

IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

João Pessoa, PB – 20 a 22 de junho de 2012

Diversidade genética de ovinos crioulos do Pantanal em rebanhos do Mato Grosso do Sul

Alexandre Campos Banari¹, Bruno do Amaral Crispim², André Vieira do Nascimento², Joyce de Oliveira Azambuja², Alexéia Baruffatti Grisolia², Leonardo de Oliveira Seno³

¹Acadêmico do curso de Biotecnologia – Universidade Federal da Grande Dourados/Dourados-MS. Bolsista de Iniciação Científica. E-mail: campos_banari@hotmail.com

²Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais – Universidade Federal da Grande Dourados/Dourados - MS.

³Faculdade de Ciências Agrárias – Universidade Federal da Grande Dourados/Dourados - MS

Resumo: Ao longo do processo de domesticação/adaptação das raças de ovinos oriundas principalmente da Europa e introduzidas no Brasil pelos portugueses durante o processo de colonização, estes foram adquirindo diversas características necessárias para a sua sobrevivência. O objetivo do trabalho foi determinar a variabilidade genética de ovinos naturalizados, ressaltando a importância da manutenção dos recursos genéticos desses animais, baseados em parâmetros populacionais. Para as análises moleculares dos microssatélites foram utilizadas amostras provenientes de 90 ovinos das raças Crioula do Pantanal (30), Bergamácia (30) e Dorper (30). As análises dos dados genéticos foram realizadas com o software CERVUS 3.0. Ao todo foram identificados 47 alelos entre os dois loci analisados. A heterozigosidade esperada variou de zero a 0,85 e a heterozigosidade observada de zero a 0,76. Os resultados indicaram que ambos marcadores foram altamente polimórficos para caracterização da diversidade genética da ovelha crioula pantaneira. Para as raças Dorper e Bergamácia o marcador OarCP49 apresentou valores informativos de conteúdo de informação polimórfica, enquanto que, o marcador OarAE119 não foi eficiente para caracterização das mesmas.

Palavras-chave: caracterização genética, conservação de recursos genéticos, microssatélites

Genetic diversity of Pantanal Creole sheep in flocks from Mato Grosso do Sul

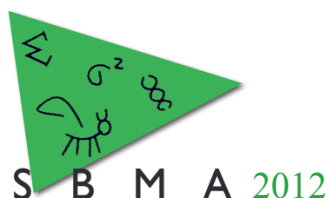
Abstract: Throughout the process of domestication/adaptation of sheep breeds mainly from Europe and introduced in Brazil by the Portuguese during the colonization process, they have acquired several characteristics necessary for their survival. The aim of this study was to determine the genetic variability of naturalized sheep, emphasizing the importance of maintaining genetic resources of animals, based on population parameters. For the molecular analysis of microsatellites were used 90 samples from sheep breeds Pantanal Creole (30), Bergamácia (30) and Dorper (30). The analyzes of genetic data were performed with the software CERVUS 3.0. Altogether 47 alleles were identified between the two loci analyzed. The expected heterozygosity ranged from zero to 0,85 and the observed heterozygosity from zero to 0,76. The results indicated that both markers were highly polymorphic for characterization of the genetic diversity of Pantanal Creole sheep. For the breeds Dorper and Bergamácia, the marker OarCP49 presented informative values of polymorphic information content, whereas the marker OarAE119 was not efficient to characterize them.

Keywords: conservation of genetic resources, genetic characterization, microsatellites

Introdução

Ao longo do processo de domesticação/adaptação das raças de ovinos oriundas principalmente da Europa e introduzidas no Brasil pelos portugueses durante o processo de colonização, estes foram adquirindo diversas características necessárias para a sua sobrevivência. De forma que, as novas condições climáticas, sanitárias e de manejo aos quais estes novos animais foram submetidos não mais fosse um agente limitante.

