Genética da conservação: polimorfismo sexual no Veado-roxo e implicações para o manejo reprodutivo em cativeiro

BONATO, Raquel M.[1]; BERNEGOSSI Agda M.[1], SANDOVAL Eluzai D. P.[1], CERNOHORSKA, Halina[2]; VOZDOVA, Miluse[2]; DUARTE, José M. B.[1].

[1]Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP, Jaboticabal, Brasil;
[2]Central European Institute of Technology - Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic.

Resumo
O Veado-roxo (*Passalites nemorivagus)* possui dois sistemas distintos de cromossomos sexuais: o sistema simples XX/XY e o múltiplo XX/XY_1Y_2. Este estudo relata, pela primeira vez, a ocorrência de um sistema sexual misto na espécie, gerado por cruzamentos entre indivíduos com rearranjos cromossômicos distintos. Por meio de análises citogenéticas e FISH, foi identificada uma translocação X-autossômica envolvendo o cromossomo PNE15. Dois machos apresentaram o sistema múltiplo (XY_1Y_2) e duas fêmeas exibiram um sistema híbrido (XX;15). A descoberta reforça a importância da triagem genética no manejo reprodutivo em cativeiro, visando prevenir riscos à fertilidade e contribuir com estratégias de conservação.

Palavras-chave: Cervídeos neotropicais. Citogenética. Reprodução *ex situ*.

Introdução

O veado-roxo da Amazônia (*Passalites nemorivagus*) é uma espécie de cervídeo neotropical pouco estudada, com escassas informações disponíveis na literatura, principalmente devido à dificuldade de acesso ao seu habitat e ao número reduzido de indivíduos mantidos em cativeiro (DE OLIVEIRA *et al.*, 2020). No Brasil, a única população *ex situ* encontra-se no Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE). A manutenção de populações *ex situ* representa uma estratégia valiosa para a preservação de espécies ameaçadas, além de oferecer condições adequadas para pesquisas em diferentes áreas (COMIZZOLI; HOLT, 2019). Para o sucesso na reprodução em cativeiro, os estudos genéticos são fundamentais para resolver incertezas taxonômicas, preservar a diversidade genética e minimizar os riscos de depressão por endocruzamento ou exocruzamento (WILLOUGHBY *et al.*, 2017). Pesquisas desenvolvidas no NUPECCE têm se concentrado na compreensão da genética e fisiologia reprodutiva de *P. nemorivagus*, bem como no desenvolvimento de biotecnologias reprodutivas aplicáveis à conservação da espécie (GALINDO *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2016). Uma das descobertas mais relevantes na espécie envolve a existência de polimorfismos cromossômicos e dois sistemas distintos de cromossomos sexuais: o sistema simples XX/XY e o múltiplo XX/XY_1Y_2 (FIORILLO *et al.*, 2013; MORALES-DONOSO *et al.*, 2023). Embora a variação do sistema XY seja comum em mamíferos, a presença de dois sistemas diferentes em uma única espécie é intrigante. Os efeitos dessa variação em híbridos nunca foram relatados, e, portanto, pouco se sabe sobre como ela impacta a eficiência reprodutiva desses animais.

Objetivos

Descrever uma nova variação cariotípica em *P. nemorivagus*, observada em filhotes gerados a partir do cruzamento entre indivíduos com diferentes sistemas sexuais, com foco nas implicações dessa condição para a conservação da espécie.

Metodologia

Para a realização dos cruzamentos em cativeiro, um macho (CATFAP 04) de *P. nemorivagus* foi acasalado em diferentes momentos com uma fêmea (T370), resultando em quatro filhotes (dois machos e duas fêmeas). Foram coletados fragmentos de pele da região inguinal dos pais e da prole para análise citogenética, com preparo cromossômico por cultura de fibroblastos *in vitro* e coloração convencional com Giemsa, segundo protocolo de Verma e Babu (1995). Para identificar fusões cromossômicas, foram utilizadas sondas de pintura cromossômica total (WCP) e sondas BAC derivadas de bovinos, marcadas com Green-dUTP ou Orange-dUTP. As sondas BAC foram selecionadas com base no cariótipo previamente descrito da espécie, destacando-se os cromossomos BTA19 (PNE15) e BTAX (PNEX) (MORALES-DONOSO et al., 2023). A técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) foi realizada para visualização e análise das fusões cromossômicas.

