

Brasília, DF / Novembro, 2025

Estudo da diversidade genética dos equinos Baixadeiro e Lavradeiro por ferramentas genômicas para conservação

Katherine Victoria Valadares Inglis⁽¹⁾, Danielle Assis de Faria⁽²⁾, Camila Souza Rodrigues⁽³⁾, Ramayana Menezes Braga⁽⁴⁾, Francisco Carneiro Lima⁽⁵⁾ e Samuel Rezende Paiva⁽⁶⁾

⁽¹⁾Graduanda em Biotecnologia, Universidade de Brasília, bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. ⁽²⁾Zootecnista, doutorado em Biotecnologia, pós-doutorado na Universidade de Brasília, Brasília, DF. ⁽³⁾Bióloga, doutoranda em ciências animais, Universidade de Brasília, DF. ⁽⁴⁾Pesquisador da Embrapa Roraima, Roraima, RO. ⁽⁵⁾Professor Adjunto IV da Universidade Estadual do Maranhão/CCA, Maranhão, MA. ⁽⁶⁾Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

Resumo – Esse estudo teve como objetivo avaliar por meio de ferramentas genômicas os equinos Baixadeiro e Lavradeiro, que são grupamentos genéticos ameaçados de extinção, para apoiar programas de conservação e manejo genético. Foram genotipados 171 animais e após o controle de qualidade restaram 81 Baixadeiros e 68 Lavradeiros. Os Baixadeiros foram genotipados com 1.498 SNPs do EMBRAPA multispecies 65K *Illumina Infinium1* chip, restando 1.452 após filtragem. Para os Lavradeiros, 62.793 SNPs do *Beadchip GGP Equine 70K* foram analisados, resultando em 11.904 SNPs após filtragem de qualidade. Nos Baixadeiros, foram analisadas duas populações, de acordo com o local da coleta, a heterozigosidade observada das denominadas Pop. A e PoP. B foram em torno de 0,46 e o coeficiente de endogamia (F_{IS}) positivo sugere uma leve endogamia nas duas populações (Pop. A: 0,008 e Pop. B: 0,001). O grupamento genético Lavradeiro apresentou heterozigosidade observada igual a 0,32, e valor negativo do F_{IS} indica ausência de endogamia (-0,01). Uma análise de correlação entre todos os indivíduos de cada um dos grupamentos genéticos (matrizes de IBD) mostra que poucos indivíduos apresentam grande grau de parentesco entre si, o que torna possível manejo reprodutivo do rebanho e manutenção da variabilidade genética. Juntando os marcadores em comum dos dois *chips*, e outros grupamento genéticos brasileiros de equinos, a distância genética (F_{ST}) foi determinada assim como a estrutura populacional usando ADMIXTURE e análise dos componentes principais (PCA). A estrutura populacional entre os rebanhos de Baixadeiro é constante, ou seja, sem diferenciação genômica, o mesmo observado no rebanho Lavradeiro, onde apenas alguns animais apresentam composição genômica diferenciada, o que agora pode ser investigado pela morfologia dos mesmos. Os grupamentos genéticos e demais grupamentos brasileiros apresentam uma proximidade genômica equivalente a uma proximidade geográfica, porém, em geral, os Lavradeiros são geneticamente diferenciados, o que não é observado entre os Baixadeiros e os demais grupamentos genéticos do Norte brasileiro. Distâncias genética entre Baixadeiro e Puruca e Marajoara por vezes não permite a separação de três grupamentos. A análise de exclusão de paternidade encontrou 21 relações duos nos Baixadeiro e 2 trios completos, enquanto nos Lavradeiro, 10 duos e 4 trios, resultados a serem olhados com cautela pois se baseiam na provável data de nascimento

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

Comitê Local de Publicações

Presidente

João Henrique Moreira Viana

Secretária-executiva

Ana Flavia do Nascimento Dias

Membros

Andrielle Camara Amaral Lopes,
Bruno Machado Teles Walter,
Carolina Vianna Morgante,
Débora Pires Paula, Marcos
Aparecido Gimenes, Naiara
Milagres Augusto da Silva,
Solange Carvalho Barrios
Roveri Jose e Sueli Correa
Marques de Mello.

Normalização bibliográfica
Rosameres Rocha Galvão
(CRB-1/2122)

Projeto gráfico
Leandro Sousa Fazio

Diagramação
Adilson Werneck
Publicação digital: PDF

Todos os direitos
reservados à Embrapa.

dos animais. Os resultados fornecidos com base em dados genômicos fornecem uma base sólida para futuros cruzamentos e coleta de germoplasma, assegurando a conservação dos grupamentos genéticos e evitando a extinção dos mesmos. O estudo é crucial para desenvolver estratégias de manejo sustentável, promovendo a conservação do material genético para as próximas gerações.

Termos para indexação: Genotipagem; Recursos genéticos animais; *Equus caballus*.

Study of the genetic diversity of Baixadeiro and Lavradeiro horses using genomic tools for conservation

This study aimed to evaluate, through genomic tools, the Baixadeiro and Lavradeiro horses, endangered breeds, to support conservation and genetic management programs. A total of 171 animals were genotyped, and after quality control, 81 Baixadeiro and 68 Lavradeiro remained. The Baixadeiros were genotyped with 1,498 SNPs from the EMBRAPA multispecies 65K *Illumina Infinium1* chip, leaving 1,452 after filtering. In the Lavradeiro, 62,793 SNPs from the *GGP Equine 70K Beadchip* were analyzed, resulting in 11,904 SNPs after filtering. In the Baixadeiro, two populations were analyzed, according to the collection site, the expected heterozygosity of the so-called Pop. A and Pop. B were around 0.46 and the positive inbreeding coefficient (F_{IS}) suggests slight inbreeding in both populations (Pop. A: 0.008 and Pop. B: 0.001). In Lavradeiro, the observed heterozygosity is lower than in Baixadeiro ($H_o = 0.32$), while the negative F_{IS} value indicates the absence of inbreeding (-0.01). A correlation analysis between all individuals of each breed (IBD matrices) shows that few individuals have a high degree of kinship among themselves, which makes reproductive management of the herd and maintenance of genetic variability possible. Combining the common genotyping information from both chips and other Brazilian horse breeds, we estimated the genetic distance (F_{ST}) and population structure of the breeds using ADMIXTURE and principal component analysis (PCA). The results revealed a similar population structure among the Baixadeiro herds, while the Lavradeiro herd is more homogeneous, with only a few animals showing significant differences in their genome, which should now be investigated based on their morphology. As for the Brazilian breeds, we have a genomic proximity equivalent to a geographic proximity, but the Lavradeiro are more genetically differentiated than the Baixadeiro. Genetic distance between the Baixadeiro, Puruca and

Marajoara breeds sometimes does not allow the separation of three distinct breeds. The paternity exclusion analysis found 21 duo relationships in the Baixadeiro and 2 complete trios, while in the Lavradeiro, 10 duos and 4 trios were found, results that should be viewed with caution since they are based on the probable date of birth of the animals. The results provided based on genomic data provide a solid basis for future crossbreeding and germplasm collection, ensuring the conservation of the breed and preventing its extinction. The study is crucial for developing sustainable management strategies, promoting the conservation of genetic material for future generations.

Index terms: Genotyping; Animal genetic resources; *Equus caballus*.

Introdução

A domesticação dos equinos consistiu em um processo gradual e profundo que resultou em alterações morfológicas, fisiológicas e comportamentais. Apesar de não ser possível estabelecer uma cronologia precisa, acredita-se, com base em estudos fósseis, que os equinos tenham sido domesticados cerca de 3000 a.C. Atualmente, são usados principalmente como transporte, lida com o gado e esporte, porém, os primeiros cavalos, *Eohippus*, eram usados inicialmente para o consumo de carne e couro (Mariante; Cavalcante, 2006).

Os equinos foram introduzidos durante a colonização do Brasil e se perpetuaram e adaptaram-se de forma aleatória e espontânea a várias regiões do Brasil e hoje, podem ser reconhecidos como raças nacionais (oficializadas pelo Ministério da Agricultura e Pecuária) ou grupos genéticos locais. Sua origem provavelmente está relacionada aos cavalos ibéricos introduzidos no Brasil pelos colonizadores espanhóis e portugueses em 1534 (Primo, 2004). Porém, há também relatos de introduções de animais de origem inglesa, berbere, árabe e turca (Santos et al., 1992). As principais raças ou grupos genéticos locais de cavalos do Brasil incluem: Campeiro (SC), Crioulo (RS), Lavradeiro (RO), Pantaneira (MT), Mangalarga (MG e SP), Marajoara (Ilha de Marajó - PA), Puruca (PA) e Baixadeiro (MA) (Nogueira et al., 2021).

O equino Baixadeiro é encontrado na região da Baixada Maranhense e representa um importante elemento socioeconômico na região. Esse grupo genético é caracterizado pelo seu tamanho pequeno (cerca de 1,40 m de cernelha), força e

resistência de trabalho, sendo bastante utilizado na região na lida com gado e como meio de transporte para o homem da Baixada por conta da sua adaptabilidade em terrenos inundados nos períodos de longa chuva (Serra, 2004). Existem em média 24 mil equinos Baixadeiro, porém a cada ano a população diminui em decorrência dos cruzamentos desorganizados, e acasalamentos consanguíneos, o que a longo prazo, pode levar à extinção da espécie (Gazolla et al., 2016).

