

X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Caracterização genética de bovinos da raça Nelore Variedade Vermelha por meio de marcadores microssatélites¹

Andrea Alves do Egito², Mariana Marzullo Pedreira³, Antonio do Nascimento Rosa², Fabiane Siqueira², Sandra Aparecida Santos⁴

¹Trabalho financiado pela EMBRAPA

²Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. E-mail: andrea.egito@embrapa.br

³UnB, Brasília, DF. E-mail: marianamarzullo@gmail.com

⁴Embrapa Pantanal, Corumbá, MS. E-mail: sandra.santos@embrapa.br

Resumo: O objetivo deste trabalho foi caracterizar uma população de animais da raça Nelore Variedade Vermelha visando estimar parâmetros populacionais e sua composição genética mediante comparação com raças localmente adaptadas e com a raça Nelore Padrão. Foram genotipados nove locos microssatélites em 192 indivíduos das seguintes raças: Caracu (40), Curraleiro (40), Pantaneiro (40), Nelore Padrão (40) e Vermelho (32). Todas as raças exibiram uma redução significativa na heterozigosidade observada (H_o), quando comparada com a heterozigosidade esperada (H_e) devido a acasalamentos que não ocorreram ao acaso dentro das populações. A raça Nelore Vermelha apresentou valores mais altos de heterozigosidade esperada e observada (0,756 e 0,707, respectivamente). Os resultados obtidos mostraram que existe variabilidade genética significativa em todos os grupos estudados ($> 0,68$). A relação entre os grupamentos genéticos foi analisada. As populações Nelore Padrão e Variedade Vermelha (*Bos indicus*) ficaram agrupadas distintamente das demais raças *Bos taurus* (Caracu, Curraleiro e Pantaneiro). As estimativas de diferenciação genética aos pares indicam que todas as populações estudadas podem ser consideradas entidades geneticamente independentes ($p < 0,01$), embora não tenha sido possível distinguir, por método de agrupamento Bayesiano, as diferentes linhagens da raça Nelore.

Palavras-chave: diversidade genética, genética de populações, STR, Structure

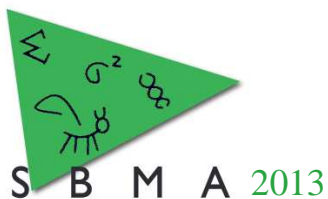
Genetic characterization of Red Nelore cattle breed by microsatellite markers

Abstract: The aim of this study was to characterize a Red Nelore population in order to estimate population genetic parameters and their genetic composition, comparing with locally adapted bovine breeds and the Nelore. Nine microsatellite loci were genotyped in 192 individuals from the following breeds: Caracu (40), Curraleiro (40), Pantaneiro (40), Nelore (40) and Red Nelore (32). All breeds showed a significant reduction in the observed heterozygosity (H_o) when compared with the expected heterozygosity (H_e) due to matings that didn't occur randomly within populations. The Red Nelore showed higher values of H_e and H_o (0.756 and 0.707, respectively). The results showed that there is significant genetic variability in all groups (> 0.68). The relationship between genetic groups was analyzed. Nelore populations were grouped separately from other breeds of *Bos taurus* origin (Caracu, Curraleiro and Pantaneiro). Pairwise estimates of genetic differentiation indicate that all populations studied can be considered genetically independent entities ($p < 0.01$), although it was not possible to distinguish the different varieties of Nelore using Bayesian clustering methodology.

Keywords: genetic diversity, population genetics, STR, Structure

Introdução

Embora a pecuária nacional tenha se iniciado com bovinos de origem europeia (*Bos taurus*), vindos com os colonizadores, cerca de 80% do rebanho brasileiro é atualmente formado por raças zebuínas (*Bos indicus*) e seus mestiços (Mariane & Cavalcanti, 2006). Segundo Santiago (1983), desde o final do século XIX até meados do século passado, foram importados cerca de 7.000 animais de origem indiana, sendo em sua maioria machos. Por cruzamento absorvente com a vacada crioula nacional – a raça Nelore, principal raça zebuína de corte, expandiu-se e hoje apresenta o maior efetivo populacional dentre as raças bovinas criadas no Brasil.



