



VII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal *São Carlos, SP, 10 e 11 de julho de 2008*

Haplótipos de DNA mitocondrial (mtDNA) como ferramenta para diferenciar estoques comerciais e locais de suínos no Brasil

Carla dos Anjos de Souza¹, Samuel Rezende Paiva², Arthur da Silva Mariante², Simone Elisa Facioni Guimarães³, Wilson Moreira Dutra Jr.⁴, Elizabete Cristina da Silva⁵, Ubiratan Piovezan⁶, Giovani Bertani⁷, Monica Corrêa Ledur⁷, Rinaldo Wellerson Pereira⁸

¹Doutoranda da Universidade Católica de Brasília, email: canjos@cenargen.embrapa.br, bolsista da CAPES

²Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Pesquisador da Universidade Federal de Viçosa

⁴Professor da Universidade Federal Rural de Pernambuco

⁵Graduanda da Universidade Federal Rural de Pernambuco

⁶Pesquisador da Embrapa Pantanal

⁷Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves

⁸Professor da Universidade Católica de Brasília

Resumo – Este trabalho teve como objetivo investigar a origem das raças locais de suínos no Brasil, bem como a divergência em relação aos estoques comerciais, com base na variação da região controle do mtDNA. Foram seqüenciadas 117 amostras de onze grupos genéticos de suínos locais e cinco de suínos comerciais. Os 15 haplótipos identificados nas populações brasileiras apresentaram 22 sítios polimórficos (18 transições, 3 transversões e uma deleção/inserção), cujo valor de diversidade médio (π) foi de $0,04945 \pm 0,02423$. Não houve diferença significativa entre as raças locais e as raças Ibéricas ($P < 0,0001$), com exceção da raça Moura que divergiu significativamente, não só das raças locais, como também dos estoques comerciais brasileiros e das raças européias como um todo. Todos os estoques comerciais divergiram significativamente das raças locais e ibéricas. Desta forma, os resultados sugerem que as principais raças locais brasileiras descendem de duas linhagens maternas, que apesar de européias, divergem significativamente dos estoques comerciais atuais.

Palavras-chave: mtDNA, recursos genéticos, *Sus scrofa*

Mitochondrial DNA haplotypes as tool for differentiate commercial and local stocks of pigs in Brazil

Abstract – The aim of this work was to investigate the origin of local pig breeds in Brazil as well as the divergence of commercial stocks based on variation of mitochondrial control region. Sequences of 117 samples of eleven local and five genetic groups presented 15 haplotypes, in which were found 22 polymorphic sites (18 transitions, 3 transversions, and one deletion/insersion), that showed mean diversity value (π) of 0.04945 ± 0.02423 . No

differentiation was found between local and Iberian breeds ($P < 0.0001$), an exception was the Moura breed which diverged significantly not only from local breeds but also from all others European breeds. All commercial stocks diverged significantly from local and Iberian breeds. Therefore, the results suggest that the main Brazilian local breeds descend from two maternal lineages that although from European origin diverge significantly from current commercial stocks.

Keywords: genetic resources, mtDNA, *Sus scrofa*

Introdução

Os suínos locais caracterizam-se por serem rústicos, do tipo banha, com menores exigências alimentares e de manejo quando comparados com animais melhorados, estando adaptados a diferentes ecossistemas das regiões brasileiras com capacidade para sobreviver em condições desfavoráveis de criação (Mariante et al., 2003). As principais raças locais brasileiras são: Piau, Nilo, Pirapetinga, Tatu, Canastra, Canastrão, Caruncho, Moura, Monteiro, Pereira e o fenótipo conhecido como Casco-de-Mula.

No século XX, a necessidade de aumentar os níveis de produção suína no Brasil deu início ao processo de melhoramento genético das raças existentes por meio da importação de raças comerciais européias. Desde então, a diversidade genética das raças locais tem declinado drasticamente como consequência de sucessivos cruzamentos indiscriminados com raças européias comerciais, de tal forma que, atualmente, das treze raças locais de suínos identificadas no Brasil, onze se encontram ameaçadas de extinção e uma se encontra criticamente ameaçada (Mariante et al., 2003).

