



Simposio Iberoamericano Sobre Conservación y Utilización de Recursos **Zoogenéticos**

Palmira - Valle - Colombia 11, 12 y 13 de noviembre de 2009
Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira

MEMORIAS

Editores

Luz Angela Alvarez Franco
Jaime Eduardo Muñoz Flores
Universidad Nacional de Colombia



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE PALMIRA



COLCIENCIAS
COLOMBIA



UNIVERSIDAD DE CORDOBA



REPRESENTATIVIDADE GENÉTICA DE OVINOS CRIoulos FRONTEIRA EM NÚCLEO DE CONSERVAÇÃO, NO BRASIL

Silvia T. R. Castro¹; Clara M.S.L. Vaz²; Samuel R. Paiva¹; Alexandre R. Caetano¹; Andréa A. do Egito¹; Maria S. M. Albuquerque¹; Arthur S. Mariante¹; Silviene F. de Oliveira³

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Brasil silvia@cenargen.embrapa.br

²Embrapa Pecuária Sul; ³Universidade de Brasília

Resumo

Um dos principais alvos de Bancos de Germoplasma é representar a maior a variabilidade genética de uma raça. O ovino Crioulo Lanado Fronteira está sendo conservado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- EMBRAPA em um Núcleo de Conservação no sul do país. O objetivo desta pesquisa foi (a) analisar a representatividade genética dos animais da raça Fronteira dentro desse Núcleo; e (b) comparar a variabilidade desses animais com a da população externa e com a da raça comercial Corriedale, usando-se marcadores SSRs. Os resultados indicaram que o Núcleo de Conservação não representa toda a variabilidade genética da raça Fronteira. Além disso, mostraram que há endogamia em todas as populações analisadas e sugerem introgressão da raça Corriedale.

Abstract

One of the main goals of a Gene Bank is to represent most of the genetic variability of a breed. The Creole Lanado Fronteira ovine is being conserved by the Brazilian Agricultural Research Corporation – EMBRAPA in a Nucleus of Conservation in in the south of the country. The objective of this research was (a) to analyse the genetic representativeness of the animals of the Fronteira breed inside this Nucleus; and (b) to compare the variability of these animals with that of the external population and with that of the commercial breed Corriedale, by using STRs molecular marker. The results indicated that the Nucleus of Conservation does not represent the whole genetic variability of the Fronteira breed. Besides, they showed that there is homisogozity in all the analysed populations and they suggest introgression of the Corriedale breed.

Introdução

No Brasil, os ovinos são divididos em dois grandes agrupamentos: os lanados e os deslanados. As criações de ovinos lanados estão, principalmente, concentradas no Sul do Brasil enquanto que os deslanados, no Nordeste. Os ovinos crioulos lanados - OCL vieram da Península Ibérica, no século XVII, para o Estado do Rio Grande do Sul trazidos pelos jesuítas (Vaz *et al.*, 1999). Ao longo das gerações, ocorreu entre os OCL uma diferenciação fenotípica e adaptação às condições edafoclimáticas da região Sul do país. A morfologia descrita para a raça *Criolla* encontrada no Peru é semelhante àquela descrita para o ovino crioulo lanado brasileiro (Burfening e Chavez, 1996). Com base na morfologia, os OCL foram agrupados em quatro ecótipos distintos: Fronteira, Serrana, Zebua e Comum (Vaz *et al.*, 1999). A raça Fronteira, o crioulo lanado mais difundido, hoje, entre os criadores, predomina na região fronteira do Brasil com a Argentina e o Uruguai. O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento reconheceu oficialmente este ecótipo como raça, pela Portaria n° 38 de 10 de janeiro de 2001. Os OCL, no Brasil, passaram por uma redução do efetivo populacional, principalmente em decorrência da

substituição por raças especializadas na produção de carne e lã, e pelo cruzamento com outras raças. Em 1983, a Embrapa Pecuária Sul deu início à sua conservação com a formação de um rebanho da raça Fronteira. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a variabilidade genética de ovinos Fronteira do Núcleo de Conservação da Embrapa Pecuária Sul, compará-los com a população externa ao Núcleo, bem como, com a raça *Corriedale*, por meio de marcadores do tipo SSRs.

