

IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

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

**Diversidade Genética de Búfalos de Pântano brasileiros  
(*Bubalus bubalis* var. *kerebau*), raça Carabao**

Juliana Nobre Vieira<sup>\*1</sup>, Cláudia Salviano Teixeira<sup>2</sup>, Sandra Guimarães Rodrigues<sup>2</sup>, Eduardo Geraldo Alves Coelho<sup>2</sup>, Marcelo Yukio Kuabara<sup>2</sup>, Denise Aparecida Andrade Oliveira<sup>2</sup>

<sup>\*1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Genética Genômica – Escola de Veterinária da UFMG/Belo Horizonte. Bolsista da CAPES. e-mail: nobrevieira.j@gmail.com

<sup>2</sup>Departamento de Zootecnia, Genética Genômica – Laboratório de Genética da Escola de Veterinária da UFMG/Belo Horizonte.

<sup>3</sup>Orientadora de Doutorado - Departamento de Zootecnia, Genética Genômica – Laboratório de Genética da Escola de Veterinária da UFMG/Belo Horizonte

**Resumo:** O objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade genética de Búfalos de Pântano, raça Carabao, do rebanho brasileiro através de 16 marcadores microssatélites recomendados pela ISAG/2010. Foram obtidos 90 alelos em toda a amostragem, obtendo variação alélica de dois (CSSM60) a oito (RM4). Os valores médios da  $H_o$ ,  $H_e$  e PIC foram de 0.535, 0.563 e 0.521 respectivamente. Houve Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* em 14 dos 16 microssatélites analisados. O valor médio obtido do Índice de Fixação,  $F$ , foi de 0.046, indicando pouca diferenciação genética entre os indivíduos estudados. A probabilidade de exclusão de ambos os pais (PE-3) para o conjunto dos 16 marcadores microssatélites foi de 0.9999. Portanto, estes resultados validam estes *loci* para análise de variabilidade genética, testes de identificação genética e de genealogia em Búfalos de Pântano.

**Palavras-chave:** Búfalo de Pântano, identificação e diversidade genética, teste de paternidade

**Genetic Diversity of Brazilian Swamp Buffaloes (*Bubalus bubalis* var. *kerebau*), race Carabao**

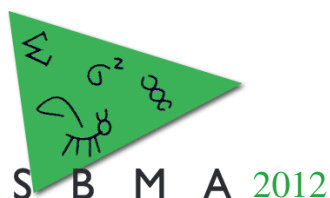
**Abstract:** Objective this study was evaluate the diversity genetic Swamp Buffaloes, Carabao race, Brazilian breed using 16 microsatellites markers recommended by ISAG/2010. A total of 90 alleles were detected in the whole sample and number of alleles varied from two (CSSM60) to eight (RM4). Means values of  $H_o$ ,  $H_e$  and PIC were 0.535, 0.563 e 0.521, respectively. Had HWE 14 that 16 microsatellite markers analyzed. Mean value to  $F$ , Fixation Index, was 0.046, indicated few genetic different between all individuals studied. Probability of exclusion both parents (EP-3) for the set of 16 microsatellites ranged was 0.9999. Those results showed that these loci to analysis by variability genetic, identification and genealogic tests in Swamp Brazilian Buffalo.

**Keywords:** Swamp Buffalo, identity and diversity genetic, paternity test

**Introdução**

No Brasil, são reconhecidas pela Associação Brasileira de Criadores de Búfalos quatro raças pertencentes ao gênero *Bubalus bubalis*, a qual é dividida em dois grupos principais: Búfalos de Rio (*B. bubalis* var. *bubalis*), raças Mediterrâneo, Murrah e Jafarabadi e, Búfalos de Pântano (*B. bubalis* var. *kerebau*), raça Carabao que encontra-se conservada no Brasil, porém em via de extinção (Paulin & Ferreira Neto, 2008; Albuquerque et al., 2006; Alzate et al., 2006). Uma das demandas da conservação de recursos genéticos é o aumento do volume de informações sobre as populações que estão sendo conservadas reforçando a necessidade de se fazer a caracterização genética das mesmas. Em genética, tanto do ponto de vista do melhoramento como da conservação, o principal objetivo é estudar, determinar e medir a variação existente entre e dentro dos indivíduos de uma população (Albuquerque et al., 2006).

Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar a diversidade genética de Búfalos de Pântano, raça Carabao, do rebanho brasileiro, utilizando 16 marcadores microssatélites, recomendados pela ISAG/2010 (*International Society Animal Genetic*). Este é o primeiro estudo realizado com esta raça bubalina, no Brasil, utilizando os *primers* recomendados pela ISAG.



## IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

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

### Material e Métodos

Foram utilizadas amostras DNA, extraídas de folículos pilosos, de 80 Búfalos de Pântano, raça Carabao, do rebanho brasileiro, fornecidos pela Embrapa Amazônia Oriental (Prof. José Ribamar Felipe Marques). As amostras foram amplificadas utilizando painel de 16 marcadores microssatélites, sugeridos pela ISAG/2010. Os produtos de PCR foram submetidos à corrida eletroforética em sequenciador automático de DNA (*Applied Biosystems* – ABI 3130) e foram analisados pelo programa *GeneMapper* v. 4.1. Para análise estatística foram utilizados os *softwares* Cervus v.3.0.3 e GenAIEx v.6.41. Os testes foram realizados no Laboratório Genética da Escola de Veterinária da UFMG.

### Resultados e Discussão

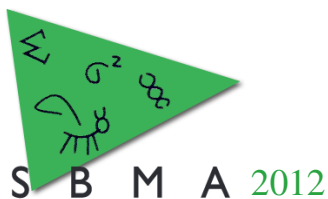
Detectou-se um total de 90 alelos em toda a amostragem, sendo que o número de alelos variou de dois (CSSM60) a oito (RM4). Os valores de  $H_o$  e  $H_e$  apresentaram valores mínimos de 0.050 e 0.049 (CSSM60) e máximo de 0.775 e 0.785 (CSSM47), com médias de 0.535 e 0.563 respectivamente. Em análise geral, 75% dos valores obtidos tanto para  $H_o$  quanto para  $H_e$  foram superiores a 0.5, indicando alto grau de polimorfismo e diversidade genética dos microssatélites analisados. A qualidade dos marcadores microssatélites foi confirmada pelo PIC, onde foram detectados valores superiores a 0.5 em mais de 68% dos microssatélites, obtendo-se média 0.521, valor altamente informativo.

Tabela 1 Os resultados informam a variabilidade genética, probabilidade de exclusão (PE), estatística  $F$  e Equilíbrio de *Hardy-Weinberg*, em 80 Búfalos de Pântano do rebanho brasileiro

Locus	Na	Tpb	$H_o$	$H_e$	PIC	PE-1	PE-2	PE-3	F	Sig
CSSM60	2	90-124	0.050	0.049	0.049	0.999	0.975	0.953	-0.026	ns
CSSM42	5	180-198	0.200	0.692	0.632	0.738	0.575	0.407	0.711	*
BM757	4	181-197	0.213	0.478	0.430	0.879	0.746	0.600	0.556	*
INRA26	3	74-92	0.263	0.284	0.272	0.957	0.850	0.742	0.076	ns
CSSM19	7	131-161	0.525	0.494	0.463	0.867	0.701	0.516	-0.063	ns
BM1824	6	174-192	0.588	0.545	0.511	0.835	0.622	0.470	-0.078	ns
BMC1013	6	221-247	0.588	0.671	0.622	0.742	0.566	0.376	0.124	ns
BM1706	7	227-261	0.600	0.557	0.525	0.823	0.646	0.447	-0.078	ns
CSSM33	4	154-170	0.625	0.558	0.467	0.841	0.730	0.595	-0.120	ns
MAF65	6	111-127	0.625	0.564	0.535	0.816	0.642	0.448	-0.109	ns
FCB304	7	137-157	0.650	0.638	0.566	0.793	0.636	0.470	-0.019	ns
RM4	8	131-165	0.688	0.715	0.665	0.698	0.526	0.343	0.038	ns
CYP21	5	180-188	0.700	0.656	0.590	0.766	0.612	0.442	-0.067	ns
TGLA227	7	72-90	0.725	0.648	0.606	0.756	0.576	0.377	-0.118	ns
BM922	6	60-76	0.750	0.674	0.633	0.731	0.555	0.364	-0.112	ns
CSSM47	7	127-165	0.775	0.785	0.760	0.582	0.403	0.214	0.013	ns
	<b>90</b>		<b>0.535</b>	<b>0.563</b>	<b>0.521</b>	<b>0.9997</b>	<b>0.9999</b>	<b>0.9999</b>	<b>0.046</b>	

