



VARIABILIDADE GENÉTICA DE RAÇAS BOVINAS BASEADA EM MARCADORES STR¹

ANDRÉA ALVES DO EGITO², SAMUEL REZENDE PAIVA², EVA MARIA MAMANÍ³, MARIA DO SOCORRO M. ALBUQUERQUE², CONCEPTA MCMANUS⁴, SILVIA CASTRO², ARTHUR DA SILVA MARIANTE², DÁRIO GRATTAPAGLIA³

¹ Apoio financeiro: Embrapa e Prodetab

² Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Laboratório de Genética Animal, PqEB, Brasília-DF

³ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Laboratório de Genética de Plantas, PqEB, Brasília - DF

⁴ Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília-DF

RESUMO – Pela genotipagem de 12 locos microssatélites analisou-se a diversidade genética de 10 raças bovinas. A análise dos dados gerados constatou que existe um alto grau de diversidade nas raças estudadas, caracterizado pelo elevado índice da heterozigosidade esperada (H_e) nas populações. A raça Jersey apresentou a menor diversidade (0,667) e a Mocho Nacional a maior (0,759). Pelos valores de F_{st} observou-se que as raças naturalizadas assemelham-se, evidenciando a origem comum. As raças Mocho Nacional e Caracu apresentaram a menor diferenciação (0,0294) enquanto que a Guzerá e a Holandesa foram as mais diferentes (0,2695).

PALAVRAS-CHAVE: caracterização genética, diversidade genética; microssatélites

GENETIC VARIABILITY OF BOVINE BREEDS BASED ON STR MARKERS

ABSTRACT - Twelve microsatellite loci were analyzed to estimate the genetic diversity indices of 10 bovine breeds. The analysis of the unbiased estimates of gene diversity (H_e) showed high diversity levels within those breeds. The Jersey breed showed low expected heterozygosity (0.667) and the National Polled breed the highest (0.759). Low differentiation among the naturalized breeds was observed by the F_{st} values, evidencing their common origin. The National Polled and Caracu breeds had presented the least differentiation (0.0294), while the Guzerá and Holstein were the most different (0,2695).

KEYWORDS: Genetic diversity, genetic characterization, microsatellites

INTRODUÇÃO

O progresso e o desenvolvimento futuro da pecuária estão intimamente relacionados com a variabilidade genética de seus rebanhos. Nos últimos 10-15 anos, foi constatado que o uso e a preservação dos recursos genéticos animais são inseparáveis. A diversidade genética está refletida na variedade de tipos e raças existentes e na variação presente dentro de cada uma, sendo que a perda de um único tipo ou raça compromete o acesso a seus genes e combinações genéticas únicas que poderiam ser úteis para a agricultura. Deste modo, a visão atual é a de manter a máxima diversidade genética de cada espécie prevenindo necessidades imprevistas para o desenvolvimento de sistemas de produção sustentáveis.

Atualmente a utilização de técnicas moleculares para a caracterização genética de diferentes espécies, cultivares e/ou populações é uma realidade. Além de oferecer uma elevada precisão, permitem a geração de um grande número de descritores que não são influenciados pelo ambiente nem pelo estágio de desenvolvimento do indivíduo. Entre os marcadores utilizados para esta finalidade, destacam-se os microssatélites, também denominados de STR (Sequence Tandem Repeats). Estes marcadores possuem natureza multi-alélica, herança codominante, abundância e ampla distribuição no genoma. A taxa de mutação dos microssatélites é suficientemente alta para detectar variabilidade mesmo em situações de parentesco. Ao mesmo tempo é baixa para que uma forte estabilidade seja mantida de geração para geração e, com isso, permitir a definição de perfis genéticos altamente informativos e estáveis para a discriminação de variedades e indivíduos.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se neste trabalho um total de 413 indivíduos distribuídas em três grandes grupos: 1) raças taurinas naturalizadas - Caracu (n=49), Crioulo Lageano (n=52), Curraleiro (n=49), Mocho

Nacional (n=45) e Pantaneiro (n=53); 2) raças de origem européia - Holandês (n=25) e Jersey (n=29) e 3) raças zebuínas - Gir (n=22), Guzerá (n= 46) e Nelore (n=43).