O equino Lavradeiro recebe esse nome por ser encontrado no Lavrado, campos abertos que representam uma área de 40.000km² do estado de Roraima, com uma vegetação predominante do capim “fura-bucho” (Mariante; Cavalcante, 2006). Pelo isolamento causado pela região em que vivem podem ser considerados animais selvagens que se adaptaram via seleção natural ao ambiente pobre em nutrientes e com secas prolongadas. Esses equinos têm aproximadamente 1,38 m de cernelha e possuem um peso médio de 280 Kg. Além disso, é um cavalo com uma resistência física significativa, conseguindo percorrer grandes distâncias em altas velocidades. Segundo o último levantamento, a população de equinos Lavradeiro conta com 1.260 a 1.680 animais, estando em grande risco de extinção, pela falta de infraestrutura e apoio (Braga, 2019).

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia em conjunto com a Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) uniram esforços em torno de um programa de conservação para o rebanho equino Baixadeiro. Essa conservação é feita tanto *in situ*, na Universidade Estadual do Maranhão, quanto *ex situ*. A conservação *ex situ* do equino Baixadeiro é feita no Banco de DNA e Tecidos Animais da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, onde possui 525 unidades de DNA, 86 equinos doadores de pelos e 19 equinos doadores de sangue guardadas e devidamente cadastradas no Alelo Animal¹ (dados encontrados em 2025). A plataforma Alelo Animal é um sistema de informação desenvolvido em colaboração entre a Embrapa (Brasil), o USDA-ARS (EUA) e o AAFC (Canadá), reconhecido por sua capacidade de armazenar e gerenciar dados fundamentais sobre recursos genéticos animais, incluindo informações fenotípicas, genotípicas, moleculares, genealógicas e materiais biológicos conservados. Nesse contexto, o sistema representa uma ferramenta estratégica tanto para pesquisas científicas quanto para a implementação de programas de conservação. O equino Baixadeiro, apesar de ser um grupamento genético de grande importância para a região do Maranhão, ainda não pos-

sui o reconhecimento oficial do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA). Esse reconhecimento é fundamental para que o grupamento genético seja validado como uma variedade equina adaptada às condições locais. Além disso, não existe uma associação de criadores formalmente estabelecida, o que dificulta a organização e o desenvolvimento de políticas específicas para a sua preservação e valorização.

Já para o Lavradeiro o esforço de conservação é feito conjuntamente entre Embrapa Roraima e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, onde a conservação é feita *in situ* e *ex situ*, respectivamente. A conservação *ex situ* do equino Lavradeiro também é feita no mesmo Banco de DNA e Tecidos Animais da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, com 5.141 unidades de DNA e 68 equinos doadores de sangue guardadas e devidamente cadastradas no Alelo Animal² (dados encontrados em 2025). A conservação *in situ* desses animais ainda não é bem delimitada, por falta de infraestrutura e de pessoas de apoio que permitam a realização de estudos científicos. Essas são algumas razões da não existência de um núcleo de conservação propriamente dito para esse grupamento genético de equino. Os Lavradeiro são mantidos em fazendas particulares juntamente com outros animais de criadores de propriedades privadas (Braga, 2019). Ademais, apesar das várias tentativas para estabelecer a associação de criadores, até o momento, nenhuma delas alcançou sucesso. Essa associação é um requisito fundamental solicitado pelo MAPA para que o grupamento genético seja oficialmente reconhecido.

O presente estudo teve como objetivo avaliar geneticamente os equinos dos rebanhos de conservação Baixadeiro e Lavradeiro, ambos classificados como ameaçados de extinção. A análise visou gerar subsídios técnicos e científicos para apoiar estratégias de conservação e orientar programas de manejo genético voltados à preservação e uso sustentável desses recursos genéticos animais. Ademais, foram incluídas no trabalho grupamentos genéticos naturalizados brasileiros disponíveis no Banco de DNA e Tecidos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, além dos equinos Árabe e Puro Sangue Inglês com intuito de estimar a distância genética entre elas. Todo o estudo foi conduzido utilizando ferramentas genômicas, o *Beadchip GGP Equine 70K* e o EMBRAPA multispecies 65K *Illumina Infinium1* chip, desenvolvido em parceria pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e a Neogen Corporation (Lansing MI, USA). Os resultados práticos retirados desse estudo auxiliam programas de

¹ Disponível em: <https://alelo.cenargen.embrapa.br/>

² Disponível em: <https://alelo.cenargen.embrapa.br/>

conservação e manejo genético na região, além de chamar a atenção para a preservação, contribuindo para o desenvolvimento socioeconômico da região.

Material e métodos

Extração de DNA e Genotipagem Baixadeiro

Foram recebidas 86 amostras de pelo contendo bulbos capilares do Núcleo de Conservação da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) (Figura 1). As amostras que estão numeradas de EBX1-EBX50 são pertencentes à população equina criada nos campos naturais do município de Paulino Neves/MA (Pop. A) e as amostras numeradas de EBX51-EBX87 são pertencentes ao grupo de equinos criados nos campos naturais do município de Pinheiro/MA (Pop. B). Posteriormente, para a análise da estruturação genética, foi adicionado o genótipo de 18 amostras de equino Baixadeiro, coletadas há mais de 10 anos atrás que estão depositadas no Banco de DNA e Tecidos Animais da Embrapa.

Para as 86 amostras das duas populações de Baixadeiro, o DNA foi extraído a partir de bulbos capilares. O protocolo utilizado foi a base de CTAB (Boyce et al., 1989). O protocolo foi levemente alterado para ajustar às condições do laboratório (Silva et al., 2017). Após a extração, a quantidade e a qualidade do DNA foram analisadas. Essa análise foi feita com géis de agarose 1% corados com brometo de etídeo usando Lambda DNA como um padrão de massa molecular para comparação. Além dos géis, o DNA também foi quantificado em NanoDrop™ 8000³.

A genotipagem foi feita usando o EMBRAPA multispecies 65K *Illumina Infinium1* chip. O chip contém um total de 66.413 SNPs, divididos em 27 diferentes espécies de culturas agrícolas e animais domésticos de produção que constituem a base da agricultura e pecuária do Brasil. O design reduz significativamente o custo individual da genotipagem, ao mesmo tempo que permite a geração de dados de SNPs de alta qualidade e com repetibilidade entre laboratórios. Um total de 1.498 SNPs para equinos foram escolhidos daqueles validados no GGP Equine Chip (GeneSeek® Genomic Profiler⁴) para compor uma sessão do EMBRAPA multispecies 65K *Illumina Infinium1* chip. A genotipagem foi conduzida pela Neogen Corporation - Genesee Operations (Lincoln NE, USA). *Manifest files* e *intensity data* (.idat files) foram

obtidos da Neogen. A chamada dos genótipos foi feita usando 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.

Os dados brutos foram filtrados de acordo com parâmetros de qualidade estabelecidos previamente (Nogueira et al., 2022) utilizando o programa SVS SNP & Variation Suite 8.10.0 (Golden Helix, Inc., Bozeman, MT⁵). São eles: eliminados marcadores em cromossomos sexuais, não mapeados, com *call rate* (taxa de chamada) < 0,97, MAF < 0,05 e que não se encontravam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) ($p < 0,001$).

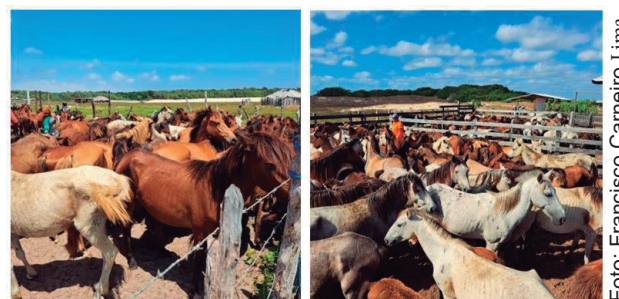


Figura 1. Equinos Baixadeiro na UEMA.

Extração e Genotipagem Lavradeiro

Inicialmente, foram acessados os dados genotípicos de 20 equinos do grupamento genético Lavradeiro, com DNA previamente extraído e armazenado no Banco de DNA e Tecidos Animais da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Posteriormente, o DNA foi extraído de 48 amostras de sangue total, coletadas em diferentes fazendas de Lavradeiro (Figura 2), utilizando o protocolo para sangue total (Gentra Puregene® Kit, QIAGEN, EUA). O protocolo foi levemente alterado para se adequar às condições do laboratório. As principais alterações foram: utilização de menor volume de sangue inicial (300–400 µL); adição de 1,5 mL de *RBC lysis solution*; incubação por 10 minutos em temperatura ambiente; centrifugação a 16.000 × g; lise das membranas celular e nuclear com 300–400 µL de *cell lysis solution*, 7 µL de proteinase K (20 mg/mL) e 300 µL de RCB; incubação *overnight* a 37 °C; e, na etapa de hidratação do DNA, utilização de 30–50 µL de *hydration solution* ou T.E.

