

ORIGEM E DIVERSIDADE GENÉTICA MATERNA DE POPULAÇÕES DE BOVINOS DA RAÇA CURRALEIRA DE DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL

ORIGIN AND MATERNAL GENETIC DIVERSITY OF CURRALEIRO BOVINE BREED POPULATIONS FROM DIFFERENT REGIONS OF BRAZIL

Origem e diversidade genética materna da raça bovina Curraleira.

Egito, A.A.^{1*}; Fioravanti, M.C.S.^{2,4}; Grattapaglia, D.^{3,4}; Ramos, A.F.³; Albuquerque, M.S.M.³; Mariante, A.S.^{3,4}

¹Embrapa Gado de Corte, BR 262, Km 4 – Campo Grande – MS – Brasil. *egito@cnpqc.embrapa.br

²Universidade Federal de Goiás – UFG – Goiânia – Brasil

³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Brasília – DF – Brasil

⁴Bolsista CNPq

Palavras-chave:

mtDNA
Diversidade
haplotípica
Estudos
populacionais

Keywords:

mtDNA
Haplotype
diversity
Population
studies

Abstract:

Analysis of mitochondrial DNA (mtDNA) has been used as a molecular tool for understanding the origin and nature of domestication processes, analysis of dispersal and gene flow, analysis of demographic expansion, genetic drift and admixture between populations. The Curraleiro bovine breed was originated in the animals introduced by the Iberian settlers and became adapted to the sanitary conditions, climate and management found in Brazil. The objective of this study was to investigate the genetic diversity of this breed by sequencing and analysis of mtDNA control region. We analyzed twelve animals from five distinct regions. Three haplogroups were observed: two of African taurine origin (AA and T1) and one of European taurine origin (T3). The nucleotide diversity observed was 0.013. The highest haplotype diversity was observed within populations (0.012) and not between populations (0.001). The differentiation index observed was 0.074. No significant genetic differences were found among populations in different regions. It was concluded that the Curraleiro populations have the same maternal origin and suffered influence of African taurine animals.

Resumo

Análises do DNA mitocondrial (mtDNA) demonstraram o seu potencial para o conhecimento da origem e natureza dos processos de domesticação, análise da dispersão e do fluxo gênico, análise de expansões demográficas, deriva genética e a miscigenação de populações. A raça bovina Curraleira teve origem nos animais introduzidos pelos colonizadores que se adaptaram às condições sanitárias, de clima e manejo do Brasil. O objetivo deste trabalho foi verificar a diversidade genética, mediada pela fêmea desta raça pelo sequenciamento e análise da região controle do mtDNA. Foram analisados doze animais provenientes de cinco regiões distintas. Foram observados três haplogrupos: dois de origem taurina africana (AA e T1) e um de origem taurina européia (T3). A diversidade nucleotídica observada foi de 0,013. A maior diversidade haplotípica foi observada dentro (0,012) e não entre as populações (0,001). O índice de diferenciação observado foi de 0,074. Não foram verificadas diferenças genéticas significativas entre as populações das diferentes regiões. Pela análise realizada é possível concluir que as populações da raça Curraleira possuem uma mesma origem materna e sofreram influência de animais de origem taurina africana.

Introdução

A análise da diversidade genética existente na seqüência de mtDNA em bovinos tem demonstrado o potencial desta ferramenta para o conhecimento da origem e natureza dos processos de domesticação (Bradley *et al.*, 1998) bem como para estudos a respeito da diversificação das populações de bovinos atuais (Carvajal-Carmona *et al.*, 2003). Essencialmente haplóide e transmitido uniparentalmente via materna, o mtDNA abriu uma nova perspectiva no estudo da genética de populações. Sendo o marcador molecular mais utilizado em estudos de domesticação, o mtDNA é utilizado para identificar os prováveis ancestrais selvagens, o número de linhagens

maternas na população em estudo e sua origem geográfica. Com os dados observados pode-se traçar um padrão geográfico da diversidade e evolução de uma espécie, a dispersão e o fluxo gênico, verificar as expansões demográficas, a deriva genética e a miscigenação (Bruford *et al.*, 2003).

Pela análise da região controle do mtDNA, a espécie bovina foi separada em dois grandes clusters (Afro-europeu e Asiático), cuja divergência ocorreu há ~12.000 anos, coincidindo com os eventos independentes de domesticação das subespécies taurina e zebuína (Loftus *et al.*, 1994a). Estudos posteriores demonstraram que existia uma grande divergência entre taurinos originados da África e da Europa, evidenciando a origem e expansão das duas populações a partir de duas fontes ancestrais distintas e separadas (Bradley *et al.*, 1996). Haplótipos únicos e altamente frequentes nos dois grupos representavam as raças taurinas Africanas (*Afcons* – African consensus, também denominada de T1) e as taurinas Européias (*Eucons* – European consensus, denominada de T3), estando à diferença entre as duas linhagens mitocondriais relacionada com três substituições dentro de uma região de 240bp na região controle (*d-loop*) e suas variantes.