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Na raça Nelore a pelagem vermelha é relativamente frequente, mas na maioria dos animais esta cor não persiste até a idade adulta. Dados históricos remetem o início da formação de um plantel Nelore de pelagem vermelha à Bahia (Santiago, 1983). Um dos primeiros criadores desta variedade em Mato Grosso do Sul foi o Dr. Joaquim Freire, da Estância Nhecolândia, Rio Negro – MS, que em depoimento dado ao Dr. Antonio Rosa em 7/11/2003, relatou que sua intenção primordial, nos idos de 1947-1948, era introduzir animais no estado que poderiam possuir caracteres adaptativos ao Pantanal, uma vez que os cervídeos e o próprio gado pantaneiro, localmente adaptado, apresentavam pelagem de cor semelhante.

Considerando que não existem informações moleculares acerca da origem, diversidade genética e estrutura populacional da raça Nelore Variedade Vermelha, o objetivo deste trabalho foi elucidar se houve participação de raças localmente adaptadas, na composição desta população e verificar se a mesma pode ser considerada uma entidade genética distinta da raça Nelore.

Material e Métodos

Foram genotipados 192 indivíduos das seguintes raças: Caracu (CA - 40), Curraleira (CU - 40), Pantaneira (PAN - 40), Nelore (NEL - 40) e Nelore Variedade Vermelha (NV - 32). Nove locos microssatélites (INRA35, HEL9, INRA37, ILSTS5, HEL1, BM2113, ETH10, SPS115, ETH225). As condições e reações de PCR, a eletroforese capilar e a genotipagem dos alelos observados foram realizadas segundo metodologia descrita por Egito et al. (2007).

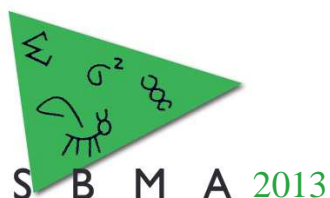
As frequências alélicas e genotípicas foram estimadas por contagem gênica. O programa FSTAT foi utilizado para calcular as estimativas de variabilidade genética para cada raça. A diferenciação racial foi estimada pelas estatísticas F de Wright (F_{IS} e F_{ST}). A análise da variância molecular (AMOVA) foi implementada pelo ARLEQUIN. Um gráfico baseado no método de aglomeração *Neighbor-Net* foi construído baseado na distância de Reynold's (F_{ST}) com o programa SplitsTree4. Utilizou-se o programa Structure para inferir o número de populações existentes no conjunto de animais analisados tendo como base para as análises o modelo de miscigenação. O número de populações inferidas (K) variou de um a oito e foram utilizadas 150.000 interações (período “*burn-in*” de 30.000), com cinco repetições independentes para cada uma das análises. O valor mais provável de K foi obtido seguindo o proposto por Evanno et al. (2005).

Resultados e Discussão

Todas as raças exibiram uma redução significativa na H_o quando comparada com a H_e , conforme relatado abaixo. A população fundadora das raças analisadas, de um modo geral, origina-se de um grupo pequeno de animais ibéricos (localmente adaptadas) ou indianos (zebuínos). A dispersão destas populações, seguindo as migrações humanas, em conjunto com as condições ambientais diversas encontradas em um País tropical, associada a uma moderada pressão seletiva e miscigenações raciais recorrentes, deu origem ao estado atual de diversidade genética destas raças.

A população NV apresentou a menor riqueza alélica (6,08) quando comparada as demais (6,31; 6,33; 7,33 e 7,25 respectivamente para CA, CU, PAN e NEL). Este fato pode estar associado à população analisada, pois todos os animais são oriundos de um mesmo rebanho. Com isto foi possível observar o trabalho executado na propriedade, onde embora exista uma variabilidade alélica menor, quando comparada com as demais, apresentou índices H_e (0,756) e H_o (0,707) superiores às demais ($H_e = 0,684$; 0,682; 0,728; 0,738 e $H_o = 0,617$; 0,675; 0,692 e 0,693 para CA, CU, PAN e NEL, respectivamente) refletindo provavelmente cruzamentos direcionados que favoreceram a manutenção de índices altos de heterozigosidade na população e coeficiente de endogamia (F_{IS}) ao redor de 6,6%.

