

## Notas Científicas

### Similaridade genética entre raças bovinas brasileiras

Priscila Nascimento Rangel<sup>(1)</sup>, Maria Imaculada Zucchi<sup>(2)</sup> e Márcio Elias Ferreira<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup>Embrapa Arroz e Feijão, Lab. de Biotecnologia, Caixa Postal 179, CEP 7537513-000 Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: rangelpriscila@hotmail.com <sup>(2)</sup>Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Dep. de Genética, Caixa Postal 83, CEP 13400-970 Piracicaba, SP. E-mail: mizucchi@carpa.ciagri.usp.br <sup>(3)</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica – PqEB s/nº, Av. W5 Norte, CEP 70770-900 Brasília, DF. E-mail: ferreira@cenargen.embrapa.br

Resumo – A similaridade genética entre animais de duas raças bovinas brasileiras (Crioulo Lageano e Junqueira) foi estimada pela análise de polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD), tendo como referência (*outgroups*) animais de raças comerciais das espécies *Bos taurus* e *B. indicus*. Estas duas raças possuem grande similaridade fenotípica, sugerindo uma origem genética comum. Uma matriz de similaridade genética baseada em polimorfismo de DNA foi obtida e representada graficamente por um dendrograma, definido após processo estatístico de reamostragem *bootstrap*. Ao contrário do que era previsto com base nas semelhanças morfológicas das duas raças, os animais das raças Crioulo Lageano e Junqueira não apresentaram similaridade elevada entre si quando comparados com animais de outras raças comerciais. Os dados indicam que as duas raças sofreram contribuições genéticas distintas no processo de formação racial.

Termos para indexação: bovino, marcador molecular, distância genética, RAPD.

### Genetic similarity between Brazilian bovine breeds

Abstract – The genetic similarity between animals of two Brazilian bovine breeds (Crioulo Lageano e Junqueira) was estimated based on random amplified polymorphic DNA (RAPD) using animals belonging to commercial breeds of the species *Bos taurus* and *B. indicus* as reference (*outgroups*). A matrix of genetic similarity was obtained and displayed as a dendrogram, which was defined after bootstrap resampling statistics. Contrary to what was expected based on the morphological similarities of the two breeds, the Crioulo Lageano and Junqueira animals do not show high levels of genetic similarity when compared to animals of other commercial breeds. The data indicate that the two breeds had different genetic contributions during the process of breed development.

Index terms: bovines, molecular markers, genetic distance, RAPD.

As raças bovinas brasileiras tiveram a sua origem em raças provenientes da Península Ibérica, trazidas pelos portugueses durante o período da colonização e, com o passar dos anos, adaptaram-se às condições do local para onde foram trazidas (Jardim, 1973). A raça Crioulo Lageano é encontrada no Sul do Brasil e, por isso, é bastante adaptada às variações climáticas características da região, que correspondem a extremos de frio e calor (Ribeiro, 1986). Já a raça Junqueira é encontrada em Minas Gerais e apresenta tolerância a parasitas e a estresses abióticos, assim como a raça que provavelmente lhe deu origem, o Caracu, raça brasileira que também se desenvolveu nesta região (Domingues, 1977; Machado, 2000).

Acredita-se que as raças Junqueira e Crioulo Lageano possam apresentar uma alta similaridade genética, oriun-

da de um processo de domesticação e formação racial comum, por possuírem semelhanças fenotípicas específicas, tais como formato da cabeça, tamanho dos chifres e porte (Franco, 1996). O gado Curraleiro, outra raça brasileira, também teve sua origem em raças da Península Ibérica e desenvolveu-se em regiões de clima semi-árido, sendo, portanto, muito rústico e resistente a endo e ectoparasitas (Amaral et al., 1987). Já o gado Pantaneiro originou-se no Pantanal mato-grossense e foi decisivo para a ocupação das áreas alagáveis daquela região (Franco, 1996).