A raça bovina Curraleira teve origem nos animais introduzidos pelos colonizadores há mais de cinco séculos no Brasil. Estes animais se adaptaram às condições sanitárias, de clima e manejo e após a introdução das raças zebuínas sofreram um grande risco de extinção. A conservação, manutenção e caracterização genética desta população é objeto de trabalho da Rede de Recursos Genéticos Animais da Plataforma de Recursos Genéticos da EMBRAPA e de seus parceiros. O objetivo deste trabalho foi verificar a diversidade nucleotídica desta raça, mediada pela fêmea, pelo sequenciamento e análise da região controle do mtDNA.

Material e métodos

Foram analisados 12 animais da raça Curraleira provenientes de 5 regiões: Distrito Federal (CU-DF, n=3), Goiás (CU-GO, n=3), Maranhão (CU-MA, n=2), Piauí (CU-PI, n=2) e Minas Gerais (CU-MG, n=2). Uma seqüência de 375bp localizada na região controle (*d-loop*) utilizada em diferentes trabalhos envolvendo raças da Península Ibérica (Loftus *et al.*, 1994b; Bradley *et al.*, 1996; Cymbron *et al.*, 1999) e da América Latina (Miretti *et al.*, 2002; Carvajal-Carmona *et al.*, 2003; Mirol *et al.*, 2003) foi amplificada com os primers descritos por Cymbron *et al.* (1999). A amplificação foi realizada em um volume final de 20ul contendo 1,5mM de MgCl₂, 0,25 µM de cada primer; 200µM de cada dNTP, 10-25ng de DNA e 1UI de Taq DNA polimerase. A programação das PCRs teve a seguinte configuração: 94°C/5', 30x (94°C/1', 56°C/1' e 72°C/1') e extensão final de 72°C/30'. Após purificação a reação de sequenciamento foi feita pelo método de terminação de cadeia com dideoxynucleotídeos marcados com fluorocromos. A eletroforese foi realizada em um seqüenciador automático ABI PRISM 3100.

As seqüências foram alinhadas e editadas pelo programa SeqScape v 2.1 (Applied Biosystems) sendo a seqüência de referência a V00654 (Anderson *et al.*, 1982). Os índices de diversidade nucleotídica e as distâncias dentro, entre e total foram obtidos mediante o uso do programa Mega 3. As matrizes de distâncias geradas foram baseadas no modelo de substituição de Kimura 2-parâmetros. A partir da matriz de distância gerada aos pares foi construído um dendrograma pelo agrupamento de Neighbor-Joining (Consensus Network), levando em consideração a possibilidade de miscigenação entre as populações (Hybridization Network). Esta ação foi implementada pelo programa SliptTree4 (<http://www.Splitstree.org>).

Resultados e discussão

Com base nos haplótipos observados os animais foram incluídos em três grupos pré-definidos por outros autores (Troy *et al.*, 2001; Miretti *et al.*, 2002): 3 animais apresentaram o haplogrupo AA, que embora compartilhe posições que definem o haplogrupo T1 diferencia-se nas posições 16053, 16122 e 16196 (Miretti *et al.*, 2002) e correspondente à uma derivação da linhagem taurina de origem africana encontrada em maior proporção em raças crioulas da América do Sul; 5 animais apresentaram o haplogrupo T1 (definido pelas posições 16050, 16113 e 16255), que corresponde a linhagem taurina de origem africana (*Afcons*) e 4 apresentaram a linhagem T3 (*Eucons*), que corresponde a seqüência de referência européia (Anderson *et al.*, 1982).

Tendo em vista a colonização das Américas e a introdução dos bovinos em nosso continente, supunha-se que deveria existir um número reduzido de haplótipos mitocondriais compartilhados pelas raças naturalizadas da América do Sul. Contrariando esta hipótese, Miretti *et al.* (2002) e Egito (2007) observaram a existência de vários haplótipos distintos de origem taurina em raças brasileiras, sendo um deles o haplogrupo AA. Este haplogrupo pode estar refletindo o processo evolutivo das próprias raças crioulas locais (Miretti *et al.*, 2002) ou pode ter se difundido nas Américas em função de processos de deriva genética (Egito, 2007). Esta última hipótese é reforçada pela existência de haplótipos taurinos de origem africana terem sido observados em raças

Ibéricas, evidenciando a introgressão das raças taurinas africanas na Península Ibérica ocorrida, provavelmente, à época do domínio mouro nesta região (Cymbron et al., 1999). Beja-Pereira et al. (2006) sugerem também que esta miscigenação possa ter ocorrido devido à expansão demográfica observada pelo Estreito de Gibraltar, na época da Idade do Bronze (~ 3.000 A.C.).

O índice de diferenciação observado entre as populações de diferentes origens da raça Curraleira foi de 0,074 e a diversidade nucleotídica da raça foi de 0,013. Quando os indivíduos da raça Curraleira foram sub-agrupados em função de suas origens verificou-se que a diversidade nucleotídica dentro destas populações é de 0,012 enquanto que entre as populações existe uma diferença pequena de 0,001.