Resultados e Discussão

A análise cariotípica revelou que o macho (CATFAP 04) apresentava 2n=69, FN=71 e sistema sexual XX/XY, enquanto a fêmea (T370) possuía 2n=68, FN=70, com uma translocação X-autossômica associada ao sistema XX/XY_1Y_2., cuja técnica de FISH identificou tratar-se de uma fusão em tandem entre o X e o autossomo PNE15 (homólogo ao BTA19). As fêmeas apresentaram um sistema híbrido inédito, com um X normal herdado do pai e outro fusionado (X;15) herdado da mãe. Casos semelhantes de sistemas sexuais múltiplos foram descritos em cervídeos como *Mazama americana*, *Odocoileus pandora* e *M. temama* (BERNEGOSSI *et al.*, 2024; SANDOVAL *et al.*, 2023, 2024), mas a coexistência de dois sistemas sexuais em uma mesma espécie havia sido registrada apenas em *Elaphodus cephalophus*, sem evidência de híbridos (CAO; JIANG; ZHANG, 2005). Translocações X-autossômicas são comuns na evolução dos neo-cromossomos sexuais em mamíferos, mas podem impactar a fertilidade de híbridos (DOBIGNY *et al.*, 2004). Apesar de adaptações observadas em diferentes espécies de mamíferos, em bovinos e humanos essas translocações foram associadas a problemas clínicos, incluindo abortos (DI-BATTISTA *et al.*, 2023). No complexo *M. americana*, fusões em tandem em heterozigose causam desequilíbrio meiótico e infertilidade em machos híbridos de diferentes citótipos (GALINDO et al., 2021). Assim, apesar da produção de quatro filhotes a partir de genitores com cariótipos distintos sugerir a ausência de uma barreira pré-zigótica entre os citótipos de *P. nemorivagus*, existe um risco significativo de que as fêmeas do presente estudo apresentem redução na aptidão reprodutiva devido a erros no processo meiótico ocasionado pelo sistema misto.

Conclusão

A ocorrência de um sistema sexual misto em *P. nemorivagus* evidencia a importância de análises genéticas e citogenéticas no planejamento de programas de reprodução *ex situ*. A identificação de translocações X-autossômicas permite antecipar barreiras reprodutivas e evitar cruzamentos com risco de baixa fertilidade, abortos e inviabilidade da prole. Este estudo contribui para a compreensão da diversidade cariotípica em cervídeos neotropicais e ressalta que, para espécies sob cuidados humanos, a triagem genética prévia é essencial à manutenção da variabilidade genética e ao sucesso reprodutivo, fortalecendo ações de conservação baseadas em evidências científicas.

Referências

BERNEGOSSI, A. M.; GALINDO, D. J.; PERES, P. H. F.; VOZDOVA, M.; CERNOHORSKA, H.; KUBICKOVA, S.; KADLCIKOVA, D.; RUBES, J.; DUARTE, J. M. B. Comparative karyotype analysis of the red brocket deer (M. americana sensu lato and M. rufa) complex: evidence of drastic

chromosomal evolution and implications on speciation process. **Journal of Applied Genetics**, v. 65, n. 3, p. 601–614, 1 set. 2024.

CAO, X.; JIANG, H.; ZHANG, X. Polymorphic Karyotypes and Sex Chromosomes in the Tufted Deer *(Elaphodus Cephalophus)*: Cytogenetic Studies and Analyses of Sex Chromosome-Linked Genes. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 109, n. 4, p. 512–518, 2005.

COMIZZOLI, P.; HOLT, W. V. Breakthroughs and new horizons in reproductive biology of rare and endangered animal species. **Biology of Reproduction**, v. 101, n. 3, p. 514–525, 1 set. 2019.

DE OLIVEIRA, M. L.; DE FARIA PERES, P. H.; GATTI, A.; MORALES-DONOSO, J. A.; MANGINI, P. R.; DUARTE, J. M. B. Faecal DNA and Camera Traps Detect an Evolutionarily Significant Unit of the Amazonian Brocket Deer in the Brazilian Atlantic Forest. **European Journal of Wildlife Research**, v. 66, n. 2, p. 28, abr. 2020.

