

# SITUAÇÃO ATUAL DA CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA ANIMAL NA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA

Andréa A. do Egito; Maria do Socorro M. Albuquerque; Arthur da S. Mariante  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília -DF

**Palavras chave:** marcadores moleculares, RAPD, SSR, banco genômico

## RESUMO

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia possui 23 laboratórios, para o desenvolvimento de suas pesquisas, dentre os quais está incluído o Laboratório de Genética Animal (LGA). Este laboratório foi implantado, recentemente, e tem como missão caracterizar e avaliar geneticamente, mediante o uso de marcadores moleculares, espécies e/ou raças de animais domésticos em perigo de extinção, comparando-as com raças comerciais. Além destas, também deverão ser caracterizadas espécies faunísticas com uso potencial para a pecuária. Todo este trabalho de caracterização genética animal visa a manutenção, a conservação e a disponibilidade da diversidade genética. Além destes trabalhos, o LGA possui um Banco de Amostras, no qual estão sendo incluídas amostras de DNA, hemácias e plasma das diversas espécies em estudo. Pretende-se, num futuro próximo, incluir neste Banco, amostras de tecidos e células imortalizadas, que servirão como fonte inesgotável de material para futuros estudos de caracterização, busca de marcadores moleculares ligados a características de produção e fornecimento de células para trabalhos biotecnológicos. Este Banco terá fundamental importância, no futuro, quando as técnicas de clonagem estiverem estabelecidas, pois poder-se-á, com este material, restaurar populações que por algum motivo tenham se extinguido.

## INTRODUÇÃO

Segundo a FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), elementos importantes nos programas nacionais de conservação incluem o inventário, a caracterização e a documentação dos dados obtidos. Em termos de pesquisa, as prioridades devem ser dadas à caracterização e avaliação das populações nativas, mensuração das diferenças entre e dentro das populações (Fitzhugh & Strauss, 1992), embora Barker (1994) cite que representantes de raças comuns e economicamente importantes devam ser incluídas, em adição às raras, com o intuito de se obter uma visão geral da diversidade genética existente dentro de cada espécie.

A diversidade genética dentro das espécies está refletida na variedade de tipos e raças que existem e na variação presente dentro de cada uma, sendo que a perda de uma única população poderá comprometer o acesso a seus genes e combinações genéticas únicas (National Research Council, 1993). Deste modo, a visão atual é a de manter a maior diversidade genética possível de cada espécie prevenindo necessidades imprevistas para o desenvolvimento de sistemas de produção sustentáveis, uma vez que não é possível prever com objetividade quais características poderão ser necessárias no futuro (Barker, 1992, 1994; Danell, 1994; Hall e Bradley, 1995).

A obtenção de uma descrição completa das diferenças entre duas raças e/ou populações é inviável. A mensuração da distância genética entre as populações é um dos critérios que pode ser utilizado para a caracterização das mesmas, sendo considerado um descritor objetivo e viável, para a diferenciação das populações.

No Brasil, até o momento, a caracterização das diferentes raças de animais domésticos existentes tem se baseado, quase que exclusivamente em dados fenotípicos (morfológicos e de produção), os quais muitas vezes são insuficientes para distinguir raças puras e muitas vezes são influenciados pelo meio ambiente. Mesmo nas raças consideradas comerciais, estratégias para se

otimizar a resposta à seleção têm se baseado nos conceitos e ferramentas da genética quantitativa, tendo em vista que a maioria das características de interesse zootécnico e econômico possui herança poligênica.

Ao contrário da caracterização fenotípica, a caracterização genética é totalmente livre de influências do meio ambiente, propiciando uma maior acurácia dos dados gerados, o que é de suma importância nas decisões a serem tomadas em programas de conservação ou na futura utilização destes recursos genéticos (Fitzhugh & Strauss, 1992). Assim sendo, as técnicas para a análise da variabilidade genética são um ingrediente essencial para os programas de conservação e melhoramento racionais, uma vez que estes devem ser baseados na combinação dos dados fenotípicos e genéticos (Hetzl & Drinkwater, 1992).

