

Aplicação de microssatélites (STR) de bovinos em animais de raças zebuínas*

MÁRCIA CRISTINA ANDREAZZA

Elizabeth Obino Cirne-Lima (Orientadora - UFRGS)

Maria Luiza Saraiva Pereira (Co-orientadora - UFRGS)

Banca: Carlos Termignoni (UFRGS), Itabajara da Silva Vaz Júnior (UFRGS), Rodrigo Costa Mattos (UFRGS), Rui Fernando Félix Lopes (UFRGS).

O gado zebu (*Bos indicus*) é predominante em todo o mundo. Atualmente, no Brasil, o rebanho de bovinos e zebuínos é composto por aproximadamente 170 milhões de indivíduos, no qual, 80% são zebuínos ou animais de raças cruzadas com zebu. O principal objetivo deste estudo foi determinar a possibilidade da utilização de marcadores moleculares de bovinos na identificação genética de zebuínos. A confirmação desta possibilidade seria de extrema valia, já que a quantidade de informações sobre o genoma zebuíno é limitada e metodologias específicas de identificação de marcadores genéticos para raças zebuínas são raras. Assim, o DNA de 65 zebras, de 4 raças diferentes (Gir, Tabapuã, Nelore e Brahman), foi extraído a partir de sangue aplicado em papel filtro, utilizando o “kit” *DNA IQ™ SYSTEM* (Promega®). Após a extração de DNA, foi feito um PCR Multiplex utilizando o “kit” *StockMarks®* (Applied Biosystems®), o qual amplifica um total de 11 *loci* (BM1824, BM2113, ETH10, ETH225, ETH3, INRA023, SPS115, TGLA122, TGLA126, TGLA227 e TGLA53). Os fragmentos gerados pela PCR foram analisados por eletroforese capilar utilizando o analisador genético *ABI Prism 3100* (Applied Biosystems®) e o programa *GeneScan® v.3.7* (Applied Biosystems®). A frequência dos marcadores e os índices de variabilidade genética foram calculados utilizando o programa *Microsatellite Toolkit v.3.1* e o equilíbrio de Hardy-Weinberg foi determinado através do programa *GENEPOP v.3.4*. Através destas técnicas foi possível demonstrar que os marcadores moleculares utilizados para identificação genética de bovinos podem também ser utilizados para a realização da técnica de identificação genética de zebuínos. Além disso, foi possível demonstrar a frequência alélica na população de zebuínos analisada como um todo, assim como foi determinada a frequência alélica para os diferentes marcadores moleculares dentro das 4 raças estudadas. Considerando o total de 100 diferentes alelos identificados entre os 11 STR (*Short Tandem Repeats*) analisados, foi possível observar que a heterozigosidade esperada (H_e) foi relativamente alta na população analisada, assim como na análise por raça. Estes dados indicam alto grau de diversidade genética nas diferentes raças. Neste sentido, a raça Brahman apresentou a menor diversidade (0,60) e a raça Tabapuã, a maior (0,69). Contudo, estudos complementares são necessários, a fim de confirmar as frequências alélicas estabelecidas, uma vez que os resultados encontrados no presente trabalho referem-se a um número relativamente pequeno de zebuínos, quando comparados com o total de zebras encontrados no rebanho brasileiro.

Descritores: *Bos indicus*, *Bos taurus*, identificação genética, microssatélite, genética: biologia molecular.

Apresentada: 22 fevereiro 2006

*Dissertação de Mestrado n. 423 (Especialidade: Biologia Celular e Molecular). 51f. Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias [www.ufrgs.br/ppgcv], Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS/Brasil. CORRESPONDÊNCIAS: M.C. Andreazza [mandreazza@yahoo.com.br] & E.O.C.Lima [eolima@hcpa.ufrgs.br].

Application of bovine microsatellite markers in animals of zebu breeds**

MÁRCIA CRISTINA ANDREAZZA

Elizabeth Obino Cirne-Lima (Adviser - UFRGS)

Maria Luiza Saraiva Pereira (Co-Adviser - UFRGS)

Committee: Itabajara da Silva Vaz Júnior (UFRGS), Rodrigo Costa Mattos (UFRGS), Rui Fernando Félix Lopes (UFRGS), Carlos Termignoni (UFRGS).

Zebu cattle (*Bos indicus*) are the widespread cattle of the world. At the moment, the beef and milk cattle in Brazil possess approximately 170 million individuals of which 80% are zebu or crossbred zebu animals. The main objective in the present study was to analyze the possibility to apply bovine molecular markers to zebuine genetic identification. The confirmation of this possibility would be extremely valuable, since the quantity of information concerning the zebuine genome is limited, and specific methodologies to identify genetic markers are rare. The DNA of 65 zebus, from 4 different breeds (Gir, Tabapuã, Nelore and Brahman) was extracted from bloodstain in paper using the DNA IQ™ SYSTEM kit (Promega®). After the DNA extraction, Multiplex PCR was performed with the StockMarks® kit (Applied Biosystems®), which amplifies 11 loci (BM1824, BM2113, ETH10, ETH225, ETH3, INRA023, SPS115, TGLA122, TGLA126, TGLA227 e TGLA53). The fragments generated from PCR were analyzed by capillary electrophoresis using the ABI Prism 3100 (Applied Biosystems®) Genetic Analyzer and the GeneScan® v.3.7 (Applied Biosystems®) software. The markers frequency and the genetic variability indices were calculated using the Microsatellite Toolkit v.3.1 and the Hardy-Weinberg equilibrium was determined with GENEPOP v.3.4. Through these techniques it was possible to demonstrate that the molecular markers used for the bovine genetic identification could be also applied to the zebuine genetic identification. Besides, it was possible to demonstrate the allelic frequency for the different molecular markers in the four breeds studied. Considering a total of 100 different alleles identified in the 11 STR (Short Tandem Repeats) analyzed, it was possible to observe that the expected heterozygosity (He) was relatively high in the analyzed population and by breed. In this way, the Brahman breed presents the lower diversity (0.60) and the Tabapuã breed, the higher (0.69). Although, complementary studies are necessary, in order to confirm the established allelic frequency once the data presented in the current work refers to a relatively low number of zebuines, when compared with the total population of zebus in the Brazilian cattle.

Key words: *Bos indicus*, *Bos taurus*, genetic identification, microsatellite, genetic: molecular biology.

Presented: 22 February 2006

**Master's Thesis # 423 (Field: Cell Molecular Biology). 51p. Graduated Program in Veterinary Sciences [www.ufrgs/ppgcv], Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS/Brazil. CORRESPONDENCES: M.C. Andreazza [mandreazza@yahoo.com.br] & E.O. C-Lima [eolima@hcpa.ufrgs.br].