



Estudo da Origem do Ovíno Crioulo do Pantanal por Marcadores Mitocondriais e do Cromossomo Y¹

Cecília de Moraes Carreiro², Concepta McManus³, Sandra Aparecida Santos⁴, Charles Ferreira Martins⁵, Alexandre Rodrigues Caetano⁶, Samuel Rezende Paiva⁶

¹Parte do mestrado do primeiro autor, financiada pela Embrapa/Cenargen

²Mestre do Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais – UnB, BRA. Bolsista da Embrapa/Cenargen. e-mail: ceciliacarreiro@yahoo.com.br

³Professora do Departamento de Zootecnia– UFRGS, BRA. Bolsista de Produtividade CNPq. e-mail: concepta.mcmanus@ufrgs.br

⁴Pesquisadora Embrapa Pantanal – CPAP, BRA. e-mail: sasantos@cpap.embrapa.br

⁵Professor do Departamento de Clínicas Veterinária – UFPEL, BRA. e-mail: martinscf68@yahoo.com.br

⁶Pesquisador Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Embrapa/Cenargen, BRA. Bolsista de produtividade do CNPq. e-mail: acaetano@cenargen.embrapa.br; samuel@cenargen.embrapa.br

Resumo^a: A ovinocultura brasileira tem resultados pouco competitivos, quando comparada com outras espécies (bovinos, suínos e aves), de forma que estudos para entender e manejar os rebanhos, principalmente de raças localmente adaptadas, são necessários para uma possível melhora do setor. O ovino Pantaneiro (OPT) representa um grupo genético adaptado ao inóspito ambiente do Pantanal Brasileiro que, com base em relatos históricos, foi provavelmente derivado da ovelha Crioula do sul do Brasil. O objetivo desse trabalho foi testar essa hipótese, com o sequenciamento de 541pb de um gene mitocondrial (ND5) e dois marcadores nucleares localizados no cromossomo Y (M18 e SRY). Foram identificados quatro SNPs no ND5 que possibilitaram o agrupamento dos animais analisados em seis haplótipos. A origem paterna foi estudada por sequenciamento e genotipagem, sendo que foram verificados quatro haplótipos. A análise em conjunto desses marcadores demonstrou uma influência de animais de origem europeia na formação dos rebanhos OPT. Com menor frequência, foi identificado também um haplótipo (Hap 12), que parece ser do Haplogrupo D cuja origem seria o Oriente Médio. Este haplótipo foi identificado pela primeira vez em ovinos brasileiros.

Palavras-chave: linhagem materna e paterna, manejo genético de rebanhos, *Ovis aries*, Recursos Genéticos Animais

Origin Study of *Pantanal* Creole Sheep by Mitochondrial and Y Chromosome Markers

Abstract: The Brazilian sheep industry has uncompetitive results, when compared with other species (cattle, pigs and poultry), so studies to understand and manage the herds mainly of locally adapted breeds are necessary for a possible improvement in the sector. *Pantaneiro* sheep (OPT) represents a genetic group adapted to the harsh environment of the Brazilian wetland that, based on historic reports, was probably derived from the Creole sheep of Southern Brazil. The study objective was to test this hypothesis with the sequencing of a 541bp mitochondrial gene (ND5) and two nuclear markers in the Y chromosome (M18 and SRY). Four SNPs were identified in ND5 which enabled the grouping of the analyzed animals in six haplotypes. The paternal origin was studied by sequencing and genotyping, with four haplotypes being found. The analysis of these markers together showed an influence of European origin animals in the formation of OPT flocks. Less frequently, a haplotype (Hap 12) was also identified which seems to make part of Haplogroup D, whose origin is from the Middle East. This haplotype was first identified in Brazilian sheep.

Keywords: Animal Genetic Resources, herd genetic management, maternal and paternal lineage, *Ovis aries*

Introdução

A ovinocultura brasileira tem potencial para se destacar no mercado mundial. Porém, a realidade precária brasileira, principalmente sobre as raças localmente adaptadas, tem impossibilitado maiores avanços. Neste sentido, o Laboratório de Genética Animal da Embrapa Cenargen e Instituições parceiras têm realizado estudos para ampliar os conhecimentos sobre esses animais, bem como contribuir para as atividades de conservação deste material genético. Uma das linhas de ação é na aplicação de marcadores moleculares para auxiliar na identificação das possíveis origens dos rebanhos nacionais. Paiva (2005) demonstrou que há grande influência de animais europeus e, em menor frequência, animais asiáticos no rebanho brasileiro.