Após extração, a quantidade e a qualidade do DNA foram avaliadas. Essa análise foi feita com géis de agarose 1% corados com brometo de etídeo usando Lambda DNA como um padrão

³Disponível em: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/ND-8000-GL>

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

⁵Disponível em: www.goldenhelix.com

de massa molecular conhecido para comparação, em geral, $\lambda 30$ ng/uL, $\lambda 50$ ng/uL, $\lambda 100$ ng/uL. Além dos géis, o DNA também foi quantificado em NanoDrop™ 8000⁶.

Os dados genotípicos das 20 amostras iniciais referem-se ao *Illumina Equine SNP50 BeadChip* (Illumina, USA), e os 48 animais restantes foram genotipados com o *Illumina GGP Equine 70K SNP array* (Illumina USA). Os SNPs foram analisados e filtrados após a genotipagem no software SNP & Variation Suite (SVS) 8.10.0 (Golden Helix, Inc., Bozeman, MT⁷) usando os seguintes critérios de filtragem: *call rate* < 0,90 para ambos, amostras e marcadores, eliminados marcadores em cromossomos sexuais, e não mapeados; *Minor Allele Frequency* (MAF) < 0,05 e que não se encontravam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) ($p < 0,001$). Uma análise de Desequilíbrio de Ligação entre os marcadores foi performada com $r^2 < 0,2$. De 50.889 SNPs restaram 11.904. Após a filtragem, foram adicionados mais 8 grupamentos genéticos de equinos: Árabe, Baixadeiro, Campeiro, Crioulo, Manga Larga, Marajoara, Puro Sangue e Puruca. Todas as informações sobre os cavalos, inclusive dados genômicos podem ser encontradas no portal Alelo Animal.

Foto: Ramayana Menezes Braga



Figura 2. Equinos Lavradeiro em uma fazenda particular em Roraima.

Análise de Dados

Para os cálculos de parâmetros de diversidade genética foram utilizados os programas SNP & Variation Suite (SVS) 8.10.0 (Golden Helix, Inc., Bozeman, MT), Arlequin v3.5 (Excoffier; Schneider, 2005) e GenAlex v6.51 b2 (Peakall and Smouse, 2012). O programa SNP & Variation Suite (SVS) 8.10.0 (Golden Helix, Inc., Bozeman, MT) foi usado para calcular o coeficiente de endogamia (F_{IS}), histograma de frequência dos marcadores polimórficos (MAF) e o gráfico da análise de componentes principais

(PCA). Já o programa Alerquin v3.5 (Excoffier, Schneider, 2005) foi usado para calcular a Heterozigosidade Observada (H_o), a Heterozigosidade Esperada (H_e), Análise de Variância Molecular (AMOVA), distância genética e o F_{IS} dos 10 grupamentos genéticos de equinos.

A PCA transforma variáveis originais (potencialmente correlacionadas) em um conjunto de novas variáveis não correlacionadas, chamadas de componentes principais, servindo para visualizar as relações entre indivíduos (Hongyu et al., 2016). Os gráficos tridimensionais foram elaborados com auxílio do software SigmaPlot13 (<https://sysstatsoftware.com/products/sigmaplot/>).

Em termos de distância genética, utilizou-se a metodologia de matriz par a par de F_{ST} , que representa a proporção da variação genética total contida em uma subpopulação em relação à variância genética total (Wright, 1951; Nei, 1973). Os valores de F_{ST} variam de 0 a 1, sendo que valores mais próximos de 1 indicam maior diferenciação entre os grupamentos genéticos.

Com a finalidade de estimar o grau de parentesco entre as amostras de Baixadeiro e Lavradeiro, 4 matrizes *Identity By Descent* (IBD) foram geradas usando o programa SNP & Variation Suite (SVS) 8.10.0 (Golden Helix, Inc., Bozeman, MT): duas matrizes, sendo uma com os equinos Baixadeiro genotipados e outra com os equinos Lavradeiro genotipados, e duas matrizes contendo apenas os machos de cada grupamento. A matriz genômica *Identity By Descent* (IBD) descreve a probabilidade de duas amostras compartilharem 0, 1, ou 2 alelos oriundos da mesma população de cruzamentos aleatórios, ou seja, mostra o grau de relacionamento entre os indivíduos do rebanho. Sendo assim, adotamos que os animais que apresentam valor de 0,29 – 0,69 possuem algum grau de relacionamento entre si, já aqueles que apresentam número “0” não possuem nenhuma relação, ou seja, não possuem nenhum alelo em comum. Um grau de relacionamento com um valor de 0,69 – 0,49 significa um relacionamento entre pai/mãe e filho ou relacionamento entre irmãos completos, já o grau de relacionamento de 0,48 – 0,29 significa uma relação entre meio irmãos. A visualização gráfica desses dados foi realizada por meio de *heatmaps* gerados na plataforma online SRplot (Tang et al., 2023).

Para análise de estrutura populacional dos Baixadeiros o software STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) foi utilizado. O STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) é baseado em um algoritmo Bayesiano que analisa diferenças na distribuição de variantes genéticas entre populações, colocando

⁶Disponível em: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/ND-8000-GL>

⁷Disponível em: www.goldenhelix.com

amostras em grupos cujos membros compartilham padrões semelhantes de variação. Os seguintes parâmetros na análise foram aplicados: 5.000 *burn-in*, 10.000 MCMC repetições após o *burn-in* e 5 iterações (repetições) para cada K (número de clusters ou populações), sendo que o melhor valor para K foi determinado pelo ΔK (ΔK), segundo Evanno et al. (2005), K foi definido de 1 - 3. O software ADMIXTURE 1.3 (Alexander et al., 2009) foi utilizado na análise de estrutura com todas os grupamentos genéticos de equinos e para a análise individual dos Lavradeiros. O programa ADMIXTURE 1.3 (Alexander et al., 2009) usa uma abordagem de “block relaxation” para atualizar alternadamente a frequência alélica e os parâmetros da fração ancestral. Cada atualização de bloco é tratada resolvendo um grande número de problemas de otimização convexa independentes, que são resolvidos usando um algoritmo de programação quadrática sequencial rápida. A convergência do algoritmo é acelerada usando um novo método de aceleração quasi-Newton. Para a análise considerando os diferentes grupamentos genéticos de equinos, os parâmetros foram: 10 iterações para cada K, K foi definido de 1 – 20, sendo que o melhor valor para K foi determinado pelo Coeficiente de Variação (CV), o K ideal é definido quando o CV atinge o menor valor. A análise individual dos Lavradeiros, teve os mesmos parâmetros, porém K definido de 1 – 3. Structure Selector (Li; Liu, 2017) para calcular estatísticas de ΔK e determinação do melhor K, e o CLUMPAK (Kopelman et al., 2015) para representações gráficas dos resultados.

Finalmente, foi feita uma análise de exclusão de paternidade, usando o software Cervus 3.0.7. (Marshall et al., 1998) com os grupamentos genéticos Baixadeiro e Lavradeiro. Os rebanhos de Baixadeiro e Lavradeiro enviados não possuem informações de pedigree, assim, o intuito da análise foi montar um pedigree inicial para o rebanho, e para auxiliar nas análises de exclusão de paternidade. Foi levado em consideração as informações aproximadas de idade dos animais fornecidas pela UEMA e Embra-pa Roraima. O software Cervus 3.0.7. (Marshall et al., 1998) atribui pais aos seus descendentes usando marcadores moleculares, usando uma estatística onde não se permite excluir um determinado animal como progenitor daquele indivíduo em questão. Os parâmetros usados na simulação do programa Cervus 3.0.7. (Marshall et al., 1998) para definir o limiar de significância das correlações de parentesco dos equinos Baixadeiro foram: 10.000 ciclos de interação para 10 pais candidatos e 30 mães candidatas; 90% dos loci genotipados, 1% de erro de genotipagem, e predeterminados níveis de confiança relaxada e estrita de 80% e 95%, respectivamente. Já para os Lavradeiro, os parâmetros usados na simulação

foram: 10.000 ciclos de interação para 21 pais candidatos e 22 mães candidatas; 90% dos loci genotipados, 1% de erro de genotipagem, e predeterminados níveis de confiança relaxada e estrita de 90% e 95%, respectivamente.

Resultados e discussão

Diversidade genética intrapopulacional do rebanho Baixadeiro

Dos 86 animais iniciais, 81 animais e 1.452 marcadores foram mantidos passaram nos filtros de qualidade. A Tabela 1 demonstra as estimativas dos *Índices de diversidade da população* equina criada nos campos naturais do município de Paulino Neves/MA (Pop. A) e o grupo de equinos criados nos campos naturais do município de Pinheiro/MA (Pop. B). O valor de H_o foi igual a 0,46 em ambos rebanhos. Os valores de F_{is} positivos, porém baixos, em ambos rebanhos indicam leve endogamia. Estes achados corroboram com os resultados de Nogueira et al. (2022) e o estudo de Silva et al. (2012), que também relataram valores de F_{is} positivo e valores de H_o favoráveis, na casa dos 0,32. A consistência entre os estudos sugere que os dados refletem a realidade genética do grupamento genético e não uma limitação amostral ou metodológica.