**$H_o$** : Heterozigosidade Observada;  **$H_e$** : Heterozigosidade Esperada; **PIC**: Conteúdo de Informação Polimórfica; **PE-1**: Probabilidade de Exclusão de paternidade quando apenas um dos pais é testado; **PE-2**: Probabilidade de Exclusão de paternidade quando ambos os pais são testados; **PE-3**: Probabilidade de Exclusão de ambos os pais; **F**: Índice de Fixação; **EHW**: Equilíbrio de Hardy-Weinberg e **Sig**: significância do EHW (ns=not significant, \* $P < 0.001$ ). Os resultados foram obtidos através dos *softwares* Cervus v.3.0.3 e GenAIEx v.6.41.

A média de probabilidade de exclusão de ambos os pais (PE-3) para o conjunto dos 16 marcadores microssatélites foi de 0.9999 (Tabela 1), valor este recomendado pela ISAG. Valores semelhantes a PE-1, PE-2 e PE-3 foram encontrados em estudos com Búfalos de Rio, utilizando o mesmo grupo de microssatélites (Vieira et al., 2011<sup>a</sup>, Vieira et al., 2011<sup>b</sup>).



## IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

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

O locus RM4 apresentou o alelo 131, o qual não foi detectado em nenhuma outra raça bubalina em testes realizados até este momento (Vieira et al., 2011<sup>a</sup>, Vieira et al., 2011<sup>b</sup>) sendo, portanto, um provável alelo indicador da raça Carabao.

Verificou-se que em 14 ou 87,5% dos 16 loci estudados houve EHW, podendo ser observado através dos valores aproximados de  $H_o$  e  $H_e$  dos microssatélites. Pode-se concluir que a população encontra-se em um estado panmítico, com acasalamentos aleatórios, presença de heteroziguidade, não havendo seleção, mutação e deriva genética.

O valor médio obtido para o índice de Fixação,  $F$ , foi inferior a 0.15 (0.046) indicando pouca diferenciação genética, indicando que há alta endogamia e, portanto, baixa heteroziguidade entre os indivíduos estudados. Este resultado pode estar sendo influenciado pelo desequilíbrio de HW em apenas dois primers (BM757 e CSSM42), bem como, pelos seus elevados valores de  $F$ , 0.711 e 0.556 respectivamente.

### Conclusões

Os marcadores microssatélites mostrados auxiliam tanto no melhoramento como da conservação, determinando e medindo a variação existente, entre e dentro dos indivíduos de uma população.

Todos os microssatélites foram polimórficos, apresentando, alta eficiência para determinar a diversidade genética em Búfalos de Pântano e, conseqüentemente, auxiliar em testes de identificação genética e de genealogia bubalina.

### Agradecimentos

Ao prof. José Ribamar Felipe Marques, Embrapa Amazônia Oriental-Belém/Pará, por sua valiosa colaboração na coleta das amostras.

À FAPEMIG/TCT 12.020/2009 e ao INCT/CNPq por financiarem o projeto e à CAPES pela Bolsa de estudos concedida.

### Literatura citada

ALBUQUERQUE, M.S.M.; EGITO, A.A.; PAIVA, S.R. et al. Conservação e caracterização de búfalos no Brasil: uma Revisão da Literatura. Embrapa Rec. Gen. E Biotec., Brasília, DF, 2006.

ALZATE, M.M.; LÓPEZ, J.B.; MARQUEZ, M.E. Evaluación cariotípica de un grupo de búfalos em Fredonia, Antioquia (Colombia). Rev. Col. Cienc. Pec., v. 19, p.3, 2006.

PAULIN, L.M.S. & FERREIRA NETO, J.S. Brucelose em Búfalos: artigo de revisão. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.75, n.3, p.389-401, 2008.

<sup>a</sup>VIEIRA, J.N.; TEIXEIRA, C.S.; KUABARA, M.Y. et al. Genetic variability and efficiency of DNA microsatellite markers for paternity testing in Brazilian River Buffalo (*Bubalus bubalis*). In: III Congresso Brasileiro de Genética Forense e II Jornada Latino Americana de Genética Forense, Porto Alegre, RS, Brasil, 2011.

<sup>b</sup>VIEIRA, J.N.; TEIXEIRA, C.S.; COELHO, E.G.A. et al. DNA microsatellites for genetic identification in Brazilian buffaloes. In: VI Simposio de Búfalos de las Américas Y Europa. v.1, p.257-260, 2011.