DI-BATTISTA, A.; FAVILLA, B. P.; ZAMARIOLLI, M.; NUNES, N.; DEFELICIBUS, A.; ARMELIN-CORREA, L.; DA SILVA, I. T.; REYMOND, A.; MOYSES-OLIVEIRA, M.; MELARAGNO, M. I. Premature Ovarian Insufficiency Is Associated with Global Alterations in the Regulatory Landscape and Gene Expression in Balanced X-Autosome Translocations. **Epigenetics & chromatin**, v. 16, n. 1, p. 19, 19 maio 2023.

DOBIGNY, G.; OZOUF-COSTAZ, C.; BONILLO, C.; VOLOBOUEV, V. Viability of X-Autosome Translocations in Mammals: An Epigenomic Hypothesis from a Rodent Case-Study. **Chromosoma**, v. 113, n. 1, ago. 2004. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00412-004-0292-6>. Acesso em: 3 mar. 2025.

FIORILLO, B. F.; SARRIA-PEREA, J. A.; ABRIL, V.; DUARTE, J. M. B. Cytogenetic Description of the Amazonian Brown Brocket Mazama Nemorivaga (Artiodactyla, Cervidae). **Comparative Cytogenetics**, v. 7, n. 1, p. 25–31, 18 mar. 2013.

GALINDO, D. J.; MARTINS, G. S.; VOZDOVA, M.; CERNOHORSKA, H.; KUBICKOVA, S.; BERNEGOSSI, A. M.; KADLCIKOVA, D.; RUBES, J.; DUARTE, J. M. Chromosomal Polymorphism and Speciation: The Case of the Genus Mazama (Cetartiodactyla; Cervidae). **Genes**, v. 12, n. 2, 2021.

IANNUZZI, A.; PARMA, P.; IANNUZZI, L. Chromosome Abnormalities and Fertility in Domestic Bovids: A Review. **Animals**, v. 11, n. 3, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/3/802>.

MORALES-DONOSO, J. A.; VACARI, G. Q.; BERNEGOSSI, A. M.; SANDOVAL, E. D. P.; PERES, P. H. F.; GALINDO, D. J.; DE THOISY, B.; VOZDOVA, M.; KUBICKOVA, S.; BARBANTI DUARTE, J. M. Revalidation of Passalites Gloger, 1841 for the Amazon Brown Brocket Deer P. Nemorivagus (Cuvier, 1817) (Mammalia, Artiodactyla, Cervidae). **ZooKeys**, v. 1167, p. 241–264, 20 jun. 2023.

OLIVEIRA, M. E. F.; ZANETTI, E. D. S.; CURSINO, M. S.; DE FÁTIMA CARVALHO PERONI, E.; ROLA, L. D.; FELICIANO, M. A. R.; CANOLA, J. C.; DUARTE, J. M. B. First Live Offspring of Amazonian Brown Brocket Deer (Mazama Nemorivaga) Born by Artificial Insemination. **European Journal of Wildlife Research**, v. 62, n. 6, p. 767–770, dez. 2016.

PELLETIER, F.; RÉALE, D.; WATTERS, J.; BOAKES, E. H.; GARANT, D. Value of captive populations for quantitative genetics research. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 24, n. 5, p. 263–270, 1 maio 2009.

SALVIANO, M. B.; CURSINO, M. S.; ZANETTI, E. D. S.; ABRIL, V. V.; DUARTE, J. M. B. Intraspecific Chromosome Polymorphisms Can Lead to Reproductive Isolation and Speciation: An Example in Red Brocket Deer (Mazama Americana). **Biology of Reproduction**, v. 96, n. 6, p. 1279–1287, jun. 2017.

SANDOVAL, E. D. P.; BERNEGOSSI, A. M.; GALLINA, S.; REYNA-HURTADO, R.; DUARTE, J. M. Molecular cytogenetics markers reveal the existence of a cryptic complex of Mazama temama species. v. 15, n. 2, 2024.

SANDOVAL, E. D. P.; BERNEGOSSI, A. M.; GALLINA, S.; REYNA-HURTADO, R.; DUARTE, J. M. B. Cytogenetic, molecular, and morphological characterization of Odocoileus pandora (Merriam, 1901) (Artiodactyla, Cervidae). **Canadian Journal of Zoology**, v. 101, n. 11, p. 967–979, 1 nov. 2023.

WILLOUGHBY, J. R.; IVY, J. A.; LACY, R. C.; DOYLE, J. M.; DEWOODY, J. A. Inbreeding and selection shape genomic diversity in captive populations: Implications for the conservation of endangered species. **PLOS ONE**, v. 12, n. 4, p. e0175996, 19 abr. 2017.