A divergência entre os estoques locais e comerciais reflete a diversidade das populações brasileiras de diferentes origens. A perda de um único tipo ou raça compromete o acesso aos seus genes e combinações genéticas únicas que podem ser úteis no futuro. Neste contexto, para que a utilização racional destas raças tenha sucesso é necessária a visão de um uso futuro desse conhecimento, seja para atender a programas de melhoramento animal ou para atender a futuras demandas da indústria. No intuito de incrementar o conhecimento sobre essas raças, este trabalho teve como objetivo investigar a origem das principais raças locais de suínos no Brasil, bem como a divergência em relação aos estoques comerciais, com base nas variações da região *D-loop* do mtDNA.

Material e Métodos

A região *D-loop* do mtDNA de 117 amostras de suínos (Tabela 1) foi amplificada via reação em cadeia da polimerase (PCR) de acordo com os *primers* propostos por Alves et al. (2003). Os produtos da PCR foram purificados com o kit *EXOSAPIT (USB)*, segundo protocolo do fabricante.

O seqüenciamento foi feito com *Big Dye Terminator Cycle Sequencing* kit (*Applied Biosystems*) utilizando-se os mesmos *primers* da PCR. As seqüências foram editadas e alinhadas com o auxílio do programa SeqScape versão 2.1 (*Applied Biosystems*) e os haplótipos definidos com base na seqüência referência de DNA mitocondrial de *Sus scrofa*, AJ002189 (Ursing & Arnason, 1998). Após edição, as seqüências (350 pb) foram alinhadas com outras 368 seqüências disponíveis no NCBI pelo programa MEGA (Kumar et al., 1994). A análise de variância molecular (AMOVA) e distâncias F_{st} foram realizadas com o programa Arlequin 3.01 (Excoffier et al., 2005).

Resultados e Discussão

As populações suínas brasileiras apresentaram 15 haplótipos diferentes (Tabela 1), onze de origem europeia (H1 a H11) e quatro de origem asiática (H12 a H15), entre os quais foi possível identificar 22 sítios polimórficos (18 transições, 3 transversões e uma deleção/inserção). O valor de diversidade médio (π) da população brasileira foi de $0,04945 \pm 0,02423$. O valor de π entre os haplótipos do tipo asiático ($0,02355 \pm 0,01335$) foi maior do que entre os haplótipos do tipo europeu ($0,01775 \pm 0,01037$). Os haplótipos H1, H4, H5, H7 e H9 são exclusivos dos estoques comerciais, enquanto que os haplótipos H10, H11 e H15 estão presentes somente em raças locais.

Tabela 1 - Distribuição dos haplótipos da região do *D-loop* do mtDNA entre as amostras coletadas (*n*).

Raças Grupos	<i>n</i>	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15
Canastra	1												1			
Canastrão	1		1													
Caruncho	4		4													
Casco-de-burro	4		3	1												
Nilo	8		7									1				
Monteiro	15		14				1									
Moura	16		3	9							1				3	
Piau	16		11						3				1			1
Pirapetinga	3		3													
Rabo-de-Peixe	3		3													
Tatu	8		6										1	1		
Duroc	4				3	1										
Landrace	13	2	1				3	3	1					1	2	
Large White	3										1			2		
Pietrain	3						3									
MS60	15			1	1	1	6							3	3	
Total	117	2	56	11	4	2	13	3	4	1	1	1	3	7	8	1

A variação entre as raças locais e comerciais de 48,16% foi significativa (Tabela 2). Entre as principais raças locais Moura, Nilo, Monteiro, Piau e Tatu, foi verificada uma variação de 48,98% (Tabela 2), no entanto, esta variação diminuiu para 1,86% ao desconsiderar a raça Moura da análise.

Table 2 - Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre haplótipos do tipo europeu das populações brasileiras de suínos.

