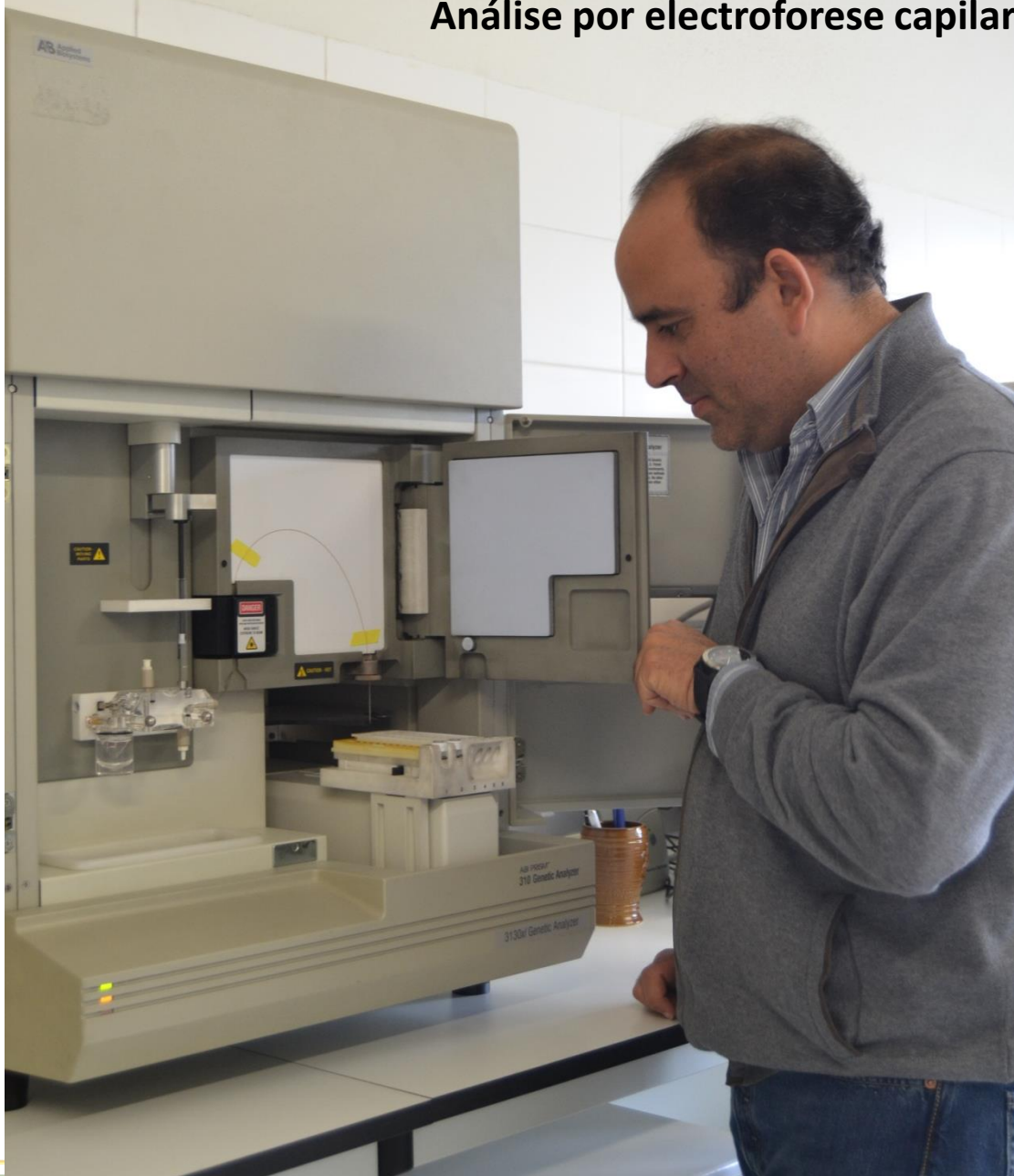


AMPLIFICAÇÃO EM CADEIA DO ADN – TÉCNICA DE PCR



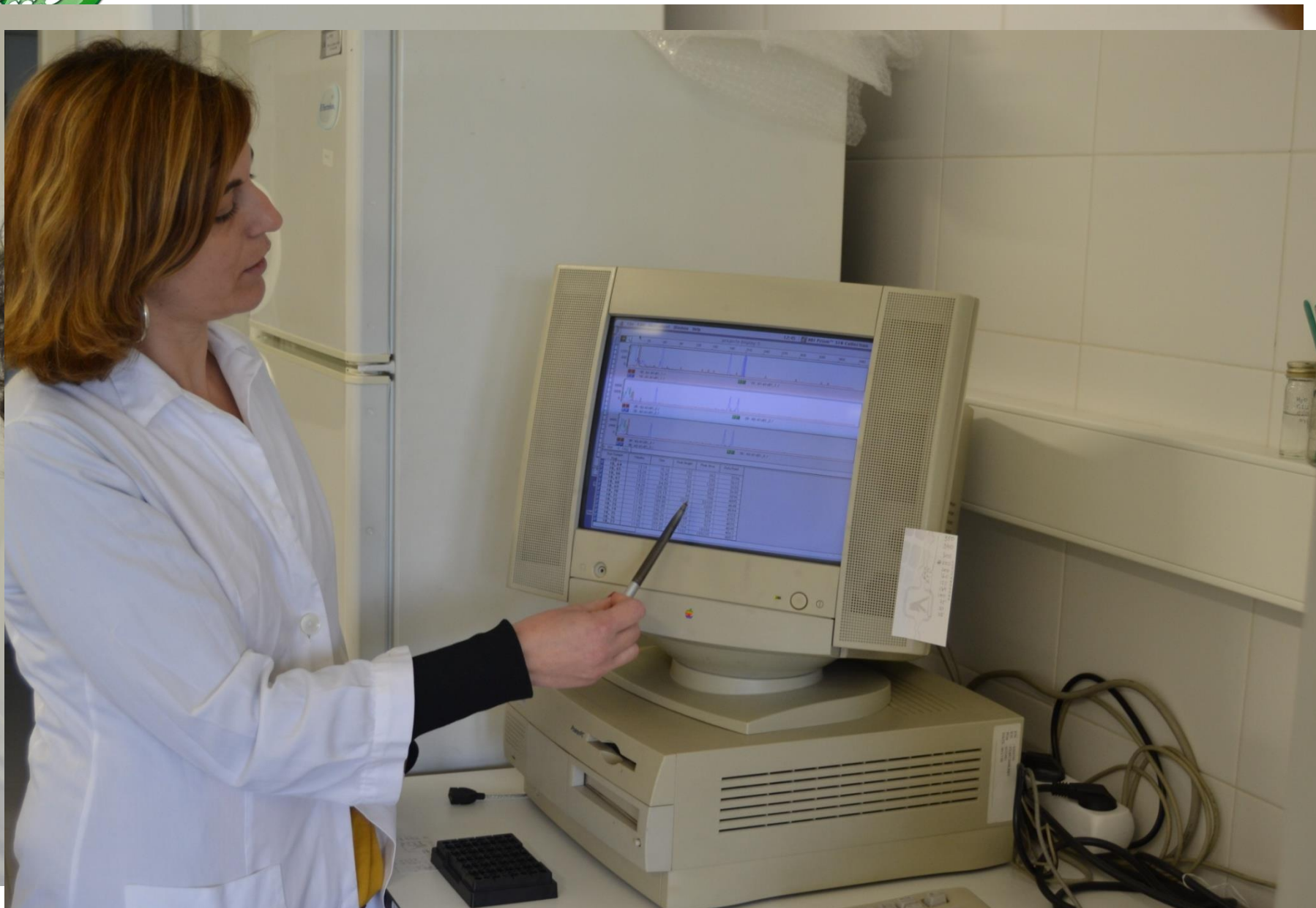


Análise por electroforese capilar





Leitura das amostras



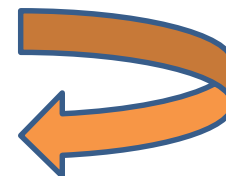


Número de amostras amplificadas

Tipo de amostra	Nº de amostras
-----------------	----------------

Zaragatoas 50

Dejetos 18



Realização de 3 a 4 reações de amplificação por amostra.



