

Brasília, DF / Maio, 2025

Uso de ferramenta genômica no manejo genético das raças conservadas in situ na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Camila Souza Rodrigues⁽¹⁾, Danielle Assis de Faria⁽²⁾, Alexandre Floriani Ramos⁽³⁾, Concepta McManus⁽⁴⁾, Samuel Rezende Paiva⁽³⁾

⁽¹⁾ Doutoranda em Ciências Animais, Universidade de Brasília, Brasília, DF., ⁽²⁾ Pós-doutoranda, Universidade de Brasília, Brasília, DF. ⁽³⁾ Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. ⁽⁴⁾ Pesquisadora da Universidade de Brasília, Brasília, DF.

**Embrapa Recursos
Genéticos e Biotecnologia**
Parque Estação Biológica,
PqEB Av. W5 Norte (final)
www.embrapa.br/
recursos-geneticos-e-
biotecnologia
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente

Priscila Grynberg

Secretária-executiva

Ana Flávia do N. Dias

Membros

Andrielle Camara Amaral
Lopes, Bruno Machado Teles
Walter, Carolina Vianna
Morgante, Débora Pires Paula,
Edson Junqueira Leite, Marcos
Aparecido Gimenes, Solange
Carvalho Barrios Roveri Jose e
Sueli Correa Marques de Mello.

Revisão de texto

Samuel Rezende Paiva

Normalização bibliográfica
Rosameres R. Galvão
(CRB-1/2122)

Projeto gráfico

Leandro Sousa Fazio

Diagramação

Adilson Werneck

Publicação digital: PDF

Todos os direitos
reservados à Embrapa.

Resumo – Este estudo visou validar ferramentas genômicas para manejo do Núcleo de Conservação de raças locais de equinos, ovinos e bovinos do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira, em Brasília, DF. Para as três espécies do estudo, foram genotipadas 116 amostras no total, utilizando o EMBRAPA multispecies 65K Illumina Infinium 1 chip. Foram obtidos os índices de diversidade intrapopulacional por raça, além de análises de estrutura populacional e testes de exclusão de paternidade. Os índices de diversidade genética revelaram que o maior valor de heterozigosidade observada (H_o) (0,46) foi observado nas raças equinas Pantaneiro e Campeiro, e o menor na raça bovina Junqueira (0,31). Todas as raças exibiram um coeficiente de endogamia (F_{is}) negativo, indicando variabilidade genética e ausência de endogamia. As matrizes IBD estimaram as relações de parentesco entre os animais de cada raça, confirmando alguns pedigrees conhecidos e indicando novos parentescos, que assistirão o manejo dos rebanhos. A análise de estrutura populacional em equinos ($K=4$) revelou a pureza da raça Campeiro, contrastando com a falta de estrutura definida na raça Pantaneiro. Em ovinos a raça Morada Nova demonstra maior pureza em comparação com a Bergamácia Brasileira ($K=3$). Em bovinos ($K=4$), as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro não se diferenciaram completamente, provavelmente devido a sua origem comum. Os testes de exclusão de paternidade confirmaram a maioria dos dados de pedigree disponíveis na plataforma Alelo Animal, além de relevar duos/trios não registrados, cujas informações contribuirão no manejo dos rebanhos.

Termos para indexação: *Equus caballus*, *Bos taurus*, *Ovis aries*, SNP, conservação genética.

Use of genomic tools in the genetic management of breeds preserved in situ by Embrapa Genetic Resources and Biotechnology

Abstract – This study aimed to apply a genomic tool for the management of a Conservation Nucleus of local breeds, including horses, sheep, and cattle, located at the Sucupira Experimental Field in Brasília, DF. A total of 116 samples from the three species were genotyped using the EMBRAPA multispecies 65K Illumina Infinium 1 chip. Genetic diversity indices were calculated for each breed, along with analysis of population structure and paternity exclusion tests. Genetic diversity indices revealed that the highest observed heterozygosity (H_o) value (0.46) was found in the Pantaneiro and Campeiro horse breeds, while the lowest was observed in the Junqueira cattle breed (0.31). All breeds exhibited a negative inbreeding coefficient (F_{is}), indicating genetic variability and the absence of inbreeding at this point in time. IBD matrices revealed kinship relationships among animals of each breed, confirming some known pedigrees and unveiling new data that will assist herd management. The population structure analysis in horses ($K=4$) showed the purity of the Campeiro breed, contrasting with the lack of a defined structure in the Pantaneiro breed. In sheep, the Morada Nova breed showed greater purity compared to the Brazilian Bergamasca ($K=3$). In cattle ($K=4$), Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro breeds are not completely differentiated, likely due to their common origin. Paternity exclusion tests confirmed most of the pedigree data available on the Alelo Animal platform, in addition to revealing unregistered duos/trios, whose information will contribute to herd management.

Index terms: *Equus caballus*, *Bos taurus*, *Ovis aries*, SNP, genetic conservation.

Introdução

O Brasil abriga diversas raças locais de animais domésticos, originadas a partir de raças introduzidas pelos portugueses e espanhóis durante o colonialismo. As raças “crioulas” ou “localmente adaptadas” foram moldadas pela ação do homem e pela seleção natural em diferentes ambientes. Para preservar esse importante patrimônio genético, foi estabelecido o Programa de Conservação de Recursos Genéticos Animais, coordenado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen) (Egito et al., 2002).

A conservação é realizada de duas formas: in situ, por meio dos Núcleos de Conservação (NCs) da Embrapa no ambiente em que estão adaptados, e ex situ, por meio do armazenamento de sêmen e embriões criopreservados em nitrogênio líquido no Banco Brasileiro de Germoplasma Animal (BBGA). Através do Laboratório de Genética Animal do Cenargen (LGA), realiza-se a caracterização genética de raças locais de espécies domésticas, o que possibilita o monitoramento da variabilidade genética das populações e a assistência no manejo genético dos rebanhos.

Como parte da infraestrutura da Embrapa Cenargen, o Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira, localizado na região de Riacho-Fundo II, em Brasília DF, foi cedido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Entre os projetos de maior relevância realizados no local, estão os voltados para reprodução animal e preservação de pequenos rebanhos representativos de raças nacionais de espécies de importância agropecuária (Embrapa, 2015).