O estudo aprofundado das mesmas poderá auxiliar no desenvolvimento e acompanhamento racional de futuros programas de melhoramento animal, bem como na preservação e conservação do germoplasma. Os ganhos na eficiência econômica, os quais podem ser resultado da utilização deste material genético, podem superar os custos requeridos na conservação destas raças/populações. Muitas raças, que uma vez foram economicamente importantes, são atualmente raras, ainda que possuam características com valores potenciais (Hall & Bradley, 1995).

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), desde 1983, possui no Programa Conservação e Uso de Recursos Genéticos da Embrapa, projetos relacionados à conservação de espécies de animais domésticos em risco de extinção. Até bem pouco tempo, a caracterização das raças naturalizadas vinha se baseando, quase que exclusivamente, em características morfológicas e produtivas, as quais podem ser influenciadas pelo meio ambiente. Tendo em vista o exposto acima, foi implantado, em 1998, o Laboratório de Genética Animal que tem como missão caracterizar e avaliar geneticamente, mediante o uso de marcadores moleculares, espécies e/ou raças de animais domésticos em perigo de extinção, comparando-as com raças comerciais. Além destas, também serão caracterizadas espécies faunísticas com uso potencial para a pecuária. Este trabalho visa a manutenção, a conservação e a disponibilidade da diversidade genética.

## **PROJETOS APROVADOS E/OU EM DESENVOLVIMENTO NO LGA**

Os trabalhos atualmente em desenvolvimento no LGA visam estimar a diversidade genética das espécies e a variabilidade genética, mediante o uso de índices de similaridade/ dissimilaridade, entre e dentro das raças e/ou populações existentes, para fins de conservação. Nas espécies domésticas estão incluídas as espécies bovina, eqüina, asinina, bubalina, caprina e ovina. A determinação do grau de similaridade ou dissimilaridade genética entre as populações, auxiliará na comprovação da unicidade de uma dada raça/população, pois embora recebam denominações diferentes e habitem regiões distintas, várias populações, apresentam fenótipos semelhantes. Assim sendo, poder-se-á auxiliar decisões a respeito de quais populações devem ser conservadas, especialmente quando os recursos são escassos, evitando-se assim a duplicação de esforços na manutenção de amostras que, essencialmente, podem ser as mesmas. Por outro lado, poder-se-á assegurar a manutenção da variabilidade genética evitando que populações de uma mesma raça, que possuam características particulares, sejam descartadas durante o processo de conservação. Além de poder auxiliar a escolha de animais menos similares dentro dos núcleos de conservação *in situ* para serem doadores de germoplasma, auxiliar os cruzamentos visando a manutenção da máxima variabilidade dentro destas populações, bem como a troca de estoques genéticos entre diferentes núcleos de criação se suas populações forem semelhantes, evitando-se, assim, a crescente endogamia em rebanhos com um pequeno número de indivíduos.

Estas estimativas estão sendo feitas, inicialmente, a partir de dados obtidos pela técnica de RAPD e servirão para constatar as diferenças e/ou a unicidade das raças naturalizadas, avaliando-se o grau de diferenciação genética existente entre as mesmas. Devido às características deste tipo de marcador (dominância e alta sensibilidade), os projetos prevêm também a utilização de marcadores

