

Análise cromossômica e molecular do javali europeu *Sus scrofa scrofa* e do suíno doméstico *Sus scrofa domesticus*

Cytogenetic and molecular analysis of a european wild boar *Sus scrofa scrofa* and domestic swine *Sus scrofa domesticus*

Danilo Lucano GIMENEZ^{1*};
Lígia Souza Lima Silveira da MOTA¹;
Rogério Abdallah CURI¹;
Guilherme Jordão de Magalhães ROSA²;
Marcos Aparecido GIMENES¹;
Catalina Romero LOPES¹;
Edmundo José de LUCCA¹

1- Departamento de Genética do Instituto de Biociências da UNESP, Botucatu - SP
2- Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências da UNESP, Botucatu - SP
* Falecido em 12 de abril de 2002. Os co-autores deste trabalho prestam uma homenagem de grande carinho, respeito e admiração.

Correspondência para:
LÍGIA SOUZA LIMA SILVEIRA DA MOTA
Departamento de Genética
Instituto de Biociências da UNESP
Distrito de Rubião Jr.
18.618-000 - Botucatu - SP
e-mail: lmota@ibb.unesp.br

Recebido para publicação: 22/10/2002
Aprovado para publicação: 21/12/2002

Resumo

A presente investigação teve como objetivos: analisar animais presentes em diferentes criações de javalis no estado de São Paulo, com o intuito de auxiliar a identificação de javalis “puros” assim como javalis híbridos provenientes do cruzamento com o suíno doméstico, para tanto foram utilizadas avaliação do fenótipo dos animais, análises citogenéticas e da técnica molecular de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). O estudo do número de cromossomos nas células diplóides em 104 animais destinados a análise citogenética e fenotípica, revelou polimorfismo de $2n=36$, 37 e 38 cromossomos. Por meio da técnica de bandamento GTG foi possível identificação da translocação Robertsoniana entre os cromossomos 15 e 17 como responsável por esse polimorfismo. Todavia, somente com a análise citogenética isolada, não foi possível determinar se a origem desse polimorfismo é decorrente das hibridações com o suíno doméstico ou se são características inerentes ao javali. Contudo, quando associado a análise citogenética com as características fenotípicas, foi possível identificar a existência de hibridações. A análise citogenética nos animais submetidos a técnica de RAPD, revelou $2n=36$ cromossomos nos 16 javalis assim como $2n=38$ cromossomos nos 11 suínos e, por meio dessa técnica, foram possíveis agrupamentos, separando o suíno doméstico, javali e um possível híbrido revelando-se uma técnica com potencial no auxílio da identificação de híbridos.

Palavras-chave

Javali.
Híbrido.
Citogenética.
RAPD.
Fenótipos.

Introdução

As primeiras criações comerciais de javali no Brasil ocorreram no Estado do Rio Grande do Sul em meados da década de 1980. Todavia, alguns criadores do Estado de São Paulo, descontentes com a qualidade dos javalis inicialmente criados, importaram animais de criadores comerciais do Canadá e da França proporcionando avanço no melhoramento genético da espécie no estado, devido ao controle realizado por estes países.

A ocorrência de híbridos entre javalis e suínos, tanto na natureza como em cativeiro, é bastante comum, uma vez que o cruzamento entre essas subespécies gera indivíduos férteis¹. Esse fato levou certos criadores a praticarem este tipo de acasalamento como forma de aumentar os índices zootécnicos, explorando um possível efeito heterótico e conseqüente melhoria na lucratividade do setor².

Atualmente, a distinção entre animal “puro” e híbrido é feita não só pela observação do fenótipo, mas também por meio da análise do número de cromossomos nas células diplóides. O suíno doméstico possui $2n=38$ cromossomos, independente da origem e raça, e o javali europeu possui $2n=36$ cromossomos³.

Tais métodos, porém, são insuficientes para determinação segura sobre a origem do animal considerando que, em alguns casos, o fenótipo do híbrido aproxima-se ao do animal “puro” e a análise cromossômica não determina “pureza” individual e sim populacional. Por exemplo, o fato de um indivíduo apresentar $2n=36$ cromossomos não garante a sua “pureza”, pois do cruzamento entre javali ($2n=36$) e suíno ($2n=38$), resultam híbridos apresentando 37 cromossomos em 100,00% dos casos, e do cruzamento do híbrido com o

javali $2n=36$, resultam 50,00% de indivíduos com 36 cromossomos e 50,00% com 37 cromossomos. Desta forma, a caracterização dos animais por meio da análise cromossômica não seria suficiente, considerando-se os eventuais cruzamentos anteriormente relatados.