Os 12 locos microssatélites utilizados foram recomendados pela ISAG (International Society for Animal Genetics) sendo estes: INRA35, HEL9, INRA63, INRA37, ILSTS5, HEL5, ETH152, TGLA122, BM2113, ETH10, SPS115, ETH 225. Após a amplificação dos fragmentos, em sistemas multiplex e fluorescentes, realizou-se a genotipagem dos alelos em um seqüenciador automático de DNA (modelo ABI 3100).

Na análise dos dados gerados a variação genética foi estimada a partir de freqüências alélicas e genotípicas e índices de diversidade (percentagem de locos polimórficos e número médio de alelos por loco polimórfico, heterozigosidade) em relação aos locos microssatélites estudados empregando-se o programa GENEPOP (Raymond & Rousset, 1995). A caracterização da estrutura genética das populações foi realizada a partir das estatísticas F de Wright (1951). Também se testou o equilíbrio de Hardy-Weinberg para os locos genotipados. Para analisar as relações inter-raciais, foi utilizado o programa DISPAN (Ota, 1993) para calcular a distância genética de Nei (1972) entre pares de raças e, posteriormente, um dendrograma foi obtido pelo algoritmo de agrupamento *Neighbor joining* (NJ). Valores de consistência interna para cada nó do dendrograma também foram obtidos pelo método de *bootstrap*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 141 alelos foram detectados entre os 13 locos analisados, variando de oito (INRA63 e SPS115) a 19 (TGLA122) alelos por locos, com conteúdo de informação polimórfica (PIC) variando de 0,638 (INRA35) a 0,876 (HEL9). Pelos valores obtidos a partir das estatísticas de Wright pode-se observar que os locos ILSTS5 e HEL5 foram os menos informativos.

Ao analisar os locos estudados pode-se verificar que apenas quatro deles estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg (INRA63, ETH152, BM 2113, ETH10). Nas 10 populações analisadas foram observados desvios significativos do equilíbrio de Hardy-Weinberg em mais de um loco. Estes resultados são condizentes com os observados por outros autores em raças geneticamente isoladas e estruturadas (Beja-Pereira *et al.*, 2003) e podem estar evidenciando os sistemas de seleção praticados.

Na tabela 1 pode-se observar os valores médios de heterozigosidade esperada (H_e), a heterozigosidade observada, PIC e número médio de alelos por locos levando-se em conta os 12 marcadores analisados. Pela análise dos parâmetros de variabilidade genética pode-se observar que embora a heterozigosidade observada, em todas as raças, esteja abaixo da esperada, estes valores são elevados indicando uma alta diversidade nas raças em estudo. Almeida *et al.* (2000) analisando uma raça híbrida, obteve 54% de heterozigosidade. Por ser uma raça altamente melhorada, a raça Jersey foi a que apresentou índices menores de H_e (67%); por outro lado, as raças Pantaneira e Crioulo Lageano apresentaram 75% de heterozigosidade, demonstrando ter uma alta diversidade.

TABELA 1. Valores médios de heterozigosidade esperada, observada, PIC e número de alelos/locos baseando-se na análise de 12 locos microssatélites

	Número médio de alelos por locos	Heterozigosidade média esperada	Heterozigosidade média observada	PIC médio
Caracu	6,75	0,712	0,696	0,662
Crioulo Lageano	8,08	0,741	0,664	0,698
Curraleiro	7,50	0,700	0,645	0,650
Mocho Nacional	7,83	0,789	0,688	0,714
Pantaneiro	8,33	0,747	0,711	0,708
Holandês	6,33	0,698	0,589	0,642
Jersey	6,58	0,667	0,608	0,613
Nelore	6,83	0,677	0,604	0,632
Guzerá	7,33	0,719	0,607	0,634
Gir	6,83	0,710	0,641	0,658

Foram encontrados diferentes alelos que só ocorriam nas raças de origem ibérica com frequência inferior a 5%, exceto o alelo 168 do loco TGLA122 cuja frequência variou de 1,2 a 24%. Beja-Pereira *et al.* (2003) também observaram a presença de alelos únicos, em baixa frequência, para outras raças ibéricas.

