

Biologia Avançada na Produção de Pequenos Ruminantes

Autora: Lucia Helena Sider

Pesquisadora em Genômica da Embrapa Caprinos

A Biologia Avançada é uma novíssima área do conhecimento que engloba uma série de modernas tecnologias e ferramentas que podem ser aplicadas em qualquer ramo da Biologia, da Medicina e da Agropecuária. A produção de pequenos ruminantes já começou a ser beneficiada pelas ferramentas da Biologia Avançada. No entanto, há ainda muito o que ser feito, principalmente quando comparado aos avanços já alcançados na espécie humana e em outros organismos modelo, como o camundongo. Para se ter idéia dos avanços relativos entre as pesquisas com o ser humano e com as principais espécies de ruminantes, apresentamos a Tabela 1, que mostra os progressos até o momento (14/março/2008) no número de “ESTs” (do inglês *expressed sequence tags*) depositadas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) em cada uma das espécies.

TABELA 1. Quantitativo de informação genética em humanos e nas principais espécies de ruminantes

Espécie	ESTs	Genoma completo
Homo sapiens	8.252.299	SIM
<i>Bos taurus</i>	1.559.876	SIM
(<i>Bos indicus</i>)	(35.701)	
<i>Ovis aries</i>	209.985	NÃO
<i>Capra hircus</i>	13.518	NÃO

A Tabela 1 evidencia a defasagem das pesquisas nas espécies de pequenos ruminantes, principalmente a espécie caprina, em relação aos mais estudados bovinos e seres humanos. O objetivo desta palestra é mostrar o que já foi ou tem sido desenvolvido, bem como o enorme potencial de pesquisa em Biologia Avançada nestas espécies.

Para efeitos didáticos, podemos dividir a Biologia Avançada nas seguintes sub-áreas:

- ü Caracterização e conservação em recursos genéticos
- ü Prospecção de genes e funções biológicas
- ü Genômica estrutural e funcional
- ü Proteômica
- ü Bioinformática
- ü Análises estruturais, comparativas e funcionais de genomas
- ü Melhoramento Genético (incluindo o melhoramento molecular)
- ü Transformação genética (Transgenia)
- ü Biossegurança e Biorremediação

Caracterização e conservação de recursos genéticos

A caracterização de um dado organismo vivo pode ser morfológica, fisiológica, bioquímica ou molecular. Na caracterização morfológica são registrados a forma e a estrutura dos diversos constituintes do organismo. Na caracterização fisiológica é feito o estudo da função. No caso da caracterização bioquímica são estudados os processos bioquímicos (reações que ocorrem no organismo) e na caracterização molecular, que é a que enfatizamos aqui, o organismo é dissecado em nível molecular com estudos de estrutura e função de moléculas.

A caracterização molecular é essencial para os estudos de conservação, melhoramento genético e bioprospecção. Um estudo típico de caracterização e conservação de mamíferos envolve as seguintes etapas: 1. conhecer a variabilidade genética, 2. restaurar a variabilidade (com o emprego de técnicas da reprodução e ferramentas de biologia molecular) e 3. a conservação propriamente dita.

Recentemente, pesquisadores da Embrapa Caprinos têm promovido a caracterização e conservação de raças caprinas, em dois projetos de pesquisa (Silva, 2005a e b) A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia também possui o Programa Brasileiro de conservação de recursos genéticos animais (Egito et al., 2002). Entre outras espécies, este programa apresenta frentes de conservação de ovinos e caprinos, principalmente na região Nordeste.

Prospecção de genes e funções biológicas

Tradicionalmente, o enfoque das pesquisas consistia em conhecer uma determinada função biológica e só então buscar o gene responsável. Atualmente, com o grande volume de genes sendo descobertos dia após dia, a situação é inversa, pois são estes genes, em sua maioria desconhecidos, que demandam caracterização (Malone et al., 2006). Este processo de caracterização se denomina prospecção de genes.