Com base nos fatos acima mencionados, este trabalho teve como objetivo auxiliar a identificação de javalis “puros”, assim como os produtos das hibridações, empregando-se animais provenientes de criadouros do Estado de São Paulo. Para tanto foram utilizadas técnicas de citogenética e biologia molecular, analisando-se o padrão cromossômico e os polimorfismos gerados pela técnica molecular de RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

Material e Método

Foram analisadas cento e quatro amostras de sangue de animais descendentes de javalis provenientes do Canadá, França e do Rio Grande do Sul, oriundos de sete diferentes criadouros do Estado de São Paulo.

Vinte e sete animais (16 javalis e 11 suínos) sem parentesco comprovado por três gerações foram analisados empregando-se RAPD. Nesta amostra, 8 javalis eram originários do Canadá, 8 da França e os 11 suínos da Fazenda Experimental Lageado (UNESP), câmpus Botucatu, sendo 4 da raça Large White e 7 resultantes do cruzamento entre as raças Landrace e Large White.

A análise do genótipo foi subjetiva, por meio da verificação da proximidade ou não das características do javali conforme os princípios determinados^{2,4}. Foram observados os seguintes critérios: proporção da parte anterior e posterior de cada animal, forma do corpo, verificação de dupla

camada de pêlos distribuídos ao longo do corpo, tamanho das orelhas, morfologia da cabeça, pigmentação específica e conjunto das características como um todo. Finalizada a avaliação, atribuíam-se nota ao animal e, quanto mais baixa a pontuação, maior a proximidade das características dos suínos domésticos. Conforme a pontuação, o animal era classificado como: R = Ruim - animal muito parecido com o suíno doméstico; Re = Regular - animal relativamente parecido com o suíno; B = Bom - animal com características de javali, porém, conservando traços de suínos; MB = Muito Bom - animais que têm características de javali, contudo possuem alguma característica muito sutil do suíno; O = Ótimo - animais somente com características de javali.

No período de três a vinte e quatro horas, após cada coleta, amostras de 3 a 5 ml de sangue mantidas sob refrigeração, foram transportadas ao Laboratório de Citogenética Animal do Departamento de Genética do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (UNESP), câmpus de Botucatu. Para a obtenção dos cromossomos metafásicos foi empregada a técnica de cultura de linfócitos⁵, com modificações.

Foram analisadas entre 12 e 20 células de cada animal, em coloração convencional de Giemsa, para identificação do número cromossômico e confirmação dos números diplóides de 36, 37 ou 38 cromossomos, com o propósito de identificação da existência desse polimorfismo nos animais amostrados.

A técnica de bandeamento GTG¹ foi empregada com o intuito de realizar a identificação cromossômica e visualizar a ocorrência de rearranjos numéricos e estruturais. Após a escolha das melhores metafases, estas foram

fotografadas para se proceder a montagem do cariótipo e a comparação com os padrões existentes^{3,6}.

O desenvolvimento da técnica de RAPD ocorreu no Laboratório de Biotecnologia e Genética Molecular (BIOGEM) no Departamento de Genética do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (UNESP), câmpus de Botucatu.

Amostras de 5 ml de sangue total foram coletadas da jugular, na região do pescoço, utilizando-se tubos vacutainer, contendo 7,5 mg de EDTA. Durante a coleta, o sangue foi homogeneizado em EDTA e mantido sob refrigeração em gelo. Após a coleta, o sangue permaneceu em geladeira, à 4°C, até o momento da extração do DNA.

A extração do DNA genômico foi feita a partir de amostras de 300 μ l de sangue total utilizando o *kit* de extração *Genomic PrepTM Blood DNA Isolation kit* (AMERSHAM PHARMACIA). A quantidade e a integridade do DNA extraído foram avaliadas em gel de agarose 0,80%. O DNA total foi diluído em água miliQ autoclavada, a fim de se obter amostras de DNA de trabalho, com concentração aproximada de 10ng/ μ l. As amostras de DNA diluído ficaram estocadas em tubos *de polipropileno* de 1,5ml e armazenadas em geladeira à temperatura de 4°C, até o momento da amplificação.