O rebanho equino do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira é formado principalmente por duas raças, Campeiro e Pantaneiro. Ambas localmente adaptadas, com animais de pequeno e médio porte, em sua maioria com altura inferior a 1,50 m (McManus et al., 2005). Cavalos Campeiros e Pantaneiros são valorizados especialmente pela rusticidade e adaptabilidade aos planaltos do Sul do país e ao Pantanal, respectivamente (Souza et al., 2018; Santos et al., 2021). Nesse sentido, preservar essas características por meio de programas de conservação e manejo genético é de fundamental importância para o futuro destas raças.

O rebanho ovino é composto por animais de raças locais, dentre elas a Bergamácia Brasileira e a Morada Nova. Embora possuam características distintas, ambas são reconhecidas por sua resistência e capacidade adaptativa. A raça Bergamácia Brasileira possui aptidão para a produção de carne, leite e lã, enquanto a raça Morada Nova tem aptidão para carne e couro, e ambas desempenham papéis fundamentais na diversificação genética e no desenvolvimento sustentável da ovinocultura no Brasil (Paiva et al., 2005; Paim et al., 2021).

O rebanho bovino é composto por exemplares das raças Junqueira, Pantaneiro, Mocho Nacional e Curraleiro Pé-Duro, todas localmente adaptadas (Fioravanti et al., 2021). O gado Curraleiro Pé-Duro é de pequeno porte, resistente e adaptado a ambientes semiáridos, sendo típico dos sertões

brasileiros (Fioravanti et al., 2021). A raça Pantaneiro é caracterizada por animais de tamanho mediano, chifres longos e pelagem de coloração diversificada, além de ser adaptada às condições climáticas da região do Pantanal (Juliano et al., 2022). A raça Junqueira se estabeleceu na região de São Paulo e Minas Gerais, onde era bastante utilizada para tração animal, enquanto a raça Mocho Nacional, atualmente parte do Caracu Mocho, é considerada de dupla aptidão, tanto para a produção de leite quanto de carne (Bianchini et al., 2006; McManus et al., 2023a). Considerada uma das raças mais ameaçadas de extinção no Brasil, a Junqueira foi preservada pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, que realizou em 2005 a clonagem de uma vaca, originando as bezerras “Porã” e “Potira” (McManus et al., 2023b).

Garantir a diversidade genética dentro das espécies é fundamental, pois sua redução pode impactar a produção animal e, consequentemente, causar prejuízos à indústria pecuária. Na última década, um decréscimo na biodiversidade tem sido observado em populações animais, principalmente em espécies domésticas. Algumas raças se encontram ameaçadas de extinção, e o declínio da diversidade intrapopulacional é alarmante (FAO, 2015). A preservação de raças localmente adaptadas, caracterizadas por sua resistência e adaptação, é cada vez mais importante, particularmente no contexto atual das mudanças climáticas.

Marcadores moleculares do tipo SNP (Polimorfismo de Nucleotídeo Único) têm se consolidado em estudos de caracterização genética, tanto em equinos (Nogueira et al., 2022; Dementieva et al., 2023) como em ovinos e bovinos (Paim et al., 2021; Zhou et al., 2021; Campos et al., 2017; Gebrehiwot et al., 2021; Jasielczuk et al., 2024; Orth et al., 2024). Recentemente, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia desenvolveu em parceria com a empresa Neogen, uma ferramenta de genotipagem denominada EMBRAPA multispecies 65K Illumina Infinium 1 chip. Esse chip contém um total de 66.413 SNPs para 27 diferentes espécies de animais e plantas, diminuindo significativamente o custo individual de genotipagem, enquanto ao mesmo tempo provém dados de SNPs de alta qualidade e reproduzível entre laboratórios (Grattapaglia et al., in preparation). SNPs na espécie equina, bovina e ovina foram selecionados para compor o chip baseado em índices obtidos pela sua genotipagem em raças brasileiras, tais como frequência de chamada do marcador (*call rate*), frequência do alelo menos frequente (MAF) e parâmetros de qualidade do SNP

(*GenomeStudio gene call score*) (Paim et al., 2021; Nogueira et al., 2022; Orth et al., 2024).

Este boletim apresenta os resultados da caracterização genética das raças locais dos rebanhos equino, ovino e bovino do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira, utilizando o chip EMBRAPA multispecies 65K Illumina Infinium 1. Foram avaliadas a diversidade e a estrutura genética das populações, além de testes de exclusão de paternidade para verificar os dados de pedigree da plataforma Alelo Animal da Embrapa e identificar correlações não registradas. Os resultados contribuem para o manejo genético dos rebanhos, orientando cruzamentos e prevenindo consanguinidade e miscigenação.

Material e métodos

Amostragem

As amostras de sangue total em EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) utilizadas no estudo foram acessadas do Banco de DNA e Tecidos Animais da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Foram utilizadas 116 amostras de sangue de três espécies: 22 de equinos (Campeiro, N = 9, e Pantaneiro, N = 13), 41 de ovinos (Bergamácia Brasileira, N = 30, e Morada Nova, N = 11) e 53 de bovinos (Junqueira, N = 7, Mocho Nacional, N = 7, Curraleiro Pé-Duro, N = 32, e Pantaneiro, N = 7).

Extração de DNA

A extração de DNA a partir de sangue total foi realizada no Laboratório de Genética Animal (LGA) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Foi utilizado o protocolo modificado de extração da *Gentra Puregene Blood Kit*, Qiagen¹. Ao fim da extração, a quantidade e qualidade do DNA foram estimadas em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio, utilizando padrões de lambda de 200 ng/μg, 100 ng/μg e 50 ng/μg para comparação. A qualidade e quantidade também foram estimadas por análise em espectrofotômetro, com base na razão de absorções em 260 nm versus 280 nm, utilizando o equipamento NanoDrop, da Thermo Fisher Scientific².

Genotipagem

As amostras de DNA foram diluídas, liofilizadas e enviadas para a genotipagem na empresa Neogen no Brasil³. Um total de 1.498 SNPs para equinos

¹ Disponível em: <https://www.qiagen.com/us/>

² Disponível em: <https://www.thermofisher.com/br/>.