O processo de prospecção de genes envolve análise *in silico* (bioinformática) e análises moleculares. Tudo começa com a procura de seqüências nos bancos de dados. Estas seqüências são então alinhadas umas com as outras para que sejam identificadas as seqüências similares, ou domínios conservados. Com esta informação são construídos primers degenerados, que são pequenas seqüências de DNA contendo mais de uma combinação de bases, permitindo com que seqüências com pequenas diferenças sejam amplificadas igualmente. Em paralelo a isto são construídas bibliotecas de cDNA a partir de RNA extraído de determinados tecidos, e submetido à transcrição reversa. Finalmente, é feita a triagem destas bibliotecas por meio de reações em cadeia da polimerase (PCR) utilizando os primers degenerados (Malone et al., 2006).

Genômica Estrutural e Funcional

A Genômica é uma área que despontou nos anos 90 e vem causando um grande impacto em várias outras áreas do conhecimento. O Brasil vem acompanhando os avanços de perto e já se tornou uma referência por ter sido o primeiro a seqüenciar o genoma completo de um fitopatógeno (*Xylella fastidiosa*) e por participar de outros projetos de repercussão mundial (genoma humano do câncer, genoma bovino, etc.).

A Genômica se divide em duas grandes áreas: a genômica estrutural e a funcional. A genômica estrutural estuda a estrutura dos genes e suas abordagens vão desde as ferramentas de mapeamento genético, passando pelo seqüenciamento em larga escala de genes e incluindo a análise estrutural e modelagem de proteínas. Sua principal meta é a geração de dados (seqüências gênicas). Já a genômica funcional, como o próprio nome indica, tem como meta o estudo da função destes genes. Suas principais ferramentas são os estudos de expressão gênica diferencial (comparação de transcriptomas).

Mapeamento gênico

O mapeamento genômico é classicamente dividido em mapeamento genético, citológico e físico. Os mapas genéticos são construídos a partir das frequências de recombinação entre genes. Os mapas citológicos são baseados em padrões de bandeamento dos cromossomos e os mapas físicos são baseados em distâncias moleculares, em pares de bases. Estes três tipos de mapas se relacionam entre si, embora não de uma maneira exata. Isto ocorre principalmente porque as frequências de recombinação não produzem mapas genéticos exatamente lineares.

Recentemente, os mapas de ligação (linkage maps) também têm assumido grande importância nos estudos de genômica e genética molecular. Estes mapas consistem em diversos marcadores polimórficos (como RFLPs, VNTRs, STRPs e SNPs) que eventualmente se encontram próximos a genes de interesse (em linkage). Já existem mapas de ligação tanto para ovinos (exemplos em Galloway et al., 2006; Maddox et al., 2001; Crawford et al., 1995) quanto para caprinos (Vaiman et al., 1996). Outra ferramenta importante da genômica estrutural são as bibliotecas BAC (do inglês "bacterial artificial chromosome"). Estes cromossomos artificiais de origem bacteriana podem albergar pedaços de cromossomos de organismos superiores, facilitando o estudo dos mesmos. Estas bibliotecas também já estão disponíveis para ovinos (exemplo em Tabet-Aoul et al., 2000) e caprinos (Schibler et al., 1998).

Estas ferramentas são bastante úteis para a espécie em que o estudo foi conduzido, mas também podem ser extrapoladas para outras espécies próximas ou mesmo mais distantes, caracterizando os estudos de genômica comparativa. Em espécies onde a informação genética é escassa e portanto poucas ferramentas são disponíveis, como os pequenos ruminantes, a genômica comparativa é bastante utilizada.

Seqüenciamento

Quando se idealiza um projeto genoma, duas abordagens podem ser utilizadas: ou se faz o seqüenciamento de bibliotecas genômicas ou então o seqüenciamento de bibliotecas de cDNA (genômica funcional). A diferença básica entre as duas abordagens é que no seqüenciamento das bibliotecas genômicas é seqüenciado o DNA inteiro do organismo, contendo tanto regiões codificantes (genes) como as não codificantes. Para alcançar este objetivo o DNA é fracionado em pedaços menores e subclonado em vetores apropriados que então são introduzidos em bactérias (*E. coli*) que vão multiplicá-los. No seqüenciamento das bibliotecas de cDNA são seqüenciadas apenas as regiões codificantes (os genes propriamente ditos). Neste caso, o RNA mensageiro (RNAm), intermediário entre a informação gênica (DNA) e as proteínas, é convertido em uma molécula mais estável, o cDNA, que é então subclonado e multiplicado em *E. coli*.