microsatélites (co-dominantes), os quais permitem que se estimem parâmetros necessários para a análise da diversidade genética, como frequências gênicas, o grau de heterozigosidade médio entre e dentro das populações; além de proporcionar a comparação, mediante a padronização de protocolos e marcadores, entre os dados obtidos no LGA e em outros laboratórios. Com esta finalidade, serão utilizados, em nosso laboratório, os microsatélites recomendados pelo ISAG (International Society for Animal Genetics) em conjunto com a FAO. Exemplificando, na espécie bovina, foi, recentemente, submetido ao Convênio CNPq/ICCTI (Portugal), um projeto de cooperação entre o LGA e o Laboratório de Genética Animal e Conservação da Universidade do Porto, localizado no Campus Agrário de Vairão, em Portugal, que visa a comparação entre as raças bovinas naturalizadas brasileiras e as raças autóctones portuguesas mediante o uso destes marcadores. Tendo em vista que as raças bovinas naturalizadas originaram-se da Península Ibérica, este projeto de cooperação auxiliará na determinação das raças Portuguesas autóctones (nativas) que participaram da formação das raças brasileiras naturalizadas. Os resultados alcançados permitirão que se pense na possibilidade de realizar futuros intercâmbios de germoplasma, o que poderá ser fundamental para a preservação de algumas destas raças brasileiras que atualmente possuem efetivos populacionais extremamente reduzidos. Contatos também estão sendo realizados com a Espanha com a mesma finalidade.

As raças domésticas consideradas comerciais (“exóticas”) também foram incluídas, nos diversos projetos, visando o estabelecimento de parâmetros que auxiliem a identificação de um determinado grupamento genético como uma raça distinta das demais bem como, para verificar a possibilidade de genes destas raças terem sido introduzidos nas raças naturalizadas.

A amostragem das populações vem seguindo as recomendações de Barker (1994). Nos trabalhos que envolvem os núcleos de conservação *in situ*, estes estão tendo todos os seus indivíduos amostrados. O DNA genômico vem sendo extraído a partir de amostras de linfócitos e/ou sêmen mediante o uso de protocolos já estabelecidos. Cada amostra é subdividida sendo uma amostra utilizada nos projetos de caracterização e as demais incorporadas ao Banco de Amostras do LGA.

Na área faunística, está em desenvolvimento um projeto que visa a análise da variabilidade genética das populações de *Agouti paca*, nas unidades de conservação da Reserva de Biosfera do Cerrado, no Distrito Federal. As populações que, porventura, possam persistir em áreas não protegidas também serão amostradas. Prevê-se também a análise do plantel de pacas mantidas em cativeiro, no Brasil, com a intenção de se avaliar sua viabilidade e subsidiar o planejamento reprodutivo. Os dados serão gerados mediante o uso das técnicas de RAPD e microsatélites. No caso destes últimos, serão testados 80 *primers* específicos de ratos de laboratório, visando a obtenção de *primers* polimórficos para a espécie em estudo.

**Além dos projetos que envolvem o estudo da diversidade genética nas diversas espécies, também estão sendo desenvolvidos no LGA, trabalhos visando a expressão gênica, o estudo do proteoma e a busca de marcadores moleculares de características reprodutivas masculinas (fertilidade e motilidade de espermatozoides) na espécie bovina.**

**Sendo um laboratório criado recentemente, o mesmo possui até o momento, uma infra-estrutura básica. Recentemente, foi aprovado um projeto de capacitação laboratorial, pela FAP-DF (Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal) que permitirá a aquisição de equipamentos e a capacitação do LGA para os trabalhos que envolvem o uso de microsatélites no estudo da diversidade genética das espécies em estudo.**

O aumento da infra-estrutura laboratorial tem uma importância fundamental, uma vez que o laboratório encontra-se também envolvido com a formação e capacitação de estudantes de graduação e pós-graduação, possuindo, atualmente, três estudantes de graduação realizando seus estágios curriculares e/ou de iniciação científica e, em convênio de apoio técnico científico com a Universidade de Brasília (UnB), uma dissertação de mestrado sendo desenvolvida e previsão de outros quatro alunos de mestrado a partir do ano 2000.

## **Banco de Amostras**

O Banco de Amostras do LGA conta, atualmente com exemplares das espécies domésticas bovina (Caracu, Crioulo Lageano, Curraleiro, Holandês, Jersey, Junqueira, Kangayam, Mocho Nacional, Nelore, Pantaneiro, Patuá, Simental e Tapabuã), eqüina (Árabe, Bretão, Campeiro, Campolina, Crioulo, Lavradeiro, Mangalarga, Pantaneiro e PSI), asinina (Jumento Brasileiro e Nordestino), bubalina (Tipo Baio, Carabao, Mediterrâneo e Murrah), caprina (Canindé, Marota, Repartida e Moxotó) e ovina (Bergamácia, Crioula Lanada, Morada Nova e Rabo Largo). Além destas, também estão armazenadas amostras de uma espécie silvestre (*Agouti paca*).