O presente estudo teve como objetivo pesquisar a origem do ovino Pantaneiro (OPT), que foi levado a esta região por volta do século XVIII. Esse animal apresenta características de adaptação ao inóspito ambiente do Pantanal Brasileiro, um ecossistema marcado por inundações periódicas de difícil adaptação para a criação dessa



espécie. Relatos históricos e avaliações fenotípicas sugerem que o OPT representa um ecótipo do ovino Crioulo, sendo que existem evidências de uma recente introgressão de material genético da raça Bergamácia.

Material e Métodos

Amostras de sangue e pelo de 106 ovinos Pantaneiros de nove fazendas da sub-região de Nhecolândia (Pantanal/MS) e 156 do rebanho experimental da universidade Anhaguera-UNIDERP, provenientes de diferentes regiões do Pantanal/MS, foram processadas. Do Núcleo de Conservação da Embrapa Pecuária Sul, foram analisadas 39 amostras de ovino Crioulo. As regiões amplificadas foram: parte do gene mitocondrial ND5, e o microssatélite M18 e parte do gene SRY, ambos localizados no cromossomo Y. Os fragmentos ND5 e SRY gerados foram analisados em sequenciadores ABI 3100[®] e ABI 3730[®]. A edição e a análise das sequências foram realizadas com os *softwares* SeqScape v.2.7, MEGA v.5.05, DNAsp v.5 e Arlequin v.3.5. Os alelos de M18 foram analisados no sequenciador ABI 3730[®]. A edição e a análise dos resultados foram realizadas com o *software* GeneMapper[®] v.4.1. Uma rede haplotípica baseada em ND5 foi montada com o *software* Network v. 4.1.1.2 por meio do método *Median-Joining*. Os haplótipos do cromossomo Y seguiram a nomenclatura estabelecida por Meadows *et al.* (2009) e a frequência haplotípica foi calculada. Todas as amostras de ovinos Pantaneiros foram agrupadas, sendo denominadas OPT, e as amostras de Crioulo foram denominadas OCL. Análises na rede haplotípica a partir de ND5 também foram realizadas com um conjunto de 39 sequências do banco de dados público *GenBank* e a amostra mitocondrial (mtDNA) referência AF010406 (Hiendleder *et al.*, 1998).

Resultados e Discussão

A edição das sequências geradas a partir do ND5 resultou em um fragmento de 541pb correspondente às posições 11815 a 12260 do mtDNA referência. Foram identificados quatro SNPs do tipo transição. Seis haplótipos foram identificados, sendo denominados de H1 a H6 (Figura 1). Os haplótipos H5 e H6 foram exclusivos de OPT, podendo ser utilizados como diagnóstico para esse grupo. As análises que incluíram as 39 sequências extraídas do *GenBank* resultaram na identificação de mais cinco haplótipos denominadas de H7 a H11 (Figura 1). A maioria das amostras analisadas neste estudo agrupou-se com a sequência referência H1, juntamente com algumas sequências do *GenBank*. Essas sequências são amostras do haplogrupo HB. A partir do estudo do mtDNA de *Ovis aries*, cinco grandes grupos foram identificados, determinando-se assim a origem materna e parte da história da domesticação e migração dos ovinos. Esses grupos foram denominados haplogrupo HA oriundo do Oriente Médio, HB da Europa Ocidental, HC da Ásia, e HD-HE referentes a eventos independentes de domesticação ainda não localizados (Meadows *et al.*, 2011). Assim, verifica-se que a maioria dos OPTs amostrados tem origem em animais trazidos da Europa (HB). Isso corrobora os relatos históricos do maior fluxo de animais por parte dos colonizadores europeus para o Brasil.

Observa-se também que a rede haplotípica apresenta, em geral, um padrão de estrela com H1, ou seja, HB centralizado. Isso poderia ser indicativo de que os outros haplogrupos são oriundos de HB, já que a variação observada no ND5 possibilitou a divisão dos demais haplogrupos. Porém, análises do mtDNA completo (Meadows *et al.*, 2011) confirmaram que o haplogrupo central é HA referente ao Crescente Fértil, onde a espécie foi inicialmente domesticada. Com menor frequência, alguns OPTs foram agrupados com amostras representantes de HD, referentes a H4 na Figura 1. Apesar da atual imprecisão da origem de HD, sabe-se que esse haplogrupo deriva de HA. Os dados sobre a origem paterna apontam para origens semelhantes de OPT observadas com o marcador mtDNA. A origem paterna foi estudada por sequenciamento e genotipagem, sendo verificados quatro haplótipos dos 17 identificados na literatura (Tabela 1) (Meadows e Kijas, 2009). Verificou-se que H5 foi compartilhado por OPT e OCL, demonstrando uma origem em comum. Esse haplótipo já havia sido identificado em populações de ovinos lanados de origem europeia (McManus *et al.*, 2010), ratificando novamente a influência de animais europeus. O haplótipo mais frequente foi H8 o qual foi observado apenas em OPTs. Esse haplótipo foi identificado anteriormente em ovinos Bergamácia Brasileira (McManus *et al.*, 2010), o que seria um indício da introgressão dessa raça em OPTs. Estudos anteriores, por meio de sequenciamento da região D-Loop do mtDNA, observaram o compartilhamento de haplótipos de Bergamácia com OPT, bem como outras raças lanadas como OCL e Corriedale. Assim, mais estudos com OPTs de outras regiões do Pantanal são necessários. Outro dado importante é a presença de H12 apenas em OPT. De acordo com a literatura, sabe-se que esse haplótipo, de baixa frequência, foi identificado somente em ovinos originários da Turquia. Desse modo, a influência de animais do Oriente Médio foi mais uma vez observada, confirmando também essa origem do rebanho OPT.