Embora essas raças brasileiras sejam menos produtivas que as comerciais, despertando pouco interesse por parte dos criadores, elas são perfeitamente adaptadas às nossas condições, bem como resistentes a doenças e parasitas, podendo trazer grandes contribuições aos

programas de melhoramento genético. As raças nativas possuem, por certo, alelos únicos, de grande importância econômica que, se perdidos, podem não ser mais recuperados (Martín-Burriel et al., 1999). Portanto, o conhecimento da variabilidade genética dessas raças e o desenvolvimento de estratégias de conservação desse patrimônio genético é importante para os programas de melhoramento e conservação de recursos genéticos.

O objetivo deste trabalho foi estimar a similaridade genética entre animais das raças brasileiras Crioulo Lageano e Junqueira, tendo como referência animais de diferentes raças comerciais, com base na análise de polimorfismo de marcadores RAPD.

Os animais analisados fazem parte do Programa de Conservação de Recursos Genéticos Animais, desenvolvido pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, e estão alocados na Fazenda Sucupira, Brasília, DF, onde fazem parte do Banco Brasileiro de Germoplasma Animal (BBGA). Poucos são os criadores de animais das raças Crioulo Lageano e Junqueira no país.

Foram coletadas amostras de sangue periférico de nove animais da raça Crioulo Lageano, de oito animais da raça Junqueira e de mais 11 animais, pertencentes a outras 11 raças diferentes. Destas raças, três são brasileiras (Curraleiro, Pantaneiro e Caracu), cinco pertencem à espécie *Bos taurus* (Simental, Blonde D'Aquitaine, Holandês, Brangus e Pardo Suíço), e as outras três pertencem à espécie *B. indicus* (Gir, Nelore e Guzerá). Os animais foram escolhidos aleatoriamente entre outros das respectivas raças, presentes na Fazenda Sucupira, DF e foram utilizados no experimento como referência para as comparações entre animais das raças Crioulo Lageano e Junqueira.

A extração do DNA genômico foi realizada utilizando-se um kit comercial (Wizard, Promega) de acordo com instruções do fabricante. A concentração do DNA foi estimada por eletroforese em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídio por comparação com DNA padrão do fago  $\lambda$ . As concentrações de todas as amostras de DNA foram ajustadas para 3 ng/ $\mu$ L.

A seleção dos primers RAPD foi feita por um teste para verificação da amplificação e polimorfismo. Foram testados 106 primers e escolhidos 39.

As reações de amplificação constaram de um volume final de 13  $\mu$ L, contendo 10 mM Tris-HCl (pH8,3), 50 mM KCl; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 0,2 mM dNTPs, 0,25  $\mu$ M de cada primer (Operon Technologies), 9,0 ng de DNA molde, 1 unidade de Taq polimerase e água miliQ, e fo-

ram conduzidas em placas de 96 poços em Termociclador PT-100 Thermal Controller com um pré-ciclo de 92°C, por cinco minutos, e mais 40 ciclos de 92°C, por um minuto, 35°C, por um minuto e, 72°C, por dois minutos e, um ciclo final de extensão de 72°C, por cinco minutos. Um total de 66 fragmentos polimórficos foi selecionado (Figura 1).