Na Figura 3, está representado um histograma dos valores de MAF (Frequência do Alelo Menor) para os 1.452 SNPs. Pelo histograma maior parte dos loci possui MAF superior a 0,3, ou seja, abaixo desse valor encontramos poucos loci. A ferramenta EMBRAPA multispecies 65K *Illumina Infinium* 1 chip foi desenvolvida com esse propósito, foram escolhidos os marcadores dentro de um chip de maior densidade, *Illumina GGP Equine 70K* SNP array (Illumina, USA), que apresentaram maior polimorfismo (maior valor de MAF) em grupamentos genéticos brasileiros de equinos.

Tabela1. Índices de diversidade do rebanho: Número de amostras (N), Coeficiente de endogamia (F_{is}), Heterozigosidade observada (H_o), Heterozigosidade esperada (H_e) e número de loci (SNPs).

| População | Abreviação | N | F_{is} | H_o | H_e | SNPs |
|-----------|------------|----|----------|---------|---------|-------|
| A | EBXA | 49 | 0,008127 | 0,46011 | 0,46389 | 1.452 |
| B | EBXB | 32 | 0,001400 | 0,46361 | 0,46425 | 1.452 |
| Total | EBX | 81 | 0,021009 | 0,46149 | 0,47140 | 1.452 |

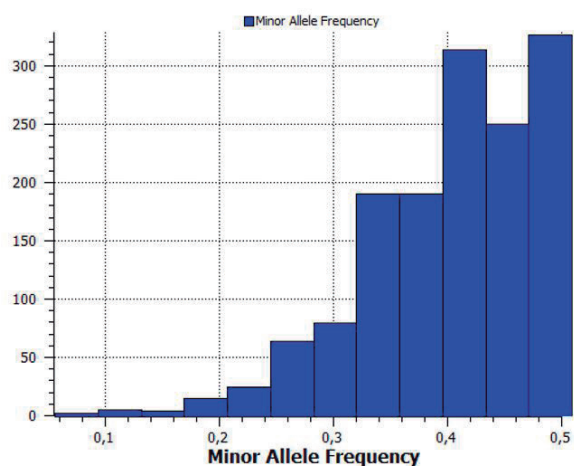


Figura 3. Histograma da frequência de alelo menor (MAF) em 1.452 marcadores genotipados em 81 amostras de Baixadeiro.

Diversidade genética intrapopulacional do rebanho Lavradeiro

Os 68 animais do grupamento genético Lavradeiro foram genotipados com sucesso, e nenhuma amostra foi eliminada por parâmetros de qualidade do DNA. Ao unir o *Illumina Equine SNP50 BeadChip* (Illumina, USA) e o *Illumina GGP Equine 70K SNP array* (Illumina, USA) foram encontrados 62.793 SNPs em comum que após a filtragem de qualidade, restaram 11.904 efetivamente usados nas análises.

O valor de H_o observado no grupo genético atual de Lavradeiros de Roraima foi de 0,32, enquanto o H_o estimado a partir das 20 amostras de DNA depositadas no Banco de DNA e Tecidos Animais da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia também apresentou o valor de 0,32 (Tabela 2). Valores de F_{IS} negativo indicam ausência de endogamia, apesar do conhecimento que as 20 amostras de Roraima não são um rebanho ou população definidas, são oriundas de distintos lugares. Os valores da H_o corroboram com Nogueira et al. (2022). Porém, pelos marcadores aqui usados não coincidirem com os marcadores de Nogueira et al. (2022) devido a dois processos de filtragem de qualidade diferente.

O gráfico da Figura 4 é o inverso do gráfico da Figura 3. A grande maioria dos marcadores apresenta MAF inferior a 0,2, indicando que maior parte dos loci são pouco informativos e possuem baixa heterozigosidade no grupamento genético Lavradeiro. O comportamento do chip *Illumina GGP Equine 70K SNP array* (Illumina, USA) em grupamentos genéticos crioulos não é igual ao observado em grupamentos genéticos europeus, para os quais o chip foi desenvolvido. No entanto, devido ao grande número de marcadores disponíveis, ainda é possível identificar um número satisfatório de loci com MAF acima de 0,3.

Tabela 2. Índices de diversidade da população: Número de amostras (N), Coeficiente de endogamia (F_{IS}), Heterozigosidade observada (H_o), Heterozigosidade esperada (H_e) e quantidade de SNPs (SNP).

| Grupo genético | N | F_{IS} | H_o | H_e | SNP |
|----------------|----|----------|-------|-------|--------|
| 1 | 20 | -0.0168 | 0.326 | 0.320 | 11.904 |
| 2 | 48 | -0.0109 | 0.326 | 0.322 | 11.904 |
| Total | 68 | -0.01385 | 0.326 | 0.321 | 11.904 |

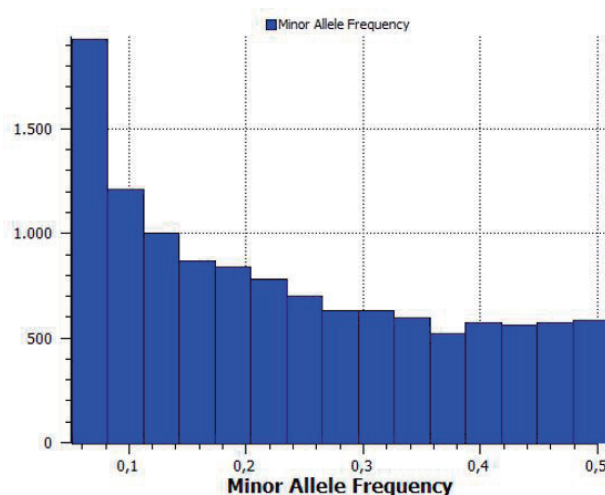


Figura 4. Histograma da frequência de alelo menor (MAF) em 11.904 marcadores genotipados em 68 amostras de Lavradeiro.

A partir da junção dos dois *arrays* mencionados anteriormente (11.904 SNPs), foi incluído o EMBRAPA multispecies 65K *Illumina Infinium1* chip, que após novos filtros de qualidade, restaram 1.452 SNPs. Com esse conjunto, calculamos novamente o coeficiente de endogamia para os 9 grupamentos genéticos de equinos com todas as amostras disponíveis, ou seja, Banco de DNA e coletas atuais para Baixadeiro e Lavradeiro (Tabela 3). O maior valor de F_{IS} pertence a grupamento genético Crioulo, o que já foi descrito por Nogueira et al. (2022). Porém segundo o Relatório de Atividades dos Serviços de Registro Genealógico no Brasil, publicado pelo MAPA em 2022, o grupamento genético equino Crioulo está entre aqueles com maior efetivo no país. No caso do Baixadeiro e Lavradeiro, se sabe que o tamanho efetivo dos rebanhos é baixo, então espera-se um certo grau de acasalamentos consanguíneos.

Tabela 3. Valores do coeficiente de endogamia (F_{IS}) para 412 amostras usando 989 SNPs em 9 diferentes grupamentos genéticos de equinos criados no Brasil.

| Grupamento genético | N | F_{IS} |
|---------------------|-----|----------|
| Árabe | 18 | -0.0922 |
| Baixadeiro | 101 | 0.01479 |
| Campeiro | 20 | 0.01688 |
| Crioulo | 11 | -0.15738 |
| Lavradeiro | 68 | 0.01173 |
| Manga Larga | 20 | 0.00547 |
| Marajoara | 20 | -0.00604 |
| Puro Sangue | 19 | -0.00305 |
| Puruca | 19 | 0.00113 |
| Total | 296 | -0,09333 |

Manejo genético dos rebanhos

Duas matrizes IBD, que podem ser visualizadas em forma de mapas de calor, foram estimadas para o grupamento genético Baixadeiro, entre os 81 animais genotipados com 1.452 SNPs (Figura 5), e uma delas com somente 24 machos genotipados (Figura 6). Na figura 5, onde um mapa de calor ou *heatmap* representa a matriz total do rebanho, existem correlações de parentesco entre indivíduos, porém a figura também ressalta parte dos animais sem nenhuma correlação genética entre si. Um *heatmap* apresenta os dados em formato matricial, onde cada célula é colorida de acordo com a intensidade do valor que representa. A escala de cores varia do tom mais claro, associado aos valores mais baixos, até o tom mais intenso, que indica os valores mais altos. Essa representação permite identificar padrões de parentesco, regiões de maior ou menor compartilhamento genético e contrastes entre os indivíduos de forma visual e intuitiva.

O *heatmap* da matriz de IBD mostra a proporção de identidade genética compartilhada entre pares de indivíduos. Cada célula da matriz representa a comparação entre dois indivíduos, sendo colorida conforme o grau de parentesco estimado. A escala de cores vai de tons claros, indicando baixa ou nenhuma identidade (valores próximos de 0), até tons mais intensos, que indicam maior identidade genética (valores próximos de 1). A diagonal principal apresenta sempre o valor máximo (1), já que cada indivíduo é comparado consigo mesmo, enquanto as demais células evidenciam o grau de compartilhamento genético entre diferentes pares.