³ Disponível em: <https://www.neogen.com/>.

foram selecionados daqueles validados no GGP Equine Chip (GeneSeek® Genomic Profiler⁴), 2.926 SNPs para ovinos foram selecionados daqueles validados no GGP Ovine 50K (GeneSeek® Genomic Profiler⁵) e 4.222 SNPs para bovinos foram selecionados daqueles validados no Bovine SNP50 e Bovine HD Beadchip para compor três seções do EM-BRAPA multispecies 65K *Illumina Infinium 1* chip. A genotipagem foi conduzida pela Neogen/Geneseek (Lincoln, NE). *Manifest files* e *intensity data* (.idat files) foram obtidos da Neogen. A chamada dos genótipos foi realizada no GenomeStudio 2.0 (Illumina, Inc. San Diego, CA) seguindo os controles de qualidade padrões e os alelos foram exportados no formato top, A, C, G, T.

Análise de Dados

O controle de qualidade dos dados foi realizado por meio do software SVS (SNP & Variation Suite 8.10.0, Golden Helix, Inc., Bozeman, MT⁶). Foram eliminadas amostras com *call rate* (taxa de chamada) < 0,99. Posteriormente, na etapa de filtragem dos marcadores, foram excluídos aqueles em cromossomos sexuais, não mapeados, com *call rate* < 0,99, N° de alelos > 2, MAF (*Minor Allele Frequency*) < 0,05, além daqueles em Desequilíbrio de Ligação (DL) ($r^2 > 0,3$) e que não estavam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) ($p < 0,001$). Os SNPs que restaram foram utilizados nas análises genéticas, performadas com o auxílio dos softwares: Arlequin v3.5 (Excoffier & Lischer, 2010), STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al. 2000) e Cervus 3.0.7 (Kalinowski, Taper & Marshall, 2007).

Foram estimados índices de diversidade genética dentro de cada população, e além disso, geradas matrizes de relacionamento genético do tipo *Identity by Descent* (IBD) para analisar o grau de relacionamento entre os animais do rebanho. Para investigar a estrutura populacional nas raças dentro de cada espécie, utilizamos um modelo Bayesiano implementado no software STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al. 2000). Os parâmetros utilizados foram: modelo de miscigenação, frequências alélicas correlacionadas, 10.000 *burn-in* seguido por 20.000 simulações *MCMC Reps*, K1-K6, e 5 repetições para cada K. Utilizando o Structure Selector (Li & Liu, 2018), identificamos o número de grupamentos genéticos (K) conforme o modelo de ΔK de Evanno et al. (2005).

A análise de exclusão de paternidade foi realizada no software Cervus 3.0.7. (Kalinowski, Taper & Marshall, 2007). Na etapa de simulação para obtenção dos LOD Score de significância foram utilizando 10.000 progênies, 90% dos *loci* genotipados, 1% de erros de genotipagem, e níveis de confiança estrita e relaxada de 95% e 85%, respectivamente. Em cada teste foi confeccionado um arquivo de pais candidatos, um arquivo de mães candidatas e um arquivo de progênie. Para tomada de decisão de quais animais colocar em cada arquivo, foram observadas as informações na Plataforma Alelo Animal (data de nascimento), quando existentes.

O Cervus estima um valor de probabilidade com base na segregação mendeliana dos marcadores para a não exclusão dos animais como os prováveis genitores da progênie. Quando a plataforma Alelo Animal apresenta dados de pedigree, o objetivo da análise é confirmar o pedigree. Caso esse dado não esteja disponível, o objetivo da análise é *identificá-los* se os pais se encontrarem na amostragem.

Resultados e Discussão

Dados pós filtragem

Após filtragem dos dados de genotipagem, nenhuma amostra equina ou bovina foi eliminada, enquanto em ovinos foram eliminadas duas. Na filtragem de marcadores, restaram um total de 1.195 marcadores para equinos, 1.629 para ovinos e 1.585 para bovinos.

Índices de diversidade genética

Foram estimados os valores de heterozigosidade esperada (H_E) e heterozigosidade observada (H_O) em todas as raças das três espécies. O maior valor de H_O (0,46) foi observado nas raças equinas Campeiro e Pantaneiro, enquanto o menor valor (0,31) foi registrado na raça bovina Junqueira (Tabela 1). Além disso, dentro das três espécies, todas raças do estudo apresentaram baixos índices de endogamia, com valores de F_{IS} negativos.

Tabela 1. Índices de diversidade genética dos rebanhos equino, ovino e bovino, por raça do Setor de

⁴ Disponível em: <https://www.neogen.com/categories/genotyping-arrays/ggp-equine/>

⁵ Disponível em: <https://www.neogen.com/categories/genotyping-arrays/ggp-ovine-50k/>

⁶ Disponível em: www.goldenhelix.com

Campo Experimental Fazenda Sucupira: Número de amostras (N), Heterozigosidade observada (H_o), Heterozigosidade esperada (H_e) e Coeficiente de endogamia (F_{is}).

Espécie	Raça	N	Ho	He	F _{is}
<i>Equus caballus</i>	Campeiro	9	0,46	0,43	-0,065
	Pantaneiro	13	0,46	0,46	-0,005
	Bergamácia	28	0,39	0,37	-0,060
<i>Ovis aries</i>	Brasileira	11	0,43	0,37	-0,158
	Morada Nova	32	0,39	0,37	-0,027
	Curraleiro Pé-Duro	7	0,31	0,30	-0,066
<i>Bos taurus</i>	Junqueira	7	0,40	0,39	-0,036
	Mocho Nacional	7	0,39	0,38	-0,032
	Pantaneiro	7	0,39	0,38	-0,032

A estimativa de F_{is} é específica para cada rebanho, refletindo as práticas de manejo do Núcleo de Conservação, como no caso do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira. Verardo et al. (2024), ao estudarem ROH (*Runs of Homozygosity*) em bovinos, observaram maiores valores e percentuais de regiões em homozigose na raça Curraleiro Pé-Duro, enquanto a raça Pantaneiro apresentou os menores. O mesmo estudo indicou que a raça Curraleiro Pé-Duro teve o mais alto coeficiente de endogamia (FROH), enquanto Mocho Nacional e Pantaneiro registraram os menores índices. No rebanho bovino da Fazenda Sucupira, não foi observada endogamia elevada. A raça Junqueira apresentou a menor heterozigosidade, o que pode ser explicado pelo *número reduzido de exemplares* e consanguinidade nos cruzamentos.