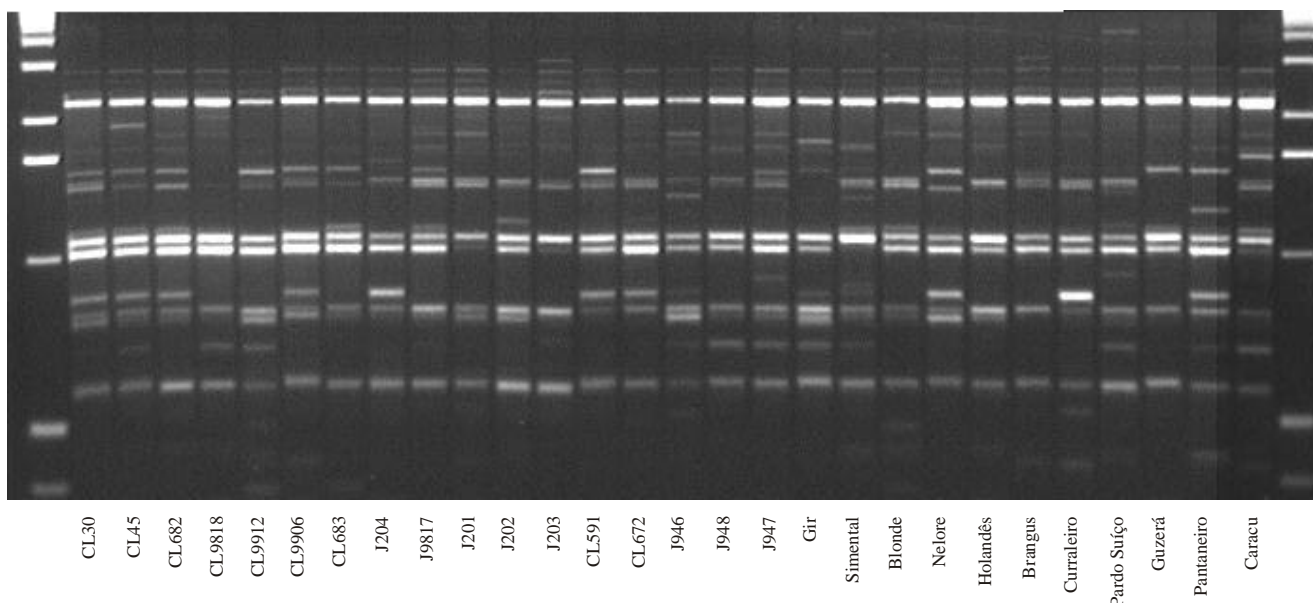
A partir da leitura dos géis, gerou-se uma matriz binária em que os indivíduos foram genotipados quanto à presença (1) ou ausência (0) de fragmentos RAPD. Com esta matriz de dados estimou-se o coeficiente de similaridade de Jaccard, par-a-par, entre todos os indivíduos conforme a expressão abaixo:

$$S_{ij} = a/(a + b + c),$$

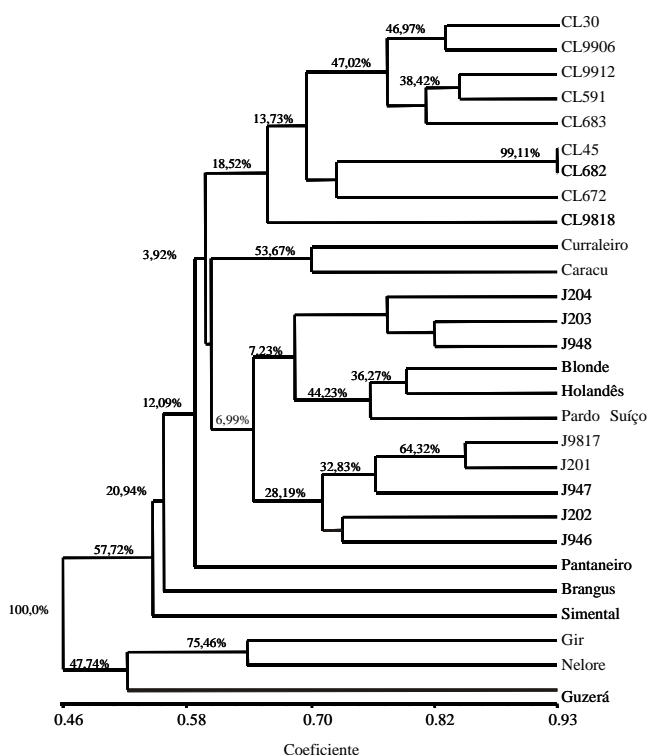
em que a é o número de casos com presença de fragmento RAPD em ambos os indivíduos, simultaneamente; b é o número de casos com presença de fragmento RAPD somente no indivíduo i; c é o número de casos com presença de fragmento RAPD somente no indivíduo j. Os dados foram analisados e uma matriz de similaridade genética para todas as comparações par-a-par foi obtida e utilizada para construir um dendrograma (Figura 2) pelo critério do UPGMA (Unweighted pair-group method, arithmetic average) utilizando o software NTSYS, versão 2.02pc (Rohlf, 1992). A estabilidade dos nós do dendrograma foi verificada pelo programa dBoot versão 3.01pc (Coelho, 2001) pelo método de reamostragem com 10.000 *bootstraps*.