O *heatmap* da matriz IBD dos machos mostra o nível de parentesco entre eles, significando que mui-

tas vezes o uso de um determinado animal seria o mesmo que usar um outro indivíduo aparentado na estação de monta, do ponto de vista de variabilidade genética (EBX11 e EBX14). Por outro lado, evidencia garanhões sem nenhum relacionamento genético que podem ser usados concomitantemente em estação de monta e são alvos para coleta de germoplasma.

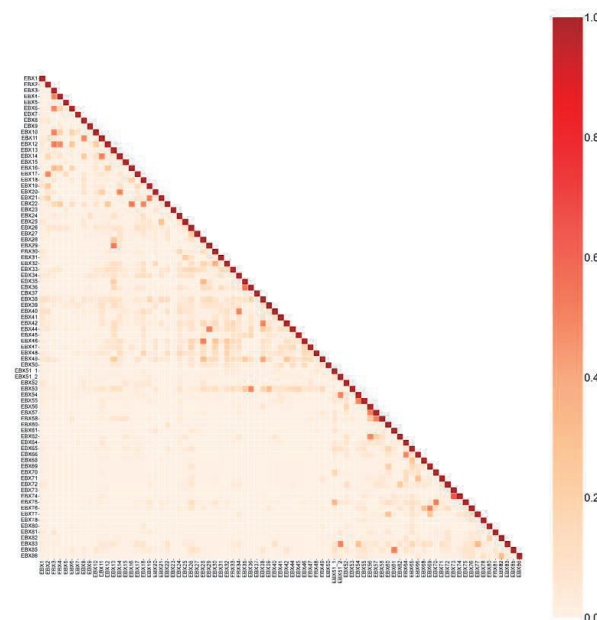


Figura 5. *Heatmap* da matriz IBD (*Identity By Descent*) entre os 81 animais genotipados do grupamento genético Baixadeiro. Esquema de cores: diagonal principal, animal com ele mesmo identidade total = vermelho; irmãos completos, pai-filho = laranja intenso; meio irmãos = laranja claro; animais com baixa ou nenhuma identidade genética = amarelo.

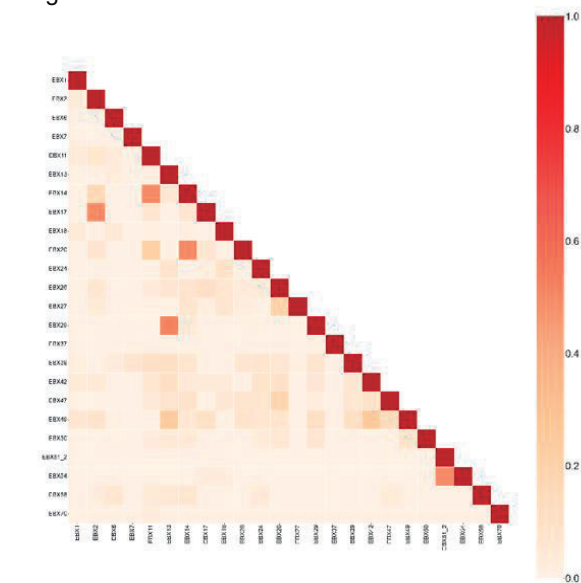


Figura 6. *Heatmap* da matriz IBD (*Identity By Descent*) entre os 24 machos genotipados do grupamento genético Baixadeiro. Esquema de cores: diagonal principal, animal com ele mesmo identidade total = vermelho; irmãos completos, pai-filho = laranja intenso; meio irmãos = laranja claro; animais com baixa ou nenhuma identidade genética = amarelo.

A Figura 7 e 8 por sua vez, representam os *heatmaps* das matrizes de IBD do rebanho de Lavradeiro e dos garanhões Lavradeiro, respectivamente. Comparativamente, a figura 7 apresenta menos regiões de calor (azul) do que a figura 5 (laranja). O macho 56 e a fêmea 65, possuem um alto grau de parentesco, atingindo 0,50 parentesco (representada na matriz com a cor azul), e pela data de nascimento, os tornaria irmãos completos. Todavia, sabemos que esses animais são criados em liberdade e as datas de nascimento podem ser aproximadas e não exatas. A figura 8 mostra que a maior parte dos indivíduos do rebanho não possui vínculos genéticos estreitos. Esse *heatmap* (Figura 8), assim como o anterior (Figura 6), orienta cruzamentos nos rebanhos e coleta de germoplasma.

A matriz completa, que inclui os machos e as fêmeas, permite uma visão geral da variabilidade genética, identificando quais animais tem uma relação mais próxima e quais são mais distantes. Isso possibilita a escolha dos cruzamentos mais estratégicos, evitando cruzamentos entre parentes muito próximos e reduzindo os riscos de endogamia. Já a matriz exclusiva dos machos é particularmente útil para a seleção dos machos reprodutores, permitindo definir quais machos são mais adequados para diferentes grupos de fêmeas, auxilia no descarte de animais e coletas de germoplasma.

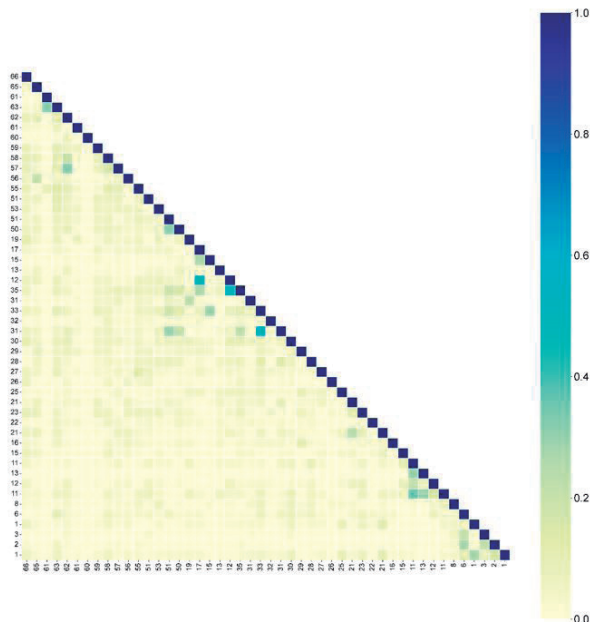


Figura 7. *Heatmap* da matriz IBD (*Identity By Descent*) entre os 48 animais genotipados do grupamento genético Lavradeiro. Esquema de cores: diagonal principal, animal com ele mesmo identidade total = azul marinho; irmãos completos, pai-filho = azul intenso; meio irmãos = azul esverdeado; animais com baixa ou nenhuma identidade genética = amarelo.

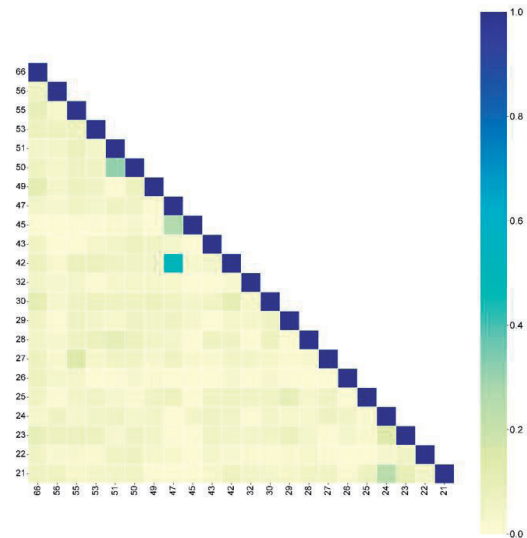


Figura 8. *Heatmap* da matriz IBD (*Identity By Descent*) entre os 22 machos genotipados do grupamento genético Lavradeiro. Esquema de cores: diagonal principal, animal com ele mesmo identidade total = azul marinho; irmãos completos, pai-filho = azul intenso; meio irmãos = azul esverdeado; animais com baixa ou nenhuma identidade genética = amarelo.

Análise de Variância Molecular (AMOVA)

A AMOVA foi feita usando o programa Arlequin v3.5 (Excoffier; Schneider, 2005) entre os equinos: Árabe, Baixadeiro, Campeiro, Crioulo, Lavradeiro, Manga Larga, Marajoara, Puro Sangue e Puruca. No total, foram usados 1.409 SNPs e 410 amostras de equinos, com 1.000 permutações.

A proporção de variação entre os grupamentos genéticos observados foi igual a 3,19% ($p < 0,0001$), e a variação entre indivíduos dentro de grupamentos genéticos não é significativa (0,18%; $p < 0,0001$). A maior parte da proporção de variação genética é atribuída à variação entre indivíduos (96,63%; $p < 0,0001$). Mesmo que Nogueira et al., 2022 trabalhou com um conjunto distinto de marcadores e também com grupamentos genéticos ibero-americanas, os resultados de Variância Molecular são idênticos.