O seqüenciamento em si é feito pelo método dos dideoxynucleotídeos (proposto por Sanger, 1975) e conduzido atualmente em modernos seqüenciadores automáticos.

Genômica Funcional

Existem cinco níveis de regulação da expressão gênica, a saber: 1. a transcrição, 2. o processamento do RNA, 3. a estabilidade do RNA, 4. a tradução e 5. a pós-tradução. Dentre eles, a tradução (conversão do DNA em RNA mensageiro) é um dos mais importantes.

Tecnologias para o estudo da expressão gênica diferencial

Convencionalmente, as análises dos padrões de expressão gênica eram feitas com genes pontuais, por meio de técnicas clássicas como o *northern blot*, o ensaio de proteção da ribonuclease e o RT-PCR (atualmente muito empregada a RT-PCR quantitativa ou em tempo

real). Com o advento da era genômica, foram desenvolvidas tecnologias que permitem a análise da expressão gênica de centenas de genes ao mesmo tempo. Existem técnicas para todos os tipos de orçamento. Elas vão do *differential display* (DDRT-PCR), o seqüenciamento em larga escala de ESTs, as bibliotecas de cDNA subtrativas, a análise serial de expressão gênica (SAGE), o MPSS, até os macro e microarranjos de DNA e os genechips. Algumas destas tecnologias requerem a comparação com banco de dados, como o SAGE e o MPSS. Estes bancos de dados ainda não estão disponíveis para ovinos e caprinos o que torna limitada a aplicação da tecnologia nestas espécies. Já no caso dos microarranjos é muito comum recorrer-se à genômica comparativa, aplicando por exemplo microarranjos bovinos para experimentos com ovinos e caprinos (Diez-Tascón et al., 2005). Já existe um microarranjo descrito para ovinos e o mesmo foi utilizado no estudo da resistência genética à verminose (Keane et al., 2006).

A tecnologia de microarranjos consiste em fragmentos de DNA imobilizados em um arranjo ordenado sobre uma superfície sólida em alta densidade. Os cDNAs que serão testados são marcados com corantes fluorescentes (os mais comuns são as cianinas Cy3 e Cy5). Os microarranjos então são hibridizados com os cDNAs marcados provenientes de duas amostras que se desejam comparar, sendo que cada cDNA é marcado com um fluoróforo diferente (hibridização competitiva). A intensidade de fluorescência para cada ponto é determinada pela varredura dos microarranjos por um scanner que possui lasers capazes de excitar ambos fluoróforos separadamente. No caso dos genechips não é feita a hibridização competitiva e sim as amostras de RNA são hibridizadas separadamente a réplicas dos genechips.

Proteômica

A Proteômica engloba conhecimentos e técnicas capazes não só de identificar um conjunto de proteínas produzidas por uma célula mas também de revelar as interações e inter-dependência dos processos biológicos. Sabe-se que a cada seqüência gênica correspondem uma ou mais proteínas. A cada proteína é atribuída uma função na célula. Portanto, a seqüência primária dos aminoácidos de uma proteína codificada no genoma corresponde a uma única conformação espacial funcional .

Atualmente são disponíveis tecnologias que permitem amostras centenas ou milhares de proteínas em géis bidimensionais. Além disso, com o desenvolvimento da espectrometria de massas é possível identificar não somente as seqüências polipeptídicas mas detectar as modificações pós-traducionais.

O mapa proteômico consiste em duas etapas: a separação das proteínas a partir do fracionamento de um extrato celular e a identificação de cada proteína.

As proteínas são inicialmente separadas por suas capacidades de protonação, através de seus pontos isoeletricos, em um gradiente de pH e, a seguir, na segunda dimensão pelo seu tamanho, através de suas massas moleculares relativas. Os métodos clássicos de marcação das proteínas são a marcação pela prata e pelo *Coomassie blue*.

A identificação e o seqüenciamento das proteínas são feitos pela espectrometria de massas. As duas técnicas, desorção ionizante assistida por uma matriz (MALDI) e a ionização por eletrodispersão (ESI), tornaram-se amplamente utilizadas na identificação e seqüenciamento de polipeptídeos.

Bioinformática

A Bioinformática envolve uma série de ferramentas computacionais, sem as quais as análises de dados moleculares gerados pela Genética Molecular, Genômica e Proteômica seriam impossíveis. A complexidade da informação é tanta que na maioria dos casos não pode

ser estudada pelo mesmo indivíduo que trabalha no laboratório e se faz necessário, portanto, a figura do bioinformata.