Cada reação de amplificação apresentou volume final de 13 μ l e a mistura foi constituída de 50 ng de DNA genômico, 0,4 μ M de cada iniciador (*primer*), 10 mM de Tris-HCl, pH 8.0; 0,2 mM de MgCl₂, 0,1 mM de cada dNTP e 1 U de Taq DNA polimerase. A reação de ampliação foi dirigida pelos seguintes *primers* OPG2, OPG12, OPG13, OPG16, OPR4, OPR7, OPR8, OPR9, OPX1, OPX2 e OPX5

comercializados pela OPERON. O ciclo de amplificação foi o seguinte: (1) desnaturação inicial da fita dupla a 92°C por 1 minuto; (2) desnaturação a 92°C por 1 minuto; (3) anelamento dos *primers* entre 35°C por 1 minuto; (4) extensão a 72°C por 2 minutos e (5) extensão final a 72°C por 5 minutos. Os passos 2, 3 e 4, constituem um ciclo, que foi repetido por 40 vezes. Após a amplificação, os fragmentos de DNA foram separados em gel de agarose 2,00%⁷. Uma diferença de potencial de aproximadamente 5,5 V/cm foi aplicada por duas horas. Um padrão de peso molecular foi utilizado em cada gel, permitindo o cálculo do tamanho dos fragmentos amplificados. Os géis foram corados com brometo de etídio e os fragmentos visualizados em forma de bandas após exposição à luz ultravioleta. A documentação dos géis, para posterior análise dos dados, foi feita utilizando-se o aparelho de fotodocumentação *Eagle Eye II*.

Os marcadores RAPD foram analisados para presença ou ausência de bandas no gel. O agrupamento dos animais, com base no polimorfismo de DNA, foi feito utilizando-se o método de agrupamento UPGMA no programa TREECON for Windows⁸.

Resultados

A análise do número de cromossomos nas células diplóides dos 104 animais, utilizados na análise citogenética, demonstrou polimorfismo cromossômico com 2n=36, 37 e 38 cromossomos, apresentados na Tabela 1. Não obstante, nos 16 javalis utilizados na análise dos marcadores RAPD não foram observados esse polimorfismo, apresentando 2n=36 cromossomos. Todos suínos avaliados apresentaram 2n=38 cromossomos.

A análise de uma família por três gerações demonstrou o comportamento

Tabela 1

Resultados das análises do número de cromossomos nas células diplóides dos animais utilizados para análise do fenótipo. Botucatu – SP, 2001

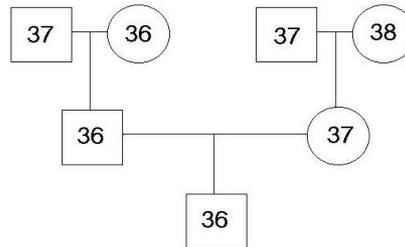
Origens	2n=36 cromossomos		2n=37 cromossomos		3n=38 cromossomos		Total de animais
	Total	%	Total	%	Total	%	
1*	3M**	60,00	2M	40,00	-	0,00	5
2	10M:7F	73,91	2M:3F	21,74	1M	4,35	23
3	8M:4F	46,15	13M:1F	53,85	-	0,00	26
4	1M	9,09	2M:4F	54,55	2M:2F	36,36	11
5	1M; 1F	40,00	1M:2F	60,00	-	0,00	5
6	-	0,00	-	0,00	1M	100,00	1
7	23M:10F	100,00	-	0,00	-	0,00	33
Total	46M:22F	65,38	20M:10F	28,85	4M:2F	5,77	104

* Número do criadouro com a seguinte descendência: 1- Rio Grande do Sul; 2- Rio Grande do Sul e Canadá; 3- Canadá; 4- Rio Grande do Sul; 5- Rio Grande do Sul; 6 – Rio Grande do Sul; 7 – França.