Materiais e Métodos

A coleta de sangue foi realizada em animais Fronteira sendo 55 da EMBRAPA (OCLFN) e 47 (OCLF) de propriedades particulares no sul do país, representando a amostra de Fronteira de fora do Núcleo de Conservação. Os 22 animais *Corriedale* foram acessados no Banco de DNA do Laboratório de Genética Animal da EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, Brasil. Para a extração do DNA foi utilizado um protocolo inorgânico adaptado de Miller *et al.*, 1988. Foram utilizados 16 marcadores: INRA23, OarFCB20, BM827, OarAE129, ILSTS87, ILSTS05, ILSTS11, INRA05, INRA35, INRA63, MAF65, MAF214, OarFCB48, SRCRSP05, OarFCB304, BM6526. Para as reações em cadeia da polimerase (PCR) foi utilizado solução com 2,5 mM de cada dNTP (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 1 unidade de Taq DNA polimerase por reação e 10% do volume total da reação de Tampão 10x (Tris/HCl 10 mM pH 7,6; EDTA 0,1 mM pH 8,0). A temperatura de anelamento variou de 43 a 63°C, de acordo com o marcador. Parâmetros de variabilidade genética foram obtidos utilizando o programa Arlequin 3.0 (Schneider, 2000). A diversidade alélica por loco e média por população foram obtidos por contagem manual. O *PIC* (*Conteúdo Informativo de Polimorfismo*) por loco foi estimado usando o programa Cervus (Marshall *et al.*, 1998). O índice de endogamia, F_{IS} , e seu p -valor, assim como a riqueza alélica, obtidos utilizando o software FSTAT (Goudet, 2002). O F_{ST} e a análise de variância molecular (AMOVA) foram realizadas por meio do programa Arlequin 3.0 (Schneider, 2000). A árvore de (Neighbor net) foi obtida com o uso do programa SplitsTree4 (Huson & Bryant, 2006).

Resultados e discussões

Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos para avaliar a variabilidade genética em raças de diferentes espécies, bem como a variação encontrada entre elas. A avaliação da heterozigose e do conteúdo informativo de polimorfismo (*PIC*) nas populações fornece informações sobre a variabilidade genética das mesmas. A heterozigose média observada foi menor do que a esperada para todas as populações, o que reflete um déficit no número de heterozigotos com relação ao esperado e um conseqüente excesso de homozigotos. Os valores estimados de F_{IS} revelam que há endogamia em todas as populações ($p < 0,05$). O maior valor total de F_{IS} foi observado em *Corriedale* (0,233) e o menor em Fronteira do Núcleo (0,099). Buscou-se avaliar o grau de introgressão genética da raça comercial *Corriedale*, a mais difundida entre criadores de ovinos do Sul do Brasil, nos animais tanto do Núcleo de Conservação quanto a externa a ele. O compartilhamento de alelos e o total de alelos exclusivos são parâmetros que podem ser úteis para verificar as diferenças e semelhanças genéticas entre raças/ecótipos, assim como também para inferir sobre a ocorrência de introgressão gênica. As populações do ecótipo Fronteira, OCLF e OCLFN, compartilharam 65,71% (92/140) do total de alelos. No Núcleo de Conservação (OCLFN) foram encontrados 17,86% (25/140) de alelos não observados na população externa-OCLF, que por sua vez apresentou 14,28% (20/140) não encontrados no Núcleo. Os alelos MAF214*3, OARFCB304*14 e ILSTS87*6 foram compartilhados entre as duas populações de