Dentre as atribuições da bioinformática estão: 1. coleta, organização e análise de seqüências de DNA e proteínas, 2. comparação (alinhamento) de seqüências, 3. construção de árvores filogenéticas, 4. predição de estruturas tridimensionais de moléculas biológicas (RNA e proteínas), 5. estudo da interação entre genes e seus produtos, 6. detecção e análise de redes gênicas.

Felizmente, na Região Nordeste, já existem núcleos de Bioinformática que vêm se fortalecendo cada vez mais. Só no estado do Ceará temos o Núcleo de Genômica e Bioinformática, o NUGEN, ligado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (UECE), o Núcleo de Biotecnologia de Sobral (NUBIS), que é um convênio entre a Universidade Federal do Ceará (UFC), a Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA) e a Embrapa Caprinos, e finalmente, o núcleo de bioinformática ligado ao mestrado em Bioprospecção Molecular, da Universidade Regional do Cariri (URCA).

União de esforços entre a Genômica, Proteômica e Bioinformática:

Recentemente, uma iniciativa australiana mas com colaboradores em todo mundo, incluindo o Brasil, propôs o Projeto Genoma Ovino.

No mesmo sentido, um projeto de grande porte, intitulado Desenvolvimento de Biotecnologias para Promoção Socioeconômica Sustentável da Caprinocultura, mais conhecido como BioBode, foi recém aprovado pela FINEP. O projeto envolve várias instituições de pesquisa nordestinas, incluindo a Embrapa Caprinos. Este projeto visa a aplicação da Genômica Funcional, a Proteômica e a Bioformática em prol do aumento da informação genética em caprinos. Suas metas são basicamente as seguintes:

- ü Identificar, pelo menos, 10.000 etiquetas de genes expressos (ESTs) de glândula mamária e tecidos do sistema reprodutor masculino de caprinos da raça Moxotó;
- ü Caracterizar 100 proteínas diferencialmente expressas no leite e no sêmen de caprinos da raça Moxotó, criados sob diferentes condições nutricionais, sanitárias e variadas formas de manejo;
- ü Formar um banco de dados moleculares visando a mineração de dados e a obtenção de marcadores moleculares para qualidade do leite e eficiência reprodutiva;
- ü Prospectar o potencial biotecnológico de genes e proteínas caprinas;
- ü Formar um rebanho com pelo menos 50 caprinos da raça Moxotó.

Análises estruturais, comparativas e funcionais de genomas

Este item não deixa de fazer parte da Bioinformática, porém tem ganhado importância com a necessidade de análise do grande número de dados gerados pelos diversos Projetos Genoma. É o que se chama comumente de “anotação” dos genomas.

A anotação pode se dar em três níveis:

- ü Anotação em nível de nucleotídeos, onde procura-se encontrar a localização física das seqüências de DNA e descobrir onde estão os genes, RNAs, elementos repetitivos, éxons, íntrons, região promotora, etc.
- ü Anotação em nível protéico, onde procura-se descobrir a provável função dos genes, identificando quais são aqueles que determinado organismo possui e quais ele não possui.
- ü Anotação em nível de processo, onde procura-se identificar as vias e processos nos quais diferentes genes interagem, montando uma anotação funcional eficiente. Extraído de <http://www.odnaviaiescola.com/anotacao.htm>)

Melhoramento Animal

O melhoramento animal se baseia na seleção e a seleção consiste na escolha correta dos indivíduos que produzirão descendentes levando em consideração características morfológicas e/ou produtivas que se deseja ver expressas na geração seguinte. Portanto, a seleção é uma ferramenta que tem o objetivo de melhoria ou fixação de alguma característica de importância. Isso quer dizer que ela tem por finalidade aumentar, na população, a frequência de alelos favoráveis (este texto foi parcialmente extraído de Sider, 2007).