Não foram verificadas diferenças genéticas significativas nas subpopulações da raça Curraleira. As diferenças observadas ao nível das sub-populações curraleiras, embora demonstrem uma maior aproximação de algumas populações (figura 1), como é o caso dos animais oriundos de rebanhos do Maranhão e do Piauí e os animais do rebanho do Banco de Germoplasma Animal, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e a população coletada em Minas Gerais (Salto da Divisa), refletem a origem comum ou próxima dos rebanhos analisados e não diferenças na estrutura ou origem da raça Curraleira. Este fato pode ser melhor visualizado quando um dendrograma é gerado para os 12 indivíduos da raça Curraleira que compõe a amostra (figura 2).

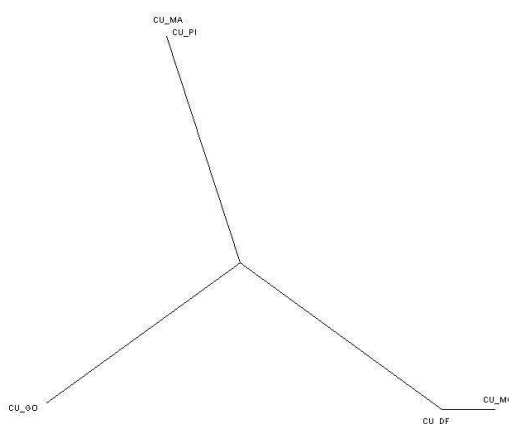


Figura 1. Dendrograma circular baseado na distância genética de Kimura 2p para o conjunto de sub-populações da raça Curraleira pelo agrupamento de Neighbor-joining (*Unrooted dendrogram based on Kimura's 2p genetic distances for all Curraleiro breed subpopulations made by the Neighbor-joining clustering method*)

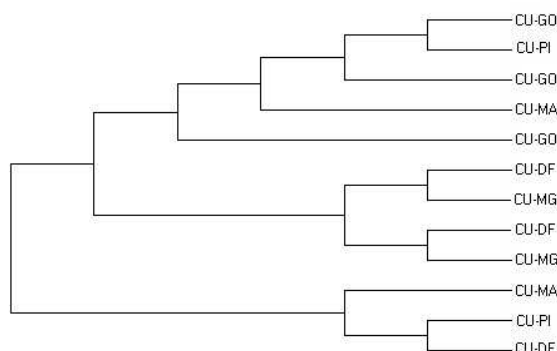


Figura 2. Dendrograma de indivíduos baseado na distância genética de Kimura 2p feito pelo agrupamento de Neighbor-joining (*Dendrogram based on Kimura's 2p genetic distances between individuals made by the Neighbor-joining clustering method*)

Conclusões

Pela análise realizada foi possível concluir que as sub-populações da raça Curraleira possuem uma mesma origem materna não havendo diferenças estatísticas significativas entre elas. Além disto, existe uma grande influência de animais de origem taurina africana nas populações analisadas.

Financiamento

EMBRAPA

Bibliografia

- Anderson, S. et al. 1982. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA. Conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *J. Mol. Biol.*, 156: 683-717.
- Beja-Pereira, A. et al. 2006. The origin of European cattle: evidence from modern and ancient DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 103: 8113-8118.
- Bradley, D. G. et al. 1996. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 93: 5131-5135.
- Bradley, D. G. et al. 1998. Genetics and Domestic Cattle Origins. *Evolutionary Anthropology News and Reviews*, 6: 79-86.
- Bruford, M. W. et al. 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nat. Rev. Genet.*, 4: 900-910.
- Carvajal-Carmona, L. G. et al. 2003. Abundant mtDNA diversity and ancestral admixture in Colombian criollo cattle (*Bos taurus*). *Genetics*, 165: 1457-1463.
- Cymbron, T. et al. 1999. Mitochondrial sequence variation suggests an African influence in Portuguese cattle. *Proc. Biol. Sci.*, 266: 597-603.
- Egito, A. A. 2007. Diversidade genética, ancestralidade individual e miscigenação nas raças bovinas no Brasil com base em microssatélites e haplótipos de DNA mitocondrial: subsídios para a conservação. Tese de doutoramento. UnB. 232p.
- Loftus, R. T. et al. 1994a. Evidence for two independent domestications of cattle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 2757-2761.
- Loftus, R. T. et al. 1994b. Mitochondrial genetic variation in European, African and Indian cattle populations. *Anim. Genet.* 25: 265-271.
- Miretti, M. M. et al. 2002. African-derived mitochondria in South American native cattle breeds (*Bos taurus*): evidence of a new taurine mitochondrial lineage. *J. Hered.* 93: 323-330.
- Mirol, P. M. et al. 2003. African and European mitochondrial haplotypes in South American Creole cattle. *Heredity* 91: 248-254.
- Troy, C. S. et al. 2001. Bradley, D. G. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* 410: 1088-1091. 2001.