Tabela 4. Design e resultados do AMOVA

| Fonte de Variação | d.f. | Soma dos quadrados | Componentes de Variação | Porcentagem da Variação |
|--|------|--------------------|-------------------------|-------------------------|
| Entre Grupamentos genéticos | 9 | 10382.741 | 10.99453 Va | 3.19% |
| Entre os Indivíduos Dentro dos Grupamentos genéticos | 400 | 133747.817 | 0.61892 Vb | 0.18% |
| Entre os Indivíduos | 410 | 136584.000 | 333.13171 Vc | 96.63% |
| TOTAL | 819 | 280714.559 | 344.74516 | 100% |

Distância Genética

Todos os valores par a par de F_{ST} apresentaram-se significativos ($p < 0,05$), conforme avaliado por teste de permutação de haplótipos entre populações (Tabela 5). O rebanho Baixadeiro é mais distante geneticamente dos dois grupamentos genéticos comerciais presente no solo nacional, Árabe e Puro Sangue, indicando ausência de cruzamentos absorventes com esses grupamentos genéticos. As distâncias entre o Baixadeiro e os grupamentos genéticos da região Norte do Brasil (Marajoara e Puruca) continuam sendo as menores encontradas na matriz, 0,015 e 0,011, respectivamente. O rebanho de Lavradeiro comporta-se da mesma maneira em

relação aos grupamentos genéticos comerciais, porém encontra-se um pouco mais distante geneticamente dos grupamentos genéticos brasileiros do que o Baixadeiro. O Lavradeiro se diferencia melhor dos grupamentos genéticos Marajoara, Baixadeiro e Puruca. O que foi encontrado aqui evidencia uma correlação entre relacionamento genético e geográfico desses grupamentos genéticos como já observado em outros estudos (Silva et al., 2012; Ianella et al., 2017; Nogueira et al., 2021, 2022). Porém esses resultados devem ser observados com cautela devido ao baixo número amostral e as amostras dos demais grupamentos genéticos da região Norte não representarem rebanhos atuais, vivos.

Tabela 5. Matriz par a par de F_{ST} com 989 marcadores SNPs em 9 grupamentos genéticos de equinos (2.000 permutações, $p < 0,05$).

| Grupamento genético | Baixadeiro | Lavradeiro | Árabe | Puruca | Puro Sangue | Marajoara | Manga Larga | Crioulo | Campeiro |
|---------------------|------------|------------|--------|--------|-------------|-----------|-------------|---------|----------|
| Baixadeiro | | | | | | | | | |
| Lavradeiro | 0,028* | | | | | | | | |
| Árabe | 0,047* | 0,052* | | | | | | | |
| Puruca | 0,011* | 0,021* | 0,037* | | | | | | |
| Puro Sangue | 0,066* | 0,066* | 0,074* | 0,058* | | | | | |
| Marajoara | 0,015* | 0,025* | 0,044* | 0,008* | 0,064* | | | | |
| Manga Larga | 0,018* | 0,021* | 0,027* | 0,009* | 0,048* | 0,015* | | | |
| Crioulo | 0,048* | 0,049* | 0,058* | 0,039* | 0,076* | 0,042* | 0,036* | | |
| Campeiro | 0,032* | 0,032* | 0,038* | 0,021* | 0,055* | 0,026* | 0,040* | 0,063* | |

Estrutura populacional dos rebanhos

De acordo com o método proposto por Evanno (Evanno et al., 2005), o número de K seria igual a 2 (Figura 9), devido ao maior valor de $-\ln P(K)$, no rebanho Baixadeiro. Para o $K = 2$, pela representação gráfica do CLUMPAK (Kopelman et al., 2015) existe duas cores que corresponde a Pop. A e Pop. B, separadas geograficamente. Lembrando que a Pop. A, equinos criados nos campos naturais do município de Paulino Neves/MA (cor vermelha), e Pop. B, representada pela cor verde (equinos criados nos campos naturais do município de Pinheiro/MA) (Figura 10). B possui quase todos os animais homogêneos (puros) com componente genético igual (cor verde), mostrando que a Pop. B parece ser uma população (rebanho) fechado. Vale ressaltar que o animal 54 parece não pertencer ao rebanho B, hipóteses de troca de material na coleta ou no laboratório podem ser levantadas.

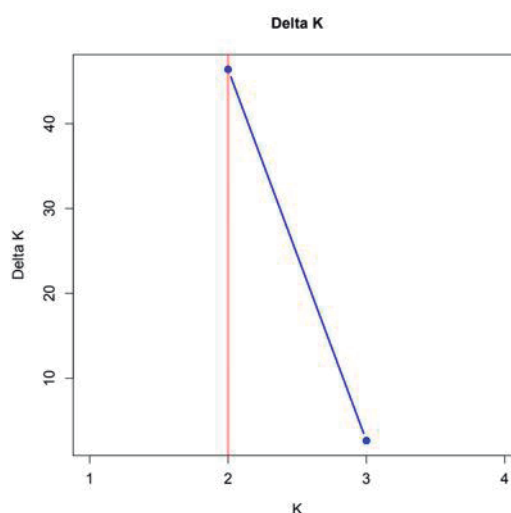


Figura 9. Gráfico da estimativa do k. Fonte: Adaptado de Evanno et al. (2005).



Figura 10. Análise da estrutura genética do grupamento genético Baixadeiro (EBX), onde os indivíduos classificados com a cor vermelha representam a população equina criada nos campos naturais do município de Paulino Neves/MA (Pop. A) e a cor verde representa a população equina criada nos campos naturais do município de Pinheiro/MA (Pop. B).

Para o equino Lavradeiro, baseado no menor valor de erro de validação cruzada (*CV error*) o número de clusters é $K=2$ (Figura 11), ou seja, temos pelo menos dois grupos genéticos diferentes dentro do rebanho de Lavradeiro, observado na Figura 12. O gráfico individual indica 8 animais com uma composição genômica diferente dos demais (cor verde). Podemos levantar hipóteses para essa diferenciação genética dentro do mesmo rebanho, porém melhor forma seria uma avaliação morfológica desses 8 animais com o intuito de classificá-los morfológicamente como Lavradeiro.

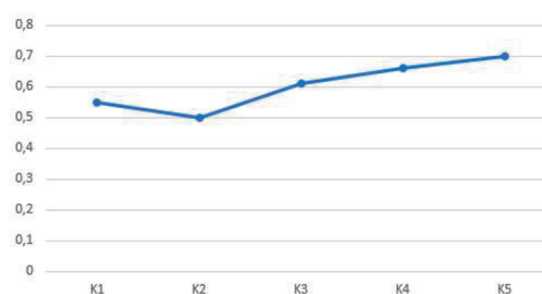


Figura 11. Gráfico da estimativa do K mais provável (resultado do CV)

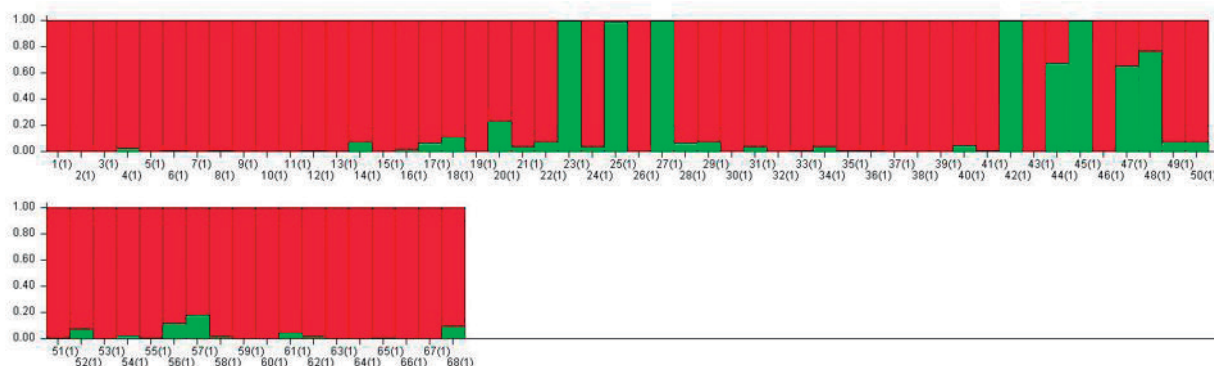


Figura 12. Análise da estrutura genética do grupamento genético Lavradeiro - Conjunto dos 68 animais categorizadas com base nas cores vermelho e verde, simbolizando a proporção do genoma do animal em relação às populações estabelecidas pelo programa ADMIXTURE com 19,000 SNPs. Primeiro grupo genético amostras do 1-20. Segundo grupo genético amostras do 21-68.

Uma segunda análise de estrutura genética usando o ADMIXTURE 1.3 (Alexander et al., 2009) foi realizada com 8 grupamentos genéticos de equinos já anteriormente utilizados. Novamente, baseado no menor valor de erro de validação cruzada (*CV error*) o número de clusters indicado foi igual a 7 (Figura 13).

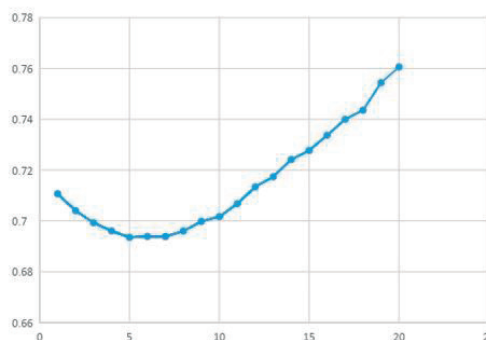


Figura 13. Gráfico da estimativa do K mais provável (resultado do CV).