A maior parte da variação genética observada nas populações analisadas foi devida a diferenças existentes entre indivíduos dentro das raças (88,03). O valor de F_{ST} observado foi de 11,97. As estimativas de F_{ST} aos pares foram todas significativas ($p < 0,01$) indicando que as populações estudadas podem ser consideradas entidades geneticamente independentes. Pela matriz de distância genética aos pares baseada no índice de Reynolds (F_{ST}) e o agrupamento gráfico *Neighbor-Net* (dado não demonstrado) foi possível verificar que, embora pudesse haver questionamentos quanto à introgressão de genes de raças localmente adaptadas na população Nelore Vermelha, a mesma distinguiu-se totalmente do grupamento formado pelas raças de origem taurina, agrupando-se e sendo mais próxima geneticamente da raça Nelore. Diferenças observadas entre NEL e NV podem evidenciar os trabalhos



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

realizados para a formação da linhagem vermelha (NV), onde pode ter ocorrido o acúmulo de alelos distintos gerando, por deriva genética, uma ligeira diferenciação destas populações ($F_{ST} = 0,047$).

Este fato não reflete necessariamente que as populações não são a mesma raça, uma vez que se pode verificar pela análise bayesiana implementada pelo Structure que, com o número de marcadores e indivíduos utilizados, conseguiu-se como K mais provável (número possível de populações dentro do conjunto total) apenas a subdivisão das subespécies ($K=2$). Na Tabela 1 pode ser observado o agrupamento realizado pelo programa em função dos clusters inferidos quando os Ks foram estimados para um conjunto de 2, 4 e 5 populações demonstrando a proximidade dos indivíduos dos grupos NEL e NV. Nos Ks 4 e 5 o correto alocamento dos indivíduos dentro de uma só população diminui, havendo uma maior distribuição dentro das outras populações inferidas. Este fato era esperado dado que, no caso das raças localmente adaptadas, existe um compartilhamento alélico em função de sua origem comum, conforme relatado por Mariante & Cavalcanti (2006) e Egito et al. (2007). Entretanto, é interessante observar que nas populações NEL e NV, mesmo com $K=5$, a proporção de indivíduos que se aloca em uma mesma população inferida é superior a 93%.

Tabela 1. Proporção de indivíduos alocados aos clusters inferidos pelo programa Structure em relação a diferentes valores de K.

População original	Clusters inferidos										N	
	K = 2		K = 4				K = 5					
	1	2	1	2	3	4	1	2	3	4		5
CA	0,018	0,982	0,168	0,015	0,693	0,124	0,655	0,107	0,117	0,015	0,106	40
CU	0,021	0,979	0,201	0,018	0,199	0,582	0,152	0,162	0,517	0,017	0,152	40
PAN	0,092	0,908	0,756	0,068	0,079	0,097	0,053	0,397	0,046	0,062	0,442	40
NEL	0,983	0,017	0,018	0,947	0,014	0,020	0,012	0,018	0,019	0,933	0,018	40
NV	0,976	0,024	0,019	0,945	0,019	0,017	0,019	0,018	0,015	0,931	0,018	32

Conclusões

Os resultados obtidos sugerem que a raça Nelore Variedade Vermelha é genuinamente *Bos indicus*, sendo geneticamente próxima da raça Nelore Padrão. Mesmo a população analisada sendo oriunda de um único rebanho, observa-se a existência de uma alta variabilidade genética, em função da heteroziguidade observada, que reflete o manejo adequado realizado no rebanho.

Agradecimentos

Ao Dr. Joaquim Cavalcanti Freire, da Estância Nhecolândia, Rio Negro – MS, *in memoriam*.

Literatura citada

- EGITO, A.A.; PAIVA, S.R.; ALBUQUERQUE, M.S.M.; MARIANTE, A.S.; ALMEIDA, L.D.; CASTRO, S.R.; GRATTAPAGLIA, D. Microsatellite based genetic diversity and relationships among ten Creole and commercial cattle breeds raised in Brazil. **BMC Genetics** v. 8, p. 83, 2007.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Mol. Ecol.**, v. 14, p. 2611–2620. 2005.
- MARIANTE, A. S.; CAVALCANTE, N. **Animais do Descobrimento: raças domésticas da história do Brasil**. Brasília: Embrapa Sede / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2ª. Ed. 2006.
- SANTIAGO, A. A. **O Nelore**. São Paulo: Ed. dos Criadores. 1983. 583 p.