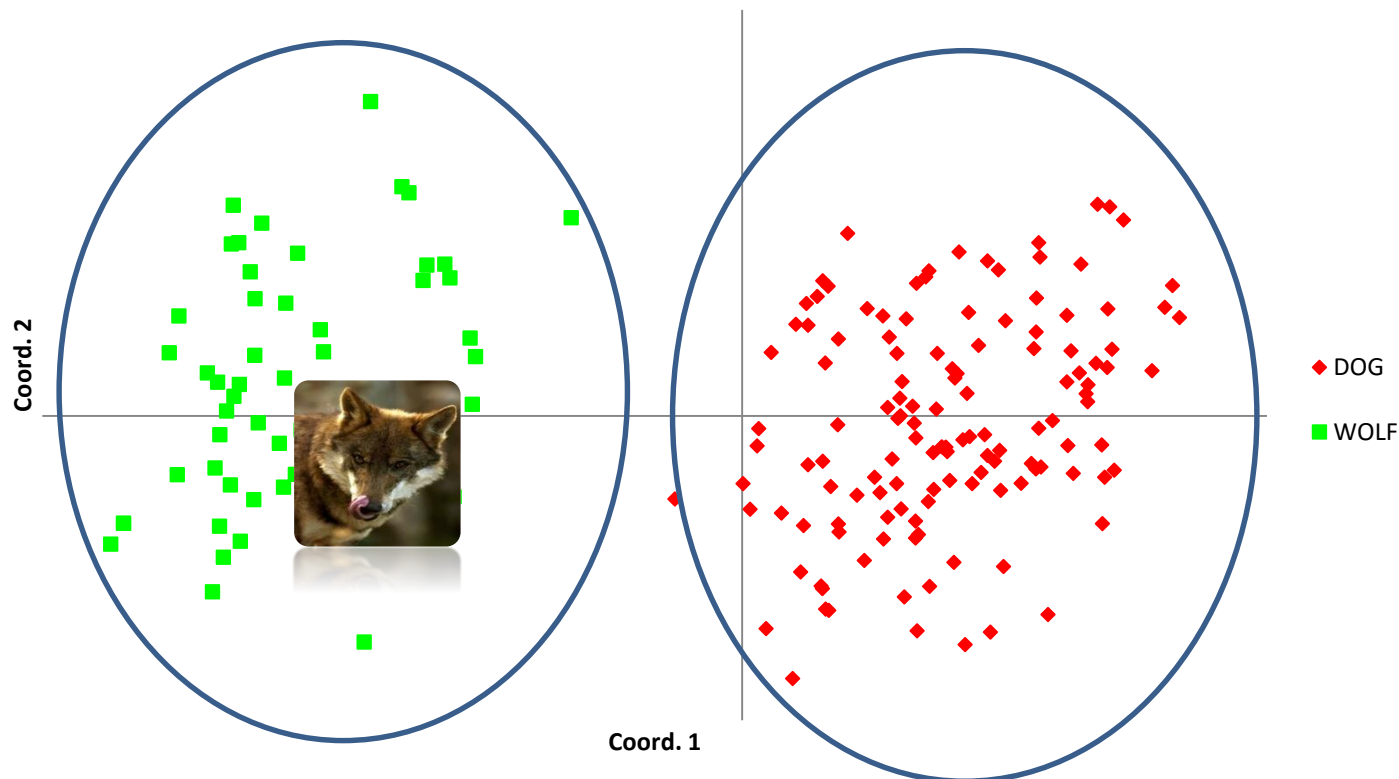
Falha de alelos



Resultados preliminares:

Coordenadas principais

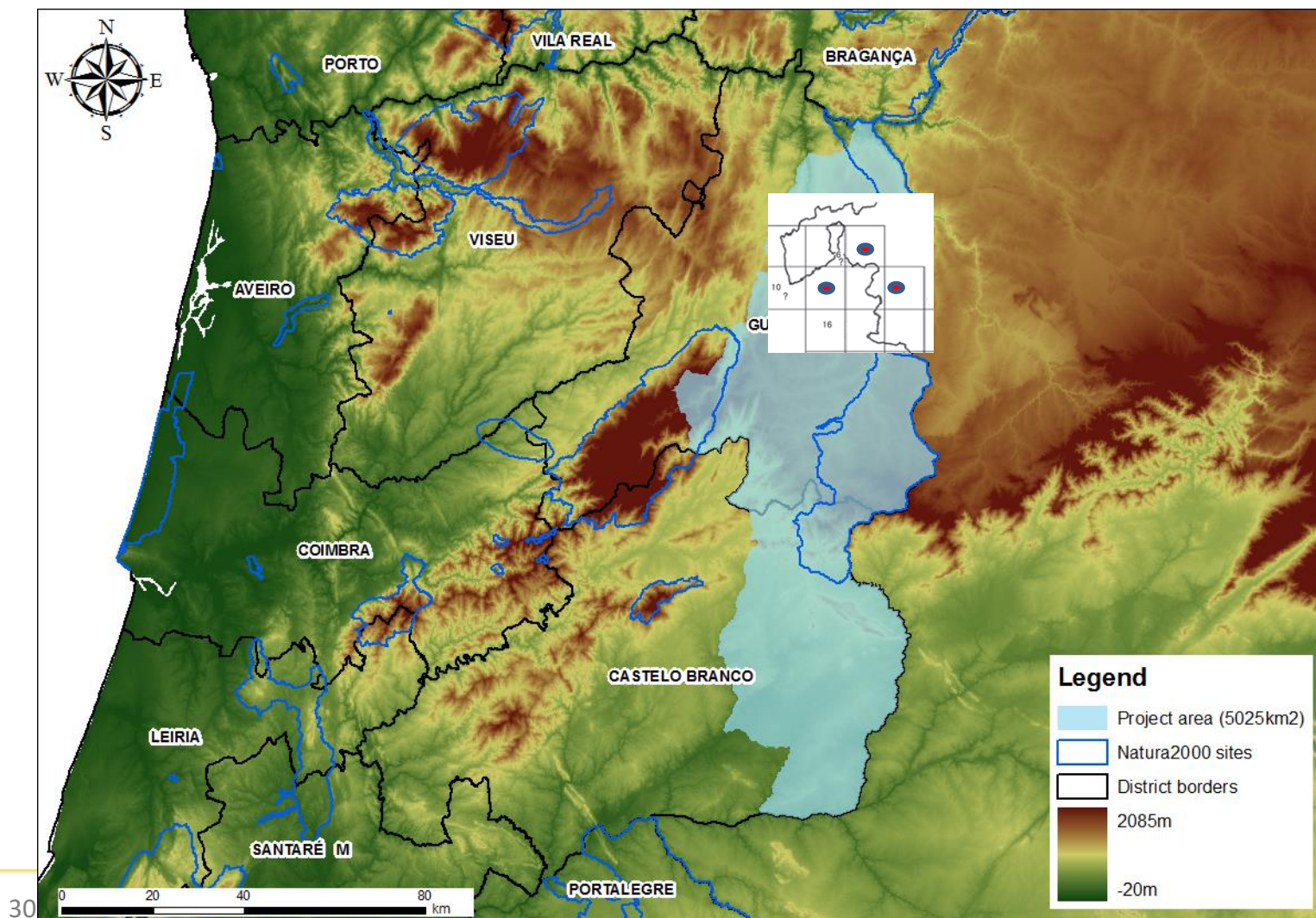
DLife 6



Análise de Coordenadas Principais (PCA) determinada pelo software GenAlEx 6.2 com base em genótipos de 19 loci de microsatélites utilizando a base de dados de genótipos para lobo (denominados WOLF) e dados de genótipos para cães (denominados DOG).



Mapa da área estudada





Agradecimentos:



Professor Doutor Francisco Petrucci Fonseca
A todos os Colegas do Grupo Lobo:
Dr. Duarte
Dr^a Sara



A todos os colegas e amigos do grupo de Biologia Molecular
Doutor José Matos
Doutora Fernanda Simões
Eng^o Diogo Mendonça
Doutora Paula Sá Pereira
Doutora Joana Guimarães
Doutora Elisabete Pires
Doutora Isabel do Rosário



Dr^a Fátima Sobral
Dr^a Ana Nunes



Obrigada