Foi possível observar que as raças naturalizadas assemelham-se na comparação aos pares ($F_{st} < 4\%$) evidenciando a origem comum ibérica. As raças Mocho Nacional e Caracu apresentaram a menor diferenciação (0,0294). Este resultado contrasta com resultados obtidos para estas raças pela técnica de RAPD (Serrano *et al.*, 2002). A menor diferenciação de ambas e o agrupamento observado no dendrograma gerado a partir da distância genética de Nei pelo método de NJ (Figura 1) podem estar evidenciando a miscigenação que vem ocorrendo entre as mesmas, uma vez que a raça Mocho Nacional está sendo registrada, atualmente, como variedade “mocha” da raça Caracu. A proximidade da raça Caracu com a raça Holandesa condiz com os obtidos por Serrano *et al.* (2002).

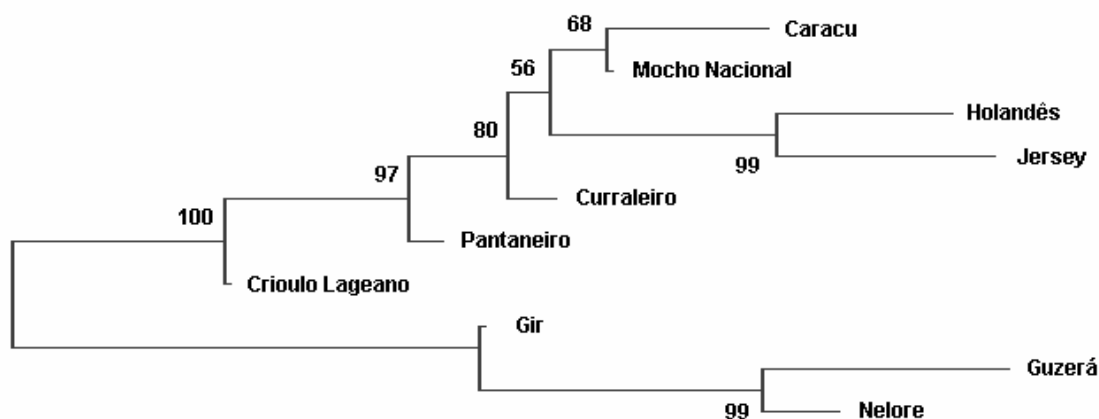


FIGURA 1. Dendrograma gerado pelo método de *Neighbor joining* baseado em dados de distância genética de Nei (1972)

CONCLUSÕES

Embora exista uma utilização maciça de reprodutores de alto valor genético na pecuária nacional, foi possível verificar que existe uma alta variabilidade nas raças estudadas, evidenciada pelos valores obtidos nos índices de diversidade. Em relação às raças comerciais, às raças nativas, possuem, em sua maioria, uma variabilidade maior, apresentando diversos alelos raros que podem, futuramente, desempenhar um papel importante em programas de melhoramento genético envolvendo o uso racional dos recursos genéticos animais no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, S.E.M.; MACHADO, M.S.N.; STEIGLEDER, C.S.; GAMA, C.L.; HUTZ, M.H.; HENKES, L.E.; MORAES, J.C.F.; WEIMER, T.A. Genetic diversity in a Brazilian bovine herd based on four microsatellite loci. **Genetics and Molecular Biology**, 23, 2, 347-350, 2000.
- BEJA-PEREIRA, A., ALEXANDRINO, P.; BESSA, I.; CARRETERO, Y.; DUNNER, S.; FERRAND, N.; JORDANA, J.; LALOE, D.; MOAZAMI-GOUDARZI, K.; SANCHEZ, A.; CAÑON, J. Genetic characterization of Southwestern European bovine breeds: a historical and biogeographical reassessment with a set of 16 microsatellites. **J. Heredity**, 94, 3, 243-250, 2003.
- NEI, M. Genetic distance between populations. **American Naturalist**, Chicago, v.6, p.283-292, 1972.
- OTA, T. **DISPAN: genetic distance and phylogenetic analysis**. Pennsylvania State University Park, PA. 1993
- RAYMOND M. & ROUSSET F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **J. Heredity**, 86:248-249, 1995.
- SERRANO, GM; EGITO, A. A.; MARIANTE, A DA S.; MCMANUS, C. Genetic diversity and population structure of Brazilian native bovine breeds based on RAPD markers. 7th World Congress on



V Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal

Genetics Applied to Livestock Production, August 19-23, 2002, Montpellier, France.
Proceedings...Comunicación 26-35. 2002.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Ann. Eugen.**, 15, 313-354, 1951.