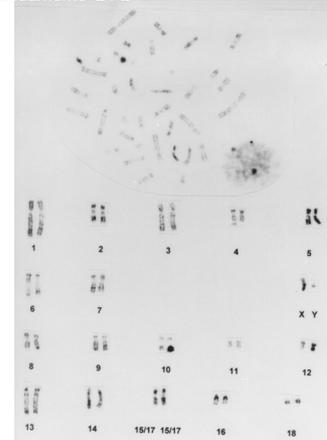
** Sexo dos animais: M= Machos e F = Fêmeas.

Figura 1

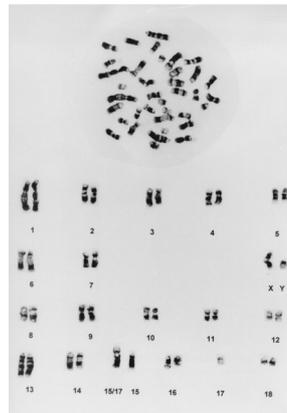
Heredograma de uma família de Javalis. Os números dentro das figuras representam o número de cromossomos nas células diplóides de cada indivíduo. Botucatu – SP, 2001

**Figura 2**

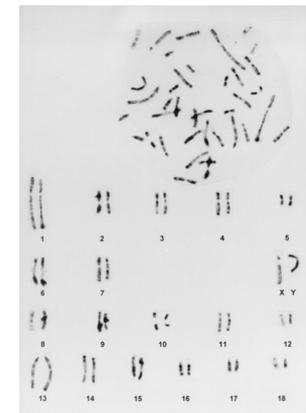
Macho *Sus scrofa* apresentando $2n = 36$ cromossomos sob bandamento GTG

**Figura 3**

Macho *Sus scrofa* apresentando $2n = 37$ cromossomos sob bandamento GTG

**Figura 4**

Macho *Sus scrofa* apresentando $2n = 38$ cromossomos sob bandamento GTG



dos cromossomos ao longo das gerações, conforme Figura 1.

O bandamento cromossômico GTG, foi obtido nos três grupos de cariótipos. As metáfases de machos com $2n=36, 37$ e 38 cromossomos são apresentadas nas Figuras 2, 3 e 4.

Os *primers* utilizados nas reações de RAPD de 16 javalis e 11 suínos domésticos geraram 107 bandas, sendo 75 polimórficas (70,10%) e 32 monomórficas (29,90%). Não foi possível a obtenção de bandas utilizando-se o *primer* OPX5. O número de bandas polimórficas variou de 33,40 a 83,40%, sendo o *primer* OPX-2 e o *primer* OPG-16 os que geraram menor

e maior polimorfismo, respectivamente. As bandas geradas variaram de 4 a 18 por *primer*, com média de 10,7. O polimorfismo gerado pelos dez *primers*, está apresentado na Tabela 3.

O dendrograma da Figura 5 apresenta a reunião dos 27 animais em três grupos distintos, representados por G1, G2 e G3. Considerando-se o fato de os animais serem provenientes de três origens distintas, e dentro de cada grupo não possuem parentesco por 3 gerações, foi possível concluir que a variação observada é devido exclusivamente a variabilidade genética da espécie, revelada pelos marcadores utilizados.

A avaliação fenotípica dos 104 animais utilizados na análise citogenética, assim como os 16 javalis utilizados na análise dos marcadores RAPD são apresentados na Tabela 2.

Discussão

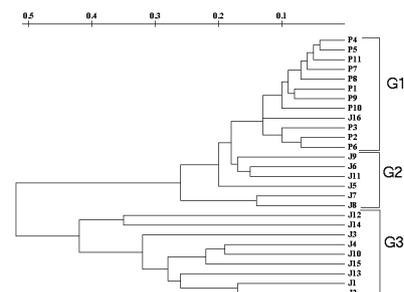
Os resultados obtidos na análise do número de cromossomos nas células diplóides demonstram porcentagens bastante distintas entre os três grupos de cariótipos para os sete criadouros. Nos criadouros 1, 5 e 6 essas proporções são bastante tendenciosas, devido ao reduzido número de animais considerados, não obstante, a análise do cariótipo nos machos reprodutores, dos criadouros 1 e 5, revelou $2n=36$ cromossomos, em ambos, o que justifica a ausência de animais com $2n=38$ cromossomos nesses criadouros. O criadouro 6 foi representado somente por um animal, porém, a análise do cariótipo revelou $2n=38$ cromossomos, concluindo-se que nenhum dos seus pais possuem $2n=36$ cromossomos.

