



14^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

ESTIMATIVAS DA VARIABILIDADE GENÉTICA EM BUBALINOS UTILIZANDO MICROSSATÉLITES

Caio Santos Silva¹, Maria Rosa Travassos da R. Costa², José Ribamar Felipe Marques³, Juliana Vieitas
Valente⁴

¹ Bolsista PIBIC/CNPq-Embrapa Amazônia Oriental. scaio@hotmail.com

² Pesquisadora Embrapa Amazônia Oriental.

³ Pesquisador Embrapa Amazônia Oriental.

⁴ Universidade Federal Rural da Amazônia.

Resumo: Este trabalho teve como objetivo caracterizar geneticamente cinco populações de búfalos. Foram utilizadas 40 amostras de DNA, coletadas aleatoriamente de Carabao (Ca), Jafarabadi (Ja), Mediterrâneo (Me), Murrah (Mu) e Baio (Ba). As amostras foram coletadas nos estados do Pará, São Paulo, Rio Grande do Sul, Goiás e Brasília. Vinte cinco loci microssatélites frequentemente utilizados em bovinos foram amplificados pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em todas as amostras. Os microssatélites CSSM19 e BM1824 foram os que apresentaram o maior número de alelos (11), enquanto que o microssatélite INRA23 foi o que apresentou o menor número de alelos (4). A média da heterozigosidade esperada e observada foi semelhante para todas as raças.

Palavras-chave: alelos, heterozigosidade, loci, PCR e populações

Introdução

A região Norte, segundo dados do IBGE no ano de 2004, detém 62% do rebanho bubalino brasileiro, com um crescimento de 10% (dez por cento) ao ano, somando cerca de 706 mil, sendo que no Estado do Pará, que sozinho detém 41% do rebanho nacional, tendo se tornado uma boa opção econômica em vários estados brasileiros, com alta rentabilidade (Tonhati, 2002). Os búfalos são animais ecológicos, produzindo onde o bovino mal consegue sobreviver. Os rebanhos são compostos pelas quatro raças, ou seja, Mediterrâneo, Murrah, Jafarabadi (*Bubalus bubalis bubalis*) e Carabao (*Bubalus bubalis kerebao*), além do tipo Baio. Não obstante a grande importância socioeconômica, o agronegócio do búfalo resente-se de animais melhorados para que possa alçar um salto qualitativo significativo. A implantação de um programa de melhoramento genético, com critérios de seleção bem definidos e sólido no contexto de maior produtividade, aliado ao uso de técnicas de manejo alimentar, reprodutivo e sanitário, pode conduzir a avanços significativos na produção de leite, carne e



14^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

reprodutores dessa espécie. Para tanto a avaliação da variabilidade genética em linhagens de búfalos por marcadores moleculares torna-se necessária para subsidiar programas de melhoramento genético.

Material e Métodos

O DNA foi extraído usando um protocolo otimizado de fenol-clorofórmio, em 40 amostras coletadas aleatoriamente de Carabao (Ca), Jafarabadi (Ja), Mediterrâneo (Me), Murrah (Mu) e Baio (Ba). As amostras foram coletadas nos estados do Pará, São Paulo, Rio Grande do Sul, Goiás e Brasília. Vinte cinco loci microssátelites foram amplificados pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em todas as amostras: CSSM41, CSSM8, CSRM60, CSSM33, BM1818, HEL13, MAF65, CSSME70, HSC, BRN, CSSM36, CSSM22, HAUT24, BM1824, SRCRSP8, TGLA227, ILSTS33, INRA23, BM8125, CSSM19, INRA37, CSSM66, ILSTS011, OARFCB48 e SPS115.

Os produtos obtidos na PCR foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida em um sequenciador automático ABI 377XL. Os resultados das análises de fragmentos e a caracterização alélica realizaram-se mediante os softwares GeneScan Analysis v. 3.7 e Genotyper v. 2.5, respectivamente.

Dentro das raças a diversidade foi investigada pelo cálculo de número de alelos, heterozigosidades observada e esperada e as distâncias genéticas entre populações e seus desvios-padrão.

A distância de Nei (Nei, 1972) foi calculada usando o software POPULATIONS v. 1.2.29 (Langella, 1999).

Foi gerado um dendrograma utilizando o algoritmo Neighbor-joining (Saitou & Nei, 1987) baseado na distância de Nei. Para a confiabilidade das medidas de distância e da árvore obtida para cada medida de distância se utilizou o “bootstrapping” (com 1.000 pseudoréplicas) com substituição dos *loci* (FELSENSTEIN, 1995).