Estas raças podem ser consideradas potenciais genéticos, visto que, o processo de aquisição de novas características necessárias à sobrevivência é induzido no DNA por meio de mutações, que na maioria das vezes, não são benéficas aos seus portadores. Entretanto, as mutações são a fonte básica de toda a variabilidade genética, fornecendo matéria prima para a evolução. Dessa forma, os animais que



IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

João Pessoa, PB – 20 a 22 de junho de 2012

passaram por um extenso processo de adaptação, conservam em seu material genético características que lhes conferem vantagens adaptativas (Tapio et al., 2010).

Entre os ovinos naturalizados podemos ressaltar: rusticidade e capacidade de adaptação a regiões de clima tropical e subtropical, o que garante possuírem atributos importantes para estas raças naturalizadas serem consideradas detentoras de recursos genéticos para uso futuro (Paiva et al., 2005).

Entre as diversas ferramentas existentes para a caracterização genética, destacam-se os marcadores moleculares de microssatélites que são curtas sequências de DNA (2 a 5 pb) repetidas *em tandem* e muito abundantes no genoma, apresentam alta reprodutibilidade, codominância e elevado nível de polimorfismos (Selkoe et al., 2006). Neste contexto, objetivou-se determinar a variabilidade genética de ovinos crioulos do Pantanal, comparando com outras raças comerciais, ressaltando a importância do patrimônio genético desses animais com base em parâmetros populacionais.

Material e Métodos

Foram coletadas amostras de sangue de 90 animais das raças Bergamácia (30), Crioula do Pantanal (30) e Dorper (30). Foram analisados 2 microssatélites (Tabela 1) recomendados pela FAO (Food and Agriculture Organization)/ISAG (International Society of Animal Genetics) para o estudo de diversidade genética em ovinos. Os microssatélites foram amplificados pela técnica de PCR utilizando uma reação de 25 μ L contendo: 12,5 μ L de PCR Master Mix (Promega, USA), 10 pmoles de cada um dos oligonucleotídeos iniciadores e 50-100ng de DNA genômico. Para visualização da variabilidade alélica, os produtos de PCR foram submetidos eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante a 7% e corados com nitrato de prata. Parâmetros de diversidade dos locos foram estimados para os microssatélites das raças estudadas utilizando o programa CERVUS incluindo: heterozigidade esperada (H_e) e observada (H_o), o conteúdo de informação polimórfica (PIC) e o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE).

Tabela 1. Locus de microssatélite, localização no cromossomo (Crom), oligonucleotídeos iniciadores, marcadores fluorescentes e tamanhos dos fragmentos amplificados em pares de bases (pb) pela PCR

Locus	Nº de Acesso	Crom	Oligonucleotídeos		Fragmentos (pb)
			Foward (5' - 3')	Reverse (5' - 3')	
OarAE119	L11050	OAR 19	CTCAGCAAATGGTTCCTGGGGACC	TTTTATAGTGAGGTGACCACTTGATG	98 - 160
OarCP49	U15702	OAR 17	CAGACACGGCTTAGCAACTAAACGC	GTGGGGATGAATATTCCTTCATAAGG	77 - 103

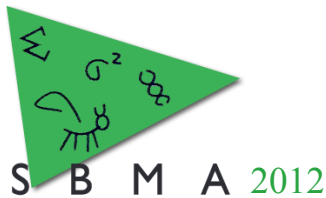
Resultados e Discussão

Ao todo foram identificados 47 alelos nos 2 loci microssatélites analisados, com média de alelos de 5,3 para o locus OarAE119 e o número médio de 10,3 para o locus OarCP49. Os valores dos parâmetros populacionais foram demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2. Número de alelos por locus (N), heterozigidade esperada (H_e) e observada (H_o), conteúdo de informação polimórfica (PIC) e equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) entre as raças ovinas para 2 loci de microssatélites