Nos equinos, tanto o Campeiro quanto o Pantaneiro apresentaram F_{is} e H_o ligeiramente menores que os valores calculados por Nogueira et al. (2022). Tal variação pode ser atribuída à diferença no *BeadChip* de genotipagem utilizado. Para o desenvolvimento do EMBRAPA multispecies 65K Illumina Infinium 1 chip, os SNPs mais polimórficos (maior MAF) para raças brasileiras de equinos foram priorizados.

Nas raças ovinas, observa-se a mesma tendência descrita para os equinos. Paim et al. (2021) identificaram uma taxa de endogamia superior à observada neste rebanho. A heterozigosidade observada (H_o) da raça Morada Nova neste estudo também é ligeiramente maior, enquanto a Bergamácia Brasileira apresenta valores de heterozigosidade semelhantes entre os dois trabalhos.

Os resultados de diversidade genética para as três espécies, embora apresentando um pequeno desvio em relação à ferramenta EMBRAPA multispecies 65K Illumina Infinium 1 chip, indicam que as práticas de manejo voltadas à preservação da variabilidade genética dos rebanhos no Sucupira estão em conformidade com as políticas de um Núcleo de Conservação. A raça Junqueira, devido ao seu reduzido número efetivo, continuará a ser uma exceção.

Manejo genético dos rebanhos

A visualização dos resultados das matrizes IBD pode ser feita por meio de mapas de calor (*heatmaps*), permitindo a identificação de diferentes graus de parentesco entre os indivíduos analisados par-a-par. A escala de cores varia de 0 (cor mais clara), indicando ausência de relação de parentesco, a 1 (cor mais intensa), que representa identidade completa, ou seja, a comparação de um indivíduo consigo mesmo. Relações de primeiro grau são caracterizadas por valores próximos de 0,5.

Nos equinos da raça Campeiro (Figura 1-A), as relações de parentesco foram representadas por um gradiente azul. É possível observar a existência de vínculos de primeiro grau ($IBD = 0,5$) entre alguns indivíduos do rebanho, inclusive entre machos potencialmente reprodutores. Nos cavalos Pantaneiros (Figura 1-B), os parentescos identificados estão destacados em vermelho claro, sugerindo menor grau de compartilhamento genético em comparação à raça Campeiro. Apesar disso, os dois reprodutores avaliados (39702 e 79586) *não apresentaram relação de parentesco* entre si, sugerindo maior diversidade genética dentro do grupo. Entretanto, a fêmea 39696 apresenta elevado grau de parentesco com diversos animais do rebanho, o que contraindica sua permanência como matriz para evitar o aumento da consanguinidade.

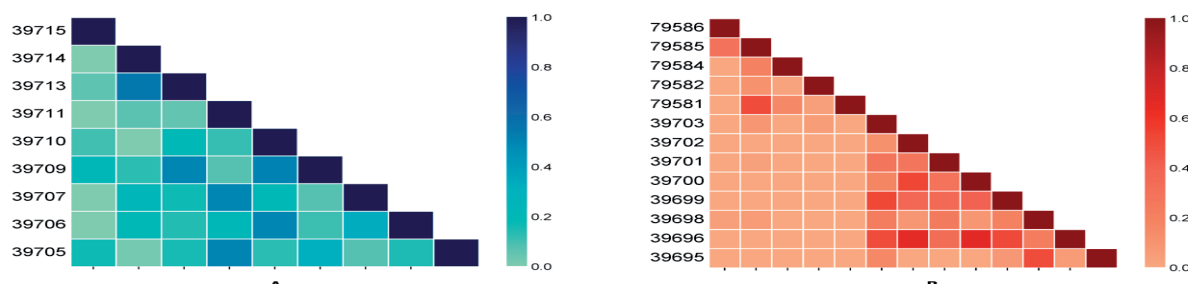


Figura 1. Mapa de calor demonstrando as relações de parentesco entre equinos das raças Campeiro (A) e Pantaneiro (B) do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira. Diagonal principal, animal com ele mesmo = 1; irmãos completos, pai-filho ou mãe-filho = 0,5; meio irmãos $\pm$ 0,30.

De modo geral, observa-se uma maior similaridade genética entre os animais da raça Campeiro, o que demanda maior cautela na seleção de cruzamentos, a fim de minimizar os possíveis impactos da endogamia.

Por outro lado, na raça Pantaneiro, há menor grau de parentesco entre os animais, e o conhecimento das relações genéticas pode auxiliar na prevenção da endogamia em cruzamentos futuros.

Na raça ovina Bergamácia Brasileira (Figura 2-A), foi possível identificar relações de parentesco de primeiro grau entre alguns indivíduos, incluindo potenciais reprodutores, evidenciadas por padrões de agrupamento nos mapas de calor. É necessário excluir o reprodutor 79761 de futuros cruzamentos, devido ao seu grau de parentesco com diversos indivíduos da população. De maneira similar, na raça Morada Nova (Figura 2-B), também foram detectadas relações de parentesco de primeiro grau entre alguns animais do rebanho, incluindo pares de machos (30219 e 50503) e (50508 e 79594), evidenciando sua proximidade genética.

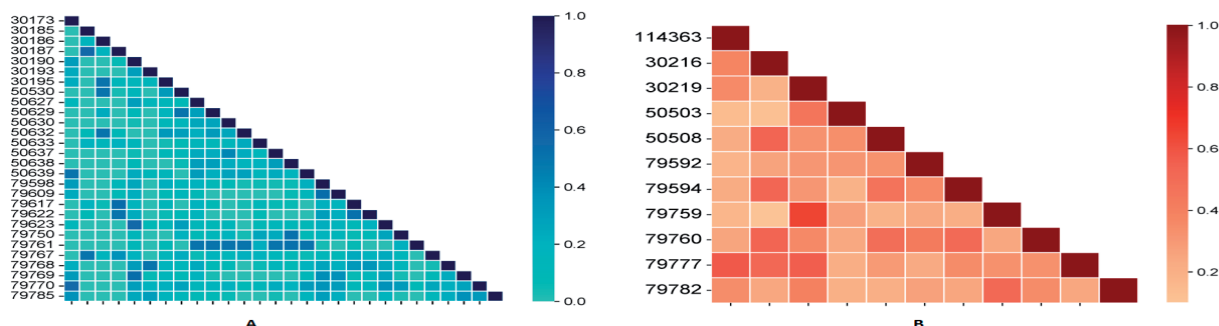


Figura 2. Mapa de calor demonstrando as relações de parentesco entre ovinos das raças Bergamácia Brasileira (A) e Morada Nova (B) do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira. Diagonal principal, animal com ele mesmo = 1 (vermelho); irmãos completos, pai-filho ou mãe-filho = 0,5 (azul escuro); meio irmãos $\pm$ 0,30 (azul claro).