A análise do cariótipo nos criadouros 2 e 4 revelou polimorfismo de 36, 37 e 38 cromossomos, explicada pela presença de uma parcela de animais provenientes do Rio Grande do Sul. Cinco machos reprodutores do criadouro 2 foram analisados e todos revelaram $2n=36$ cromossomos, todavia, a presença do animal com $2n=38$ cromossomos neste criadouro, pode ser explicada pela ocorrência de cruzamento indesejado, onde machos destinados ao abate com idade entre 240 a 420 dias, permaneceram na mesma instalação das fêmeas de mesma idade destinadas a reprodução.

Entre os animais dos criadouros 3 e 7, não foram encontrados exemplares com $2n=38$ cromossomos, havendo animais com 36 e 37 no primeiro e somente animais com 36 cromossomos no segundo. O fato do

Figura 5

Dendrograma gerado pelo método de análise UPGMA a partir de 107 bandas polimórficas resultantes da técnica de RAPD. G1, G2 e G3 são os grupos formados. J1 a J16 identificam os javalis, P1 a P11 identificam os suínos domésticos. Botucatu – 2001.



criadouro 7 possuir somente animais importados da França, explica a ausência dos grupos com 37 e 38 cromossomos, pois no país de origem os animais de criadouros comerciais são submetidos a análise citogenética por 10 gerações, permitindo-se somente a permanência de animais com $2n=36$ cromossomos³. O criadouro 3 possui somente animais provenientes do Canadá, e a presença de animais com $2n=36$ e 37 cromossomos revela a existência deste polimorfismo nos animais procedentes daquele país.

Nos cariótipos analisados, submetidos ao bandamento GTG, somente foi possível evidenciar que a causa do polimorfismo é a translocação Robertsoniana entre os cromossomos 15 e o 17, não sendo possível identificar se a origem da variação é a hibridação entre o javali e o suíno doméstico ou simplesmente uma constante em javalis. Javalis analisados com $2n=38$ cromossomos são idênticos aos cariótipos dos suínos domésticos^{1,6}.

Não foram encontrados casos de aneuploidias, duplicações e deleções do material genético, sugerindo que a translocação envolvendo os cromossomos 15 e 17 no javali europeu, não causa desequilíbrio gênico, constituindo-se em elemento natural do

processo evolutivo da espécie^{9,10}.

Na Figura 1 fica evidente a obtenção de animais com $2n=36$ cromossomos a partir de animais com $2n=36$, 37 e 38 cromossomos, demonstrando que a análise do número de cromossomos isolada é ineficiente na determinação de hibridações entre o javali e o suíno.

A análise subjetiva do fenótipo, demonstra a presença de animais com $2n = 36$ e 37 cromossomos classificados nas categorias Re, B, MB e O. Já animais com $2n=38$ cromossomos distribuem-se pelas categorias R, Re e B, indicando maior ocorrência de características de hibridações neste grupo quando comparado com os outros dois. Não se podem desprezar as diferenças no número de animais entre os diferentes grupos de cariótipos. No entanto, a existência de 32 animais (47,00%) com $2n=36$ cromossomos no grupo O, e somente 2 animais (33,00%) com $2n=38$ cromossomos no grupo R, sugere maior presença de híbridos no segundo grupo.

A análise dos marcadores RAPD mostra que houve grande homologia entre os grupos G1 e G2, os quais foram separados na faixa de 80,00 a 90,00% de similaridade. Por outro lado, o grupo G3 foi separado dos outros dois com mais de 50,00% de dissimilaridade demonstrando grande variação com os demais genótipos.

Dentro do grupo G1 encontram-se todos os suínos e o javali J16, sugerindo maior homologia do genótipo desse javali com o genótipo dos suínos, do que com o genótipo dos demais javalis presentes neste trabalho. O javali J16 apresentava traços de hibridação com o suíno doméstico, identificados no fenótipo, sendo classificado na análise do fenotípica como B, o que talvez explique o agrupamento da análise dos marcadores RAPD.