Dois grandes grupos foram formados com similaridade igual a 0,46, um representado por animais da espécie *B. taurus* e outro por animais da espécie *B. indicus*. No grupo *B. taurus*, foram agrupados os indivíduos das raças Crioulo Lageano, Junqueira, Simental, Blonde D'Aquitaine, Holandês, Brangus, Curraleiro, Pardo Suíço, Pantaneiro e Caracu, e no grupo *B. indicus*, foram agrupados os indivíduos das raças Gir, Nelore e Guzerá. Estes resultados caracterizam a divergência genética existente entre os grupos *B. taurus*, de origem européia, e *B. indicus*, de origem indiana, e corroboram a origem européia das raças brasileiras.

Os animais das raças Crioulo Lageano e Junqueira compõem dois subgrupos distintos, o que não sustenta a hipótese de que as duas raças pudessem apresentar alta similaridade genética advinda de um processo de formação racial comum, apesar de possuírem diversas semelhanças fenotípicas. A divergência genética apresentada pelas duas raças indica que elas foram submetidas a um processo de formação independente. Isto sugere que animais dessas raças sejam conservados em reba-



**Figura 1.** Eletroforese de fragmentos RAPD (primer OPJ7) obtidos pela amplificação das 28 amostras de DNA dos bovinos utilizados no trabalho, conservados na Fazenda Sucupira, Brasília.



**Figura 2.** Dendrograma obtido a partir do índice de similaridade Jaccard e agrupamento pelo critério UPGMA das raças bovinas nacionais Crioulo Lageano (CL) e Junqueira (J) e outras raças nacionais. As consistências dos nós, em porcentagem, foram obtidas com 10.000 bootstraps.

nhos independentes e utilizados como fontes distintas de alelos de interesse em programas de melhoramento genético.

Os animais da raça Crioulo Lageano formaram um grupo independente dos demais animais testados. Já os animais da raça Junqueira formaram um outro grupo, apresentando diversos graus de similaridade entre si. Além disso, os animais das raças Blonde D’Aquitaine, Holandês e Pardo Suíço foram agrupados com animais da raça Junqueira indicando que, provavelmente, essas raças tiveram origem comum ou, em algum momento, uma dessas raças participou da formação da outra.

Este estudo abre novas perspectivas para que pesquisas sejam feitas com a finalidade de conhecer a similaridade genética e, posteriormente, a diversidade de raças nacionais e, desta forma, contribuir para a definição de estratégias de conservação e uso deste patrimônio genético no melhoramento de bovinos no país.

**Agradecimentos**

Ao pesquisador Dr. Rodolfo Rumpf, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pelo fornecimento das amostras biológicas bovinas utilizadas neste estudo.

**Referências**

AMARAL, M.; MATTIAS, I.; BRANDÃO, H. O fino do boi. **Globo Rural**, n.25, p.108-150, 1987.

- COELHO, A.S.G. **dBood**: avaliação de dendrogramas baseados em estimativas de distâncias/similaridades genéticas através do procedimento de bootstrap: versão 3.01. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2001. 1 CD-ROM.
- DOMINGUES, O. **Gado leiteiro para o Brasil**. São Paulo: Nobel, 1977. p.65-75.
- FRANCO, M. "Arca de Noé" abriga as raças em extinção. **DBO Rural**, n.189, p.66-72, 1996.
- JARDIM, W.R. **Bovinocultura**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1973. p.9-26.
- MACHADO, D.P. **Zootecnia**. Disponível em: <<http://www.cenargen.embrapa.br>>. Acesso em: 10 ago. 2000.
- MARTÍN-BURRIEL, I.; GARCÍA-MURO, E.; ZARAGOZA, P. Genetic diversity analysis of six Spanish native cattle breeds using microsatellites. **Animal Genetics**, v.30, p.177-182, 1999.
- RIBEIRO, J.H. Seu Antoninho do boi velho. **Globo Rural**, n.6, p.20-25, 1986.
- ROHLF, F.J. **NTSYS – PC**: numerical taxonomy and multivariate analysis system: version 2.02. New York: Exeter Software, 1992. 1 CD-ROM.

---

Recebido em 16 de junho de 2003 e aprovado em 27 de novembro de 2003