As amostras sangüíneas são processadas, segundo protocolos estabelecidos, sendo seus componentes separados (leucócitos, plasma e hemácias) e armazenados a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para posterior extração de DNA e futuros trabalhos, em parceria, envolvendo polimorfismos protéicos. Cada amostra que chega ao laboratório recebe um código específico e está cadastrada em um Banco de Dados, separado por espécie e raça, onde dentro de cada raça constam informações a respeito de cada animal coletado, como genealogia, sexo, descendência, data de nascimento, local de origem do animal e coleta do material, localização das amostras no Banco e outras informações pertinentes àquele indivíduo e ao processamento da amostra.

O material que se encontra, atualmente, no Banco de Amostras do LGA foi coletado em viagens realizadas por membros dos respectivos projetos ou enviados por pesquisadores responsáveis pelos núcleos de conservação *in situ*.

Em um futuro próximo, serão também armazenados e conservados tecidos e células imortalizadas que servirão como fonte inesgotável de material para trabalhos envolvendo marcadores moleculares, bem como, com o advento das técnicas de clonagem, poderão ser utilizadas para a restauração/recuperação de raças ou populações de animais domésticos, e até mesmo espécies, no caso de animais silvestres.

## **Atividades futuras**

Tendo em vista a dificuldade existente em alguns núcleos de conservação, devido à criação extensiva ou ao manejo realizado, impossibilitando um controle rígido sobre os acasalamentos, existem dúvidas quanto à paternidade de alguns indivíduos. Assim sendo, o LGA pretende, inicialmente para a espécie bovina, implantar estudos de exclusão de paternidade mediante o uso de marcadores moleculares, sanando assim quaisquer dúvidas existentes quanto à ascendência de seus indivíduos. Este serviço poderá, numa etapa posterior, ser oferecido a criadores em geral.

Pretende-se também, no futuro, oferecer serviços que visem sanar dúvidas quanto a origem de determinados animais ou produtos comercializados no Distrito Federal e/ou no Brasil, servindo como um laboratório de referência, na área animal, para estudos e/ou casos que exijam o uso de técnicas moleculares.

Além destas atividades pretende-se, também, buscar marcadores moleculares relacionados à características de interesse econômico (QTLs), nas raças naturalizadas, visando sua utilização em programas de melhoramento animal.

## **Referências Bibliográficas**

BARKER, J.S.F. General considerations. In : **HODGES, J. The management of global animal genetic resources**. Proceedings of an FAO Expert Consultation. Rome, Italy, pp.309. 1992.

- BARKER, J.S.F. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. In: **World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 5** : 501-508. Proceedings... Guelph. 1994.
- DANELL, B. Methods of conservation of farm animals. 102-111. In: **Genetic Resources in Farm Animals and Plants**. Report from Research Symposium 27-29 May, Ed. The Nordic Council of Ministers. 1994.
- FITZHUGH, H.A.; STRAUSS, M.S. Management of global animal genetic resources organizational and institutional structure. In : **HODGES, J. The management of global animal genetic resources**. Proceedings of an FAO Expert Consultation. Rome, Italy, pp.309. 1992.
- HALL, S.J.G.; BRADLEY, D.G. Conserving livestock breed biodiversity. **TREE 10** (7): 267- 270. 1995.
- HETZEL, D. J. S.; DRINKWATER, R. D. The use of DNA technologies for the conservation and improvement of animal genetic resources. In : **HODGES, J. The management of global animal genetic resources**. Proceedings of an FAO Expert Consultation. Rome, Italy, pp.309. 1992.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Managing global genetic resources. Livestock**. Committee on Managing Global Genetic Resources: Agricultural Imperatives. Ed. National Academic Press. Washington, D.C. pp.276. 1993.