A seleção pode ser feita baseada em elementos fenotípicos, ou seja, nas características visíveis ou mensuráveis de um indivíduo, produzidas pela interação entre genes e ambiente. Por não necessitar de qualquer análise adicional, a seleção fenotípica é bastante utilizada pelos produtores, mas não é necessariamente a mais adequada, pois nem sempre as características visíveis ou mensuráveis são herdadas. A seleção também pode ser genotípica (baseada no genótipo) e, neste caso, se divide em quantitativa ou molecular. No caso da seleção genotípica quantitativa, dados fenotípicos relacionados a características de interesse econômico são analisados por fórmulas matemáticas complexas, que apontam não somente a herdabilidade de uma determinada característica, como também os reprodutores que transmitem essa característica de forma mais efetiva para seus descendentes. Esta é uma forma mais demorada de seleção quando comparada à seleção fenotípica. A seleção genotípica molecular é uma nova e importante ferramenta para o melhoramento genético animal e tem como princípio a busca por genes candidatos associados às características de interesse e a sua aplicação como marcadores moleculares na seleção assistida por marcadores. Esta abordagem, baseada em testes de DNA, promete ser rápida e confiável, de modo que seus altos custos de implantação e execução sejam logo recuperados. Esta forma de seleção, como qualquer outra, também requer a informação fenotípica.

A seleção assistida por marcadores possui três ferramentas de estudo para chegar a genes candidatos: o mapeamento genético, a busca do gene principal e a expressão gênica diferencial (genômica funcional).

O primeiro caminho, e também a abordagem mais clássica, é o mapeamento genético através do estudo de loci, ou regiões cromossômicas que afetam características quantitativas (do inglês "*quantitative trait loci* – QTL", ou ainda, "*economic trait loci* – ETL"). Consiste na análise de regiões específicas do cromossomo (microssatélites) de todos os indivíduos de grandes famílias de animais formadas por acasalamentos direcionados. Esses estudos permitem o estabelecimento de correlações entre o perfil dos microssatélites e o desempenho produtivo dos animais testados. Dessa forma, pode-se mapear os cromossomos tentando identificar a localização dos genes envolvidos com determinada característica de produção (maciez da carne, produção de leite, desenvolvimento corporal, resistência a doenças, entre outras). Uma determinada região de QTL pode gerar por si só um marcador genético sem, necessariamente, identificar o gene ou os genes responsáveis pelo fenótipo.

O segundo caminho, denominado busca do gene principal, baseia-se no conhecimento prévio dos mecanismos fisiológicos envolvidos com a manifestação das características de produção em questão e na tentativa de pesquisar as variações de genes específicos (enzimas, hormônios ou proteínas) entre indivíduos que apresentem fenótipos distintos. É uma abordagem limitada, uma vez que trabalha com um ou poucos genes de cada vez, e sabe-se que a maioria das características fisiológicas são determinadas por vários genes.

Recentemente, as pesquisas têm voltado a atenção para um terceiro caminho, que é o estudo da expressão gênica diferencial (genômica funcional), baseando-se no princípio de que os animais que apresentam características fenotípicas diferentes, possam diferir tanto qualitativamente quanto quantitativamente na produção de RNA mensageiro (RNAm) e, conseqüentemente, na expressão da proteína que o mesmo codifica. Os microarranjos de DNA e a análise serial de expressão gênica (SAGE) estão entre as ferramentas mais utilizadas nesta abordagem. Estas técnicas de análise de expressão gênica permitem estudar inúmeros genes simultaneamente, identificar aqueles que estejam diferencialmente expressos e eventualmente agrupá-los quanto ao seu envolvimento em diferentes situações fisiológicas e/ou patológicas. No entanto, trata-se de uma abordagem dispendiosa e relativamente demorada pois não produz genes candidatos prontos para serem aplicados na seleção assistida por marcadores.

Uma nova área recentemente criada, a Genética Genômica, visa a combinação do mapeamento gênico e da genômica funcional. Suas ferramentas principais são os QTLs de expressão (eQTLs), que combinam as genotipagens aos microarranjos de DNA.

Apesar de todos os esforços, a seleção assistida por marcadores ainda não está sendo plenamente aplicada ao melhoramento de ovinos e caprinos, em parte em função da escassez de informação genética nestas espécies, principalmente em caprinos. Enquanto não se dispõe deste tipo de informação, esta limitação pode ser superada com a utilização de ferramentas de genômica comparativa, ou seja, graças à similaridade genética que existe entre bovinos e os pequenos ruminantes, ferramentas disponíveis para bovinos, como os microarranjos contendo genes desta espécie, podem ser aplicadas em estudos com ovinos e caprinos.