Resultados e Discussão

Os marcadores microssátelites mostraram elevado nível de polimorfismo com uma média de 7,42 alelos por loci e apenas o microssátelite BM8125 foi monomórfico, portanto excluído das análises posteriores. As cinco populações mostraram um número semelhante de alelos por loci.

As heterozigosidades observada e esperada em cada raça e seus respectivos desvios padrão são apresentados na Tabela 1.



14^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

Tabela 1 Número de amostras (N), número de alelos, heterozigosidades observada e esperada.

POPULAÇÕES	N	No.Alelos (SD)	H _o (SD)	H _e (SD)
Baio	40	4.88 (1.48)	0.5886 (0.0159)	0.5841 (0.0349)
Carabao	40	5.13 (1.48)	0.5748 (0.0166)	0.6090 (0.0338)
Jafarabadi	40	4.54 (1.44)	0.4756 (0.0160)	0.5324 (0.0309)
Mediterrâneo	40	4.54 (1.50)	0.5024 (0.0162)	0.5559 (0.0401)
Murrah	40	4.50 (1.32)	0.5145 (0.0163)	0.5934 (0.0343)

As médias de heterozigosidade observada (H_o) e heterozigosidade esperada (H_e) foram próximas as relatadas por Soysal et al. (2005) e semelhantes entre as populações avaliadas.

Para Nei (1972) os valores de distância genética mostraram as populações de Baio e Murrah as mais próximas, e as populações de Carabao e Jafarabadi as mais diferentes. A tabela com as distâncias genéticas entre pares está representada na Tabela 2. O dendrograma mostrou algumas raças extremamente relacionadas com “bootstrap” acima de 50%. A árvore gerada pela distância de Nei’s (D_s) está representada na Figura 1.

Tabela 2 Distância genética (D_s) entre pares.

População	Baio	Carabao	Jafarabadi	Mediterrâneo	Murrah
Baio	0.000				
Carabao	0.724	0.000			
Jafarabadi	0.235	0.944	0.000		
Mediterrâneo	0.166	0.843	0.248	0.000	
Murrah	0.113	0.856	0.171	0.183	0.000

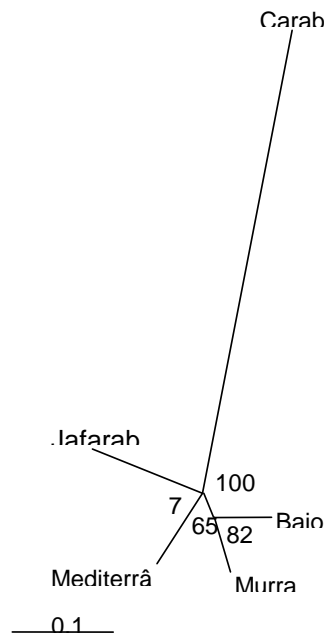


Figura 1 Dendrograma construído a partir da distância D_s de cinco populações de búfalos. Números indicam porcentagem de 1000 replicações.



14^º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

Conclusões

As populações avaliadas apresentaram variabilidade genética a ser explorada em futuros programas de melhoramento genético.

Os marcadores microssatélites mostram-se eficientes para detectar polimorfismos na espécie em estudo.

Referências Bibliográficas

- FELSENTSTEIN, J. 1995, PHYLIP: **Phylogenetic inference programs**, Version 3.572, Univ. Washington, Seattle.
- LANGELLA, O. (1999) **Populations 1.2.28 CNRS UPR9034**. Disponível em : <http://www.cnrs-gif.fr/pge/bioinfo/populations/index.php>. (Acesso em 17 de maio de 2010).
- NEI, M. (1972) **Genetic distance between populations**. *American Naturalist*, 106, 283-282.
- SAITOU, N. & NEI, M. (1987) **The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees**. *Mol Biol Evol*, 4, 406-25.
- SOYSAL, M.I., Ozkan, E., Kok, S., Tuna, Y.T., & Gurcan, E.K. (2005) **Genetic characterization of indigenous Anatolian water buffaloes breed using microsatellite DNA markers**. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 2, 240-244.
- TONHATI, H. **Crerios de seleo para produo total de leite em bubalinos criados no estado de So Paulo, Brasil**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2002. 68p. Tese (Livre Docncia) - Universidade Estadual Paulista, 2002.