A análise com todos os grupamentos genéticos diferentemente da análise feita por Nogueira et al., (2022) não fica muito clara a divisão entre alguns grupamentos genéticos de equinos. Observamos que o Árabe e Puro Sangue Inglês são os que possuem duas cores quase que completamente independentes e diferentes dos demais grupamentos genéticos (roxo e bordô, respectivamente). Não há diferenciação entre Puruca, Manga-Larga e Marajoara, corroborando com a matriz de F_{ST} . O Lavradeiro apresenta uma cor laranja quase que homogênea e exclusiva, já o Baixadeiro apresenta predominância de duas cores, verde e azul, o que indica uma subdivisão dentro do grupamento genético (se dividindo em duas populações diferentes).

As outras quatro cores ou grupamentos que completariam o $K=7$, estão em quase todos os grupamentos genéticos e divididos dentro do Campeiro e Crioulo (Figura 14). No entanto, aqui o objetivo em relação a Nogueira et al., (2022) era verificar se o aumento do número amostral em Lavradeiro e Baixadeiro conduziria a uma separação dos dois grupamentos genéticos em distintas do Puruca e Marajoara. O resultado parece mostrar que o Lavradeiro se separa das demais, apresentando uma composição genética mais acentuada, enquanto que metade dos indivíduos do grupamento genético Baixadeiro (pop. B cor verde escura) está contida em Puruca e Marajoara. Novamente é necessário novas coletas ou a inclusão de dados genômicos de rebanhos recentes para os demais grupamentos como o que foi feito no Lavradeiro e Baixadeiro.

K=7

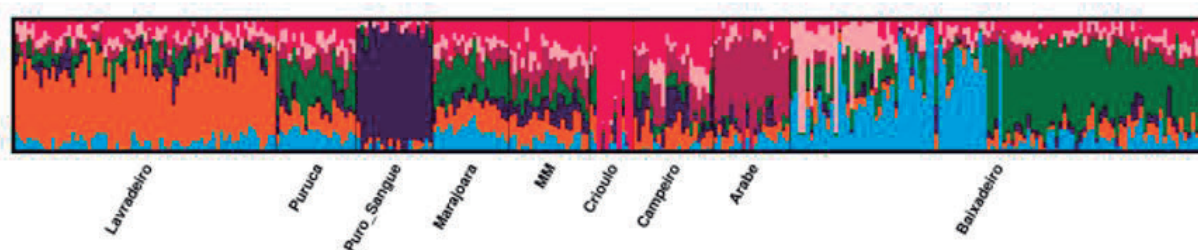


Figura 14. Análise da estrutura genética dos 9 grupamentos genéticos de equinos analisados - Conjunto de 296 animais categorizadas com base na cor azul, rosa, roxo, verde, laranja, rosa claro, bordô e verde musgo simbolizando a proporção do genoma do animal em relação às populações estabelecidas pelo programa ADMIXTURE (1409 SNPs).

Na PCA, os três primeiros componentes englobam 8,66% da variação total e foram plotados em um gráfico tridimensional na Figura 15. Os equinos Puro Sangue e Árabe são os mais diferenciados dentre os

grupamentos genéticos, não existe diferenciação entre Manga-Larga, Campeiro, Crioulo, Marajoara e Puruca. Os grupamentos genéticos Baixadeiro e Lavradeiro, estão dispersos.

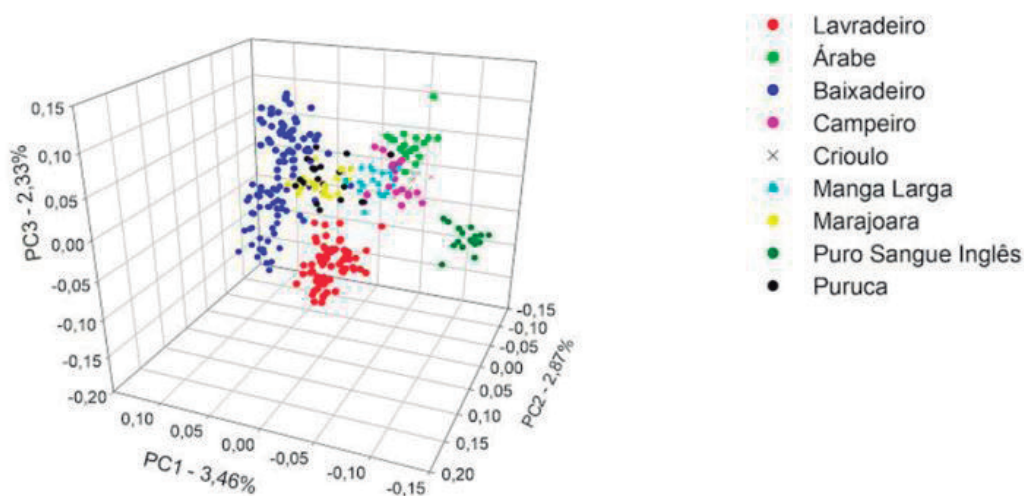


Figura 15. Representação espacial das distâncias genéticas entre os grupamentos genéticos de equinos brasileiros analisados, apresentando os três primeiros componentes da Análise de Componentes Principais (PCA). Valores junto a cada braço do gráfico representa a contribuição em % da variação genética observada.

Apesar de os resultados corroborarem com resultados prévios, acredita-se que dois componentes da análise estão mascarando os resultados. O primeiro é a amostragem já discutida anteriormente, o segundo é o painel utilizado. Esse painel reduzido com 1409 SNPs não conseguiu separar os grupamentos genéticos que anteriormente já tinham se separado e historicamente são muito diferentes (Nogueira et al., 2022). O entrave não é o número de marcadores e provavelmente quais marcadores compõe o painel, de qualquer maneira o mesmo ainda necessita de ajustes.

Testes de Exclusão de Paternidade Baixadeiro

O rebanho de Baixadeiro não possui informações de pedigree, para auxiliar no teste as informações aproximadas de idade dos animais fornecidas pela UEMA foram utilizadas. O arquivo de possíveis pais possuía 10 machos, sendo que apenas 4 eram garanhões, o arquivo de possíveis mães possuía 30 fêmeas e o arquivo de possíveis filhos possuía 41 animais. O programa Cervus 3.0.7. (Marshall et al., 1998) identificou, 20 duos e 2 trios, que estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Atribuição de parentesco pelo software Cervus 3.0.7. em equinos do grupamento genético Baixadeiro.

| Progénie | Possível mãe | Possível pai | Número de marcadores comparados | Número de marcadores não coincidentes | LOD score | Número de marcadores comparados | Número de marcadores não coincidentes | LOD score |
|----------|--------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|-----------|---------------------------------|---------------------------------------|-----------|
| EBX8 | | EBX11 | | | | 1452 | 2 | 2,28E+16 |
| EBX10 | EBX3 | | 1452 | 2 | 2,07E+16 | | | |
| EBX12 | EBX3 | | 1452 | 0 | 2,41E+16 | | | |
| EBX14 | | EBX11 | | | | 1452 | 1 | 1,93E+16 |
| EBX17 | | EBX2 | | | | 1451 | 1 | 2,15E+16 |
| EBX22 | | EBX18 | | | | 1451 | 0 | 2,18E+16 |
| EBX28 | EBX46 | | 1451 | 0 | 2,37E+16 | | | |
| EBX29 | EBX44 | EBX13 | 1452 | 0 | 2,50E+16 | 1452 | 1 | 2,50E+16 |
| EBX35 | EBX36 | | 1452 | 0 | 2,82E+16 | | | |
| EBX40 | EBX34 | | 1446 | 1 | 2,09E+16 | | | |
| EBX42 | EBX38 | | 1452 | 1 | 2,15E+16 | | | |
| EBX53 | EBX36 | | 1452 | 0 | 2,25E+16 | | | |
| EBX54 | EBX55 | EBX51_2 | 1452 | 1 | 2,53E+16 | 1452 | 2 | 2,37E+16 |
| EBX58 | EBX57 | | 1452 | 1 | 2,35E+16 | | | |
| EBX61 | EBX85 | | 1451 | 1 | 2,46E+16 | | | |
| EBX62 | EBX56 | | 1450 | 2 | 2,34E+16 | | | |
| EBX64 | EBX66 | | 1451 | 1 | 2,35E+16 | | | |
| EBX69 | EBX76 | | 1452 | 1 | 2,33E+16 | | | |
| EBX70 | EBX75 | | 1452 | 0 | 2,56E+16 | | | |
| EBX73 | EBX74 | | 1450 | 0 | 3,80E+16 | | | |
| EBX83 | | EBX51_2 | | | | 1452 | 1 | 2,31E+16 |

Ficou evidente que a maior parte dos garanhões que cobriram as fêmeas do rebanho nos anos recentes não foram amostrados para esse estudo. O resultado reflete a matriz de IBD, porém é totalmente dependente do ano de nascimento dos animais, podendo assim ocorrer falhas, dado que o rebanho vive de forma selvagem não há muito o que se fazer a não ser usar estimativas.