Estudos recentes em diversas unidades da Embrapa têm investido na identificação de genes candidatos associados à resistência genética à verminose gastrointestinal em ovinos. Algumas regiões cromossômicas, como o cromossomo 3 (Gouveia et al, 2007) e o cromossomo 20 (dados não publicados), estão sendo estudadas quanto à sua associação à resistência genética à verminose. Ambas as regiões são conhecidas por conter genes do sistema imune, como o interferon gama e as moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (CHP), respectivamente, que participam da resposta parasita-hospedeiro. Além disso, está sendo iniciada uma linha de pesquisa que visa a identificação de genes candidatos associados à resistência à verminose em caprinos por meio de ferramentas de genética molecular (mapeamento gênico) e de genômica funcional comparativa (microarranjos de DNA) (Sider, 2008).

Outros projetos da Embrapa Caprinos são: “Melhoramento Genético da Raça Santa Inês para a Produção de Carne” (Lobo, 2005a), “Programa de Melhoramento Genético de Caprinos Leiteiros” (Lobo, 2005b), “Estudo genético quantitativo molecular para características de interesse econômico em ovinos” (Lobo, 2006) e “Núcleo de conservação e melhoramento genético da raça Morada Nova” (Facó, 2007).

Transformação Genética (Transgenia)

A clonagem já é uma realidade em ovinos e caprinos e pode-se dizer que a transgenia também. Existe hoje um grande interesse mundial na expressão de transgenes (modificação da informação genética de um organismo por meio da tecnologia de DNA recombinante) na glândula mamária de espécies de aptidão leiteira. A espécie caprina tem sido a espécie de escolha por ter uma alta produção de leite e por possuir algumas vantagens em relação à espécie bovina, como um período de gestação menor, maior prolificidade (duas crias são comuns), menor intervalo entre partos e um menor custo de criação.

O Brasil produziu recentemente o primeiro caprino transgênico da América Latina. O grupo, cearense, mas com parceria de outros estados e também internacional, tentou inicialmente padronizar os procedimentos reprodutivos necessários para a produção de animais transgênicos. Foram produzidos animais após a microinjeção pronuclear de embriões, no entanto, nenhum se comprovou ser transgênico (Freitas et al., 2003). Em estudo posterior, o grupo teve sucesso e produzir “Carlos”, um macho transgênico contendo o gene do fator estimulante de colônia de granulócitos humano, hG-CSF (Freitas et al., 2007). O hG-CSF é um fator de crescimento hematopoiético utilizado para prevenir a neutropenia e a leucopenia induzidos por procedimentos como radiação e quimioterapia intensiva em humanos. Também pode ser aplicado no tratamento de pacientes imunossuprimidos, no infarto do miocárdio e na isquemia cerebral. A hipótese de trabalho era a de que um pequeno rebanho transgênico expressando este fator poderia suprir o Brasil do hG-CSF.

As diversas etapas da construção do animal transgênico foram: o desenvolvimento DNA a ser introduzido (fusão dos genes hG-CSF e alfa s1-caseína), a superovulação e cobertura das fêmeas, a coleta de embriões e a visualização dos mesmos em microscópio para a identificação dos dois pronúcleos (embrião deve estar no estágio de uma célula). Em seguida foi feita a microinjeção do DNA exógeno em pronúcleo e a transferência dos embriões para receptoras sincronizadas. Depois do nascimento foi confirmado se houve a incorporação do transgene por PCR.

Recentemente, o grupo vem tentando a produção de transgênicos por meio de outra técnica, a transferência nuclear (clonagem). Alguns animais inclusive já nasceram por este procedimento, incluindo três transgênicos (dois machos e uma fêmea).

Biossegurança e Biorremediação

A Biossegurança refere-se ao conjunto de normas e procedimentos destinados a evitar a entrada de agentes infecciosos (vírus, bactérias, fungos, parasitas) no rebanho, bem como controlar sua disseminação entre os diferentes setores ou grupos de animais dentro do sistema de produção.

Já a Biorremediação propõe normas para o descarte de carcaças e restos de animais.

