IDENTIFICAÇÃO DE ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS RELACIONADAS À REDUÇÃO DE FERTILIDADE EM SUÍNOS

Marcelo Henrique Macon (CNPq), Luciana Andreia Borin de Carvalho (Orientador).
E-mail: labcarvalho@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas, Genética/Genética Animal.

Palavras-chave: Citogenética; Padronização; Cariótipo suíno.

RESUMO

O Paraná é o segundo maior produtor de suínos do Brasil, e a manutenção da qualidade genética do rebanho depende, entre outros fatores, da detecção precoce de alterações cromossômicas que podem comprometer a eficiência reprodutiva, como as translocações recíprocas. O cariótipo com bandeamento G é uma técnica citogenética amplamente empregada na identificação de alterações numéricas e estruturais. Este trabalho teve como objetivo padronizar o protocolo de cariótipo com bandeamento G, visando aumentar a resolução das bandas cromossômicas, e aplicá-lo na análise citogenética de suínos para identificação de possíveis alterações cromossômicas que levam à infertilidade dos animais. Foram coletadas amostras de sangue periférico de seis animais saudáveis, submetidas à cultura de linfócitos, obtenção de cromossomos metafásicos e realização dos bandeamentos G e C. Após ajustes no protocolo, observou-se aumento da resolução das bandas, possibilitando a confecção dos cariótipos. Os seis animais apresentaram fórmula cromossômica normal (38,XX), sem alterações numéricas e/ou estruturais detectáveis, e composição heterocromática dentro dos parâmetros esperados. A obtenção de metáfases com maior resolução demonstra que os ajustes metodológicos foram fundamentais para aprimorar a identificação dos padrões cromossômicos, fortalecendo a aplicabilidade da citogenética na triagem de alterações em suínos. Conclui-se que a padronização foi satisfatória e constitui uma base metodológica para a continuidade do projeto, incluindo futura aplicação de FISH e formação de recursos humanos especializados em citogenética animal.

INTRODUÇÃO

A citogenética clínica tem como foco a estrutura e função cromossômica, impactando na saúde e reprodução dos organismos. No porco doméstico (*Sus scrofa domesticus*) translocações recíprocas equilibradas são fatores principais que reduzem em até 40% no número da prole (Quach, et al., 2016), em comparação com a média do rebanho, o que pode refletir economicamente o setor de suinocultura. Programas de triagem citogenética têm contribuído significativamente para reduzir a

ocorrência dessas alterações, melhorando a eficiência reprodutiva e genética dos rebanhos (Danielak-Czech, et al., 2020).

O cariótipo com bandeamento G é o método de maior destaque na triagem (Donaldson, et al., 2021), pois permite identificar alterações tanto numéricas como estruturais permitindo identificar animais jovens que apresentem determinadas alterações antes de serem encaminhados para centros de inseminação. Ainda, a caracterização citogenética pode auxiliar no desenho futuro de sondas para uso na metodologia FISH (Hibridação *in Situ* Fluorescente), capaz de identificar arranjos submicroscópicos imperceptíveis sob a ótica da metodologia tradicional.

O Paraná ocupa posição de destaque na suinocultura nacional (ABPA, 2026), com expressiva produção e participação no mercado internacional. Nesse contexto, a importação de reprodutores, embora contribua para o melhoramento genético, envolve custos, adaptação e riscos sanitários. Assim, triagens citogenéticas na produção nacional são determinantes para garantir a reprodução e o desempenho dos animais, contribuindo para um melhoramento genético mais seguro e sustentável. Dessa forma, o objetivo deste projeto foi padronizar a metodologia de cultura de linfócitos para cariótipo com bandeamento G, identificar padrões alterados e incentivar a formação de recursos humanos na área de citogenética animal.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram incluídos neste estudo seis animais saudáveis da espécie *Sus scrofa domesticus* (pertencentes à Fazendo Experimental da UEM), manipulados de acordo com a Lei nº 11.794/2008 e as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e mediante aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) (CEUA Nº 8953020525).

Inicialmente, 4-8mL de sangue venoso foi coletado e os linfócitos foram cultivados de acordo com protocolo descrito por Moorhead et al. (1960) com modificações. A cultura de linfócitos foi realizada em duplicata e incubada com meio RPMI 1640 suplementado com 30% de soro fetal bovino e fitohemaglutinina. A incubação ocorreu por um período de 71h a 37ºC, sendo adicionado colchicina até completar 72h. Em sequência, o material foi centrifugado, hipotonizado e fixado em lâminas de vidro previamente lavadas.

O bandeamento G foi realizado conforme Seabright (1971; com modificações), e analisado em microscópio Olympus BX51, com captura de imagens pelo software *Spectral Imaging*, para identificação de alterações numéricas e estruturais (deleções, duplicações, cromossomo em anel, etc). O bandeamento C para evidenciar regiões cromossômicas com quebra, associações cêntricas e fragmentos acêntricos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foram encontradas dificuldades em padronizar os processos e garantir metáfases com menor grau de condensação, visando garantir metáfases com boa resolução para as análises. Os suínos analisados apresentaram composição cromossômica (38, XX) sem alterações numéricas/estruturais (Figura

1.A). Ajustes foram realizados em tempo/temperatura das etapas do bandeamento para garantir aumento de resolução das bandas (Figura 1.B). Adicionalmente, foram testados sutis variações no tempo de exposição à colchicina, com objetivo de obter metáfases com menor grau de condensação; viabilizando melhor resolução final.