Locus	OarAE119				OarCP49			
	Pantaneira	Bergamácia	Dorper	Média	Pantaneira	Bergamácia	Dorper	Média
N	10	5	1	5,3	14	10	7	10,3
H_o	0,76	0,17	0,58	0,50	0,53	0,58	0,53	0,54
H_e	0,85	0,37	0,00	0,40	0,85	0,79	0,69	0,77
PIC	0,81	0,34	0,00	0,38	0,82	0,75	0,59	0,72
HWE	0,0000001	0,0001	-		0,0003	0,0403	0,12	

A heterozigidade esperada (H_e) foi de 0,0 a 0,85 e a heterozigidade observada (H_o) foi de 0,76 a 0,0. Para Ott (1992) um marcador é considerado altamente polimórfico quando a heterozigidade



IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

João Pessoa, PB – 20 a 22 de junho de 2012

for superior a 70%, todavia, os resultados obtidos indicaram que o marcador OarAE119 foi altamente polimórfico com $H_o = 0,76$, corroborando com dados obtidos por Szilvia et al., 2010 que estudou este marcador em ovelhas da Hungria.

Segundo a classificação de Botstein et al. (1980), para os valores do conteúdo de informação polimórfica (PIC), considera-se os marcadores com valores superiores a 50% muito informativos, entre 25 e 50% mediamente informativos e inferiores a 25% pouco informativos. Somente o marcador OarAE119 para a raça bergamácia apresentou PIC inferior a 50% sendo considerado, portanto, mediamente informativo.

As raça crioula pantaneira e bergamácia não se encontravam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P < 0,05$) para os dois *loci* (OarAE119 e OarCP49) de acordo com o teste de Qui-Quadrado (χ^2) e os animais da raça dorper apresentaram um *locus* em desequilíbrio (OarAE119). Desvios no equilíbrio de Hardy Weinberg podem indicar: população subdividida, endogamia ou fluxo de genes de outra população, constatando experimentalmente a eficácia da seleção realizada na fazenda pela (a fim de encontrar animais com alto desempenho produtivo) busca de animais com alto desempenho produtivo.

Conclusões

A eficiência dos marcadores de microssatélites para analisar a diversidade genética, foi comprovada (exceto para o marcador OarAE 119 para a raça Dorper). Pode-se relatar que houve maior número de alelos nos loci para as ovelhas crioulas pantaneira indicando maior diversidade genética na raça.

Agradecimentos

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) e à Pró-Reitoria de Pesquisa da UFGD pelo suporte financeiro. À equipe do Laboratório de Biotecnologia Aplicada à Produção Animal da Faculdade de Ciências Agrárias-UFGD.

Literatura citada

- BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M. ; DAVIS, R. W. Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphism. **The American Journal of Human Genetics**, v.32, p.314-331, 1980.
- OTT, J. Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping. **American Journal of Human Genetics**, v.51, p.283-290, 1992.
- PAIVA, S. R.; SILVÉRIO, V. C.; EGITO, A. A.; McMANUS, C.; FARIA, D. A.; MARIANTE, A. S.; CASTRO, S. R.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; DERGAM, J. A. Genetic variability of the Brazilian hair sheep breeds. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v.40, p. 887-893, 2005.
- SELKOE, K. A.; TOONEN, R. J. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. **Ecology Letters**, v.9, p.615–629, 2006.
- SZILVIA, K.; ISTVÁN, N.; TÍMEA, N.; ANDRÁS, M.; ANDRÁS, J.; SÁNDOR, K. The genetic variability of Hungarian Tsigai sheep. **Archives Tierzucht**, v.53 p. 309-317, 2010.
- TAPIO, M.; OZEROV, M.; TAPIO, I.; TORO, M. A.; MARZANOV, N.; ČINKULOV, M.; GONCHARENKO, G.; KISELYOVA, T.; MURAWSKI, M.; KANTANEN J. Microsatellite-based genetic diversity and population structure of domestic sheep in northern Eurasia. **BMC Genetic**, v.11, p. 1-11, 2010.