Considerações finais

Pelo exposto aqui, é possível ter uma idéia do panorama das pesquisas em Biologia Avançada na produção de pequenos ruminantes. Alguns pesquisadores da região Nordeste já despontam neste cenário com iniciativas empreendedoras, mas ainda há muito campo para novos pesquisadores. A demanda é grande e há necessidade de aumentar e capacitar recursos humanos, além de equipar laboratórios existentes e em formação. Com isso, é possível projetar que em uma década ou menos o cenário de informação genética de pequenos ruminantes esteja equiparado ao de bovinos e talvez, mais próximo ao de humanos. E que não se pare por aí, mas sim que esta informação genética sirva para estudos funcionais, onde equipes multidisciplinares possam atribuir as mais variadas aplicações em suas respectivas áreas de atuação.

Referências Bibliográficas

ANÔNIMO. O DNA vai à escola: anotação, (<http://www.odnaviaiescola.com/anotacao.htm>) acessado em 14/04/2008.

CRAWFORD, A.M.; DOODS, K.G.; EDE, A.J.; PIERSON, C.A.; MONTGOMERY, G.W.; GARMONSWAY, H.G.; BEATTIE, A.E.; DAVIS, K.; MADDOX, J.F.; KAPPES, S.W.; STONE, R.T.; NGUYEN, T.C.; PENTY, J.M.; LORD, E.A.; BROOM, J.E.; BUITKAMP, J.; SCHWAIGER, W.; EPPLIN, J.T.; MATTHEW, P.; MATTHEWS, M.E.; HULME, D.J.; BEH, K.J.; MCGRAW, R.A.; BEATTIE, C.W. An autosomal genetic linkage map of sheep genome. *Genetics*, v.140, p.703-724, 1995.

DIEZ-TASCÓN, C.; KEANE, O.M.; WILSON, T.; ZADISSA, A.; HYNDMAN, D.L.; BAIRD, D.B.; McEWAN, J.C.; CRAWFORD, A.M. Microarray analysis of selection lines from outbred populations to identify genes involved with nematode parasite resistance in sheep. *Physiology and Genomics*, v.21, p.59-69, 2005.

EGITO, A.A.; MARIANTE, A.S.; ALBUQUERQUE, M.S.M. Programa Brasileiro de Conservação de Recursos Genéticos Animais. *Archives of Zootechny*, v.51, p.39-52, 2002.

FACÓ, O. Núcleo de conservação e melhoramento genético da raça Morada Nova. Projeto de Pesquisa, BNB-FUNDECI, 2007.

FREITAS, V.J.E.; SEROVA, I.A.; ANDREEVA, L.E.; LOPES-Jr, E.S.; TEIXEIRA, D.I.A.; CORDEIRO, M.F.; RONDINA, D.; ARRUDA, P.I.J.; LIMA VERDE, J.B.; DVORANTCHIKOV, G.SEROV, O. Birth of kids after microinjection of pronuclear embryos in a transgenic goat (*Capra jircus*) production program in Brazil. *Genetics and Molecular Research*, v.2, p.200-205, 2003.

FREITAS, V.J.E.; SEROVA, I.A.; ANDREEVA, L.E.; DVORYANCHIKOV, G.A.; LOPES-Jr, E.S.; TEIXEIRA, D.I.A.; DIAS, L.P.B.; AVELAR, S.R.G.; MOURA, R.R.; MELO, L.M.; PEREIRA, A.F.; CAJAZEIRAS, J.B.; ANDRADE, M.L.L.; ALMEIDA, K.C.; SOUSA, F.C.; CARVALHO, A.C.C.; SERO, O.L. Production of transgenic goat (*Capra hircus*) with human Granulocyte Colony Stimulating Factor, (hG-CSF) gene in Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.79, p.585-592, 2007.

GALLOWAY, S.M.; HANRAHAN, V.; DODDS, K.G.; POTTS, M.D.; CRAWFORD, A.M.; HILL, D.F. A linkage map of the ovine X chromosome. *Genome Research*, v.6, p.667-677, 2006.

GOUVEIA, J.J.S.; SANTIAGO, A.C.; IBELLI, A.M.G.; FREITAS, A.R.; OLIVEIRA, M.C.S.; GIGLIOTI, R.; ESTEVES, S.N.; REGITANO, L.C.A. Análise de associação entre marcadores moleculares no cromossomo 3 de ovinos e resistência aos nematódeos gastrintestinais. In: 53^o CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, Águas de Lindóia, 2007. *Anais. Águas de Lindóia, Sociedade Brasileira de Genética*, 2007.