Através do conhecimento da existência de parentescos entre alguns animais do rebanho ovino, pode-se selecionar cuidadosamente animais não aparentados para cruzamentos futuros. Tais achados ressaltam a importância do monitoramento contínuo e da aplicação de estratégias de manejo genético adequadas para mitigar os riscos de consanguinidade e preservar a variabilidade genética das populações conservadas in situ.

O único macho incluído no estudo (5738), pertencente à raça Curraleiro Pé-Duro (Figura 3-A), não está relacionado com nenhuma fêmea do rebanho, porém, alguns vínculos de primeiro grau foram

observados entre elas. Nos Junqueira (Figura 3-B), a maioria dos indivíduos são aparentados, com destaque para a fêmea 36528, que possui fortes laços genéticos com a maioria dos indivíduos da população. Na raça Mocho Nacional (Figura 3-C) também foram observadas relações de parentesco entre as fêmeas, porém com menor grau de endogamia quando comparado à raça Junqueira. Por outro lado, na raça Pantaneiro (Figura 3-D), a fêmea 114364 também possui forte relação de parentesco com a maioria dos animais do rebanho, tal qual ocorre na raça Junqueira.

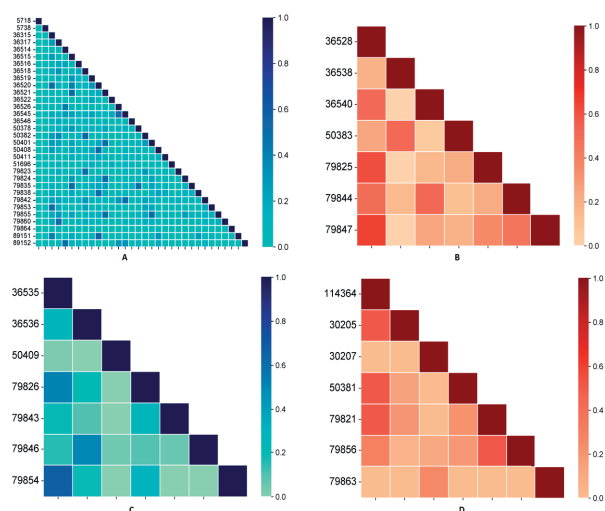


Figura 3. Mapa de calor demonstrando as relações de parentesco entre bovinos das raças Curraleiro Pé-Duro (A), Junqueira (B), Mocho Nacional (C) e Pantaneiro (D) do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira. Diagonal principal, animal com ele mesmo = 1 (vermelho); irmãos completos, pai-filho ou mãe-filho = 0,5 (azul escuro); meio irmãos $\pm$ 0,30 (azul claro).

Foram identificadas fortes relações de parentesco, sobretudo entre indivíduos das raças Junqueira e Pantaneiro. Nesses casos, recomenda-se excluir tais animais de futuros cruzamentos para evitar endogamia. Para reduzir a consanguinidade, pode-se utilizar sêmen de animais de outros núcleos de conservação da Embrapa, promovendo maior variabilidade genética. Ressalta-se que a raça Junqueira se encontra em risco de extinção, sendo esperada a existência de vínculos genéticos entre os poucos indivíduos remanescentes, alguns mantidos no Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira.

De acordo com Pereira et al. (2017), o valor de IBD apresentado entre os indivíduos dois a dois é correspondente com o pedigree, e o mesmo foi observado em nossas matrizes. A matriz IBD é uma ferramenta eficaz na identificação de relações de parentesco entre os animais, auxiliando na prevenção de cruzamentos consanguíneos. Algumas informações de pedigree previamente cadastradas na plataforma de documentação da EMBRAPA (Alelo Animal) foram confirmadas por meio desta análise, e além disso, foram descobertas novas relações de parentesco, que podem ser incorporadas à base de dados, contribuindo para um manejo genético mais eficiente dos rebanhos.

Estrutura populacional dos rebanhos

Conforme o modelo de ΔK de Evanno et al. (2005), o número de agrupamentos genéticos (K)

foi determinado como $K = 3$ para equinos. Na Figura 4, o gráfico apresenta os resultados da análise de estruturação do rebanho equino, confirmando a existência de três grupos distintos (clusters). A raça Pantaneira é representada pelas cores vermelho e azul, enquanto a raça Campeiro é representada pela cor verde. Isso reflete a estrutura populacional estratificada na raça Pantaneiro, indicando a presença de diferentes subgrupos genéticos em comparação com a raça Campeiro, onde apenas uma cor predomina, evidenciando uma maior uniformidade genética.

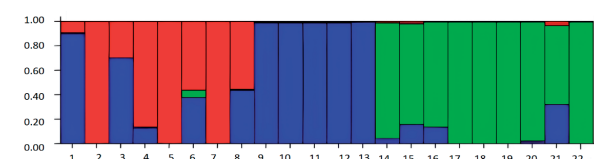


Figura 5. Análise de estrutura genética das raças ovinas Bergamácia Brasileira (1-28) e Morada Nova (29-39) do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira no $K = 3$.

A uniformidade observada na estrutura genética dos ovinos Morada Nova evidencia boas práticas de manejo no rebanho da raça, composto por animais geneticamente homogêneos e pertencentes a um único agrupamento genético. Em contrapartida, a hipótese mais aceita para explicar a heterogeneidade observada na estrutura genética da raça Bergamácia Brasileira é o histórico de cruzamentos com a raça Santa Inês, particularmente na região Centro-Oeste do Brasil, de onde se originaram as amostras do presente estudo (McManus et al., 2020). Investigações adicionais corroboram essa hipótese, indicando uma sobreposição entre as estruturas genéticas das raças Santa Inês e Bergamácia Brasileira (Paim et al., 2021). Contudo, é necessário realizar estudos de comparação morfológica, afim de identificar subgrupos genéticos dentro da raça, uma vez que apesar da mistura de cores, alguns indivíduos são representados inteiramente pela cor verde e outros pela cor azul.