Os suínos da raça Large White não foram separados daqueles

resultantes do cruzamento entre Landrace e Large White tendo sido agrupados em três subgrupos dentro do grupo 1: o primeiro constituiu-se de oito animais (2 Large White: P1 e P4 e 6 resultantes do cruzamento de Large White com Landrace: P5, P7, P8, P9, P10 e P11); o segundo, de três animais (1 Large White: P6 e 2 resultantes do cruzamento de Large White com Landrace: P2 e P3) e o terceiro subgrupo constituído apenas pelo javali J16, apresentou pequena dissimilaridade com os outros dois subgrupos.

O grupo G2 foi representado por seis javalis, sendo quatro de origem Francesa e dois de origem Canadense. Neste grupo foi possível a identificação de três subgrupos: o primeiro constituído de três javalis (1 Francês: J6 e 2 Canadenses: J9 e J11); o segundo por dois javalis (Francês: J7 e J8) e o terceiro subgrupo foi formado apenas pelo J5, de origem Francesa. Houve maior similaridade do animal J5 com os animais J7 e o J8, todos de origem Francesa, quando comparados aos animais J6 (origem francesa), J9 e J11 (origem canadense). Esses animais foram classificados quanto ao fenótipo, atribuindo-se muito bom para o J9 e J11, excelente para o J5, J6, J7 e J8, havendo parcial concordância da análise fenotípica com a dos marcadores RAPD, por conta do animal J6.

O grupo G3 incluiu nove javalis, sendo dividido em três subgrupos: o primeiro inclui dois javalis de origem Canadense (J12 e J14) bastante distante dos outros dois subgrupos; o segundo representado por dois javalis de origem Canadense (J10 e J15), e um javali de origem Francesa (J4); o terceiro subgrupo foi representado por um javali de origem Canadense (J13) e dois de origem Francesa (J1 e J2), tendo os dois últimos sido agrupados. Na análise fenotípica todos os animais desse grupo foram classificados como excelente, indicando características somente de

Tabela 2

Resultados das análises do número de cromossomos nas células diplóides comparando com o fenótipo. Botucatu – SP, 2001

Grupo de Cariótipo	Fenótipo dos Animais					Total
	R*	Re	B	MB	O	
2n=36**	0	0	1	2	13	16
2n=36	0	4	14	18	32	68
2n=37	0	5	10	10	5	30
2n=38	2	1	3	0	0	6

*R = fenótipo ruim; Re = Regular; B = bom; MB = muito bom e O = ótimo

**Análise do número de cromossomos nas células diplóides dos animais submetidos a análise dos marcadores RAPD

Tabela 3Relação dos *primers* utilizados na análise RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) dos 16 javalis e 11 suínos domésticos, seqüência de nucleotídeos dos *primers*, número de bandas geradas por cada *primer*, porcentagem de bandas polimórficas e intervalo do tamanho das bandas em pares de base (pb). Botucatu – SP, 2001.

<i>Primer</i> .	Seqüência de Nucleotídeos 5' – 3'	Número de Bandas	% de Polimorfismo	Intervalo do tamanho das bandas geradas
OPG-2	GGCACTGAGG	12	66,70	900 – 300 pb
OPG-12	CAGCTCACGA	10	66,70	1900 – 200 pb
OPG-13	CTCTCCGCCA	14	42,90	1500 – 380 pb
OPG-16	AGCGTCCTCC	18	83,40	2072 – 200 pb
OPR-4	CCCGTAGCAC	14	78,60	2050 – 190 pb
OPR-7	ACTGGCCTGA	4	0,00	1900 - 600 pb
OPR-8	CCCGTTGCCT	6	0,00	1500 – 700 pb
OPR-9	TGAGCACGAG	11	81,90	1300 – 400 pb
OPX-1	CTGGGCACGA	12	66,70	2000 – 130 pb
OPX-2	TTCGCCACC	6	33,40	2030 – 790 pb

javalis. Maior similaridade pode ser observada entre os javalis J4 e J10, quando comparada ao J15.

O agrupamento gerado pelos marcadores RAPD foi conclusivo demonstrando a capacidade desses marcadores em relacionar espécies e subespécies¹¹. Não obstante, vale ressaltar que diferentes resultados de similaridade entre espécies são alteradas mudando-se algumas condições experimentais¹².