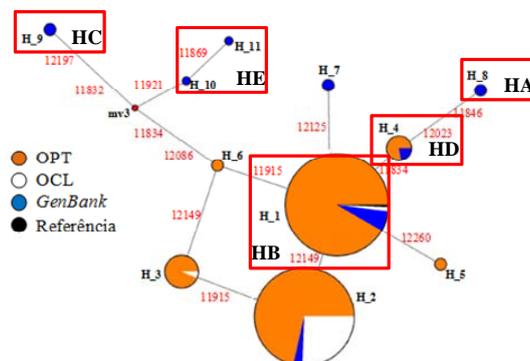


Figura 1. Network gerado a partir de ND5 com separação dos haplogrupos. O tamanho dos círculos é proporcional à frequência e os números vermelhos representam a posição das mutações. OPT = todas as fazendas de OPT analisadas; OCL = ovinos Crioulos. mv = vetores médios que representam haplótipos hipotéticos não amostrados nesse estudo.

Tabela 1. Frequência de haplótipos observados no estudo a partir da associação dos dois marcadores do cromossomo Y (M18 + SRY).

Haplótipo*	M18	SRY	Frequência (n)		
	Alelo (pb)	SNP	OPT	OCL	Total
H5	145	G	8	4	12
H6	143	A	-	8	8
H8	141	A	15	-	15
H12	139	A	4	-	4

n = amostras; pb = pares de bases; OPT = ovino Pantaneiro; OCL = ovino Crioulo; * = Os haplótipos seguem a nomenclatura estabelecida por Meadows e Kijas (2009).

Conclusões

A análise em conjunto dos três marcadores demonstrou a maior influência de animais de origem europeia na formação dos rebanhos OPT, assim como na formação de OCL, demonstrando suas origens em comum. Também foi identificada a influência de ovinos do Oriente Médio. A introgressão recente de ovelhas Bergamácia precisa de maior análise. Os marcadores estudados poderão ser usados para monitorar rebanhos ovinos de forma a otimizar esquemas de conservação e seleção de doadores de germoplasma.

Literatura citada

- HIENDLEDER, S.; MAINZ, K.; PLANTE, Y. *et al.*, Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different ancestral maternal sources: no evidence for contributions from urial and argali sheep. **Journal of Heredity**, v.89.2, p. 113, 1998.
- MCMANUS, C.; PAIVA, S.R.; ARAUJO, R.O. Genetics and breeding of sheep in Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, suppl., p. 236-246, 2010.
- MEADOWS, J.R.S.; HIENDLEDER, S.; KIJAS, J.W. Haplogroup relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel. **Heredity**, v. 106, p. 700–706, 2011.
- MEADOWS, J.R.S.; KIJAS, J.W. Re-sequencing regions of the ovine Y chromosome in domestic and wild sheep reveals novel paternal haplotypes. **Animal Genetics**, v.40.1, p. 119-23, 2009.
- PAIVA, S.R.; FARIA, D.A.; MCMANUS, C.M. *et al.*, Origin of the main locally adapted sheep breeds of Brazil: a RFLP-PCR molecular analysis. **Archivos de Zootecnia**, v.54, p.395-399, 2005.
- PAIVA, S.R.; SANTOS, S.A.; VILARINHO, K.R. Origem e diversidade genética do ovino crioulo da região do Pantanal-MS. **Relatório Parcial de Pesquisa Relativo às Atividades de Pesquisa entre Embrapa Pantanal e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. Brasília: Embrapa, 2008.

^a Como citar este trabalho: CARREIRO C.M., MCMANUS C., SANTOS, S.A., MARTINS C.F., CAETANO A.R., PAIVA S.R. Estudo da origem do ovino crioulo do Pantanal por marcadores mitocondriais e do cromossomo Y. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 49., 2012, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2012. (CD-ROM).