Para a análise de estrutura populacional em bovinos foram incluídas amostras de DNA do BBGA, sendo o número amostral total ($N = 100$), distribuídos em: Curraleiro Pé-Duro ($N = 50$), Junqueira ($N = 13$), Mocho Nacional ($N = 18$) e Pantaneiro ($N = 19$). Curraleiro Pé-Duro, Junqueira, Mocho Nacional e Pantaneiro demonstram clara distinção, conforme ilustrado na Figura 6, onde cada cor representa uma raça no $K = 4$. A raça Curraleiro Pé-Duro é predominantemente representada pela cor azul, embora alguns indivíduos apresentem miscigenação (clus-

ters com segmentos em roxo e laranja). Na raça Junqueira, a cor predominante é laranja; na Mocho Nacional, destaca-se o verde; e na Pantaneiro, o roxo é a cor principal, com influência significativa



Figura 6. Análise do STRUCTURE representando a estrutura genética das raças Curraleiro Pé-Duro (1), Junqueira (2), Mocho Nacional (3) e Pantaneiro (4) do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira no K = 4.

A presença de indivíduos miscigenados é mais evidente nas raças Curraleiro Pé-Duro, Mocho Nacional e Pantaneiro. Em contrapartida, a raça Junqueira apresenta menor nível de miscigenação, com a maioria dos animais puros. Esse fato reforça a importância do manejo cuidadoso dessa raça, que já havia sido reportada como extinta por Primo et al. (1993), sendo descoberto novos rebanhos recentemente (McManus et al., 2023b). Com vários indivíduos aparentados, o rebanho do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira abriga alguns dos últimos exemplares da raça no Brasil.

As raças Curraleiro Pé-Duro, Mocho Nacional e Pantaneiro possivelmente possuem uma origem comum. Segundo Carvalho et al. (2010), Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro têm uma origem compartilhada, com similaridade fenotípica, evidenciada sobretudo pela cor de pelagem semelhante (Figura 7). Em estudos anteriores com marcadores microssatélites, além de outras formas de distinção racial, como a análise tricológica, as raças foram definidas como pertencentes a uma mesma população, indicando sua proximidade genética (Felix, 2016). Além disso, de acordo com Egito (2007), as raças Curraleiro *Pé-Duro*, Pantaneiro e Mocho Nacional formaram um grupamento de maior proximidade em um estudo de reconstrução filogenética baseada em matriz de distância genética, o que mais uma vez evidencia uma origem comum entre elas.



Figura 7. Semelhança fenotípica entre um Touro da raça Curraleiro Pé-Duro (A) e um touro da raça Pantaneiro (B). Fonte: Alelo Recursos Genéticos.

do azul, indicando a presença de indivíduos com ascendência da raça Curraleiro Pé-Duro.

A matriz de distância genética de Nei (Nei, 1978), considera as similaridades genéticas entre populações, assumindo que a deriva genética e as mutações são os principais fatores responsáveis pelas diferenças alélicas observadas. Os valores de F_{ST} e da distância de Nei variam de 0 a 1, onde valores mais próximos de 1 indicam uma diferenciação significativa entre as populações. A maior diferenciação genética encontrada é entre a raça Junqueira e as demais, e as raças mais próximas são a Curraleiro Pé-Duro e a Pantaneiro ($F_{ST} = 0,039631$) (Tabela 2).

Tabela 2. Matriz de distância de Nei calculada com 1.585 SNPs para as raças bovinas Curraleiro Pé-Duro, Junqueira, Mocho Nacional e Pantaneiro, do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira.

Raça	Curraleiro Pé-Duro	Junqueira	Mocho Nacional	Pantaneiro
Curraleiro Pé-Duro	0			
Junqueira	0,106158	0		
Mocho Nacional	0,057784	0,119666	0	
Pantaneiro	0,039631	0,116241	0,055440	0

Análise de exclusão de paternidade

Para eleger os indivíduos candidatos a mães, pais e filhos potenciais, foi considerada a data de nascimento de cada um, disponibilizada no Alelo Animal, que pode ser conferida por meio dos RN ID (números de identificação dos animais na tabela). No total, três trios e quatro duos de equinos (Tabela 3) foram significativos e os mesmos foram verificados com o auxílio da matriz IBD.

Tabela 3. Atribuição de parentesco pelo software Cervus em equinos Campeiro e Pantaneiro do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira.

Progênie	Pai	Loci	Mãe	Loci
	Candidato	incompatíveis	Candidata	incompatíveis
39710	39709	0	39706	1
39711	39707	0	39705	2
39713	39709	0	39714	0
39698			39695	0
39699			39703	1
39700			39696	
39702			39696	0

Não há informações de pedigree dos equinos do presente estudo disponíveis na plataforma Alelo Animal, por isso os resultados encontrados são inéditos e não podem ser comparados. Os dados identificados, serão registrados no sistema, e assim, oferecerão uma contribuição significativa para o manejo populacional dos rebanhos, facilitando a seleção de cruzamentos entre animais não aparentados.

Em ovinos, no total, foram formados significativamente dois trios e 17 duos (Tabela 4), verificados primeiramente na matriz IBD. Desses resultados, 10 pedigrees estavam disponíveis na plataforma Alelo Animal e foram confirmados na análise. Além disso, 11 informações inéditas de pedigree foram observadas, e serão adicionadas à plataforma Alelo Animal.

Tabela 4. Atribuição de parentesco pelo software Cervus em ovinos Bergamácia Brasileira e Morada Nova do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira.

Progênie	Pai	Loci	Mãe	Loci
	Candidato	incompatíveis	Candidata	incompatíveis
30186			30195	0
50627	79761	1		
50629	79761	1	79745	0
50630	79761	1		
50632	79761	0		
50637	79761	0		
50639	79761	1		
79617	30187	0		
79623			30190	0
79761	50638	0		
79767			30185	0
79768			30193	0
79769			30190	0
79770			30173	0
50508			30216	0
79594			30216	0
79759	30219	0		
79777	30219	0	30216	0
79782			79759	0

Em bovinos, foram identificados 19 duos significativos, compostos por progênie e progenitora (Tabela 5), verificados por meio da matriz IBD. Não foi possível identificar nenhum trio e nem o pai de nenhum animal, pois apenas um macho, pertencente a raça Curraleiro Pé-Duro, foi genotipado no presente estudo, e este provavelmente não foi utilizado como reprodutor.