Conclusões

As análises citogenéticas realizadas nos javalis do Estado de São Paulo mostrando polimorfismo 2n=36,

37 e 38 cromossomos, pela existência da translocação Robertsoniana entre os cromossomos 15 e o 17, confirmam as hibridações com o suíno doméstico, sendo evidenciadas pelas análises das características fenotípicas dos animais amostrados.

A citogenética, por meio da análise do número de cromossomos nas células diplóides e bandamento GTG, não foi suficiente para a determinação da existência de hibridações entre o javali e o suíno doméstico, todavia, quando associada a análise fenotípica, tornou possível a identificação da hibridação.

Os marcadores moleculares RAPD apresentaram potencial

informativo na distinção entre o javali e o suíno doméstico abrindo campo de estudo na diferenciação entre os javalis e os híbridos com o suíno doméstico.

Nos javalis de origem Francesa analisados neste trabalho não foram

observadas características de hibridação com o suíno doméstico, conferindo-lhe alto potencial para avanço no melhoramento genético dos javalis presentes no Estado de São Paulo.

Summary

The aim of this study was to analyse different wild boars breeding in São Paulo state, intending to identify boars "pure" as well as hybrid boars from mate with domestic swine.

Key-words

Wild boar.
Hybrid.
Cytogenetic.
RAPD.
Phenotype.

Referências

- 1 - SEABRIGHT, M. The use of proteolytic enzymes for mapping of structural rearrangement in the chromosome of man. **Chromosoma**, v.36, p.204-10, 1972.
- 2 - ANDERSSON, L.; ANDERSSON, K.; ANDERSSON, E.L.; ELLEGREN, H.; HALEY, C.S.; HANSSON, I.; JOHANSSON, M.M.; LUNDSTROM, K.; MARKLUND, L. Mapping qualitative trait loci for carcass and meat quality traits in a wild boar x large white intercross. **Journal of Animal Science**, v.76, p.694-700, 1998.
- 3 - DARRE, R.; BERLAND, H.M.; GOUSTAT. Statut chromosomique des populations de sangliers sauvages et d'élevages en France. **Revista Médica Veterinária**, v.143, p.225-32, 1992.
- 4 - NOWAK, R.M.; WALKER, E.P. **Walker's mammals of the world**. Baltimore: Johns Hopkins, 1991. v.2, p.1334-47. Order artiodactyla.
- 5 - MOORHEAD, P.S.; NOWELL, P.C.; MELLNAN, W.J.; BATTIPS, D.M.; HUNGERFORD, D.A. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. **Experimental Cell Research** v.20, p.462-66, 1960.
- 6 - NOMBELA, J.J.A.; MURCIA, C.R.; ABAIGAR, T.; VERICAD, J.R. Cytogenetic analysis (GTG, CBG and NOR bands) of a wild boar population *Sus scrofa scrofa* with chromosomal polymorphism in the south-east of Spain. **Genetics Selection Evolution**, v. 22, p. 1-9, 1990.
- 7 - SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. Gel Electrophoresis of DNA. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989a. v.1, cap.6, p.6-12.
- 8 - VAN DE PEER, Y.; DE WACHTER, R. Construction of evolutionary distance trees with TREECON for Windows: accounting for variation in nucleotide substitution rate among sites. **Comput. Applic. Biosci**, v.13, p.227-30, 1997.
- 9 - DUCOS, A.; BERLAND, H.M.; PINTON, A.; GUILLEMOT, E.; SEGUÉLA, A.; BLANC, M.F.; DARRE, A.; DARRE, R. Nine new cases of reciprocal translocation in the domestic pig (*Sus scrofa domestica* L.). **Journal Hereditas**, v.89, p.136-42, 1998.
- 10 - SINGH, B.; FISHER, K.R.; YADAV, B.R.; BASRUR, P.K. Characterization of a translocation and its impact on fertility in the pig. **Genome**, v.37, p.280-8, 1994.
- 11 - LEE, J.C.; CHANG, J.G. Random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD PCR) fingerprints in forensic species identification. **Forensic Science International**, v.4, p.103-7, 1994.
- 12 - PEREZ, T.; ALBORNOZ, J.; DOMÍNGUEZ, A. An evaluation of RAPD fragment reproducibility and nature. **Molecular Ecology**, v.7, p.1347-57, 1998.