KEANE, O.M.; ZADISSA, A.; WILSON, T.; HYNDMAN, D.I.; GREER, G.J.; BAIRD, D.B.; McCULLOCH, A.F.; CRAWFORD, A.M.; McEWAN, J.C. Gene expression profiling of Naïve sheep genetically resistant and susceptible to gastrointestinal nematodes. *BMC Genomics*, v.7, p. 42-54, 2006.

LOBO, R.N.B. Melhoramento Genético da Raça Santa Inês para a Produção de Carne. Projeto de Pesquisa, Macroprograma 2, 2005a

LOBO, R.N.B. Programa de Melhoramento Genético de Caprinos Leiteiros. Projeto de Pesquisa, Macroprograma 2, 2005b

LOBO, R.N.B. Estudo genético quantitativo molecular para características de interesse econômico em ovinos. Projeto de Pesquisa, CNPq, 2006.

MADDOX, J.F.; DAVIES, K.P.; CRAWFORD, A.M.; HULME, D.J.; VAIMAN, D.; CRIBIU, E.P.; FREKING, B.A.; BEH, K.J.; COCKETT, N.E.; RIFFKIN, C.D.; DRINKWATER, R.; MOORE, S.S.; DODDS, K.G.; LUMSDEN, J.M.; VAN STIJN, T.C.; PHUA, S.H.; ADELSON, D.L.; BURKIN, H.R.; BROOM, J.E.; BUITKAMP, J.; CAMBRIDGE, L.; CUSHWA, W.T.; GERARD, E.; GALLOWAY, S.M.; HARRISON, B.; HAWKEN, R.J.; HIENDLEDER, S.; HENRY, H.M.; MEDRANO, J.F.; PATERSON, K.A.; SCHIBLER, L.; STONE, R.T.; VAN HEST, B. An enhanced linkage map of the sheep genome comprising more than 1000 loci. *Genome Research*, v.11, p.1175-1189, 2001.

MALONE, G.; ZIMMER, P.D.; MENEGHELLO, G.E.; BINNECK, E.; PESKE, S.T. Prospecção de genes de Bibliotecas de cDNA. *Revista Brasileira Agropecuária*, v.12, p.7-13, 2006.

SCHIBLER, L.; VAIMAN, D.; OUSTRY, A.; GUINEC, N.; DANGY-CAYE, A.L.; BILLAULT, A.; CRIBIU, E.P. Construction and extensive characterization of a goat Bacterial Artificial Chromosome library with treefold genome coverage. *Mammalian Genome*, v.9, p.119-124, 1998.

SANGER, F.; COULSON, A.R. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology*, v.94, p.441-448, 1975.

SIDER, L.H. *Biologia molecular para o melhoramento de caprinos e ovinos*. Portal do Agronegócio (<http://www.portaldoagronegocio.com.br>), publicado em 12/12/2007.

SIDER, L.H. Identificação de genes candidatos associados à resistência genética à verminose gastrointestinal em caprinos por meio de ferramentas moleculares e genômicas. Projeto de Pesquisa, Macroprograma 2, 2008 (em processo de aprovação).

SILVA, F.L.R. Variabilidade genética em rebanhos de conservação de caprinos de raças naturalizadas do Nordeste. Projeto de Pesquisa, BNB-FUNDECI, 2005a.

SILVA, F.L.R. Caracterização, recuperação e manutenção da variabilidade genética em rebanhos de conservação de caprinos de raças naturalizadas no Nordeste. Projeto de Pesquisa, Macroprograma 2, 2005b.

TABET-AOUL, K.; OUSTRY-VAIMAN, A.; VAIMAN, D.; SAÏDI-MEHTAR, N.; CRIBIU, E.P.; LANTIER, F. Cytogenetical anchoring of sheep linkage map and syntenic groups using a sheep BAC library. *Genetics, Selection and Evolution*, v.32, p.441-457, 2000.

VAIMAN, D.; SCHIBLER, L.; BOURGEOIS, F.; OUSTRY, A.; AMIGUES, Y.; CRIBIU, E.P. A genetic linkage map of the male goat genome. *Genetics*, v.144, p.279-305, 1996.