Tabela 5. Atribuição de parentesco pelo software Cervus em bovinos das raças Curraleiro Pé-Duro, Junqueira, Mocho Nacional e Pantaneiro do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira.

Progênie	Mãe Candidata	Loci incompatíveis
36521	36515	5
36526	36545	1
50378	79835	1
50382	36518	1
50401	36521	1
50408	36520	0
79823	36518	0
50382	36518	1
50401	36521	1
50408	36520	0
79823	36518	0
79835	36515	1
79838	36520	1
79842	36545	0
79855	36521	1
79860	36317	3
79864	36514	2
89151	36520	1
89152	36514	1
79844	36540	2
79846	36536	1
50381	114364	0
79856	79821	1

A maioria das informações de pedigree identificadas nos bovinos já estão registradas na plataforma Alelo Animal. Portanto, os dados resultantes das análises estão de acordo com os documentados no site, confirmando os parentescos conhecidos e a eficácia da ferramenta genômica para testes de exclusão de paternidade.

Os resultados obtidos podem contribuir para a escolha de cruzamentos não consanguíneos entre os animais, auxiliando assim, na conservação das raças.

Conclusões

As taxas de heterozigosidade observadas foram satisfatórias, com baixos níveis de endogamia nos rebanhos do Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira;

1. Há indícios de subestruturação genética em equinos Pantaneiros, ovinos Bergamãcia Brasileira e bovinos Pantaneiros.
2. Foram detectadas diferenciação genética acentuada e baixa miscigenação nos equinos Campeiro, ovinos Morada Nova e bovinos Junqueira.
3. Os testes de exclusão de paternidade confirmaram pedigrees existentes e forneceram novos dados para a seleção estratégica de cruzamentos futuros, evitando endogamia e mantendo variabilidade genética nos rebanhos.
4. O uso da ferramenta genômica auxilia no manejo dos rebanhos, contribuindo para a otimização da diversidade genética e a conservação dos recursos genéticos animais.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e à Universidade de Brasília.

Referências

BIANCHINI, E.; MCMANUS, C.; LUCCI, C. M.; FERNANDES, M. C. B.; PRESCOTT, E.; MARIANTE, A. da S.; EGITO, A. A. do. Características corporais associadas com a adaptação ao calor em bovinos naturalizados brasileiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 9, p. 1443-1448, 2006.

CAMPOS BM, DO CARMO AS; DO EGITO AA; DA MARIANTE AS; DO ALBUQUERQUE MSM; DE GOUVEIA JJS; MALHADO CHM; VERARDO LL; DA SILVA MVGB; CARNEIRO PLS. Genetic diversity, population structure, and correlations between

locally adapted zebu and taurine breeds in Brazil using SNP markers. **Tropical Animal Health and Production**, v. 49, n. 8, p. 1677-1684, dez. 2017.

CARVALHO, G. M. C. ALMEIDA, M. J. de O.; AZEVEDO, D. M. M. R.; ARAÚJO NETO, R. B. de; LEAL, T. M.; MONTEIRO, F. das C.; FROTA, M. N. L. da; LIMA NETO, A. F. **Origem, formação e conservação do gado Pé-Duro, o bovino do Nordeste brasileiro**. Teresina, PI: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Meio-Norte, 2010. 25 p. (Embrapa Meio-Norte. Documentos, 208).

DEMENTIEVA, N.; NIKITKINA, E.; SHCHERBAKOV, Y.; NIKOLAEVA, O.; MITROFANOVA, O.; RYABOVA, A.; ATROSHCHENKO, M.; MAKHMUTOVA, O.; ZAITSEV, A. The Genetic Diversity of Stallions of Different Breeds in Russia. **Genes**, v. 14, n. 7, p. 1511, 24 jul. 2023.

EGITO, A. A. **Diversidade genética, ancestralidade individual e miscigenação nas raças bovinas no Brasil com base em microssatélites e haplótipos de DNA mitocondrial: subsídios para a conservação**. 2007, 246p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Departamento de Biologia Celular do Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília.

EGITO, A. A.; MARIANTE, A. S.; ALBUQUERQUE, M. S. M. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. **Archivos de Zootecnia**, v.51, p.39-52, 2002.

EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. Destaques 2014: **preservando o passado, antecipando o futuro**. Brasília, DF, 2015. 88 p.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611-2620, jul. 2005.

EXCOFFIER, L.; LISCHER H. Arlequin suite ver 3.5: uma nova série de programas para realizar análises genéticas populacionais em Linux e Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 3, 2010. p. 564-567.

FELIX, G. A. **Identificação de Raças Bovinas Brasileiras por Meio de Análise Tricológica**. 2016, 87 f. Dissertação (Doutorado em Ciência Animal), Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016. Brasília, 2016. Disponível em: <<http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/6656>> Acesso em: 03 out. 2024.

FIORAVANTI, M. C. S.; JULIANO, R. S.; FELIX, G. A.; SILVA, M. C. da; MOURA, M. I. de; FREITAS, T. M. S.; COSTA, M. F. O. e; NEIVA, A. C. G. R.; MONTEIRO, E. de P. O uso dos bovinos locais brasileiros

em sistemas de produção sustentáveis: raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro. In: OLIVEIRA, I. P.; LEANDRO, W. M.; COSTA, K. de P.; FURTINI NETO, A. E. (org.). **Sistema agropecuário de produção sustentável**. Goiânia: Cegraf (UFG), 2021. p. 1352-1425.

FAO. **The second report on the state of world's animal genetic resources for food and agriculture**. Roma, Itália: FAO, 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i4787e.pdf>. Acesso em: 23 out. 2024.

GEBREHIWOT, N. Z.; STRUCKEN, E. M.; MARSHALL, K.; ALILOO, H.; GIBSON, J. P. SNP panels for the estimation of dairy breed proportion and parentage assignment in African crossbred dairy cattle. **Genetics Selection Evolution**, v. 53, n. 1, p. 21, 2 mar. 2021.

JASIELCZUK, I.; GURGUL, A.; SZMATOŁA, T.; RADKO, A.; MAJEWSKA, A.; SOSIN, E.; LITWIŃCZUK, Z.; RUBIŚ, D.; ZĄBEK, T. The use of SNP markers for cattle breed identification. **Journal of Applied Genetics**, v. 65, n. 3, p. 575-589, 2024.