Fronteira (OCLF e OCLFN) e a raça *Corriedale*. A frequência do alelo MAF214*3 foi similar nas populações de Fronteira e o alelo OARFCB304*14 apresentou alta frequência considerando as três populações analisadas. O alelo ILSTS87*6 apresentou frequência maior em *Corriedale* (13,6%) do que nas populações de Fronteira (3,9 e 1,5%, OCLF e OCLFN, respectivamente), sugerindo que este seja um alelo originário de *Corriedale* que sofreu introgressão gênica em Fronteira. A comparação das três populações (OCLF, OCLFR, e *Corriedale*) mostrou que os alelos INRA23*14, ILSTS05*5, OARFCB20*2, OARFCB48*13, ILSTS87*4 são exclusivos da raça Fronteira, compartilhados entre as populações, OCLF e OCLFN. Os alelos OARAE304*1, OARFCB20*7, OARFCB48*14 e OARFCB20*16 foram encontrados exclusivamente no Núcleo de Conservação, enquanto que OARAE304*5, INRA35*15, ILSTS05*1 e OARFCB20*1 só foram encontrados em animais Fronteira de fora do Núcleo de Conservação. O compartilhamento de alelos entre ovinos crioulos lanados e ovinos da raça *Corriedale* pode ser devido à ancestralidade comum e/ou introgressão gênica. Os alelos compartilhados, possivelmente, devem ser encontrados nas demais raças de ovinos e podem refletir, apenas, o compartilhamento de regiões genômicas entre membros de uma mesma espécie. Porém, aqueles que foram encontrados apenas em Fronteira e na raça *Corriedale*, quando comparados com outros ecótipos crioulos, podem indicar introgressão gênica (dados não apresentados). A análise de variância molecular (AMOVA) revelou que há diferença genética entre todos os pares de populações e combinações entre elas. Da mesma forma, confirmando o observado com AMOVA, a árvore de relacionamento do tipo rede de *Neighbor joining* (*neighbor-net*) demonstrou que há diferença entre a população do Núcleo de Conservação e a externa a ele.

Conclusão

Os resultados da análise por meio de marcadores microsatélites autossômicos indicaram que o Núcleo de Conservação da Embrapa não representa toda a variabilidade genética da raça Fronteira. Foi observado que há diferença genética entre a população do Núcleo de Conservação e a externa a ele. Além disso, há endogamia em todas as populações e introgressão gênica da raça *Corriedale*.

Referências

- BURFENING, P.; CHAVEZ, C. J. The criollo sheep in Peru. **Animal Genetic Resources Information**, n. 17, p. 123-135, 1996.
- GOUDET J. **FSTAT Version 2.9.3.2 for windows**: a computer program to calculate F-statistics. 2002. Disponível em: < <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> > Acesso em: 10/12/2003.
- HUSON D. H.; BRYANT, D. Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies. **Molecular Biology and Evolution** v. 23. N. 2. p. 254-267, 2006.
- MARSHALL, T. C.; SLATE, J.; KRUK, L.; PEMBERTON, J. M. Statistical Confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology** v. 7 n. 5 p. 639-655. 1998.
- MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple sitting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v. 16, p. 1215, 1988.

SCHNEIDER, S.; ROESSLI, D.; EXCOFFIER, L. **Arlequin, ver.2.000**: A software for population genetic data analysis. Switzerland: Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, 2000.

VAZ, C. M. S. L.; SELAIVE-VILLAROEL, A. B.; CASTRO, S. T. R.; MARIANTE, A. S. Distribuição geográfica da ovelha crioula lanada no Brasil. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ESPECIALISTAS EN PEQUEÑOS RUMINANTES Y CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS; ENCONTRO DE MEDICINA DE PEQUENOS RUMINANTES DO CONE SUL, 2.; JORNADAS URUGAIAS DE OVINOS, 11. , 1999, Montevidéo. **Proceedings...** Montevidéo: AVEPER, 1999.