O resultado do teste de exclusão auxiliará no manejo do rebanho, visto que o mesmo encontrou 20 prováveis duos que podem ser separados em acasalamentos futuros. Essa análise, pareada com a matriz IBD, se tornam as primeiras ferramentas de controle e manejo para esse rebanho.

Testes de Exclusão de Paternidade Lavradeiro

As amostras do grupamento genético Lavradeiro, da mesma maneira, *não possuíam informações* de pedigree, assim, o intuito da análise foi identificar correlações de pelo menos uma primeira geração entre os animais. Foram montados 3 arquivos: (A) possíveis pais, (B) possíveis mães, e (C) possíveis filhos, com 21, 22 e 48 animais respectivamente. Para eleger as mães, pais e filhos potenciais foram considerados as informações enviadas pela Embrapa Roraima (égua, castrado, garanhão potra ou potro). Foram identificados 3 relacionamentos tipo prole/pai ou mãe (duos) e 1 prole, pai e mãe (trios), conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8. Atribuição de parentesco pelo software Cervus 3.0.7. em equinos do grupamento genético Lavradeiro.

| Progênie | Possível mãe | Possível pai | Número de marcadores comparados | Número de marcadores não coincidentes | LOD score | Número de marcadores comparados | Número de marcadores não coincidentes | LOD score |
|----------|--------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|-----------|---------------------------------|---------------------------------------|-----------|
| 31 | 33 | | 1789 | 0 | 2,57E+16 | | | |
| 35 | | 42 | | | | 1789 | 0 | 2,61E+16 |
| 42 | | 47 | | | | 1789 | 3 | 2,27E+16 |
| 56 | 65 | | 1789 | 1 | 2,53E+16 | | | |
| 58 | 62 | | 1789 | 2 | 2,48E+16 | | | |

Da mesma forma que nos Baixadeiro, grande parte dos garanhões não foi coletada, assim os pais da progênie não foram identificados. O teste também reflete a matriz de IBD para o grupamento genético, e é dependente do ano de nascimento dos animais, quanto mais acurada a informação, melhor o teste de exclusão. O teste de exclusão de paternidade é a partir de agora uma ferramenta para tomada de decisões em novos cruzamentos com a mediação humana a fim de manter ou melhorar a diversidade genética do rebanho.

Conclusões

1. A ferramenta genômica customizada, EM-BRAPA multispecies 65K *Illumina Infinium* 1 chip, é eficaz como ferramenta para avaliar a variabilidade genética e endogamia de rebanhos de equinos de grupamentos genéticos brasileiros, a mesma ainda foi utilizada com sucesso para estimar o grau de relacionamento entre os animais e testes de exclusão de paternidade.
2. O rebanho Baixadeiro, que na verdade corresponde a duas subpopulações, apresenta uma leve endogamia, porém os índices de diversidade genética não revelam estimativas alarmantes. Animais com grau de parentesco superior a 0,30 foram encontrados, o que indica que há parte do rebanho que possui algum vínculo genético. Foi possível identificar 20 duos e 2 trios na análise de exclusão de paternidade, informações que agregam para o manejo visando manutenção da variabilidade genética.
3. O rebanho Lavradeiro não apresenta endogamia e possui bons índices de variabilidade genética. A maioria dos animais do rebanho não possuem laços genéticos muito próximos. Foi possível identificar 3 duos e 1 trio na análise de exclusão de paternidade, dados relevantes para o manejo voltado à preservação da diversidade genética.

4. A análise da estrutura genética com 9 grupamentos genéticos de equinos mostra a diferenciação do Lavradeiro, porém o equino Baixadeiro, que se divide em dois grupamentos genéticos distintos, possui a pop. B com composição genética próxima aos grupamentos genéticos Puruca e Marajoara.

Referências Bibliográficas

- ALEXANDER, D. H.; NOVEMBRE, J.; LANGE, K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. **Genome Research**, v. 19, p. 1655-1664, 2009.
- BOYCE, T. M.; ZWICK, M. E.; AQUADRO, C. F. Mitochondrial DNA in the bark weevils: size, structure, and heteroplasmy. **Genetics**, v. 123, n. 4, p. 825-836, 1989.
- BOZEMAN, M. T. **SNP & Variation Suite™ (version 8.10.0) [Software]**. Golden Helix, Inc. Disponível em: <http://www.goldenhelix.com>. Acesso em: 20 mai. 2025.
- BRAGA, R. M. **Cavalo Lavradeiro**: aspectos históricos, situação atual, desafios e possíveis soluções para sua conservação. Boa Vista, RR: Embrapa Roraima, 2019. (Embrapa Roraima. Documentos, 65).
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 2611-2620, 2005.
- EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, p. 564-567, 2010.
- EXCOFFIER, L.; SCHNEIDER, S. Arlequin ver 3.5: an integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online**, v. 1, p. 47-50, 2005.

- GAZOLLA, A. G.; LIMA, F. C.; SERRA, O. R. Condições de manejo, conservação, estado sanitário e caracterização fenotípica do cavalo Baixadeiro. **Revista RG News**, v. 2, n. 1, p. 8-14, 2016. II – Artigos de Divulgação Científica. a) Área animal.
- GRAFTTI, L. L. C. **SigmaPlot13 (version 13.0) [Software]**. 2024. Disponível em <https://systatsoftware.com/products/sigmaplot/>. Acesso em: 20 mai. 2025.
- HONGYU, K.; SANDANIELO, V. L. M.; OLIVEIRA JÚNIOR, G. J. Análise de componentes principais: resumo teórico, aplicação e interpretação. **Engineering and Science**, v. 5, n. 1, p. 83-90, 2016.
- IANELLA, P.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; PAIVA, S. R.; EGITO, A. A.; ALMEIDA, L. D.; SERENO, F. T. P. S.; CARVALHO, L. F. R.; MARIANTE, A. S.; MCMANUS, C. M. D-loop haplotype diversity in Brazilian horse breeds. **Genetics and Molecular Biology**, v. 40, n. 3, p. 604-609, 2017.
- KALINOWSKI, S. T.; TAPER, M. L.; MARSHALL, T. C. Revising how the computer program cervus accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, v. 16, p. 1099-1106, 2007.
- KOPELMAN, N. M.; MAYZEL, J.; JAKOBSSON, M.; ROSENBERG, N. A.; MAYROSE, I. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. **Molecular Ecology Resources**, v. 15, p. 1179-1191, 2015.
- LI, Y.-L.; LIU, J.-X. Structure selector: a web based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. **Molecular Ecology Resources**, v. 18, n. 1, p. 176-177, 2017.
- MARSHALL, T. C.; SLATE, J.; KRUUK, L. E. B.; PEMBERTON, J. M. CERVUS (version 3.0.7) [Software]: a computer program for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, v. 7, p. 639-655, 1998.
- MARIANTE, A. da S.; CAVALCANTE, N. **Animais do descobrimento: raças domésticas da história do Brasil**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006.
- MIROL, P. M.; GARCÍA, P. P.; VEGA-PLA, J. L.; DULOUT, F. N. Phylogenetic relationships of Argentinean Creole horses and other South American and Spanish breeds inferred from mitochondrial DNA sequences. **Animal Genetics**, v. 33, p. 356-363, 2002.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 70, n. 12, p. 3321-3323, 1973.
- NOGUEIRA, M. B. **Estrutura genética fina das grupamentos genéticos brasileiros de cavalos**. 2021. 128 f., il. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Universidade de Brasília, Brasília, DF.
- NOGUEIRA, M. B.; FARIA, D. A. de; 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**, v. 264, 105071, 2022.
- PRIMO, A. T. **Conquista e colonização: a fantástica história dos conquistadores ibéricos e seus animais na era dos descobrimentos**. Porto Alegre: Movimento, 2004.
- 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.; SERENO, J. R. B.; MAZZA, M. C. M.; MAZZA, C. A. Origin of the Pantaneiro horse in Brazil. **Archivos de Zootecnia**, v. 41, p. 259-265, 1992.
- SERRA, O. R. **Condições de manejo, preservação e caracterização fenotípica do grupamento genético equino “Baixadeiro”**. 2004. 77 p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Estadual do Maranhão, Campus Paulo VI, São Luís, MA.
- SILVA, A. C. M.; PAIVA, S. R.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; EGITO, A. A. do; SANTOS, S. A.; LIMA, F. C.; CASTRO, S. T.; MARIANTE, A. da S.; CORREA, P. S.; MCMANUS, C. M. Genetic variability in local Brazilian horse lines using microsatellite markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 2, p. 881-890, 2012.
- SILVA, N. M. L.; BIAZIO, G. R. de; SILVA, N. M. A. da; NEPOMUCENO, A. R.; CAETANO, A. R.; IANELLA, P. **Comparação de diferentes métodos de extração do DNA genômico de músculo de camarão-cinza (Litopenaeus vannamei)**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 326).
- TANG, D.; CHEN, M.; HUANG, X.; ZHANG, G.; ZENG, L.; ZHANG, G.; WU, S.; WANG, Y. SRplot: a free online platform for data visualization and graphing. **PLoS One**, v. 18, n. 11, e0294236, 2023. DOI: 10.1371/journal.pone.0294236. PMID: 37943830.
- WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics**, v. 15, p. 323-354, 1951.



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA E
PECUÁRIA