JULIANO, R.S.; EGITO, A.A.; ARAUJO, F.A.S.; RUIZ, M.A. Bovino Pantaneiro: o melhor do Pantanal traduzido em pecuária, cultura, tradição e biodiversidade. Revista RG News, v. 8, n. 1, **Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos**, 2022. Artigos de Opinião.

KALINOWSKI, S. T.; TAPER, M. L.; MARSHALL, T. C. Revising how the computer program CER-VUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, v. 16, n. 5, p. 1099-1106, Mar. 2007.

LI, Y. L.; LIU, J. X. STRUCTURE SELECTOR: um software baseado na web para selecionar e visualizar o número ideal de clusters usando vários métodos. **Recursos de Ecologia Molecular**, v. 18, p. 176-177, 2018.

McMANUS, C.; FALCÃO, R. A.; SPRITZE, A.; COSTA, D.; LOUVANDINI, H.; DIAS, L. T.; TEIXEIRA, R. DE A.; REZENDE, M. J.; GARCIA, J. A. S. Caracterização morfológica de eqüinos da raça Campeiro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5, p. 1553-1562, set. 2005.

MCMANUS, C.; PAIVA, S.R.; CAETANO, A.R. Landscape genetics of sheep in Brazil using SNP markers. **Small Ruminant Research**, v. 192, n. 4, 106239, 2020.

MCMANUS, C.; KREWER, C.; SEIXAS, L.; PAIVA, S.; ROLO, J.; PIMENTEL, F. **Mocho Nacional**. Série técnica, Brasília, 17 de abril de 2023a.

Disponível em: http://www.animal.unb.br/images/Arquivos_do_Site/AnGR_-_Serie_tecnica_mocho_nacional.pdf. Acesso em: 23 out. 2024.

MCMANUS, Concepta; PAIVA, Samuel; DALLAGO, Bruno; SEIXAS, Luiza; MELO, Cristiano Barros de; KREWER, Carina da Costa; ROLO, José Jivago; PIMENTEL, Felipe. **Bovinos Patuá, Mantiqueira e Junqueira**. Brasília, 18 de abril de 2023b. Disponível em: http://www.animal.unb.br/images/Arquivos_do_Site/AnGR_Bovinos_Patu_e_Junqueiro.pdf. Acesso em: 23 out. 2024.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, n. 3, p. 583-590, jul. 1978.

NOGUEIRA, M. B.; PIMENTEL, C. M.; FARIA, D. A. de; SANTOS, S. A.; IANELLA, P.; PAIVA, S. R. Fine-scale genetic diversity of the Brazilian Pantaneiro Horse breed adapted to flooded regions. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, n. 525, 2021.

NOGUEIRA, M. B.; FARIA, D. A.; IANELLA, P.; PAIVA, S. R.; MCMANUS, C. Genetic diversity and population structure of locally adapted Brazilian horse breeds assessed using genome-wide single nucleotide polymorphisms. **Livestock Science**, 2022, 264, e105071.

ORTH, D.; RAMOS, A. F.; CARVALHO, G. M. C.; BASÍLIO, L. M. S.; CAETANO, A. R.; IANELLA, P. Genomic characterization of the Brazilian Crioulo Lageano: insights for conservation of a Brazilian local bovine breed. **Livestock Science**, v. 284, p. 105481, 2024.

PAIM, T.P.; PAIVA, S.R.; DE TOLEDO, N.M.; YAMAGISHI, MB; CARNEIRO, PLS; FACÓ, O; DE ARAÚJO, AM; AZEVEDO, HC; CAETANO, AR; BRAGA, RM; MCMANUS, C. Origin and population structure of Brazilian hair sheep breeds. **Animal Genetic**, v. 52, p. 492-504, 2021.

PAIVA, S.R.; SILVÉRIO, V.C.; FARIA, D.A., EGITO, A.A.; MCMANUS, C.; MARIANTE, A.S.; CASTRO, S.T.R. Origin of the main locally adapted sheep breeds of Brazil: a RFLP- PCR molecular analysis. **Archivos de Zootecnia**, v.54, p.395-399, 2005.

PEREIRA, Guilherme L.; CHUD, Tatiane C. S.; BERNARDES, Priscila A.; VENTURINI, Guilherme C.; CHARDULO, Luís A. L.; CURI, Rogério A. Genotype imputation and accuracy evaluation in racing Quarter Horses genotyped using different commercial SNP panels. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 58, p. 89-96, 2017.

PRIMO, A.T. Os bovinos ibéricos nas Américas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA

DE ZOOTECNIA, **30**. 1993, Rio de Janeiro. **Anais**. Rio de Janeiro, RJ, Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1993. p. 183-197.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p.945-959, 2000.

SANTOS, S. A.; PAIVA, S. R.; COMASTRI FILHO, J. A.; RAMOS, A. F.; JULIANO, R. S.; NOGUEIRA, M. F.; PÉRES, I. A. H. F. S. Histórico, vivências e desafios do núcleo de conservação do cavalo Pantaneiro. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 22, n. 2, p. 67-72, 2021.

SNP & Variation Suite™, (Versão 8.x) [Software]; **Golden Helix, Inc.**: Bozeman, MT, EUA. Disponível em: <http://www.goldenhelix.com>. Acesso em: maio de 2023.

SOUZA, A. F. de; FONTEQUE, J. H.; COSTA, D. Cavalo Campeiro: Passado, Presente e Futuro do Marchador das Araucárias. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*, Curitiba, v. 16, n. 1, p. 1-12, 5 out. 2018.

VERARDO, L. L.; OTTO, P. I.; MACHADO, M. A.; PANETTO, J. C. do C.; REIS, D. R. de L.; EGIPTO, A. A. do; VITORINO, A. S. M.; CAROLINO, M. I. C. M.; CAROLINO, N. P.; SILVA, M. V. G. B. Exploring the genetic origin of Brazilian locally adapted breeds: admixture, population history and relationship with Portuguese and indicine cattle. **Livestock Science**, v. 282, 105455, 2024.

ZHOU, M.; WANG, G; CHEN, M; PANG, Q; JIANG, S; ZENG J. Genetic diversity and population structure of sheep (*Ovis aries*) in Sichuan, China. **PLoS One**, v. 16, n. 9, p. e0257974, 28 set. 2021. DOI: 10.1371/journal.pone.025797



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA E
PECUÁRIA