Amostras	Fonte de Variação	G.L.	Porcentagem de Variação	P-valores
Comerciais x Locais	Entre grupos	1	48,16	
	Dentro de grupo	97	51,84	P<0,0001
Raças Comerciais x Raças Locais	Entre grupos	1	31,78	
	Entre raças dentro de grupos	5	22,59	P<0,0001
	Dentro de populações	67	45,63	
Raças locais (Moura, Nilo, Monteiro, Piau, Tatu)	Entre raças	4	48,98	
	Dentro de raça	50	55,02	P<0,0001

A distância entre as raças Nilo, Monteiro, Piau e Tatu não foi significativa, e estas, por sua vez, também não apresentaram divergência significativa em relação às raças Ibéricas já descritas na literatura (Tabela 3). O haplótipo mais frequente entre essas raças (H2) fora encontrado na variedade ibérica de Negros Lampiños por Alves et al., 2003. Isto sugere que, estas quatro raças descendem da mesma linhagem materna de origem ibérica.

Tendo em vista a divergência significativa da raça Moura em relação às demais raças locais, esta possivelmente deve ter sido originada de outra linhagem materna européia. O haplótipo mais frequente dentro da raça Moura (H3), que está ausente nas demais raças locais, ainda não foi descrito na literatura.

Table 3 - Distância F_{st} entre estoques locais e comerciais brasileiros e haplótipos europeus já publicados no NCBI. Valores de distância F_{st} estão abaixo da diagonal e os respectivos p-valores estão acima da diagonal.

Distância	Tatu	Monteiro	Nilo	Piau	Landrace	MS60	Moura	Ibéricos	Europeu
Tatu	-	0,99099	0,99099	0,53153	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Monteiro	-0,07692	-	0,79279	0,15315	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Nilo	-0,04025	-0,02184	-	0,30631	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Piau	0,05328	0,06203	-0,01024	-	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Landrace	0,46028	0,54368	0,38582	0,35708	-	0,17117	0,0001	0,0001	0,02703
MS60	0,67673	0,69452	0,51018	0,45498	0,09239	-	0,0001	0,0001	0,55856
Moura	0,62166	0,66967	0,5372	0,53547	0,3834	0,48506	-	0,0001	0,0001
Raças Ibéricas	0,33441	0,36816	0,26055	0,24094	0,2267	0,16046	0,37218	-	0,0001
Demais Raças Europeias	0,33967	0,33303	0,27751	0,23066	0,07975	-0,01931	0,36064	0,09823	-

Os haplótipos H6, do tipo europeu, e H13, do tipo asiático, foram os mais frequentes dentre os estoques comerciais. Este dado corrobora o resultado mostrado por Alves et al. (2003), que se refere à introgressão de haplótipos asiáticos nas principais raças européias, a partir das quais as populações comerciais brasileiras atuais foram formadas (Tabela 1). Além dos estoques comerciais, oito animais de quatro grupos genéticos locais apresentaram haplótipos asiáticos H12-H15 (Tabela 1), o que pode ser evidência do cruzamento com raças européias comerciais para fins de melhoramento genético, fato já descrito na literatura e que tem sido considerado uma das principais ameaças às raças locais brasileiras (Mariante et al., 2003).

Conclusão

Os resultados obtidos servirão como um critério adicional para a formação e o monitoramento de núcleos de conservação ou de granjas comerciais visando ao uso futuro destas raças no Brasil.

Literatura Citada

- ALVES, E.; ÓVILO, C.; RODRIGUES, M.C.; SILIÓ, L. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogenetic relationships among Iberian pigs and other domestic and wild pig populations. **Animal Genetics**, v.34, n.5, p.319-324, 2003.
- EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin version 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online**, v.1, p.47-50, 2005.
- KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software for microcomputers. **Computational Applied Bioscience**, v.10, n.2, p.189-191, 1994.
- MARIANTE, A.S.M.; MCMANUS, C.; MENDONÇA, J.F. **Country report on the state of animal genetic resource brazil**. Embrapa Genetic Resource and Biotechnology, Brasília, DF, 2003. 92p.
- URSING, B.M.; ARNASON, U. The complete mitochondrial DNA sequence of the pig (*Sus scrofa*). **Journal of Molecular Evolution**, v.47, n.3, p.302-306. 1998.