Para cada animal, foram analisados em média 10-20 metáfases, onde foram realizadas análises tanto numéricas como estruturais, confrontados com dados de rearranjos descritos em literatura. A precisão da análise depende exclusivamente da resolução obtida no bandeamento, portanto o aprimoramento técnico torna-se essencial para garantir eficiência e diminuir a taxa de recoleta, minimizando sofrimento/desconforto animal. A aprendizagem e identificação técnico-experimental é indispensável para aprimoramento das habilidades do profissional citogeneticista, uma vez que o mercado carece de especialistas qualificados nessa área.

Conjuntamente, foi realizada a Banda C (Figura 1.C) para padronização, caracterização e confirmação de casos de heterocromatina constitutiva aumentada, comumente observadas em cromossomos acrocêntricos nos pares de 13 à 18.

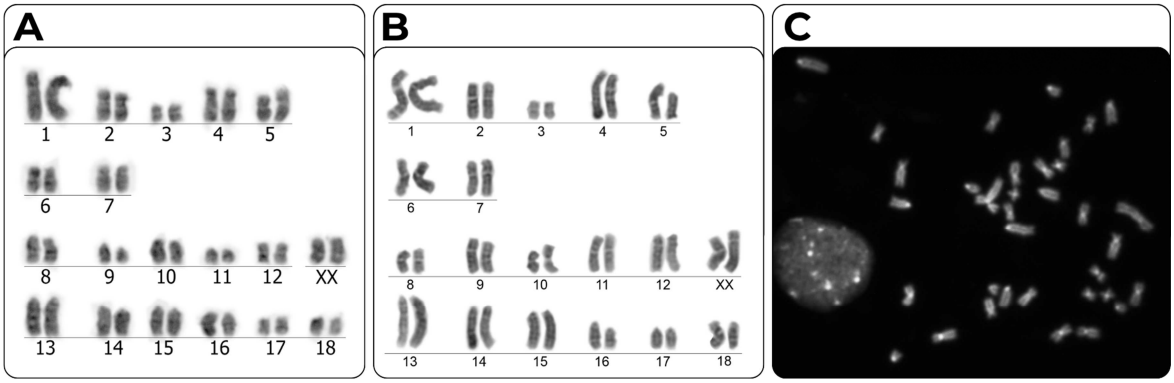


Figura 1. Imagens de bandeamento G e C. **A.** Cariótipo suíno com baixa resolução de bandas G (começo da padronização). **B.** Cariótipo suíno com maior resolução de bandas G (final da padronização). **C.** Cromossomos suínos com a região centromérica em destaque (Bandeamento C).

Os suínos analisados apresentaram composição cromossômica (38, XX) sem alterações numéricas/estruturais e com composição heterocromática normal. Esse resultado é compatível com a literatura internacional de triagem citogenética em suínos, que descreve baixa prevalência de translocações recíprocas na população geral, em torno de 0,46% (Danielak-Czech, et al., 2020). Dessa forma, a ausência de alterações cromossômicas na amostra analisada está em conformidade com o esperado, uma vez que o reduzido tamanho amostral (n=6) diminui a probabilidade estatística de identificação de portadores em uma população na qual esse tipo de anomalia apresenta baixa frequência.

CONCLUSÕES

Através da padronização do cariótipo com bandeamento G foi possível aumentar a resolução das bandas observadas nos cariótipos dos animais, sendo possível montar cariótipos completos através da identificação das bandas características de cada cromossomo. Ainda, foi possível definir que todos os 6 animais analisados apresentam fórmula cariotípica considerada normal, não

apresentando alterações capazes de afetar sua fertilidade e desenvolvimento. Ainda, o desenvolvimento da técnica é necessário para evitar complicações sob viés econômico e/ou de saúde/bem-estar animal. Ademais, a padronização do bandeamento G serve como alicerce para o posterior desenvolvimento do projeto, visando a aplicação de testes como FISH e eventual emissão de laudos para animais sintomáticos, garantindo um processo clinicamente seguro, fidedigno e economicamente viável.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pelo financiamento da bolsa de iniciação científica, à Universidade Estadual de Maringá, o Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular (DBC) e a Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI - UEM) pelo fornecimento das amostras biológicas.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). **Relatório Anual 2026**. São Paulo: ABPA, 2026. Disponível em: https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2026/04/relatorio_ABPA-2804_DIGITAL.pdf. Acesso em: 29 ago. 2026.

DANIELAK-CZECH, B.; KOZUBSKA-SOBOCIŃSKA, A.; SMOŁUCHA, G.; BABICZ, M. Breeding and economic aspects of cytogenetic screening studies of pigs qualified for reproduction. **Animals**, v. 10, p. 1200, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3390/ani10071200. Acesso em: 29 ago. 2026.

DONALDSON, B.; VILLAGOMEZ, D. A. F.; KING, W. A. Classical, molecular, and genomic cytogenetics of the pig, a clinical perspective. **Animals**, v. 11, p. 1257, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3390/ani11051257. Acesso em: 29 ago. 2026.

MOORHEAD, P. S. et al. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. **Experimental Cell Research**, v. 20, n. 3, p. 613–616, 1960. Disponível em: https://doi.org/10.1016/0014-4827(60)90138-5. Acesso em: 29 ago. 2026.

QUACH, A. T. et al. Prevalence and consequences of chromosomal abnormalities in Canadian commercial swine herds. **Genetics Selection Evolution**, v. 48, p. 1–7, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s12711-016-0246-5. Acesso em: 29 ago. 2026.

SEABRIGHT M. **A rapid banding technique for human chromosomes**. *Lancet,* v. 298, p. 971–972, 1971. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(71)90287-X. Acesso em: 29 ago. 2026.